

CIRUGÍA REFRACTIVA

2. Queratoplastia

2.2

Conservación del tejido corneal.

Banco de ojos

Lucia Mata Moret^{1,2}, Ramón Calvo Andrés^{1,2}, Vicente Mirabet Lis¹

¹ Centro de transfusiones de la Comunidad Valenciana.

² Hospital General Universitario de Valencia.



RESUMEN

El objetivo de los bancos de ojos es centralizar los procesos de extracción, validación, almacenamiento y manipulación del tejido corneal con el objetivo de garantizar la calidad y trazabilidad de estos tejidos. Los bancos suelen utilizar las directrices del Plan Nacional de Corneas para la selección de donantes y validación del tejido corneal. El almacenamiento habitualmente es en frío con medios de cultivo enriquecidos. En los últimos tiempos los bancos de tejidos oculares se han adaptado a la actual realidad de la cirugía laminar preparando el tejido corneal para la cirugía laminar anterior y posterior. Aunque la cornea es el tejido ocular más importante de los bancos, suelen disponer también de esclera, membrana amniótica y en algunos centros de tejido limbar.

HISTORIA

En 1912 Magitot (1) comenzó con la preservación del tejido corneal durante 8 días en sangre hemolizada a 5º para su uso en un trasplante lamelar, este descubrimiento junto con el uso de corneas post-mortem de Filatov (2,3) daría pie a la formación de los primeros bancos de ojos. Richard Townley Paton es considerado el pionero al crear el primer banco de ojos (BO) en Nueva York en 1944 (4). En sus inicios, se empleaban tejidos lo más frescos posibles pero la demanda de tejido hizo comenzar a buscar diferentes métodos de conservación para su distribución. En España Aguilar Muñoz, en 1952, crea el primer BO en el Hospital Provincial de Madrid, que estuvo en funcionamiento durante un breve espacio de tiempo. En 1962, Ignacio y Joaquín Barraquer fundan el Banco de Ojos para el Tratamiento de la Ceguera en Barcelona, el primero en la Europa continental que sigue en funcionamiento.

INTRODUCCIÓN

Los bancos de tejidos consolidaron su desarrollo en la mitad del siglo XX. Unas décadas después, los tradicionales bancos quirúrgicos (fundamentalmente, para ojos y huesos) fueron reemplazados por estructuras centralizadas, concentrando infraestructuras y conocimiento experto. De este modo, se proporcionó mayor eficiencia y seguridad. Así, en la actualidad, la mayor parte de los bancos de tejidos procesan y almacenan una notable variedad de células y tejidos humanos (córneas, escleras, membrana amniótica, tejidos músculo-esqueléticos, piel, arterias, válvulas cardíacas, etc.).

En España, en 2016, se aprueba el Plan Nacional de Córneas, incorporando un documento de consenso con recomendaciones básicas dirigidas a la optimización de los procesos de obtención, procesamiento, distribución e implante de este tipo de tejidos.

Diversas asociaciones y entidades científicas especializadas han editado estándares relativos a este tipo de actividad. *European Eye Bank Association (EEBA)* (6), *Eye Bank*

Association of America o Eye Bank Association of Australia and New Zealand y European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM).

PROCESO DE OBTENCIÓN DE TEJIDO DE DONANTE

En general, se estima conveniente no superar las 12 horas desde el fallecimiento hasta el inicio de la extracción (7), pudiendo demorarse hasta las 24 horas si el cadáver ha sido refrigerado antes de las 6 horas. Durante la preservación a temperatura ambiente la formación de humor acuoso puede causar problemas nutricionales en el endotelio corneal, reduciendo menor la viabilidad celular. La conservación en cámara fría (4-8°C) ofrece una mayor probabilidad de supervivencia. Lógicamente, cuanto menos se demore la extracción, será más probable obtener un tejido con mayor calidad.

Selección del donante

El papel de la coordinación hospitalaria de trasplantes resulta trascendental. El mundialmente reconocido *modelo español* encuentra en esta figura uno de sus fundamentos. Entre otras funciones, adquieren especial relevancia la detección y selección de los potenciales donantes. También es reseñable la atención a la familia y la gestión para el pertinente consentimiento para la donación

Criterios de selección (8)

Entre las contraindicaciones absolutas, de tipo general, cabe destacar:

- Causa de muerte desconocida.
- Imposibilidad de realizar una correcta evaluación de la historia clínica y del riesgo social biológico.
- Ingesta o exposición a sustancias tóxicas que se puedan transmitir en dosis tóxicas al receptor de tejidos o a las células (cianuro, plomo, mercurio, oro).
- Enfermedades neurológicas.
- Antecedentes de neoplasia maligna (ver debajo).
- Enfermedad infecciosa transmisible (sida, hepatitis, sífilis, covid-19, etc.).
- Infección sistémica.

Por otro lado, contraindican genéricamente la donación de tejidos oculares:

- Alteraciones morfológicas estructurales de la córnea: Queratocono, Sd de Down,
- Queratoglobo, úlcera corneal.
- Infecciones o inflamaciones oculares activas: conjuntivitis, queratitis, iritis, coroiditis.
- Queratitis herpética. Contraindica las dos córneas.
- Enfermedades que puedan afectar específicamente al tejido, como por ejemplo el síndrome de Marfan.

2.1. Conservación del tejido corneal. Banco de ojos

Lucía Mata Moret, Ramón Calvo Andrés, Vicente Mirabet Lis

- Antecedente de cirugía refractiva, valorándose el tipo de intervención y técnica utilizada.
- Trasplante corneal.
- Pterigion, en aquellos casos que no se invada el eje visual.

El carácter avascular de la córnea le confiere un estatus particular a la hora de evaluar determinados riesgos. Así, en cuanto al riesgo de neoplasias malignas, se ha propuesto aceptar la donación salvo en el caso de retinoblastoma, neoplasia hematológica y otros tumores malignos que puedan metastatizar en el polo anterior del ojo.

En cuanto a la edad del donante, se ha establecido un rango entre 2 y 89 años. Una respuesta inmune impredecible y la limitación del diámetro se han apuntado como razones para el valor mínimo de edad recomendable (9). En cuanto a donantes mayores, hay estudios que demuestran la viabilidad endotelial en estos tejidos, pese a ello, a mayores edades menor es el porcentaje de córneas válidas para trasplantes (10).

Trazabilidad

La gestión de los datos del donante, los tejidos y todas las muestras asociadas se debe realizar de modo anonimizado. El sistema de codificación de cada uno de los elementos debe asegurar su identificación, con las relaciones oportunas, en cualquier fase que se encuentre.

Extracción del tejido

Se deberá realizar por personal especializado en la recuperación de tejido ocular y bajo condiciones de asepsia. Comienza con la desinfección de párpados con povidona yodada e higiene de fondos de saco con suero o solución salina tamponada. Posteriormente, tras la colocación del blefaróstato, se instilará povidona yodada al 5% en fondos de saco.

Se puede realizar la extracción completa del globo ocular o solo del casquete esclero-corneal. Se recomienda garantizar 2-3 mm de rodete escleral para facilitar la eventual disección de lamelas para DSAEK.

Se deberá depositar en el caso del globo ocular en una cámara húmeda con precaución de no dañar el botón corneal; en el caso de la extracción del botón esclero-corneal se deberá preservar en su medio de conservación.

Almacenamiento y preservación del tejido:

Fundamentalmente, en la actualidad se emplean dos tipos de conservación del tejido corneal para su posterior trasplante, en función de la temperatura de almacenamiento.

Conservación en frío

Conservación en cámara húmeda

Inicialmente utilizada en los primeros bancos de tejidos, actualmente desplazada por otras técnicas de conservación.

Medios de cultivo enriquecidos

Es una de las más empleadas actualmente. Estas soluciones tienen su fundamento en el uso de medios basales (de composición definida) que se suplementan con sustancias para mantener la estabilidad de la membrana plasmática y garantizar una correcta funcionalidad celular. Además, suelen incorporar antibióticos que, añadido el efecto de la baja temperatura, reducen el riesgo de crecimiento microbiano. Entre otros, actualmente se disponen de variadas presentaciones: Optisol, Optisol GS, Dexol, Likorol, Eusol-C y el Chen Medium (11-13) con propiedades muy similares, permitiendo la conservación entre 7 y 12 días.

Conservación en caliente

La necesidad de aumentar el tiempo de disponibilidad de los tejidos favoreció el desarrollo de estas técnicas, que utilizan incubadores entre 31-37°C. La mayor proximidad de este rango a la temperatura fisiológica ofrece ventajas para la preservación de la funcionalidad celular. Sin embargo, también exige un estricto control microbiológico. La adición de sustancias bioactivas (citocinas y factores de crecimiento presentes en el suero humano) al medio de cultivo puede optimizar el proceso. La ausencia de dextrano en el medio utilizado, ya que a estas temperaturas podría resultar perjudicial al ser incorporado como sustento por las células, exige la necesidad de un acondicionamiento previo al trasplante, para revertir el edema. Con este sistema, es posible conservar las córneas en condición de uso clínico hasta 5 semanas.

Tabla 1. Tipos de medios de conservación

Medio de conservación	Tiempo recomendado de preservación
Optisol y Optisol GS	< 8 días
Likorol	<7 días
Eusol-C	< 10 días
Chen Medium	< 8 días
Conservación en caliente	< de 4 semanas

2.1. Conservación del tejido corneal. Banco de ojos

Lucía Mata Moret, Ramón Calvo Andrés, Vicente Mirabet Lis

Criopreservación

Se han descrito diversos protocolos de actuación para la criopreservación de tejido corneal. Actualmente sigue siendo un procedimiento complejo que requiere personal y medios especializados. Los riesgos por controlar durante los procesos de congelación y descongelación son: los fenómenos osmóticos originados como consecuencia de las variaciones en el entorno celular y la formación de cristales de hielo intracelulares. Para ello, teniendo en cuenta que se trata de un tejido compacto (a diferencia de las suspensiones celulares) se sugiere utilizar tasas de enfriamiento lentas (en torno a $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$) (14). Con este fin, hay que implementar metodologías validadas. Por otro lado, los componentes celulares (especialmente en lo que se refiere al tapiz endotelial) son accesibles para el empleo de sustancias crioprotectoras. El dimetilsulfóxido y el polietilenglicol son frecuentemente utilizados con esta finalidad (15).

Una vez congeladas, las córneas pueden ser almacenadas durante unos meses a -80°C o, utilizando nitrógeno líquido (-196°C), por varios años.

Inicialmente, la criopreservación de las córneas se plantea con un objetivo tectónico. No obstante, si el desarrollo de estas técnicas lo permite, no sería descartable ampliar a otras indicaciones.

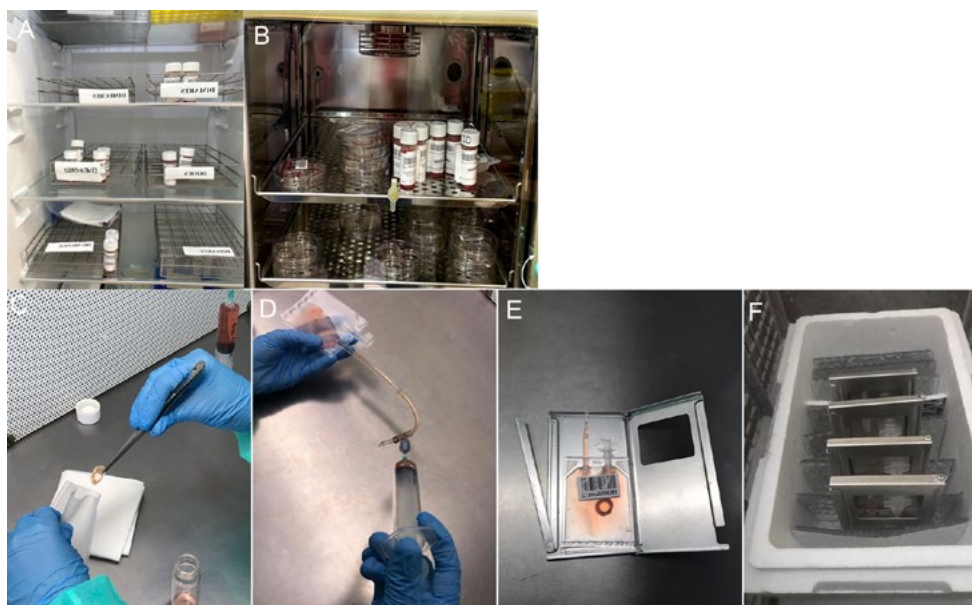


Figura 1: Métodos de conservación. a) Conservación en frío. b) Conservación en caliente. c-f) Método de criopreservación. 1c. Envasado de la córnea. d) Adición de crioprotector. e) Etiquetado y doble protección. f) Congelación a -80°C .

Evaluación del tejido corneal

Debe ser estudiada la viabilidad del tejido corneal, para ello estudiaremos tanto de forma macro como microscópica el tejido con el fin de decidir si el tejido puede ser usado para trasplante penetrante, endotelial o tan solo lamelar anterior.

2.1. Conservación del tejido corneal. Banco de ojos

Lucía Mata Moret, Ramón Calvo Andrés, Vicente Mirabet Lis

Evaluación endotelial

En el banco de tejidos se realiza la exploración mediante microscopía óptica o microscopía especular. En general, por su sencillez y precisión se suele utilizar el microscopio especular, estando muy extendido el uso del *Konan Eye Bank KeratoAnalyzer* que permite evaluar la densidad celular media, el polimegatismo y el pleomorfismo.

Criterios de exclusión (8):

- Baja densidad celular (menor a 2.000 células/mm²).
- Baja hexagonalidad.
- Presencia elevada de cuerpos de Hassal-Henle o guttas.
- Presencia de células inflamatorias o bacterias en el endotelio.

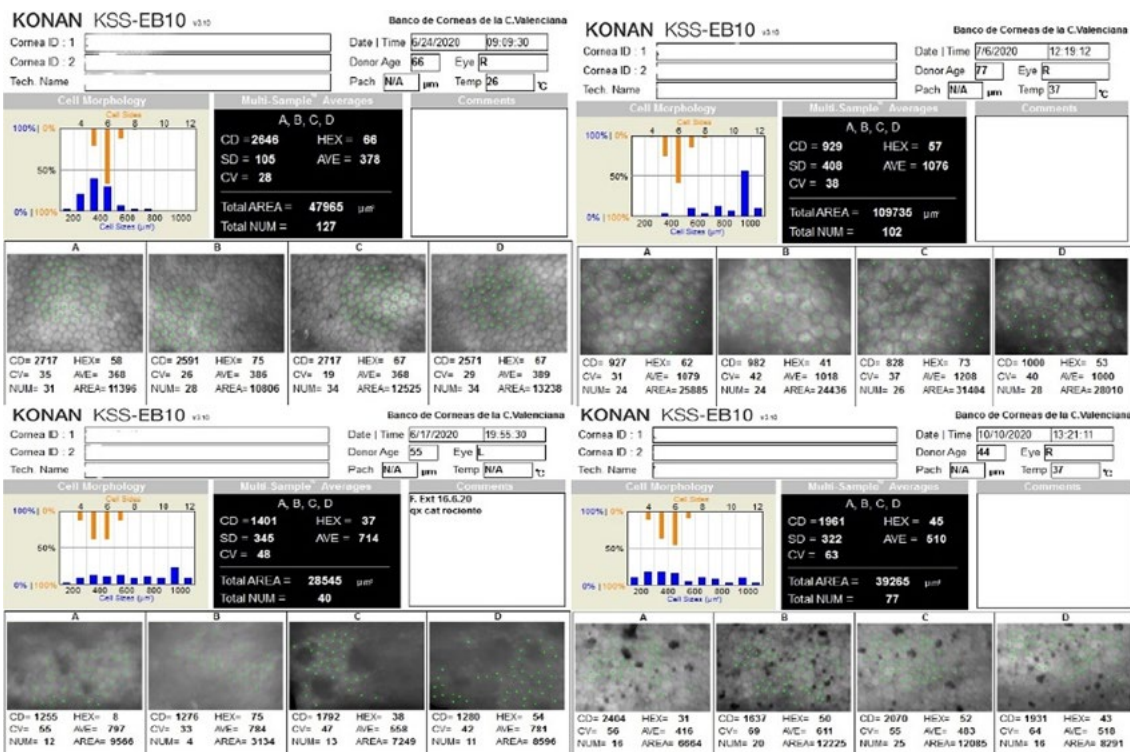


Figura 2: Estudio microscópico. a) Endotelio normal. b) Endotelio con baja celularidad. c) Endotelio con guttas. d) Endotelio con sangre.

Evaluación macroscópica (8)

Se debe realizar la evaluación de la integridad del resto de capas del tejido, mediante el uso de lámpara de hendidura modificada para el banco de tejidos. Los detalles que se suelen valorar son:

- a) Epitelio: si hay desepitelización, opacidades o cuerpos extraños/restos hemáticos.
- b) Estroma: existencia de edema o estrías, leucomas y otras opacidades como arco senil y cicatrices de cirugía.
- c) Endotelio: si hay pliegues, alguna zona de desprendimiento o corpúsculos de guttata, o presencia de restos hemáticos.

2.1. Conservación del tejido corneal. Banco de ojos

Lucia Mata Moret, Ramón Calvo Andrés, Vicente Mirabet Lis

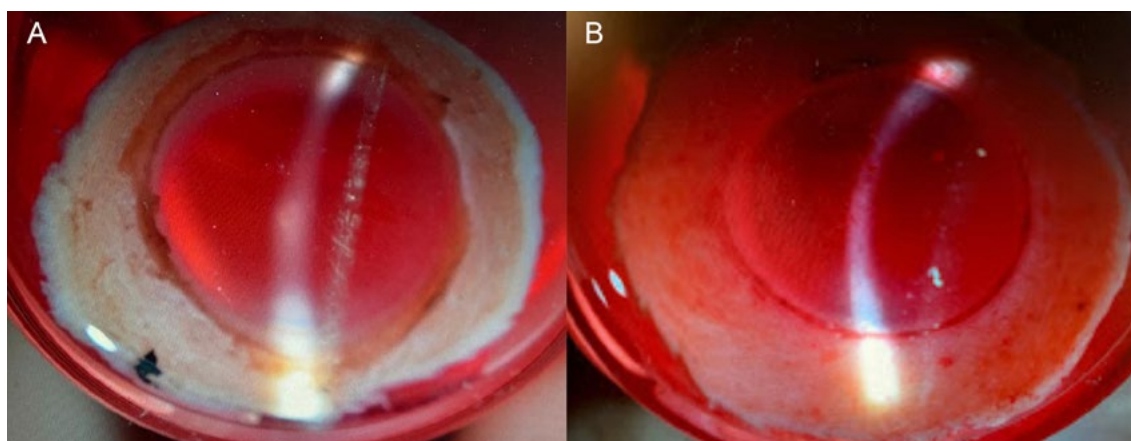


Figura 3: Estudio macroscópico. a) Cornea normal. b) Cornea con sangre.

- d) Anillo limbo-escleral: regularidad, anchura y si existen restos de conjuntiva y/o iris.
- e) Líquido de conservación. Suelen tener un control de pH mediante colorimetría, que podrías indicar una posible colonización bacteriana.

Tejido precortado y obtención de láminas corneales

En la actualidad, se está tratando de trabajar con tejido precortado y con láminas para mejorar los resultados y tiempos quirúrgicos. Se puede realizar laminas para cirugía laminar anterior: DALK (Deep Anterior Lamellar Keratoplasty) que no requieren de un buen recuento celular endotelial, y cirugía laminar posterior: DSAEK (*Descemet Stripping with Automated Endothelial Keratoplasty*), DMEK (Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty) mediante diversas técnicas como son: de forma manual, con microqueratomo o con láser de femtosegundo. (16).

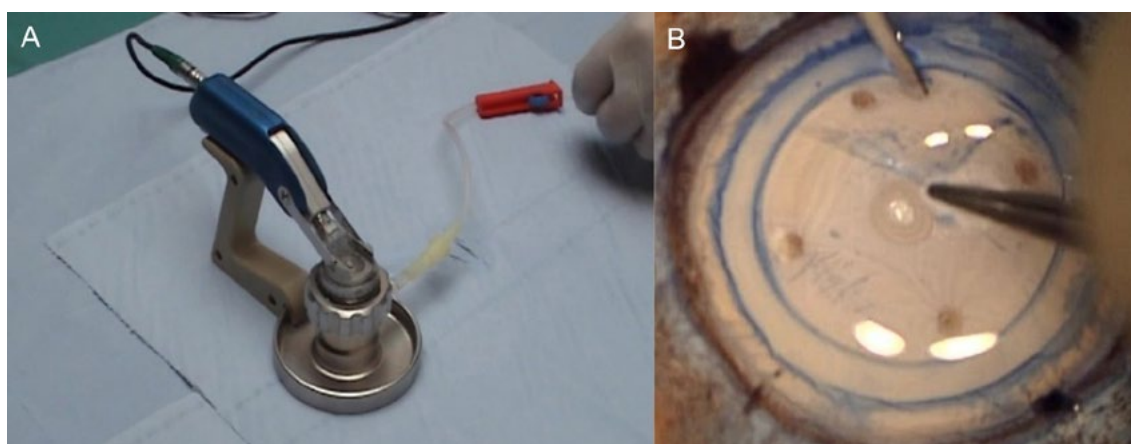


Figura 4: Creación de lamelas. a) Preparación de lamela para DSAEK con microqueratomo Gebauer. b) Preparación de lamela para DMEK mediante técnica de doble trepanación.

Otros tejidos

A pesar de que la cornea es el tejido más importante en el banco de tejidos oculares, existen otros disponibles.

- Esclera:

Habitualmente se almacena a 4-8°C conservada en etanol al 95% durante 1 año. El tejido escleral suele usarse con fines tectónicos en el caso de perforaciones. Suele almacenarse o bien entera (globo ocular) o en cuadrantes. Presenta el inconveniente de que su rigidez dificulta el manejo quirúrgico.

- Tejido limbar:

El tejido limbar tiene una gran importancia al ser el nicho de las células madre limbares, presentes en las criptas de Vogt. Actualmente existen dos tipos de trasplantes de células limbares:

- CLET (Cultured limbal epithelial transplantation)

Se realiza un cultivo ex vivo de células madre limbares sobre una matriz que habitualmente suele ser membrana amniótica. Requiere de unas instalaciones adecuadas para la proliferación y tipificación celular.

- SLET (Simple limbal epithelial transplantation)

Se realiza el implante directo del tejido limbar fragmentado en pequeños trozos, habitualmente utilizando la técnica de sándwich con una doble membrana amniótica que sirve de sustento.

- Membrana amniótica:

Se almacena en pequeños fragmentos de 20 x 20 mm aproximadamente a -80°C. Tiene propiedades antiinflamatorias y regenerativas. Suele utilizarse en cirugías reconstructivas de la superficie ocular, como causticaciones, reconstrucción tras la extirpación de tumores conjuntivales o pequeñas perforaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pellier de Quengsy G: Précis au cours d'opérations sur la chirurgie des yeux. Paris, Didot, 1789.
2. Zirm E: Eine erfolgreiche totale Keratoplastik. Arch Ophthalmol 1906; 64: 580-593.
3. Filatov VP: Transplantation of the cornea. Arch Ophthalmol 1935; 13: 321-347.
4. Filatov VP: Transplantation of the cornea from pre-served cadavers' eyes. Lancet 1937; i: 1395-1397.
5. Magitot A: Transplantation of the human cornea previously preserved in an antiseptic fluid. JAMA 1912; 59: 18-21.
6. EEBA. Published on 2010-02-01. Concept Technical Guidelines for Ocular Tissues Rev. 4.
7. Coster DJ, Alfrich, SJ, Wedding TR, Williams KA. Corneal transplantation: collection, assessment, storage, and distribution of corneas for grafting. Transplantation Proceedings 1987; 19: 2851-2854.
8. Organización Nacional de Trasplantes. Plan Nacional de Córneas. 2016.
9. Belmonte J, Moral R, Vallcanera S. Idoneidad del injerto corneal de donante neonato en la queratoplastia penetrante. Arch Soc Esp Oftalmol 2008; 83: 219-30.
10. Sugar A, Gal RL, Beck W, Ruedy KJ, Blanton CL, Feder RS, Hardten DR, Holland EJ, Lass JH, Mannis MJ, O'Keefe MB; Cornea Donor Study Group. Baseline donor characteristics in the Cornea Donor Study. Cornea 2005; 24: 389-96.

2.1. Conservación del tejido corneal. Banco de ojos

Lucia Mata Moret, Ramón Calvo Andrés, Vicente Mirabet Lis

11. Kaufmann HE, Beuerman RW. Optisol corneal storage medium. Arch Ophthalmol 1991; 109: 864-868.
12. Lindstrom RL, Kaufman HE. Optisol corneal storage medium. Am J Ophthalmol 1992; 114: 345-356.
13. Chen CH, et al. Efficacy of media enriched with non lactate-generating substrate for organ preservation: in vitro and clinical studies using the cornea model. Transplantation 1999; 67: 800-8.
14. Okumura N, Kagami T, Watanabe K, Kadoya S, Sato M, Koizumi N. Feasibility of a cryopreservation of cultured human corneal endothelial cells. PLoS One. 2019 Jun 21; 14(6): e0218431. doi: 10.1371/journal.pone.0218431. PMID: 31226131; PMCID: PMC6588235.
15. Halberstadt M, Athmann S, Hagenah M. Corneal cryopreservation with dextran. Cryobiology. 2001 Aug; 43(1): 71-80. doi: 10.1006/cryo.2001.2342. PMID: 11812053.
16. L, Sánchez JC, Portela MÁ, et al. Manejo del tejido corneal donante en el banco de ojos. 2006.

PREGUNTA TIPO TEST

(pulse en la flecha para comprobar las respuestas)

- a) Un paciente de 62 años diagnosticado de alzheimer no presenta ninguna contraindicación para la donación de corneas.
- b) En la evaluación del tejido corneal una cornea con una celularidad endotelial de 1200 células/mm² se puede utilizar para una cirugía DALK.
- c) La criopreservación del tejido corneal es un proceso complejo y en desarrollo por lo que la utilización de tejido criopreservado se reserva a cirugías tectónicas.
- d) Por encima de 80 años el tejido corneal es desestimado pues se considera que no tiene una celularidad endotelial suficiente.
- e) Actualmente no es posible realizar el trasplante de limbo o células limbares.