

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**GLICEROL AL 100% VRS. ALCOHOL ETILICO AL 70% PARA
CONSERVACION DE TEJIDO ESCLERAL
UTILIZADOS PARA TRASPLANTE**

WENDY REYES MALDONADO

Tesis

**Presentada ante las autoridades de la
Facultad de Ciencias Médicas/Maestría en Oftalmología
Para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en la Especialidad de Oftalmología**

Junio de 2011

INDICE

| | |
|--|-----------|
| RESUMEN..... | 1 |
| INTRODUCCION..... | 3 |
| ANTECEDENTES..... | 4 |
| HIPOTESIS..... | 17 |
| OBJETIVOS..... | 18 |
| METODO..... | 19 |
| PRESENTACION DE RESULTADOS..... | 22 |
| ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS..... | 28 |
| CONCLUSIONES..... | 30 |
| RECOMENDACIONES..... | 31 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 32 |
| ANEXOS..... | 35 |

PERMISO DEL AUTOR PARA COPIAR EL TRABAJO

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medio la tesis titulada: “GLICEROL AL 100% VRS. ALCOHOL ETILICO AL 70% PARA CONSERVACION DE TEJIDO ESCLERAL UTILIZADOS PARA TRASPLANTE” para propósitos de consulta académica. Sin embargo, quedan reservados los derechos de autor que confiere la ley, cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción parcial o total.

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar.

A Mis Padres

Por su apoyo, su guía y confianza en la realización de mis sueños, soy afortunada por contar siempre con su amor, comprensión y ejemplo. Esta tesis es suya.

A mis Hermanos

Por estar siempre pendiente de mi bienestar

A mi Esposo

Por su amor incondicional y por enseñarme que no hay límites, que lo que me proponga lo puedo lograr.

A mi Hija

Por ser mi ilusión todos los días

A mis amigos

Por haber enriquecido mi vida con su cariño y alegría. Gracias por recordarme que hay personas valiosas en el mundo y gracias por estar en el mío.

A La Unidad Nacional de Oftalmología y Hospital Roosevelt por abrirme las puertas así como a los pacientes que tuvieron la confianza en mis manos y conocimientos.

Agradecimiento Especial al

Dr. Juan Francisco Quijivix por el apoyo y conocimiento que me brido para presentar este trabajo.

I. RESUMEN

TITULO

GLICEROL AL 100% VRS ALCOHOL ETILICO AL 70% PARA CONSERVACIÓN DE TEJIDO ESCLERAL UTILIZADOS PARA TRASPLANTE.

(Estudio Experimental de laboratorio realizado en la Unidad Nacional de Oftalmología y en el Hospital Roosevelt durante el período Diciembre 2007 a Marzo 2008.)

Debido a la carencia de Tejido escleral para ser utilizado en trasplantes de esclera en pacientes que asisten a la Unidad Nacional de Oftalmología y al Hospital Roosevelt para ser tratados de patologías diversas se realizó un estudio experimental sobre la viabilidad del tejido escleral conservado en soluciones que permitieran tener acceso a los mismos. Así, se planteó el uso de dos soluciones en base a Glicerol al 100% y alcohol etílico al 70%, constituyéndose el objetivo principal de este estudio la comparación de la viabilidad del tejido escleral en ambas soluciones. Se obtuvo muestras de tejido escleral de 19 donantes enucleados en la Unidad Nacional de Oftalmología y Roosevelt. Es una investigación Descriptiva-Longitudinal, observando la evolución y comportamiento de las muestras de tejido escleral conservado en las soluciones durante treinta días para precisar el nivel de conservación de las mismas y la viabilidad a nivel celular para ser utilizadas en trasplantes.

Las principales causas de la enucleación para obtener el tejido fueron: Globo abierto en un 52.63%; Herida corneal extensa 21.05%; Ojo ciego doloroso-auto evisceración en un 26.32%. La extracción de escleral se dio mayormente en el globo ocular izquierdo en un 63.16% y en el globo ocular derecho solamente el 36.84%.

Al final del estudio se concluyó que la viabilidad de la conservación de tejido escleral para ser utilizado en trasplante en solución de Glicerol al 100% es del 100% puesto que la célula se conserva sin cambios degenerativos “sin edema”, ni cambios de muerte celular, intersticio con fibras de características normales.

Respecto al Alcohol etílico al 70%, la viabilidad presenta un comportamiento irregular ya que solo el 31.58% es viable con las mismas características de la solución de Glicerol. El 15.79% es viable parcialmente puesto que presenta cambios degenerativos sin edema, muerte celular, aunque el intersticio tenga fibras de características normales. El 52.63% no es viable, presentó condensación del intersticio por deshidratación, cambio hialinos focales, células con cariólisis focales o sea muerte celular.

II. INTRODUCCION

El tejido conectivo con características de firmeza que recubre gran parte del globo ocular y protege los componentes intraoculares de trauma, luz y desplazamiento mecánico, mantiene la forma del globo por la fuerza expansiva considerable de la presión intraocular y provee un sitio de anclaje para los músculos extra oculares se denomina Esclera. (6, 7, 16, 17)

La esclera un tejido conectivo fuerte encargado de varias funciones del globo ocular y cuyas patologías muchas veces están asociadas a enfermedades sistémicas y que por ser un tejido de soporte del contenido intraocular se ve afectado por diversos tipos de trauma, es necesario comprender que en nuestros tiempos ese pronóstico antes sombrío que tenían los pacientes se beneficia con la disponibilidad de tejido escleral para trasplante. (3, 7, 16)

En un artículo de British Journal of Ophthalmology publicado en el año 2006 por J. I. Prydal, se describe el uso de la esclerótica en pacientes con perforación corneal periférica (14). En nuestro medio no disponemos de tejido corneal, y el costo para solicitarla de parte de los pacientes es sumamente alto, solo en el año 2006, se registraron 23 úlceras inmunológicas perforadas en la Unidad Nacional de Oftalmología y en dichos pacientes solo se les pudo ofrecer tratamiento médico conservador por falta de tejido. La conservación de la cornea por las soluciones de preservación tiene un costo más alto mientras que en la conservación de esclera el método es más accesible en países como el nuestro y según el artículo el tejido escleral utilizado en cornea es seguro, ya que las fibras de colágeno se adaptan a las de la cornea utilizando injertos de espesor parcial y adquiriendo después de cierto tiempo características de transparencia. (3, 14).

Por tal motivo, quiero por medio de esta investigación describir los resultados obtenidos utilizando Glicerol al 100% y comparándolo con Alcohol 70% en la conservación de tejido escleral utilizados para trasplante.

III. ANTECEDENTES

CONSERVACIÓN DE TEJIDO ESCLERAL

I. CARACTERÍSTICAS ANATOMICAS

El globo ocular tiene forma irregularmente esférica ya que se pueden considerar compuestas por los segmentos de 2 esferas con radios diferentes, por lo que se describe un segmento anterior que parte de una esfera más pequeña, es transparente y constituye alrededor de 1/6 del globo ocular, es más prominente que el segmento posterior que representa parte de una esfera mayor y tiene carácter opaco. (6,14).

En los bulbos oculares se describen 2 polos (anterior y posterior), 1 ecuador equidistante de los polos y meridianos (cualquiera de las líneas circunferenciales que unen los polos). El polo anterior es el centro de la curvatura anterior (corneal) y el posterior es el centro de la curvatura posterior (escleral). La línea que une estos polos es conocida como eje óptico.

El bulbo ocular está compuesto por una pared formada por 3 túnicas superpuestas:

- externa o fibrosa
- media o vascular
- interna o sensorial

Estas 3 túnicas rodean un contenido de medios transparentes compuestos por el humor acuoso, el lente o cristalino y el cuerpo vítreo; para el presente trabajo nos enfocaremos en la tunica externa o fibrosa. (6,14,17)

Túnica Externa O Fibrosa

Esta capa forma como una cápsula protectora, una estructura semi elástica que distendida por la presión intraocular, determina con gran precisión la geometría óptica del aparato visual. Está compuesta por 2 partes: una posterior

opaca que es la esclerótica y una anterior transparente que es la córnea.

Esclerótica

La esclerótica o túnica escleral es de consistencia relativamente dura, constituye los 5/6 posteriores de la túnica fibrosa, es una capa densa que al distenderse bajo el efecto de la presión intraocular mantiene la forma del ojo. No es transparente y se trata de una estructura fibroelástica (un factor importante para la regulación de la presión intraocular).

Es más gruesa (aproximadamente 1 mm) en la parte posterior cerca del punto de entrada al nervio óptico y más fina (0.4 mm) en el ecuador y en las inserciones de los músculos rectos que mueven el ojo.

Su superficie externa es blanca y lisa en el adulto, haciéndose más amarilla en el viejo; está en contacto con la superficie interna de la vaina facial del globo ocular (la vaina envuelve al globo ocular desde el nervio óptico a la unión esclero - corneal separándolo de la grasa orbitaria y formando una cavidad en la que el ojo realiza sus movimientos, su cara ocular está unida débilmente a la esclerótica).

Su parte anterior está cubierta por la conjuntiva que se refleja sobre ella desde la superficie profunda de los párpados.

Su superficie interna se encuentra unida a la coroides (túnica media) por una capa fibrosa delicada conocida como lámina supra coroidea (lámina fusca). Por delante se inserta en el cuerpo ciliar mediante la lámina supra ciliar.

Por detrás la esclerótica es perforada por el nervio óptico y se continúa con la vaina fibrosa del nervio y por tanto con la duramadre, en este punto la esclerótica toma un aspecto de lámina perforada (lámina cribosa) cuyos orificios diminutos contiene las terminaciones del nervio óptico. En ella se aprecia además un orificio central para el paso de la arteria y la vena central de la retina.

La lámina cribosa es la parte más débil de la esclerótica, si la presión intraoculares se eleva durante algún tiempo como sucede en el glaucoma crónico

la lámina se proyecta hacia fuera produciendo un aumento en la excavación de la papila. Inmediatamente por detrás del ecuador hay 4 orificios a casi igual distancia unos de otros en los 2 meridianos que forman con el meridiano horizontal un ángulo de 45 grados por donde pasan las venas vorticosas (venas de la coroides).

En la parte anterior alrededor de la córnea hay unos orificios muy pequeños para el paso de las venas y arterias ciliares anteriores.

La córnea situada por delante de la esclerótica es transparente debido a la homogeneidad en la composición química de sus elementos constituyentes y la ausencia de vasos sanguíneos y linfáticos, lo que facilita el realizar sus trasplantes. Al permitir el paso de la luz con escasa amortiguación, la refracta hacia el foco retiniano y forma una parte importante del mecanismo procesador de imágenes del ojo.

Es convexa hacia delante, proyectándose desde la esclerótica como una elevación cupuliforme que constituye alrededor del 7 % del área de la túnica fibrosa, un ligero surco esclero-corneal marca la unión de ambas estructuras. Su curvatura cambia muy poco después del 1er año de vida. Su grosor es de aproximadamente 1 mm en la periferia y 0.5-0.6 mm en el centro.

II. METODO DE CONSERVACION DE TEJIDOS

A. Terminología:

En Guatemala actualmente no se cuenta con un banco de tejidos y con una ley que estandarice el manejo de los mismos para trasplante, es por ello que para razones de terminología nos basamos en el Real Decreto 1301/2006, de 10 de noviembre, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. (1,7)

Almacenamiento: mantenimiento de las células o tejidos bajo condiciones controladas y apropiadas hasta su distribución.

Aplicación: cualquier actividad que implique el uso de células o tejidos en un receptor humano y/o en aplicaciones extra corporales (se engloban las actividades de implantar, infundir, injertar, aplicar o trasplantar).

Células: las células individuales de origen humano o los grupos celulares de origen humano cuando no estén unidos por ninguna forma de tejido conectivo.

Células reproductoras: aquellas células o tejidos que puedan ser utilizados para la reproducción humana asistida.

Centro o unidad de obtención: establecimiento sanitario, unidad hospitalaria o cualquier otra institución que lleve a cabo actividades de obtención y extracción de tejidos o células, o que puede posibilitar la recogida y utilización de residuos quirúrgicos con las finalidades que establece esta norma, y que no precise ser autorizado como establecimiento de tejidos.

Centro o unidad de implante o aplicación en humanos: establecimiento sanitario, unidad hospitalaria o cualquier otra institución que lleve a cabo actividades de aplicación de células o tejidos humanos en humanos

Cuarentena: periodo en el que los tejidos o las células extraídas se mantienen aislados físicamente o por otros métodos efectivos, mientras se espera una decisión sobre su aceptación o rechazo para el uso en humanos.

Crítico: hecho, acción o evento que potencialmente puede tener efecto sobre la calidad y la seguridad de las células y tejidos.

Distribución: transporte y entrega de tejidos o células destinados a ser aplicados en el ser humano.

Donación: el hecho de donar tejidos o células humanos destinados a ser aplicados en el ser humano.

Donación dentro de la pareja: la cesión de células reproductoras de un hombre a una mujer de una misma pareja que declaran mantener una relación física íntima.

Donante: toda fuente humana, viva o muerta, de células y/o tejidos humanos.

Efecto adverso grave: cualquier hecho desfavorable vinculado a la obtención, evaluación, procesamiento, almacenamiento y distribución de células y tejidos que pueda conducir a la transmisión de una enfermedad, a la muerte del paciente, o a estados que hagan peligrar su vida, a minusvalías o incapacidades o que puedan dar lugar a hospitalización o enfermedad o la pueda prolongar.

Establecimiento de tejidos: banco de tejidos, unidad de un hospital o cualquier otro centro donde se lleven a cabo actividades de procesamiento, preservación, almacenamiento o distribución de células y tejidos humanos después de su obtención y hasta su utilización o aplicación en humanos. El establecimiento de tejidos también puede estar encargado de la obtención y evaluación de tejidos y células.

Investigación clínica: investigación desarrollada mediante protocolos que incluyen los procedimientos de obtención y aplicación de células y tejidos humanos en humanos, cuando la eficacia o seguridad de los procedimientos o de las células o tejidos no están suficientemente comprobadas o cuando la indicación terapéutica no está suficientemente consolidada, y cuya finalidad es la comprobación de alguno de estos puntos.

Obtención: proceso por el que se puede disponer de células y/o tejidos humanos con la finalidad a que se refiere este real decreto.

Órgano: una parte diferenciada y vital del cuerpo humano formada por diferentes tejidos, que mantiene su estructura, vascularización y capacidad para desarrollar funciones fisiológicas con un nivel de autonomía importante.

Preservación: utilización de agentes químicos, alteración de las condiciones medioambientales o aplicación de otros medios durante el procesamiento de los tejidos o células, a fin de impedir o retrasar el deterioro biológico o físico de los mismos.

Procedimientos operativos estandarizados (POE): instrucciones de trabajo documentadas y autorizadas que describen cómo llevar a cabo actividades o realizar test que habitualmente no se describen en los planes de trabajo o las normas de buenas prácticas.

Procesamiento: operación u operaciones que implican la preparación, manipulación, preservación y acondicionamiento de los tejidos y las células destinados a su aplicación en el ser humano.

Reacción adversa grave: respuesta inesperada del donante o del receptor, incluida una enfermedad transmisible, asociada a la obtención o aplicación en el ser humano de tejidos y células, que resulte mortal, potencialmente mortal, discapacitante, que produzca invalidez o incapacidad, o que dé lugar a hospitalización o enfermedad o que las prolongue.

Sistema de calidad: comprende la estructura orgánica, la definición de responsabilidades, los procedimientos, procesos y recursos, que se destinan a desarrollar la gestión de la calidad. Incluye cualquier actividad que contribuya a la calidad total de forma directa o indirecta.

Sistema de gestión de calidad: actividades coordinadas destinadas a la dirección y control de una organización en relación con la calidad.

Tejido: toda parte constituyente del cuerpo humano formada por células unidas por algún tipo de tejido conectivo.

Trazabilidad: capacidad para ubicar, localizar e identificar las células y/o tejidos en cualquier paso del proceso desde la donación, la obtención, el procesamiento, la evaluación, el almacenamiento y la distribución hasta llegar al receptor o hasta ser

desestimados y/o destruidos, lo que lleva consigo la capacidad de identificar al donante, el establecimiento de tejidos y la instalación que recibe, procesa o almacena los tejidos o células, así como la capacidad de identificar al receptor o receptores en los que se apliquen los tejidos o células. La trazabilidad cubre, asimismo, la capacidad de localizar e identificar cualquier dato relevante de los productos y materiales que van a estar en contacto directo con las células y/o tejidos y que puedan afectar a la calidad y seguridad de los mismos.

Asimismo, se entenderá por:

Uso alogénico: proceso mediante el cual las células o tejidos son extraídos de una persona y aplicados a otra.

Uso autólogo: proceso mediante el cual las células o los tejidos son extraídos y aplicados a la misma persona.

Uso autólogo eventual: las células y/o tejidos son obtenidos con la finalidad de ser preservados para su aplicación hipotética futura en la misma persona, sin que exista una indicación médica establecida en el momento de la obtención e inicio de la preservación.

Uso directo: cualquier procedimiento en el que las células son obtenidas y usadas sin mediar ningún tipo de procesamiento o almacenamiento.

Validación: evidencia documental que prueba, con un elevado nivel de garantía, que un determinado proceso, equipo o parte de un equipo o condición ambiental acaba produciendo, de forma consistente y reproducible, un determinado producto que cumple las especificaciones, cualidades y atributos que se habían predeterminado. Un proceso es validado con vistas a probar su efectividad para un uso determinado. **(1)**

B. Procedimiento De Obtención

La obtención de las células y de los tejidos deberá realizarse mediante procedimientos operativos estandarizados debidamente documentados y validados que sean adecuados para el tejido o grupo celular a extraer, que en el caso de donantes vivos garanticen su salud y seguridad y respeten su intimidad.

El procedimiento de obtención deberá ser el adecuado para proteger debidamente aquellas propiedades de las células o tejidos que son necesarias para su uso clínico, a la vez que se minimizan los riesgos de contaminación microbiológica.

En el caso de que los tejidos y/o células vayan a ser enviados a un establecimiento de tejidos para su procesamiento, el procedimiento de obtención, empaquetado, etiquetado, mantenimiento y transporte hasta dicho centro deberá constar en un documento acordado entre la unidad de obtención y el establecimiento de tejidos. (1,8,17)

C. Empaquetado, Etiquetado Y Transporte Hasta El Establecimiento De Tejidos

El empaquetado, mantenimiento, etiquetado y transporte de los tejidos y células hasta el establecimiento de tejidos deberán realizarse mediante procedimientos operativos estandarizados debidamente documentados y validados.

El empaquetado y transporte de los tejidos y células debe realizarse de modo que se minimicen los riesgos de contaminación y se prevenga el deterioro de las propiedades biológicas necesarias para su posible uso clínico. (1,8)

D. Recepción De Células Y Tejidos

El establecimiento de tejidos deberá disponer de un procedimiento documentado de recepción que permita verificar que los tejidos y células extraídos en los centros o unidades de obtención.

Los envíos de tejidos y células que no cumplan estas exigencias deben ser rechazados por el establecimiento de tejidos.

El proceso de recepción debe asegurar que no existe riesgo de contaminación con los tejidos y células ya depositados y que estén en fase de procesamiento, preservación o almacenamiento. (1,8)

E. Procesamiento De Células Y Tejidos

El establecimiento de tejidos incluirá en sus manuales de procedimiento toda actividad de procesamiento de las células y tejidos, y velará porque se lleven a cabo en condiciones controladas. Se verificará que el equipo utilizado, el entorno de trabajo y la concepción, validación y condiciones de control. (1,8)

F. Almacenamiento De Células Y Tejidos

Cualquier actuación relacionada con el almacenamiento de células y tejidos deberá estar documentada en los manuales de procedimientos. Las condiciones de almacenamiento garantizaran el mantenimiento de la viabilidad, calidad y seguridad de las células y tejidos.

Todas las informaciones sobre las actividades de almacenamiento serán debidamente recogidas y custodiadas con el fin de que pueda conocerse en todo momento la situación de disponibilidad de las células y tejidos almacenados. (1)

G. Investigación Clínica

Los proyectos de investigación clínica serán autorizados por la autoridad competente de la comunidad autónoma correspondiente.

Las solicitudes de autorización para proyectos de investigación clínica con células y/o tejidos deberán incluir, al menos, la siguiente información y documentación:

- a) Justificación y descripción detallada del proyecto de investigación clínica.
- b) La información sobre procedimientos de investigación clínica o básica relacionados e información sobre los tejidos/grupos celulares que se van a

utilizar y del proceso de procesamiento y/o transformación y utilización de los mismos.

c) Designación del centro coordinador y profesional responsable del proyecto que actúa como investigador principal y descripción del equipo o equipos de investigación.

d) Identificación de los centros y unidades participantes, tanto en la fase de extracción como en la de implante.

e) Identificación de los establecimientos de tejidos cuando sean diferentes de los centros de extracción o implante.

f) Las autorizaciones de los responsables de los centros implicados.

g) El informe del comité de ética del centro coordinador del proyecto. En caso de no ser un centro de implante se requerirá el informe de los comités de ética de los centros de implante implicados.

h) El documento de consentimiento informado.

i) La póliza de contratación de los seguros para los pacientes cuando proceda.

j) El Informe de los costes del proyecto y del organismo promotor.

k) El protocolo del sistema de garantía de calidad del proyecto.

Lo previsto en este artículo no será aplicable a los supuestos de investigación clínica en terapia celular, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos. **(1)**

III. PREPARACION DE TEJIDOS OCULARES PARA CONSERVACION

Esclera

La esclera se obtiene de ojos que cumplen los criterios de donación de órganos.

Una vez extraído el botón corneal para queratoplastia, se eliminan los restos de la cápsula de Tenon , los músculos extraoculares y el nervio óptico; a continuación se evagina el casquete escleral y se extraen todos los contenidos intraoculares, limpiando la superficie escleral con una gasa seca. Posteriormente se almacena en Glicerina estéril a 4° C. **(3,7, 16,18)**

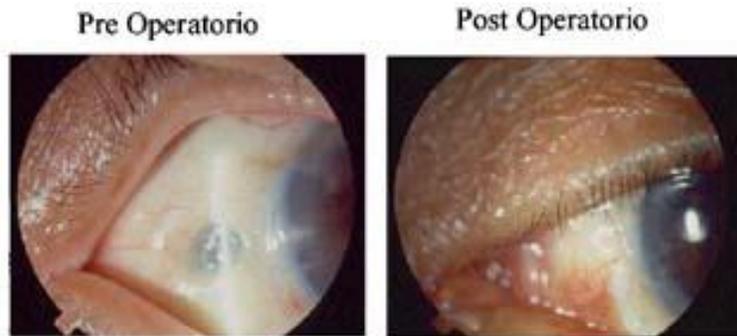
En este sentido se establecen dos opciones de almacenamiento en cuanto a banco de globos oculares y en cuanto a banco de tejido corneal, siendo preciso para la primera circunstancia banco de globos oculares disponer de un sistema de almacenamiento a 4° C y de biomicroscopia, y para la segunda de las circunstancias, bancos de tejido corneal, garantizar que la manipulación se haga en condiciones de asepsia, y disponer de biomicroscopia y almacenamiento a 4° C de temperatura, siendo recomendable además poder contar con procedimiento de contaje endotelial.

En el caso de almacenamiento de esclera, ésta se puede realizar, dependiendo del tiempo previsto de almacenamiento, a corto plazo, en fresco a una temperatura de 4° C o bien a largo plazo, mediante otras técnicas de preservación (crio preservación, liofilización, etc.). **(16,21)**

IV. UTILIZACION DEL TEJIDO ESCLERAL EN LA TERAPEUTICA OFTALMOLOGICA

A. Parche De Esclera

Lo utilizamos en adelgazamientos importantes de Esclera. Nuestra experiencia se remite a efectos secundarios de la Mitomicina en la cirugía del Pterigion, con inminente peligro de perforación ocular en la Esclera nasal perilimbal.



B. Escleroplastia Corneal

Es una alternativa al uso de la Duramadre Liofilizada, en casos de Descematocele o Perforación Corneal con pérdida de sustancia.

C. Escleroeversion Ciliar

En las Triquiasis tanto del Párpado Inferior como del Superior puede ser utilizada como técnica de elección o secundaria al fallar otras (Termo ablación por Láser, Crioterapia, Electrolisis).

D. Casquete Escleral Inverso, Tras Intento De Extrusion De Protesis Oculares

El uso del implante de Medpor en la evisceración, conduce a unos resultados funcionales y estéticos buenos, una vez adaptada la prótesis ocular. Con cierta frecuencia se produce apertura de los labios esclerales, con intento de extrusión de la prótesis de Medpor. Si la sutura secundaria de los bordes esclerales es insuficiente (Prótesis demasiado grandes o volumen escleral pequeño), resulta satisfactorio aponer y suturar casquetes de esclera inversos (con la concavidad anatómica de la esclera hacia adentro), quedando el orificio del Nervio Óptico mirando al exterior. Finalmente se recubre con conjuntiva. (7,16,21)

E. Escleroformacion Del Fornix Inferior En Cavidades Anoftalmicas

Sobre todo en pacientes en los que se ha realizado enucleación sin colocación posterior de conformador, presentan dificultad para mantener la prótesis ocular , por retracción del fornix inferior.

IV.HIPOTESIS

NULA:

El tejido escleral mantiene el mismo grado de viabilidad, utilizando alcohol etílico al 70% o glicerol al 100% después de 30 días.

ALTERNA:

El tejido escleral no mantiene el mismo grado de viabilidad, utilizando alcohol etílico al 70% o glicerol al 100% después de 30 días.

V. OBJETIVOS

GENERAL

Determinar la viabilidad de tejido escleral para trasplante conservado en solución de Glicerol al 100% comparado con una solución de alcohol etílico al 70%.

ESPECÍFICOS:

- Precisar las principales causas de enucleación de los donantes de tejido escleral que asistieron a la Unidad Nacional de Oftalmología y el Hospital Roosevelt en el año 2007-2008.
- Determinar la proporción de incidencia de enucleación en los ojos de los donantes.
- Observar la evolución y comportamiento de las muestras esclerales conservadas en solución de glicerol al 100% y alcohol etílico al 70% durante treinta días.

VI. METODO

TIPO DE ESTUDIO:

Descriptivo-Longitudinal que describió el Estudio Experimental de Laboratorio sobre las soluciones de Glicerol al 100% y Alcohol etílico al 70% para conservación de tejido escleral extraído por enucleación para ser utilizado en trasplante en la Unidad Nacional de Oftalmología Y Hospital Roosevelt y que se realizó durante el periodo comprendido de diciembre 2007 a marzo de 2008.

POBLACIÓN A ESTUDIAR:

Pacientes enucleados en la Unidad Nacional de Oftalmología y del Hospital Roosevelt, mayores de 18 años o menores con la autorización de los padres, que hayan firmado consentimiento para donar tejido escleral para estudio durante diciembre 2007 a marzo 2008.

SELECCIÓN DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA:

El tamaño de la muestra se tomó a partir de la fórmula

$$M = \frac{z\alpha^2 \times p \times q \times N}{[E^2 \times (N - 1)] + (z\alpha^2 \times p \times q)}$$

$z\alpha^2$ confiabilidad ($\alpha = 0.05$)

por tanto $z\alpha = 1.96$)

Poder 0.80 $\beta = 0.20$ por lo tanto

$E = 0.20$

P: es la proporción de individuos de la población que poseen la característica en el estudio. Este dato es desconocido.

Suponiendo que $p = q$ y todo es = a 0.5 entonces q es la proporción de individuos de la población que no tienen la característica.

$$Q = 1.00 - P$$

Y efectuada la sustitución de los valores en base a un población de 80 pacientes, confiabilidad del 0.05 la fórmula quedó así:

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.5 \times 0.5 \times 80}{(0.20^2 \times (80 - 1) + 1.96^2 \times 0.5 \times 0.5)} = \frac{76.832}{3.16 + 0.9604} = \frac{76.832}{4.1204} = 18.646733$$

y que nos indica una tamaño de la muestra de 18.646733 que al aproximarla nos proporcione una muestra de **19 casos** para cada solución del ensayo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Ojos de 19 pacientes enucleados en la unidad nacional de oftalmología o en sala de operaciones del Hospital Roosevelt.
- Mayores de 18 años o menores con autorización de los padres.
- Firmar consentimiento para donar tejido para estudio.
- Con o sin enfermedades sistémicas crónicas de base como Diabetes Mellitus e Hipertensión Arterial.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Enfermedades intrínsecas del ojo (retinoblastoma, tumores malignos del segmento anterior, conjuntivitis, queratitis, epiescleritis, iritis, uveítis, glaucoma, vitritis, retinitis, coroiditis).
- Ojos con endoftalmitis.
- Ptisis Bulbi
- Enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso, artritis reumatoide)

CUADRO DE OPERACIONABILIDAD DE VARIABLES

| VARIABLE | DEFINICIÓN CONCEPTUAL | DEFINICION OPERACIONAL | TIPO DE VARIABLE | ESCALA DE MEDICIÓN | UNIDAD DE MEDIDA |
|---------------------------------|---|---|------------------|--------------------|---|
| SEXO | Identidad del genero de una persona | Expresión de la identidad de género en una persona | Cualitativa | Nominal | Masculino Femenino |
| CAUSA DE ENUCLEACIÓN | Tipo de trauma presentado por el paciente | Lesión que origina la enucleación | Cualitativa | Nominal | -Globo abierto -herida corneal extensa -auto evisceracion |
| CONSERVACIÓN DE TEJIDO ESCLERAL | Tipo de solución con la cual se conserva la esclera. Solución glicerol 100% Solución alcohol etílico al 70% | Viabilidad del tejido conservado en una solución para ser utilizado en transplante. | Cualitativa | Nominal | Viable No viable |

VII. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

El tejido escleral es utilizado en trasplante después de la enucleación a la que es sometido un paciente por presencia de trauma ocular. Desde el mismo momento de la enucleación el tejido escleral debe ser conservado en una solución a temperatura de -4 grados centígrados para que conserve sus propiedades y sea utilizado en trasplante con altas probabilidades de éxito.

En los últimos años la red hospitalaria se ha visto afectada por la reducción constante en sus recursos debido a los recortes presupuestarios a los que se ha visto sometido el Ministerio de Salud Pública que han afectado grandemente su buen funcionamiento. Las carencias son evidentes en todos los órdenes y se observa en cada una de las unidades nosocomiales por lo que se hace necesario ensayar nuevas formas de conservación de los tejidos que son utilizados para trasplantes con los cuales es viable recuperar las deficiencias visuales de los pacientes que acuden a la Unidad Nacional de Oftalmología cada día, de cada mes y cada año.

En el Estudio Experimental de laboratorio sobre conservación de tejido escleral de 19 pacientes enucleados a -4 grados centígrados en dos tipos de soluciones: **Glicerol al 100% y Alcohol Etílico al 70%** para determinar la viabilidad de cada una de ellas para que el tejido sea utilizado en trasplantes sin perjuicio para el paciente, fue aplicado siguiendo los lineamientos científicos de patología y citología para este tipo de estudios, por lo que los resultados de dicho estudio se muestran a continuación.

RESULTADOS

CUADRO NO. 1

GLICEROL AL 100% VRS ALCOHOL ETÍLICO AL 70% PARA CONSERVACIÓN DE TEJIDO ESCLERAL UTILIZADOS PARA TRASPLANTE

(ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LABORATORIO REALIZADO EN LA UNIDAD NACIONAL DE OFTALMOLOGÍA Y HOSPITAL ROOSEVELT EN EL PERÍODO DICIEMBRE 2007 A MARZO 2008)

Distribución por sexo de los donantes a los cuales se les realizó enucleación en la Unidad Nacional de Oftalmología y Hospital Roosevelt durante el periodo diciembre 2007 a marzo 2008.

| SEXO | NUMERO DE CASOS | PORCENTAJE % |
|------------------|------------------------|---------------------|
| MASCULINO | 15 | 78.95% |
| FEMENINO | 4 | 21.05% |

CUADRO NO. 2

Causa de la Enucleación realizada a pacientes de la Unidad Nacional de Oftalmología y Hospital Roosevelt durante el periodo comprendido de diciembre 2007 a marzo 2008.

| CAUSA DE LA ENUCLEACIÓN | NUMERO DE CASOS | PORCENTAJE % |
|--|------------------------|---------------------|
| GLOBO ABIERTO | 10 | 52.63% |
| HERIDA CORNEAL EXTENSA | 4 | 21.05% |
| AUTOVICERACIÓN/OJO CIEGO DOLOROSO | 5 | 26.32% |

CUADRO NO. 3

Datos de la extracción de Esclera en pacientes de la Unidad Nacional de Oftalmología y Hospital Roosevelt durante el periodo diciembre 2007 a marzo 2008.

| EXTRACCIÓN DE ESCLERA | NUMERO DE CASOS | PORCENTAJE % |
|------------------------------|------------------------|---------------------|
| Globo ocular derecho | 13 | 68.42% |
| Globo ocular izquierdo | 7 | 31.58% |

CUADRO NO. 4

Viabilidad de tejido Escleral conservado en la Solución de Glicerol al 100% para ser utilizado en trasplantes extraído por enucleación a pacientes de la Unidad Nacional de Oftalmología y Hospital Roosevelt durante el periodo diciembre 2007 a marzo 2008.

| VIABILIDAD | NUMERO DE CASOS | PORCENTAJE % |
|-------------------|------------------------|---------------------|
| Viable | 19 | 100% |
| No Viable | 0 | 0% |

CUADRO NO. 5

Viabilidad de tejido Escleral en Solución de Alcohol al 70% para ser utilizado en trasplantes extraído por enucleación a pacientes de la Unidad Nacional de Oftalmología y Hospital Roosevelt durante el periodo diciembre 2007 a marzo 2008.

| VIABILIDAD | NUMERO DE CASOS | PORCENTAJE % |
|----------------------------|------------------------|---------------------|
| Viable | 6 | 31.58% |
| Viable Parcialmente | 3 | 15.79% |
| No Viable | 10 | 52.63% |

VIII. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En este estudio descriptivo longitudinal realizado en un período de cuatro meses, periodo durante el cual se evaluó la viabilidad de dos soluciones empleadas para la conservación de tejido escleral extraído por enucleación en pacientes de la Unidad Nacional de Oftalmología y del Hospital Roosevelt. Esta evaluación se realizó a partir de una boleta recolectora de datos (anexo No. 1) en el cual se anotó la información sobre el donante, causa de la enucleación, sobre la extracción de esclera y el reporte de patología sobre los resultados de viabilidad de la conservación del tejido para ser utilizados en trasplante en cada una de las soluciones objeto de estudio: Glicerol al 100% y Alcohol etílico al 70%.

Los resultados obtenidos indican que (cuadro No.1) los donantes, en el periodo que duró la recolección de muestras, fueron prioritariamente del sexo masculino en un 78.95% y la diferencia 21.05% del sexo femenino.

Estos donantes, en su momento pacientes, fueron enucleados de los globos oculares, siendo la principal causa de la enucleación (cuadro No.2) el Globo ocular abierto en un 52.63%, seguido, porcentualmente de la auto evisceración o ojo ciego doloroso que fue de un 26.32%, y en menor proporción la herida de la córnea extensa en un 21.05%

La enucleación de los pacientes fue sometida a ambos globos oculares y los resultados fueron, (cuadro No.3) que el globo ocular izquierdo fue el más intervenido en un 68.42 % y el globo ocular derecho en un 31.58%.

Los resultados obtenidos propiamente del experimento proporcionaron datos sobre la viabilidad del tejido escleral, (cuadro No.4), conservado en la solución de

Glicerol al 100% para su utilización del trasplante es del 100% puesto que todos los sujetos muestrales conservaron sus propiedades para su uso en trasplante. En el caso de la conservación del tejido escleral en solución de Alcohol étílico al 70% las muestras observadas en laboratorio determinaron según el cuadro No.5 una viabilidad del 31.58%, una viabilidad parcial del 15.79% y no viables para su utilización en trasplantes del 52.63%, siendo pues la conservación de este tejido en Glicerol al 100% el más viable para su utilización en trasplantes.

IX. CONCLUSIONES

1. El 100% de las muestras de tejido escleral conservado en solución de glicerol al 100% conservo su viabilidad durante los 30 días de observación.
2. Las muestras de tejido escleral conservado en solución de Alcohol etílico al 70% presentaron viabilidad en un 31.58 %.
3. La mayor causa de enucleación de los donantes fue el Globo ocular abierto traumático.
4. De los globos oculares extraídos por enucleación el globo ocular izquierdo fue el más extraído.

X. RECOMENDACION

Para el empleo de tejido escleral para utilización en trasplante deberá idealmente ser utilizada la solución con Glicerol al 100% hasta por lo menos un mes después del inicio de su conservación a 4 grados centígrados con la finalidad de preservar al máximo su integridad micro estructural ya que la célula se conserva sin cambios degenerativos ni cambios de muerte celular intersticial y con fibras elásticas de características normales.

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar MG, Castillo NF, Fuente TM. "Real Decreto 1301/2006, de 10 de noviembre, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos" *Archivos de la Sociedad Canaria de Oftalmología*. 2000 - nº 11.
2. Bauld Peña, A. et al. "Estudio experimental sobre la viabilidad del injerto libre de epitelio urinario autólogo cultivado in vitro". *Actas urológicas españolas: Organo oficial de difusión de la Asociación Española de Urología*, Vol. 28, Nº. 10, 2004, pp 714-731.
3. Chang Ping Lin, et al. "Repair of a giant scleral ulcer with preserved sclera and tissue adhesive". *Ophthalmic surgery and lasers*. Año 1996, Vol. 27, Número 12, pp 995-999.
4. Dailey JR, Rosenwasser GO. "Viability of bacteria in glycerin and ethanol preserved sclera". *J Refract Corneal Surg*. 1994 Jan-Feb;10(1) pp 38-40.
5. Dann I G. Vaughan, Taylor Asbury y Paul Riordan Eva. *Oftalmología General*. Editorial El Manual Moderno S.A. México 1997: 49-224.
6. David J. Spalton, Roger A. Hitching y Paul A. Hunter. *Atlas de Oftalmología Clínica*. 1ª Edición española de la 2ª edición en inglés. Mosby División de Times Mirror de España S.A. Madrid 1955.
7. Delgado miranda JI, et al. "Injerto de esclera: nuestra experiencia". *Archivos de la Sociedad Española de oftalmología*. 2002, no. 13. pp 45-48.
8. Deers. M. Canals, J. Costa-Vila. "Actualización en Bancos de Ojos: resultado de una encuesta multicéntrica de ámbito estatal" Banco de Ojos Hospital Clínico Servicio de Oftalmología Transplant Services Foundation. Facultad de Medicina Universitat de Barcelona. Año 2002.
9. Deppe Mariana, et al. "Efecto de la temperatura de incubación y adición de glicerol sobre la preservación del acrosoma en espermatozoides humanos". *Revista de Investigación Clínica* 2004 No. 56(4) pp 477-482.

10. Enzenauer R.; Sieck E; Vavra Deep; "Contenido residual del etanol del sclera dispensador de aceite después del almacenaje en etanol del 95% y la aclaración salina de varias duraciones". *Diario americano de la oftalmología*. 1999, vol. 128, número 4, pp. 522-524.
11. Esen Karamursel Akpek, M.D. "Necrotizing scleritis: diagnosis and therapy". *Ocular immunology and Uveitis Journal*. [EN LINEA] Cambridge Center. Fecha de Consulta 5-05-07. <http://www.uveitis.org/medical/articles/default.html>.
12. Fernández Tubino, A. "congelación de embriones bovinos con etilenglicol vs. Glicerol". *Archivos de zootecnia*, Vol. 46, Número 176, 1997, pp 295-300.
13. *Fundamentals and Principles of Ophthalmology*, sect 2. San Francisco, AAO, 1998.
14. Jin Kanzaki. "Homograft sclera in tympanoplasty". *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. Volume 225, Number 3, noviembre de 1999. pp 181-184.
15. J S Mehta and W A Franks. "The sclera, the prion, and the ophthalmologist". *Br J Ophthalmol*. 2002 May, vol. 6 número 22, pp 587-592.
16. Kanski JJ. *Oftalmología clínica*. 3ª edición. Barcelona. Mosby; 1996. *American Academy of Ophthalmology: Basic and Clinical Science Course*.
17. Katahashi Maho, et al. "Use of scleral graft for blepharoplasty in a case after strabismus surgery". *Japanese Journal of clinical Oftalmología*. Vol. 60, No. 6, Pp 1045-1047.
18. Murube j, Rivas I, Rebolleda G, "Placenta, cordón umbilical y membrana amniótica en oftalmología". *Franja Ocular 2000*, Vol.2, No. 10 Pp 7-13.
19. Oh, Jung Hwan M.D. et al. "Repair of Scleromalacia Using Preserved Scleral Graft With Amniotic Membrane Transplantation". *The Journal of Cornea and External Disease*. Número 22, mayo 2003, pp 288-293.
20. Ozcan, Altan A MD, et al. "Surgical Management of Scleral Defects" *The Journal of Cornea and External Disease*. Número 24, abril 2005, pp 308-322.
21. Romanchuk, K. G. MD. Et al. "How Long Can Donor Sclera Be Safely Stored?" *The Journal of Cornea and External Disease*. Número 22, agosto 2003, pp 569-572.
22. Sáinz de la Maza, MD "Esclerouveitis: características clínicas y enfermedades sistémicas asociadas" *Revista sociedad catalana oftalmología*. Vol 3 pp 87-89.
23. Sangwan VS, Jain V, Gupta P. "Structural and functional outcome of scleral patch graft". *Eye Journal*. Vol. 7, Número 21, julio 2006. pp 930-935.

24. Schliapnik B., Roberto. "Queratectomía superficial y autotransplante de conjuntiva y esclera en afecciones corneales severas". Archivos de la Sociedad Chilena de Oftalmología No. 143 pp 139-46.
25. Stephen J. Ryan., Morton F. Goldberg. "Scleral surgery: Selected indications and techniques". *Springer Netherlands Journal*. Volume 29, número 2, mayo 2001, pp 267-289.
26. Vicente Dias, J. Takano, Junko Md. "Comparative analysis between sclera treated with glycerin and sclera treated with gamma irradiation, alkali and glycerin in the reconstruction of anophthalmic socket: experimental study in rabbits". *Arq Bras Oftalmol*. 2007; pp 639-47.
27. Watson, P.G.: "Diseases of the sclera and episclera". *Duane's Clinical Ophthalmology, rev. ed. Lippincott. Philadelphia*. 1992: pp 1-43.

XII. ANEXO I

Ficha de recogida de datos sobre la Extracción de globos oculares

1. DATOS GENERALES

Centro donde se realiza la extracción

Personal médico que hace la enucleación Dr.....

Fecha y hora de la extracción.....

2. DATOS DEL DONANTE

Nombre y apellidos.....

No. Registro.....

Causa de la enucleación.....

3. DATOS DE LA EXTRACCIÓN DE ESCLERA

Globo ocular derecho..... Izquierdo.....

No. Asignado para envío a patología.....

Fecha que debiera enviarse a patología.....

Fecha que se recibe informe.....

4. REPORTE DE PATOLOGIA

En solución con Glicerol al 100%

.....
.....
.....

En alcohol al 70%

.....
.....
.....

ANEXO II

Etiquetado de los Frascos para muestras de Tejido

Nombre.....

Registro.....No. Asignado de Patología.....

Medio de Conservación Utilizado: ALCOHOL.....GLICEROL.....

Fecha de Enucleación..... Fecha de envío a Patología.....

