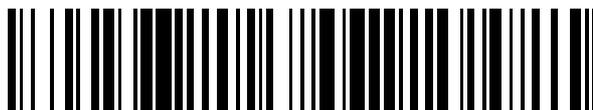


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 818**

51 Int. Cl.:

A61K 49/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.04.2011 PCT/NL2011/050218**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.10.2011 WO11122947**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2011 E 11714127 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.03.2018 EP 2552491**

54 Título: **Composición de tinción para usar en un método de cirugía ocular**

30 Prioridad:

03.06.2010 EP 10164866

01.04.2010 EP 10159021

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.06.2018

73 Titular/es:

**D.O.R.C. DUTCH OPHTHALMIC RESEARCH
CENTER (INTERNATIONAL) B.V. (100.0%)
Scheijdelveweg 2
3214 VN Zuidland, NL**

72 Inventor/es:

MELLES, GERRIT REINOLD JACOB

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 670 818 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de tinción para usar en un método de cirugía ocular

5 La invención se dirige a una composición de tinción para usar en un método de cirugía ocular.

Para facilitar la cirugía ocular, los métodos de tinción se usan para distinguir un tejido ocular del otro.

10 Por ejemplo, en la cirugía vitreoretinal, la membrana de la retina puede teñirse para distinguirla visualmente del tejido retiniano circundante o subyacente sano. La cirugía vitreoretinal es una cirugía que tiene como objetivo proporcionar un tratamiento para un trastorno relacionado con la retina, el vítreo y/o la mácula. Los ejemplos de tales trastornos incluyen desprendimiento de retina, fruncimiento macular, agujero macular, degeneración macular, retinopatía diabética y uveítis. En la cirugía vitreoretinal, a menudo se elimina una membrana de la retina. La tinción de una de las membranas de la retina hace que sea más fácil distinguir los diferentes tejidos oculares y eliminar completamente la membrana de la retina sin dañar el tejido retiniano circundante.

15 Otro ejemplo de cirugía ocular en donde se usa la tinción para distinguir diferentes tejidos oculares es la cirugía de cataratas. Un ejemplo de cirugía de cataratas es la extracción de cataratas, en donde el cristalino se retira del ojo. Mediante la tinción selectiva del material lenticular debajo de la cápsula anterior del cristalino, la cápsula anterior del cristalino puede distinguirse más fácilmente, lo que facilita la cirugía.

20 Los colorantes o mezclas de colorantes adecuados para la tinción que se usan en cirugía ocular deben ser no tóxicos y aceptables fisiológicamente. Además, el colorante debe ser preferentemente capaz de teñir un tejido ocular o un componente de tejido ocular sin difundirse a través de dicho tejido o componente, para evitar que el tejido circundante también se tiña.

25 WO-A-86/02548 describe una composición para su uso en oftalmología que contiene una solución acuosa de un polímero de alto peso molecular y un colorante polimérico que tiene un peso molecular superior a 10,000. El polímero de alto peso molecular es preferentemente un polisacárido, tal como dextrano, un derivado de la celulosa, el almidón o un derivado del almidón, o una proteína. También se mencionan ejemplos de polímeros sintéticos. Los únicos ejemplos que se mencionan para el colorante son colorantes reactivos.

30 EP-A-1 132 065 describe composiciones viscoelásticas coloreadas. Los ejemplos de composiciones viscoelásticas que se mencionan incluyen ácido hialurónico, sulfato de condroitina, ácido algínico, polisacáridos, polinucleótidos, proteínas, celulosa y derivados de la celulosa y polímeros sintéticos tales como ácido acrílico y polímeros de ácido metacrílico.

35 WO-A-99/58159 describe el uso de un colorante vital para teñir una membrana retiniana en un ojo. Tal uso de un colorante vital permite al cirujano distinguir visualmente las membranas retinianas de la retina subyacente, de modo que las membranas pueden identificarse mejor durante la cirugía, por ejemplo, para prevenir la eliminación incompleta de las membranas o el daño a la retina misma. Los ejemplos de colorantes vitales adecuados son el azul de tripano, el rojo de tripano, el azul de cresilo brillante y el verde de indocianina.

40 WO-A-99/58160 describe un método para realizar una capsulorrexis, una técnica que se usa para extraer la cápsula del cristalino durante la cirugía de catarata, método en el que una cápsula del cristalino se tiñe usando al menos un colorante, el cual es capaz de teñir el tejido sin difundirse a través de dicho tejido. Los ejemplos de colorantes adecuados son el azul de tripano, el rojo de tripano y el azul de cresilo brillante.

45 Kudo K y otros describe cómo evitar la tinción del vítreo durante la cirugía de cataratas (ver Folia Ophthalmologica Japonica, Osaka JP, vol. 56, n. 3, 1 de enero de 2015).

50 US 2004/019010 se refiere a agentes viscosos o viscoelásticos mejorados para su uso en procedimientos quirúrgicos oftálmicos, que mantienen una alta viscosidad durante el procedimiento quirúrgico, pero pierden rápidamente la viscosidad después del cierre de la cirugía. Oberstein y otros describen una composición de tinción que comprende azul de tripano y glucosa para su uso en un procedimiento quirúrgico oftálmico (ver British Journal of Ophthalmology, vol. 91, n. 7, julio de 2007 (2007-07), páginas 955-957). Las composiciones de tinción de acuerdo con la técnica anterior se aplican típicamente a la superficie del tejido ocular a teñir. La composición de tinción se dejará extender después a través de este tejido al permitir que la composición de tinción se adentre o penetre en el tejido bajo la fuerza de la gravedad.

55 La composición de tinción de la técnica anterior tiene varias desventajas cuando se usa en cirugía ocular.

60 Las desventajas de la composición de tinción de la técnica anterior están relacionadas en particular con el enjuague del tejido ocular durante la cirugía ocular. Durante la cirugía ocular, la mayoría de los tejidos deben enjuagarse continuamente con una solución salina de enjuague para reducir los riesgos de inflamación, infección y daño tisular.

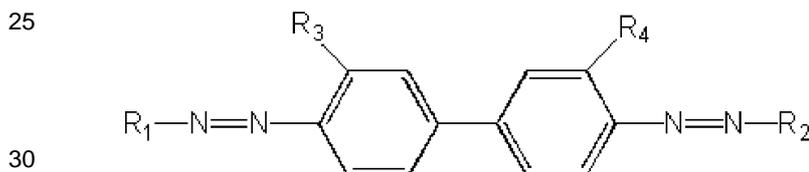
65

Una primera desventaja de la composición de la técnica anterior es que después de aplicar dicha composición al tejido ocular, el enjuague puede eliminar parcialmente el colorante. En consecuencia, el tejido puede no teñirse de manera adecuada.

5 Una desventaja adicional es que el colorante en la composición de tinción de la técnica anterior puede tener el efecto secundario indeseable de teñir también la solución de enjuague. Una solución de enjuague teñida oscurece la visibilidad del tejido objetivo. En consecuencia, la cirugía ocular solamente puede continuar después del lavado completo de la solución de enjuague teñida. Además, la solución de enjuague teñida puede tener un efecto no deseado de tinción sobre otros tejidos o en otras partes del ojo.

10 Una desventaja adicional de las composiciones de tinción de la técnica anterior es que la composición de tinción puede todavía difundirse parcialmente a través del tejido ocular al que se aplica el colorante. Esto disminuye la separación nítida entre el tejido ocular teñido y el tejido circundante. En consecuencia, un cirujano tendrá más dificultad para distinguir visualmente el tejido ocular teñido del tejido circundante.

15 El objetivo de la presente invención es superar al menos una de las desventajas descritas anteriormente. En un primer aspecto, este objetivo se consigue al proporcionar una composición de tinción para su uso en un procedimiento de cirugía ocular, cuyo método comprende teñir un tejido ocular o parte de un tejido ocular, en donde la composición de tinción comprende un colorante vital y un compuesto que aumenta la densidad que se selecciona del grupo que consiste en polímeros solubles en agua, en donde el polímero soluble en agua es polietilenglicol y en donde el colorante se selecciona del grupo que consiste en azul de metileno, azul brillante G, azul brillante R, azul patente V, Chicago azul cielo 6B, azul de tripano, rojo de tripano, azul de cresilo brillante, verde de indocianina y un compuesto que tiene la fórmula



35 en donde R_1 y R_2 son los mismos o diferentes grupos arilo, y en donde R_3 y R_4 se seleccionan independientemente de hidrógeno, metilo, etilo, metoxi, amino, hidroxilo y sulfonato.

Los inventores notaron que las desventajas descritas anteriormente se relacionaban principalmente con la lenta interacción entre el colorante y el tejido objetivo. Además, notaron de que al menos algunas de estas desventajas descritas anteriormente podrían resolverse disminuyendo el tiempo que tarda la composición de tinción en adentrarse o penetrar en el tejido ocular después de aplicarse a la superficie de dicho tejido.

40 Por lo tanto, se descubrió que, mediante el aumento de la densidad de una composición de tinción, el tiempo que tardan las composiciones de tinción en adentrarse o penetrar en el tejido ocular cuando se aplica a la superficie de dicho tejido disminuyó. Se descubrió que el aumento de la densidad de la composición de tinción podría lograrse mediante el uso de un polímero soluble en agua, en particular polietilenglicol.

Otra ventaja de la invención es que la presencia del polímero soluble en agua no afecta, o al menos no en un grado perjudicial significativo, la estabilidad del colorante vital. Esto es sorprendente, porque la mayoría de los colorantes vitales son relativamente inestables y la adición de compuestos, tal como un tampón de fosfato, a una composición de tinción, puede aumentar la velocidad de degradación del colorante vital. De acuerdo con la invención, se encontró que este no es el caso. Incluso se encontró que la estabilidad del colorante vital puede incrementarse por la presencia de polietilenglicol (PEG). Este efecto beneficioso se observó particularmente para una composición de tinción que comprende azul de tripano y polietilenglicol.

55 Sin el deseo de apegarse a ninguna teoría, se supone que tanto el pH de la composición de tinción como la actividad del agua de la misma juegan un papel en la degradación de los colorantes vitales. Se espera que el compuesto que aumenta la densidad disminuya la actividad del agua en la composición de tinción, lo que conduce a una menor velocidad de degradación de los colorantes vitales.

60 El compuesto que aumenta la densidad proporciona la composición de tinción de la invención con una mayor densidad. Por lo tanto, la composición también puede denominarse una composición de tinción aumentada en peso. La composición de tinción de la invención proporciona así una distribución más precisa, por ejemplo, al aplicar el colorante de manera más local, una tinción más intensa, un menor riesgo de tinción no deseada de otro tejido (tinción colateral) y/o una reducción del riesgo de tinción de la solución de enjuague que se usa durante la cirugía ocular.

65

El término "colorante vital" como se usa en la presente descripción se refiere a un colorante que tiene una coloración suficiente, o capacidad de tinción, a una concentración que es aceptable fisiológica y toxicológicamente. Por lo tanto, un colorante de este tipo puede usarse en un entorno (in-vivo) de células y tejidos vivos. En otras palabras, la cantidad mínima de colorante que es necesaria para proporcionar una tinción suficiente para que sea visible una coloración útil debe ser baja hasta tal punto que no se produzca ningún, o casi ningún efecto tóxico adverso. Preferentemente, el colorante no es, o es al menos apenas tóxico para la retina y las estructuras adyacentes. Se prefiere, además, que no haya sustancialmente trazas del colorante en el ojo, poco después de que se complete el procedimiento de cirugía ocular. Como resultado, apenas existe riesgo de que el paciente experimente efectos secundarios por el uso del colorante.

El término "densidad" como se usa en la presente descripción se refiere a la densidad de flotación. La presencia del compuesto que aumenta la densidad aumenta así la densidad de flotación de la composición de tinción en comparación con una composición de tinción donde tal compuesto que aumenta la densidad está ausente. La densidad de flotación de la composición de tinción puede calcularse, por ejemplo, tomando el peso total de un cierto volumen de la composición de tinción y restando el peso total de fluido ocular desplazado por dicho volumen de la composición de tinción.

El término "compuesto que aumenta la densidad" se refiere a polietilenglicol, cuyo compuesto, cuando está presente en una composición de tinción, reduce el tiempo que tardan las composiciones de tinción en adentrarse o penetrar en el tejido ocular cuando se aplican a la superficie de dicho tejido, particularmente mediante el aumento de la densidad de flotación de la composición de tinción.

El término "tejido ocular" como se usa en la presente descripción puede referirse a cualquier tejido presente en el ojo. En particular, el tejido ocular puede referirse a la membrana retiniana del ojo y a la cápsula del cristalino del ojo.

El término "membrana retiniana" como se usa en la presente descripción se refiere al tejido de la membrana de la retina patológica, tejido de la membrana de la retina parcialmente patológica y tejido de la membrana de la retina sana. Por lo tanto, el término "membrana retiniana" abarca, *por ejemplo*, membranas de vitreoretinopatía proliferativa (PVR), membranas epirretinianas, membrana limitante interna (engrosada o alterada) (ILM) y membranas vítreas, así como también elementos o componentes de estas membranas.

El término "tejido subyacente o circundante" puede referirse al tejido que está adyacente o debajo del tejido ocular que va a teñirse. En particular, el tejido circundante puede referirse al tejido subyacente del tejido ocular a teñirse, para distinguir visualmente el tejido patológico del tejido no afectado principalmente por la enfermedad.

Preferentemente, el compuesto que aumenta la densidad no afecta, o al menos no significativamente, las propiedades de tinción del colorante vital usado.

El compuesto que aumenta la densidad es preferentemente no iónico debido a la dificultad de controlar la osmolaridad de las composiciones de tinción que comprenden compuestos que aumentan la densidad ionogénica.

El PEG tiene preferentemente un peso molecular en el intervalo de 600 - 100000, con mayor preferencia en el intervalo de 2 000 - 10 000. Se descubrió que el uso de PEG como polímero soluble en agua puede proporcionar la ventaja adicional de disminuir, o al menos no aumentar, la velocidad de degradación del colorante. Se encontró que este efecto es particularmente fuerte para el azul de tripano.

Se descubrió además que la presencia de glucosa y/o maltosa en una composición de tinción aumentó significativamente la velocidad de degradación. Aunque una composición de tinción que comprende glucosa y/o maltosa también aumentó la densidad y/o viscosidad de la composición de tinción, se descubrió que dicha composición era menos adecuada para su uso en cirugía ocular que la composición de la invención. Una composición de tinción que comprende glucosa y/o maltosa, además de su inestabilidad química, se mezcla relativamente rápido con la solución de enjuague en comparación con la composición de tinción de la invención.

Si el peso molecular del compuesto que aumenta la densidad se selecciona demasiado pequeño, el compuesto que aumenta la densidad puede no ser suficientemente efectivo para aumentar la densidad de la composición de tinción. Por lo tanto, el compuesto que aumenta la densidad tiene preferentemente un peso molecular de al menos 50 g/mol, con mayor preferencia al menos 100 g/mol, aún con mayor preferencia al menos 300 g/mol, aún con mayor preferencia al menos 600 g/mol, aún con mayor preferencia al menos 800 g/mol, aún con mayor preferencia al menos 1000 g/mol. Por ejemplo, ambos PEG600 y Nycodenz®, que tienen una masa molecular de 821 g/mol, pueden usarse adecuadamente como un compuesto que aumenta la densidad. Cuando se usa PEG como un compuesto que aumenta la densidad, el peso molecular de PEG es preferentemente de 600 g/mol o superior por razones de osmolaridad (véase también a continuación). Las cantidades efectivas de polímeros de PEG más pequeños en la composición de tinción de la invención pueden dar como resultado una osmolaridad que puede ser demasiado alta.

El compuesto que aumenta la densidad preferentemente tiene un peso molecular de 500 000 g/mol como máximo, con mayor preferencia 100 000 g/mol como máximo, con la máxima preferencia 40 000 g/mol como máximo. Si el peso

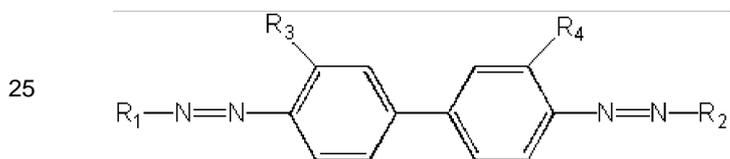
5 molecular del compuesto que aumenta la densidad se selecciona demasiado alto, por ejemplo, por encima de 40 000 g/mol, el cuerpo puede tener dificultad para eliminar del organismo el compuesto que aumenta la densidad (ver también "Fate of water-soluble polymers administered via different routes, Tetsuji Yamaoka, Yasuhiko Tabata, Yoshito Ikada, J. Pharm. Sci. 84 (3), páginas 349 - 354"). Una desventaja adicional de tener un alto peso molecular para el compuesto que aumenta la densidad es que una composición de tinción que comprende polímeros que tienen un alto peso molecular puede ser demasiado viscosa, lo que puede causar problemas cuando se aplica la composición de tinción y/o más tarde cuando está presente en el tejido teñido.

10 La masa molecular del polímero soluble en agua puede determinarse usando, por ejemplo, cromatografía de exclusión molecular acoplada con detección de dispersión de luz láser multiangular.

15 La composición de tinción preferentemente tiene una densidad de más de $1003 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ y menos de $1040 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, con mayor preferencia una densidad de $1004 - 1026 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, medido a una temperatura de 298 K. Esta densidad es más alta que la de las composiciones de tinción de la técnica anterior, que típicamente tienen una densidad de $1003 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ a 298 K. La densidad puede medirse mediante el uso de un picnómetro, como se describe en "Density and Viscosity of Concentrated Aqueous Solutions of Polyethylene Glycol" por Pedro Gonzalez-Tello, Fernando Camacho, y Gabriel Blizquez en J. Chem. Eng. Datos 1994,39, 611-614.

20 Preferentemente, se usa un colorante vital que es capaz de teñir el tejido sin difundirse a través de dicho tejido.

Se han logrado resultados particularmente buenos mediante el uso de un colorante vital que tiene la fórmula



30 en donde R_1 y R_2 son los mismos o diferentes grupos arilo, y en donde R_3 y R_4 se seleccionan independientemente de hidrógeno, metilo, etilo, metoxi, amino, hidroxilo y sulfonato. R_1 y R_2 son preferentemente los mismos y están formados por grupos naftilo sustituidos. Preferentemente, los grupos naftilo están sustituidos con uno o más de los grupos sulfonato, grupos amino y grupos hidroxilo. Se encontró que estos colorantes se unen predominantemente al tejido fibroso, tal como el tejido de las membranas de la retina, lo que los hace particularmente adecuados para su aplicación en cirugía vitreoretinal.

35 Preferentemente, el colorante se selecciona del grupo que consiste en azul de metileno (MB), azul brillante G (BBG), azul brillante R (BBR), azul patente V, Chicago azul cielo 6B (también conocido como Azul Directo 1 y Pontamina azul cielo), azul de tripano (TB), rojo de tripano, azul de cresilo brillante, verde de indocianina. Se encontró que estos colorantes proporcionan una tinción claramente visible en cantidades muy bajas. Además, tienen un perfil de toxicidad ventajoso.

45 Preferentemente, el colorante comprende un primer y un segundo colorante, donde el primer colorante es azul de tripano (TB) o Chicago azul cielo 6B y el segundo colorante se selecciona del grupo que consiste en azul brillante G (BBG), verde claro SF amarillento (LG), rojo de fenol, rojo de clorofenol β -D-galactopiranosido (CPRG), rosa de bengala (4,5,6,7-tetracloro-2',4',5',7'-tetraiodofluoresceína, floxanina B y safranina T. Con mayor preferencia, el colorante es una combinación de azul de tripano (TB) y azul brillante G (BBG).

50 La presencia de azul de tripano y un segundo colorante como se definió anteriormente en la composición de tinción tiene la ventaja de que proporciona la tinción de diferentes tejidos oculares con diferentes colorantes, lo que facilita distinguir visualmente los diferentes tejidos oculares entre sí durante la cirugía. Particularmente, el azul de tripano teñirá principalmente la membrana epirretiniana, mientras que el segundo colorante teñirá principalmente la membrana limitante interna.

55 La relación en peso del primer colorante (azul de tripano) al segundo colorante en el colorante de la composición de tinción está preferentemente entre 1:1 y 100:1, con mayor preferencia entre 2:1 y 25:1, aún con mayor preferencia entre 4:1 y 15:1. La composición de tinción puede proporcionarse en forma sólida, donde un líquido, *por ejemplo*, una solución acuosa puede agregarse más tarde para preparar una composición líquida fresca para su uso en cirugía ocular.

60 La composición de tinción de la invención puede ser una composición de tinción líquida, particularmente una composición de tinción acuosa. En este caso, la composición de tinción es preferentemente una solución acuosa o una dispersión coloidal. El compuesto que aumenta la densidad puede disolverse en la composición de tinción líquida o dispersarse en la composición de tinción líquida como partículas coloidales.

65

ES 2 670 818 T3

La concentración del compuesto que aumenta la densidad en la composición de tinción líquida es preferentemente al menos 4 g/L, con mayor preferencia 10 g/L, con mayor preferencia al menos 20 g/L, aún con mayor preferencia al menos 40 g/L.

5 La concentración del compuesto que aumenta la densidad es preferentemente al menos 1% en peso y con mayor preferencia 2 - 10% en peso, con mayor preferencia 3 - 6% en peso basado en el peso total de la composición de tinción. La concentración del compuesto que aumenta la densidad es preferentemente menor que 50 % en peso, basado en el peso total de la composición de tinción.

10 Se encontró que la viscosidad de la composición de tinción líquida puede influir en la velocidad de mezclado con el líquido de enjuague. Una composición de tinción líquida que tiene una viscosidad suficientemente alta puede mostrar una velocidad de mezclado deseable baja con el líquido de enjuague, lo que permite de esta manera una concentración del colorante particularmente alta y estrechamente localizada tras la aplicación a la superficie del tejido a teñir. Esto es conveniente, porque permite una disminución en el tiempo que tardan las composiciones de tinción en penetrar en el
15 tejido ocular cuando se aplican a la superficie de dicho tejido y/o reduce el riesgo de una tinción no deseada del tejido circundante. Por lo tanto, la viscosidad de la composición de tinción líquida es preferentemente de al menos 2,0 mPa.s, con mayor preferencia de al menos 2,2 mPa.s, aún con mayor preferencia de 2,5 mPa.s. Además, la viscosidad de la composición de tinción es preferentemente menor que 18 mPa.s, con mayor preferencia menor que 9 mPa.s. Una
20 composición de tinción con una viscosidad demasiado alta puede dar como resultado una tasa de tinción demasiado baja, debido a que la velocidad de difusión de un colorante vital en una composición viscosa es menor en una composición que tiene una viscosidad más alta que en una composición con una viscosidad más baja. La viscosidad tal como se usa en la presente descripción se refiere en particular a la viscosidad dinámica. Los valores de viscosidad se determinaron mediante el uso de un reómetro a una temperatura de 298 K.

25 La composición de tinción puede comprender además una sal. La composición de tinción líquida es preferentemente isotónica con respecto al fluido ocular. Para este fin, la composición de tinción líquida puede comprender una sal para ajustar su osmolaridad a un valor adecuado. La composición de tinción de la invención tiene preferentemente una osmolaridad entre 250 y 400 mosmol/L, preferentemente 300-330 mosmol/L, por ejemplo 315 mosmol/L. El experto en la técnica podrá calcular la cantidad de sal necesaria para lograr esto.

30 La sal puede seleccionarse del grupo que consiste en cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, cloruro de magnesio o una combinación de los mismos. Para proporcionar la composición de tinción con una sal, la composición de tinción puede comprender una solución salina. Ejemplos adecuados son solución salina equilibrada o solución Lactato de Ringer Hartmann (ver también Nuijts RMMA, Edelhauser HF, Holley GP, "Intraocular irrigating solutions: a
35 comparison of Hartmann's lactated Ringer's solution, BSS and BSS plus", Clin. Exp. Ophthalmol., vol. 233 (1995), páginas 655-661).

Se prefiere además que la composición de tinción líquida tenga un pH neutro, es decir un pH de 6,5 - 7,5. Por lo tanto, la
40 composición de tinción puede comprender un tampón, preferentemente un tampón salino, que tiene las propiedades para ser usado en aplicaciones oftálmicas. Un ejemplo de un tampón adecuado es NaCl tamponado con fosfato, disponible comercialmente en NPBI, Emmer-Compasuum, Países Bajos.

45 La concentración del colorante en la composición de tinción líquida es preferentemente de 0,001 - 2 % en peso, con mayor preferencia de 0,01 - 1 % en peso, aún con mayor preferencia de 0,1-0,5 % en peso basado en el peso total de la composición de tinción. Dentro de este intervalo, la concentración puede adaptarse a las características de toxicidad y coloración del colorante usado. Se prefiere seleccionar una cantidad tal que se logre un efecto de tinción óptimo, mientras que al mismo tiempo se minimice el riesgo de un posible daño ocular o a cualquier parte del ojo debido a la toxicidad del colorante.

50 Por ejemplo, una composición líquida de tinción puede comprender 0,05 - 0,5 % en peso de TB, 0,01-0,1 % en peso de BBG y 1-10% en peso de PEG en base al peso total de la composición de tinción.

Para ciertas aplicaciones, por ejemplo, en algunas aplicaciones en las que la composición de tinción se aplica a la
55 cápsula anterior del cristalino, puede ser conveniente que la composición de tinción sea una dispersión o una solución viscosa o viscoelastomérica. Por ejemplo, la composición de tinción puede comprender ácido hialurónico (ver WO-A-96/32929). Estará dentro de la experiencia estándar de la persona experta en la técnica seleccionar una forma adecuada para la solución. Por ejemplo, puede desearse una mayor viscosidad para reducir la tensión sobre la cápsula lenticular durante la capsulorrexia o para proteger la córnea.

60 Cada componente en la composición de tinción tiene preferentemente una concentración en la composición de tinción que es aceptable fisiológica y toxicológicamente. En otras palabras, la cantidad mínima de cada componente en la composición de tinción debe ser suficientemente baja de manera que no se produzcan o se produzcan escasos efectos tóxicos adversos. Preferentemente, cada componente en la composición de tinción no es, o es al menos escasamente,
65 tóxico para la retina y las estructuras adyacentes. Se prefiere, además, que el contenido de cada componente en la composición de tinción presente en el ojo, poco después de la cirugía ocular, no represente ningún riesgo de que el paciente experimente efectos secundarios por el uso de la composición de tinción.

La presente descripción se refiere además a un método para preparar una composición de tinción, que comprende la etapa de disolver en un líquido, un colorante vital y un compuesto que aumenta la densidad y la viscosidad.

5 El colorante vital y el compuesto que aumenta la densidad usados en el método de la descripción son como se describió anteriormente. El líquido usado en el método de la descripción se selecciona preferentemente del grupo que consiste en agua, una solución salina o un tampón, tal como un tampón salino. Los ejemplos de soluciones salinas o tampones adecuados se describieron anteriormente.

10 El método puede comprender además la etapa de disolver una sal en el líquido para ajustar la osmolaridad del líquido a un valor entre 250 y 400 mosmol/L, preferentemente 315 mosmol/L.

15 La composición de tinción se usa en el tratamiento de tinción de un tejido ocular o parte de un tejido ocular. La tinción de al menos parte de un tejido ocular puede usarse en muchos tipos de cirugía ocular para facilitar el trabajo del cirujano al hacer más fácil la distinción visual de un tejido ocular del otro.

20 En particular, la composición de tinción puede usarse para teñir un primer tejido ocular de manera que se distinga de un segundo tejido ocular. El primer tejido ocular puede ser el tejido circundante o subyacente del segundo tejido. Alternativamente, el segundo tejido ocular puede ser el tejido circundante o subyacente del primer tejido.

25 El tratamiento de tinción de al menos parte de un tejido ocular es parte de una cirugía ocular, por ejemplo, cirugía vitreoretinal o extracción de cataratas. Dicha cirugía puede realizarse para tratar diversas afecciones. La cirugía que tiene como objetivo proporcionar un tratamiento para un trastorno relacionado con la retina, el vítreo y/o la mácula se conoce como cirugía vitreoretinal. Los ejemplos de tales afecciones incluyen desprendimiento de retina, fruncimiento macular, agujero macular, degeneración macular, retinopatía diabética y uveítis. La cirugía ocular también puede realizarse para tratar las cataratas. Esta afección puede tratarse con un procedimiento quirúrgico llamado extracción de cataratas.

30 La composición de tinción puede usarse en la cirugía de glaucoma para visualizar el canal de Schlemm y/o para evaluar si la ampolla de filtración conjuntival es potente. Ejemplos de cirugía de glaucoma son la trabeculectomía y la introducción de un implante de drenaje de glaucoma, tal como un implante Baerveldt.

35 La composición de tinción puede usarse en un método o procedimiento para llevar a cabo la eliminación de la membrana retiniana, en donde la composición de tinción se usa para teñir la membrana retiniana. La membrana retiniana eliminada en dicho método o procedimiento puede ser, por ejemplo, la membrana vitreoretiniana proliferativa, la membrana epirretiniana o la membrana limitante interna.

40 La composición de tinción también puede usarse en un método o procedimiento para realizar una capsulorrexis, en donde una cápsula del cristalino de un ojo se tiñe mediante el uso de la composición de tinción. En este caso, la composición de tinción puede ser capaz de teñir el tejido sin difundirse a través de dicho ojo.

45 Puede ser importante notar que, de acuerdo con la invención, el colorante no se usa para tener un efecto diagnóstico o terapéutico. El contraste que se produce por la tinción del tejido solamente es visible y/o útil *en combinación con* la manipulación quirúrgica real, por ejemplo, la eliminación del tejido. En otras palabras, el colorante no se aplica sobre el tejido, proporciona o confirma un diagnóstico, ya que la transparencia de los medios oculares permite a los profesionales médicos establecer el tipo de patología (es decir, llegar a un diagnóstico) antes de la cirugía. Además, el colorante no tiene ningún efecto terapéutico y no actúa como un adyuvante. El propósito de teñir el tejido es simplemente producir un contraste entre las diferentes estructuras del tejido durante un procedimiento quirúrgico.

50 En el ojo normal, la retina se localiza en el segmento posterior del ojo, detrás del corpus vitreum. La retina es una membrana fina y translúcida que descansa sobre una única capa de epitelio pigmentado, que se extiende desde la ora serrata hasta el disco óptico. Consiste en células fotorreceptoras (varillas y conos), que están conectadas a vías neuronales que terminan en fibras no mielinizadas. Estos se combinan para formar el nervio óptico. La estructura más interna de la retina es la membrana limitante interna.

55 El vítreo es un gel claro, transparente y semisólido que ocupa aproximadamente dos tercios del volumen del globo, que se extiende desde el cristalino hasta el disco óptico. Es un espacio de tejido conectivo donde la mayor porción del espacio está formada por colágeno intercelular y redes de ácido hialurónico. El vítreo está en estrecho contacto con el epitelio de la pars plicata y pars plana, ora serrata y la membrana limitante interna de la retina hasta el disco óptico. La base vítrea representa la unión más sólida del vítreo a la pared del ojo. Se extiende a ambos lados de la ora extendiéndose anteriormente en la pars plana sobre 1,5 a 2 mm y posteriormente en la retina sobre 3 a 4 mm.

60 El desprendimiento de retina típicamente ocurre en personas mayores. Cuando las personas crecen, el cuerpo vítreo puede encogerse y desprenderse de la retina. En efecto, la retina se desprende del tejido de soporte vítreo, lo que puede llevar a la pérdida de la visión e incluso a la ceguera. La mayoría de los desprendimientos de retina son el resultado de una ruptura de la retina, un agujero o una rotura. Estas roturas retinianas pueden ocurrir cuando el gel

vítreo se suelta o se separa de su unión a la retina, generalmente en las partes periféricas de la retina. Una vez que la retina se rompe, el líquido del gel vítreo puede pasar a través de la rotura y acumularse detrás de la retina. La acumulación de líquido detrás de la retina es lo que separa (desprende) la retina de la parte posterior del ojo. A medida que se acumula más líquido vítreo detrás de la retina, la extensión del desprendimiento de retina puede progresar e involucrar toda la retina, lo que lleva a un desprendimiento total de retina.

Los desprendimientos de retina pueden repararse en un procedimiento llamado vitrectomía combinado con una hebilla escleral. En una vitrectomía, se realizan pequeñas aberturas a través de la esclerótica para permitir el posicionamiento de una luz de fibra óptica, una herramienta de corte (tijeras especializadas) y unas pinzas delicadas. El gel vítreo del ojo se retira y se reemplaza con un gas para rellenar el ojo y reposicionar la retina. El gas finalmente se absorbe y es reemplazado por el fluido natural del ojo. Además, o alternativamente, un desprendimiento de retina puede tratarse con indentación escleral, que implica el sellado del orificio o rotura en la retina, ya sea con diatermia (una corriente eléctrica que calienta el tejido), una criosonda (congelación), o un láser. Esto da como resultado la formación de tejido cicatrizal alrededor de la rotura de la retina para mantenerlo sellado permanentemente, de modo que el fluido ya no pueda pasar a través y detrás de la retina. Luego se cose una hebilla escleral, que está hecha de silicona, plástico o esponja, en la pared externa del ojo (la esclera). La hebilla es como una cincha o cinturón apretado alrededor del ojo. Este recurso comprime el ojo de modo que el orificio o rotura en la retina es empujado contra la pared escleral externa del ojo, que ha sido indentado por la hebilla. La hebilla puede dejarse en su lugar permanentemente. Usualmente no es visible porque la hebilla está ubicada en la mitad de la parte posterior del ojo (posteriormente) y está cubierta por la conjuntiva (la cubierta exterior transparente del ojo), que se cose cuidadosamente (sutura) sobre ella. Comprimir el ojo con la hebilla también reduce cualquier posible estiramiento posterior (tracción) por el vítreo sobre la retina.

Los desprendimientos de retina pueden estar asociados con la vitreoretinopatía proliferativa (PVR). La PVR es la complicación más común de un desprendimiento de retina y ocurre aproximadamente en entre el 8-10% de los pacientes que desarrollan un desprendimiento de retina. La vitreoretinopatía proliferativa es la formación de tejido cicatricial dentro del ojo. El tejido cicatricial se forma en láminas o membranas en la retina y hace que se contraiga. Esta marcada contracción tira de la retina hacia el centro del ojo y desprende y distorsiona la retina severamente. Las membranas de PVR típicamente consisten en células epiteliales retinianas pigmentarias, células gliales y otras células. Estas deben eliminarse mediante descamación de membrana durante la reparación de un desprendimiento de retina.

Un fruncimiento macular también se conoce como membrana epirretiniana, membrana prerretiniana, maculopatía de celofán, arrugas de la retina, retinopatía superficial arrugada, fibrosis premacular y enfermedad de la membrana limitante interna. Es similar a la PVR en que el tejido cicatricial se forma entre el cuerpo vítreo y la retina como resultado de la contracción del cuerpo vítreo. En el caso de un fruncimiento macular, el tejido cicatricial se encuentra en el centro del tejido del ojo sensible a la luz, la mácula. Cuando el vítreo se separa de la retina, hay un daño microscópico en la superficie de la retina. La retina comienza un proceso de curación en el área dañada y forma tejido cicatrizal, o una membrana epirretiniana, en la superficie de la retina. Este tejido cicatricial está firmemente adherido a la superficie de la retina. Cuando el tejido cicatricial se contrae, provoca que la retina se arrugue o se arquee, generalmente sin ningún efecto sobre la visión central. Sin embargo, si el tejido cicatricial se formó sobre la mácula, nuestra visión aguda y central se vuelve borrosa y distorsionada.

Las membranas epirretinianas pueden extraerse o descamarse a través de la esclera. Usualmente en este procedimiento el vítreo se reemplaza al mismo tiempo con líquido transparente, en una vitrectomía.

Un agujero macular es una pequeña ruptura en la mácula. Cuando el cuerpo vítreo se contrae y se aleja de la superficie de la retina, los fluidos naturales llenan el área donde el vítreo se contrajo. Si el cuerpo vítreo está firmemente adherido a la retina cuando se retira, puede rasgar la retina y crear un orificio en la ubicación de la mácula. Esto se llama agujero macular. Además, una vez que el cuerpo vítreo se aleja de la superficie de la retina, algunas de las fibras pueden permanecer en la superficie de la retina y pueden contraerse. Esto aumenta la tensión en la retina y puede conducir a un agujero macular. En cualquier caso, el fluido que reemplaza el vítreo contraído puede filtrarse a través del orificio hacia la mácula, desenfocando y distorsionando la visión central.

A veces, los agujeros maculares se asocian con membranas epirretinianas que pueden ejercer una tracción tangencial sobre la retina. Bregesen y otros (Klin. Monatsbl. Augenheilkd., 1995, 206 (1):2-12) propusieron que la principal causa de los agujeros maculares seniles idiopáticos es la tracción tangencial inducida por una membrana epirretiniana delgada. Sobre la base de la ultraestructura similar de las membranas epirretinianas asociadas con agujeros maculares y membranas epirretinianas simples, se postuló que existe una patogénesis común para los agujeros maculares y el fruncimiento macular (Messmer y otros, Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology, 1998, 236(4):248-254).

Los agujeros maculares generalmente se tratan mediante una vitrectomía en donde se extrae el cuerpo vítreo para evitar que tire de la retina (liberación de tracción intravítrea) y se reemplaza con una burbuja que contiene una mezcla de aire y gas. La burbuja actúa como un vendaje interno y temporal que mantiene el borde del orificio macular en su lugar mientras cicatriza. En caso de que el agujero macular esté asociado con membranas epirretinianas, éstas se eliminarán durante la vitrectomía.

- 5 A finales de la década de 1990 se propuso tratar los agujeros maculares no sólo llevando a cabo una vitrectomía con la eliminación de las membranas epirretinianas, sino mediante la eliminación adicional de la membrana limitante interna (ILM). Los primeros en describir esto fueron Yoon y otros (Am. J. Ophthalmol., 1996, 122:67-75). Ellos quitaron intencionalmente la membrana limitante interna principalmente para asegurar la eliminación completa de las membranas epirretinianas. Aunque la ILM no tiene propiedades contráctiles inherentes, se cree que actúa como un soporte para que el tejido contráctil ejerza una tracción tangencial sobre la retina. En 1997, Eckardt y otros (Ophthalmologie, 1997, 94: 545-551) observaron que el grosor de la ILM puede variar mucho. No pudieron excluir que la ILM puede ser más gruesa en pacientes que tienen un agujero macular y que el grosor aumentado tiene una naturaleza patológica.
- 10 Recientemente, la descamación de la ILM se ha extendido en la cirugía de agujero macular. Las investigaciones (es decir las de Yoon y otros y Eckardt y otros, que se mencionan anteriormente) demostraron que las características ultraestructurales del tejido extraído durante la cirugía de agujero macular mostraron células con diferenciación miofibroblástica en la ILM, que las células podrían jugar un papel en la formación y ampliación de los agujeros maculares a través de la contracción en la superficie de la ILM. Brooks Jr. compara los resultados quirúrgicos con y sin descamación de la ILM y concluye que la descamación de la ILM mejora significativamente el éxito visual y anatómico en todas las etapas de los agujeros maculares recientes y crónicos, particularmente en los agujeros maculares grandes (> 300 µm).
- 15 Otra afección para la cual se ha propuesto la descamación de la ILM como parte de un tratamiento por vitrectomía, es el edema macular diabético (ver Kolacny y otros, Bull. Soc. Beige Ophthalmol., 2005, 296: 15-23). El edema macular es una causa importante de pérdida visual en pacientes con diabetes. En el pasado, se trató usualmente con fotocoagulación con láser en microaneurismas de fuga focal o tratamiento de rejilla en áreas de edema macular difuso. Kolacny y otros informan que la vitrectomía con descamación de la ILM también puede ser un tratamiento beneficioso.
- 20 Puede ser beneficioso teñir un primer tejido ocular para visualizar un segundo tejido que rodea o subyace al primer tejido ocular. Por ejemplo, la ILM puede teñirse para visualizar una membrana epirretiniana. Esta técnica, que se llama "tinción negativa", se desarrolló para colorantes que son más adecuados para visualizar la ILM que las membranas epirretinianas, como el verde de indocianina. Mediante la tinción del primer tejido, un segundo tejido que lo cubre parcialmente se vuelve visible porque es el tejido no teñido (ver Foster y otros, Retina, 2002, 22: 106-108). En consecuencia, puede usarse una composición de tinción para teñir una membrana retiniana para visualizar una estructura diferente en el ojo para facilitar la eliminación de esa estructura diferente.
- 25 Una catarata puede desarrollarse debido al envejecimiento o a una amplia variedad de trastornos o enfermedades patológicas oculares o sistémicas. Cuando se desarrolla una catarata, la sustancia del cristalino se vuelve menos transparente.
- 30 En el ojo normal, el cristalino se encuentra detrás del iris y frente al cuerpo vítreo. El cristalino es transparente, biconvexo, representa aproximadamente 20 dioptrías de potencia de refracción convergente del ojo, y está compuesto por una cápsula que encierra y abarca la sustancia del cristalino, es decir, el epitelio del cristalino, la corteza y el núcleo. Un anillo de fibras zonulares, que se extienden desde el cuerpo ciliar hasta la parte anterior de la cápsula del cristalino, mantiene el cristalino colocado dentro del ojo.
- 35 La cápsula es una membrana basal elástica de colágeno tipo IV producida por las células epiteliales del cristalino. El grosor de la cápsula varía entre 4-24 µm, con un grosor de aproximadamente 14 µm en su parte anterior, 24 µm en su parte ecuatorial y aproximadamente 4 µm en su parte posterior. Debido a su transparencia, y debido a que su índice de refracción es casi igual a la sustancia del cristalino, la cápsula del cristalino no puede discriminarse de la sustancia del cristalino, excepto con el uso de una lámpara de hendidura a gran aumento.
- 40 Las porciones de la sustancia del cristalino afectadas por catarata pueden diferir con el tipo de trastorno, pero en la mayoría de los casos las funciones ópticas y/o refractivas del cristalino se afectan, por ejemplo, disminución de la agudeza visual, disminución de la sensibilidad al contraste, pérdida de acomodación, etc.
- 45 Para restaurar la trayectoria óptica, puede realizarse una cirugía de cataratas para eliminar la masa lenticular opaca. Aunque se dispone de varias técnicas quirúrgicas, las técnicas extracapsulares de extracción de cataratas, la técnica Blumenthal o la facoemulsificación se usan con mayor frecuencia. Con todas las técnicas, se abre la cámara anterior del ojo a través de una incisión corneal, limbal o escleral periférica, se abre la cápsula anterior del cristalino y se elimina la sustancia del cristalino, dejando el borde periférico de la cápsula anterior del cristalino, así como también las porciones capsulares ecuatoriales y posteriores in situ. La cápsula del cristalino vacía forma una "bolsa" capsular que puede utilizarse para soportar un lente sintético intraocular de implante (IOL), de modo que un IOL se coloca "en la bolsa".
- 50 Se usan varias técnicas para abrir la cápsula anterior del cristalino, es decir, la extirpación de una porción de la cápsula anterior del cristalino, con o sin el uso de una sustancia viscosa o viscoelastomérica, por ejemplo, la técnica de abrelatas, la técnica envolvente, la capsulotomía y la capsulorrexis circular continua. Para visualizar el defecto capsular durante la apertura de la cápsula, se usa comúnmente el reflejo del fondo rojo, la luz coaxial de un microscopio que se refleja desde el polo posterior del ojo. Cuando la retroiluminación está ausente, por ejemplo, con cataratas densas,
- 55
- 60
- 65

fundidos muy pigmentados o una combinación de ambos, a menudo no es o es escasamente posible discriminar la cápsula anterior del tejido subyacente del cristalino.

5 La visualización del defecto en la cápsula anterior durante la apertura de la cápsula del cristalino es un paso importante en el procedimiento quirúrgico, ya que las fuerzas mecánicas de tracción que la cápsula puede soportar durante la cirugía varían según la configuración de la apertura capsular. Por ejemplo, en la facoemulsificación se realiza comúnmente una capsulorrexis circular continua, porque una configuración circular de la apertura capsular puede soportar mejor las manipulaciones quirúrgicas dentro de la cápsula del cristalino durante la eliminación de la sustancia del cristalino. La visualización incorrecta de la cápsula anterior del cristalino durante la realización de una capsulorrexis puede ser responsable del riesgo de una rotura radial hacia o más allá del ecuador de la cápsula del cristalino, y complicaciones asociadas, por ejemplo, pérdida del vítreo, o un núcleo caído.

15 Además, en una fase posterior de la cirugía, el contorno de la apertura en la cápsula anterior del cristalino es a menudo difícil de visualizar. Durante la eliminación de la sustancia del cristalino en la facoemulsificación, casi nunca se observa un reflejo del fondo rojo útil, ya que el tejido lenticular se vuelve opaco. Sin embargo, durante la facoemulsificación, aún es importante que el borde de la capsulorrexis no se dañe, de modo que la integridad capsular se mantenga durante las manipulaciones quirúrgicas dentro de la cápsula. Por ejemplo, un toque inadvertido del borde con la punta de la pieza de mano para facoemulsificación o una sobreextensión de la cápsula durante la división de la sustancia lenticular, pueden dañar el borde de la capsulorrexis. De nuevo, el borde dañado puede aumentar el riesgo de una rotura radial hacia el ecuador y las complicaciones asociadas, especialmente porque el daño al borde de la capsulorrexis puede no notarse durante la cirugía.

25 Durante la implantación de un IOL, el borde de la cápsula anterior debe visualizarse para colocar los hápticos del IOL entre las porciones anterior y posterior de la cápsula del cristalino. En esta fase de la cirugía, el borde capsular anterior a menudo puede observarse con el uso del reflejo del fondo rojo. Para determinar si un háptico(s) se coloca debajo del borde capsular anterior, el IOL se manipula de manera que el desplazamiento del borde capsular por el háptico u óptico del IOL indica la posición del IOL con relación a la cápsula. En los casos en que no existe un reflejo del fondo rojo útil, como se mencionó anteriormente, es difícil determinar la posición del IOL con relación a la cápsula y la tinción puede usarse para reducir el riesgo de que el IOL se inserte en el área entre el iris y la cápsula anterior del cristalino, por ejemplo, el surco ciliar.

30 La descripción se refiere además a un método para teñir un tejido ocular o parte del mismo, que comprende las etapas de

- aplicar la composición de tinción de la invención a la superficie del tejido ocular o parte del tejido ocular; y
- permitir que la composición de tinción se adentre o penetre en el tejido ocular o parte del tejido ocular.

La presente invención podrá ilustrarse además por los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: mediciones de densidad

40 Se determinó la densidad de una solución de PEG 600 al 17 %, una solución de NaCl al 0,9 % y una solución de PEG3350 al 4 %, mediante el uso de un picnómetro. Por lo tanto, se determinó que la densidad de la solución de PEG600 era $1013 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, la densidad de la solución de NaCl $1003 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ y la densidad de la solución de PEG3350 $1004 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ a 298 K. Estos resultados demuestran que la presencia de PEG en una solución aumenta su densidad.

Ejemplo 2: velocidad de penetración *ex vivo*

50 Se liberaron 100 μl de una composición de tinción que comprendía 0,15 % en peso de azul de tripano (TB) y 10 % en peso de polietilenglicol con un peso molecular de 3350 g/mol (PEG 3350) en aproximadamente 13 segundos mediante una pipeta en un vaso de precipitados lleno con 4 ml de solución salina tamponada con fosfato.

55 El experimento se registró en vídeo y el comportamiento de la penetración se evaluó mediante inspección visual. Las imágenes se tomaron a 0 s, 0,15 s, 1,06 s, 1,94 s, 5,06 s, 10,15 s y 12,91 s después de comenzar la liberación de la composición de tinción de la pipeta, como se ilustra en las Figuras 2(a)-2(f), respectivamente.

60 Además, se observó mediante inspección visual que la composición de tinción no se mezcló con el contenido del vaso de precipitados de vidrio. Se observó además que la composición de tinción permanecía localizada en el área sobre la que se aplicaba el colorante, es decir, en el fondo del vaso de precipitados de vidrio, incluso después de que el recipiente del colorante estaba vacío, como se puede ver en la Figura 2(g).

65 El comportamiento observado es conveniente, debido a que la localización estrecha y la ausencia de mezclado permiten una penetración rápida en el tejido ocular cuando se aplica a la superficie de dicho tejido y/o un riesgo reducido de tinción indeseada del tejido circundante. El experimento demuestra así que la composición de tinción no es propensa a teñir la solución de enjuague y/o el tejido ocular circundante.

Ejemplo 3: penetración *in vivo*

La composición de tinción de la invención se administra en el tejido objetivo "bajo el aire", es decir la cavidad vítrea está completamente llena de aire, o "solución salina equilibrada", es decir la cavidad vítrea está completamente llena de solución salina equilibrada. El colorante permanece localizado en el área donde se aplica el colorante. Después de eliminar todo el exceso de colorante, el tejido objetivo se tiñe, lo que permite la eliminación selectiva de la membrana limitante interna o las membranas epirretinianas.

Ejemplo 4: degradación del colorante

La degradación del colorante vital azul de tripano se midió a lo largo del tiempo en dos composiciones de tinción. La primera composición de tinción comprendía 0,25 % en peso de azul de tripano y una solución salina tamponada con fosfato (0,25 % en peso de monofosfato disódico $12\text{H}_2\text{O}$, 0,036 % en peso de difosfato monosódico $2\text{H}_2\text{O}$ y 0,8 % en peso de cloruro de sodio). La segunda composición de tinción comprendía 0,25% en peso de azul de tripano, 17 % en peso de polietilenglicol 600 (PEG600) y una solución salina tamponada con fosfato (0,25 % en peso de monofosfato disódico $12\text{H}_2\text{O}$ (0,25 % en peso), difosfato monosódico $2\text{H}_2\text{O}$ (0,036 % en peso)

El cloruro de sodio estaba presente en el tampón de la primera composición de tinción para proporcionar la primera composición de tinción con un valor de osmolaridad adecuado. El tampón en la segunda composición de tinción no comprendía cloruro de sodio, porque la presencia de PEG en la composición de tinción ya daba como resultado un valor de osmolaridad adecuado.

Las dos composiciones de tinción se incubaron a 70 °C durante 30 días. La concentración de azul de tripano en las dos muestras se midió restando el espectro de absorción de estas muestras tomado después de 720 horas, del espectro de absorción de una composición de tinción recién preparada (usada como blanco).

Los resultados del experimento se muestran en la Figura 1. La Figura 1 muestra la diferencia de absorción medida con el blanco. La diferencia de absorción de la segunda composición de tinción (que comprende PEG) es claramente menor que la diferencia de absorción de la primera composición de tinción. Por lo tanto, el experimento demuestra que el azul de tripano se degradó considerablemente más rápido en la primera composición de tinción en comparación con la segunda composición de tinción que comprende polietilenglicol.

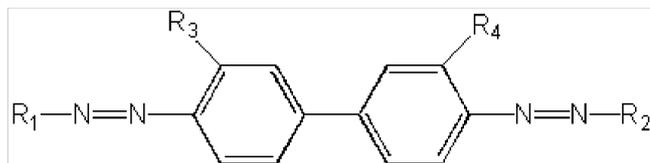
Ejemplo 5: estabilidad del azul de tripano y azul brillante G en soluciones de polímeros

La estabilidad del azul de tripano en una solución que contiene un polímero hidrófilo parece depender de la naturaleza del polímero. La Figura 3 muestra la absorbancia normalizada de una solución de azul de tripano (concentración final 0,15 % p/v) antes y después de ser sometida a 70 °C durante 7 días en presencia de 4 % (p/v) de polietilenglicol (PEG, $M_w \approx 3350$), alcohol polivinílico al 4 % (p/v) (PVA, $M_w \approx 13,000 - 23,000$) y polivinilpirrolidona al 4 % (p/v) (PVP, $M_w \approx 10,000$), respectivamente. Los espectros de diferencias relativas se comparan en la Figura 4 (calculada restando los espectros de azul de tripano de la Figura 3), demostrando claramente que el azul de tripano es más estable en la solución de PEG. Además, se encontró que en presencia de PVP se pierde una cantidad sustancial de la absorbancia original.

Se observaron efectos similares para el azul brillante G, 0,025 % (p/v), en estas soluciones que contienen polímero. La Figura 5 muestra los espectros de absorbancia diferencial del azul brillante G, 0,025 % (p/v), antes y después de ser almacenado a 70 °C durante 7 días en una solución que contiene 4 % (p/v) de polietilenglicol (PEG, $M_w \approx 3350$), alcohol polivinílico (PVA, $M_w \approx 13000 - 23000$) y 4 % (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP, $M_w \approx 10000$). Parece que PEG es un excelente solvente para el azul brillante G. Se observa un resultado similar para PVP, mientras que el azul brillante G es mucho menos estable en presencia de PVA.

Reivindicaciones

1. Una composición de tinción para usar en un método de cirugía ocular, el método comprende teñir un tejido ocular o parte de un tejido ocular, en donde la composición de tinción comprende un colorante vital y un compuesto que aumenta la densidad y la viscosidad seleccionado del grupo que consiste en polímeros solubles en agua, en donde el polímero soluble en agua es polietilenglicol y en donde el colorante se selecciona del grupo que consiste en azul de metileno, azul brillante G, azul brillante R, azul patente V, Chicago azul cielo 6B, azul de tripano, rojo de tripano, azul de cresilo brillante, verde de indocianina y un compuesto que tiene la fórmula



en donde R_1 y R_2 son los mismos o diferentes grupos arilo, y en donde R_3 y R_4 se seleccionan independientemente de hidrógeno, metilo, etilo, metoxi, amino, hidroxilo y sulfonato.

2. Una composición de tinción para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto que aumenta la densidad tiene un peso molecular de 50-500 000 g/mol, preferentemente 300-100 000 g/mol, con mayor preferencia 600-40 000 g/mol.
3. Una composición de tinción para usar de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el colorante comprende un primer y un segundo colorante, donde el primer colorante es azul de tripano o Chicago azul cielo 6B y el segundo colorante se selecciona del grupo que consiste en azul brillante G, verde claro SF amarillento, rojo fenol, rojo de clorofenol β -D-galactopiranosido, rosa de bengala, floxina B y safranina T, y en donde el segundo colorante es preferentemente azul brillante G.
4. Una composición de tinción para usar de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la relación en peso del primer colorante al segundo colorante en el colorante de la composición de tinción está preferentemente entre 1:1 y 100:1, con mayor preferencia entre 2:1 y 25:1, aún con mayor preferencia entre 4:1 y 15:1.
5. Una composición de tinción para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una sal, en donde la sal se selecciona preferentemente del grupo que consiste en cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, cloruro de magnesio o una combinación de los mismos.
6. Una composición de tinción para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición de tinción es una solución acuosa, una dispersión coloidal o una solución viscosa o viscoelastomérica, en donde la concentración del compuesto que aumenta la densidad en la composición de tinción es 2 - 10 % en peso, con mayor preferencia 3 - 6 % en peso.
7. Una composición de tinción para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores que tiene una densidad a 298 K de más de 1003 y menos de 1040 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$, con mayor preferencia una densidad de 1004 a 1026 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$.
8. Una composición de tinción para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores que tiene una viscosidad de al menos 2,0 mPa.s, preferentemente al menos 2,2 mPa.s, con mayor preferencia al menos 2,5 mPa.s, como se determina mediante el uso de un reómetro.
9. Una composición de tinción para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración del colorante vital en la composición de tinción es de 0,001-2 % en peso, preferentemente de 0,01-1 % en peso, con mayor preferencia de 0,1-0,5 % en peso.
10. Una composición de tinción para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cirugía ocular es cirugía vitreoretinal, extracción de cataratas, cirugía de glaucoma, eliminación de membrana de retina o capsulorrexis.

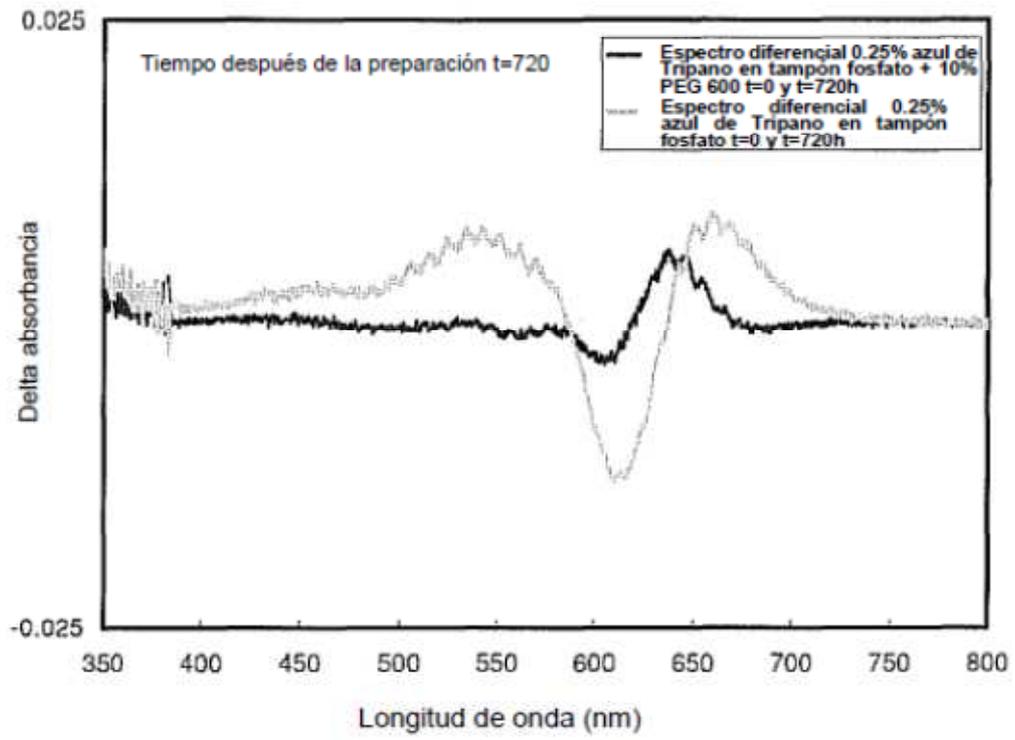
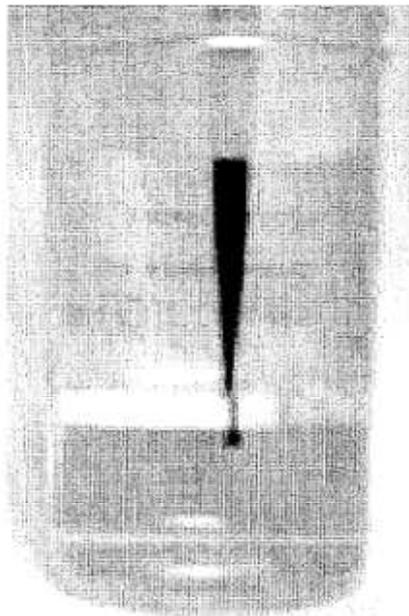
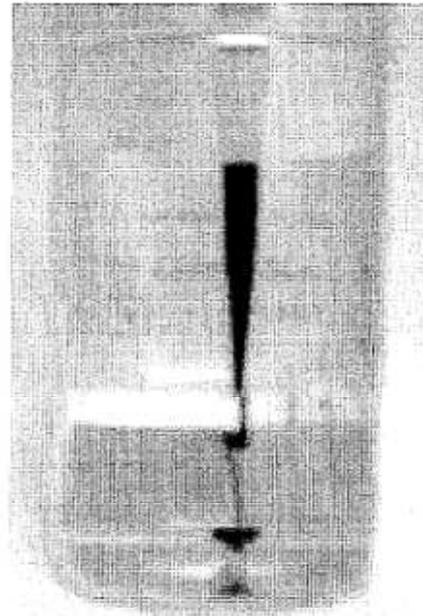


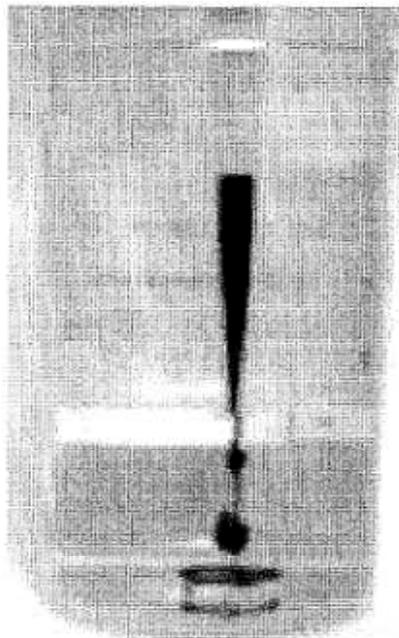
Figura 1



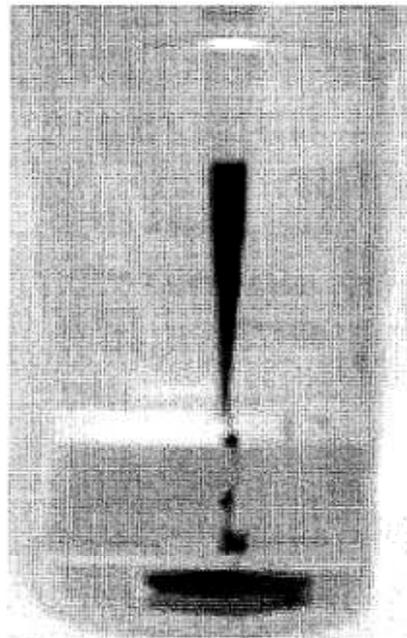
(a)



(b)

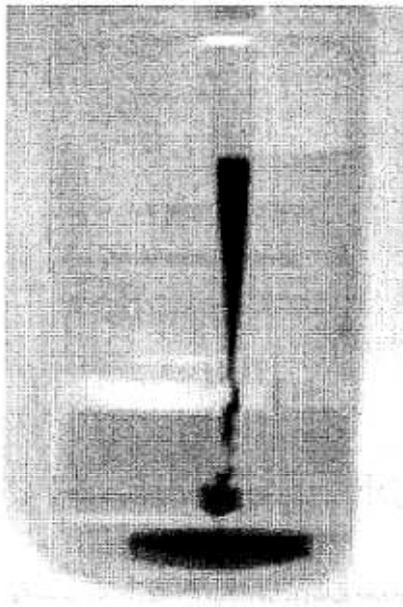


(c)

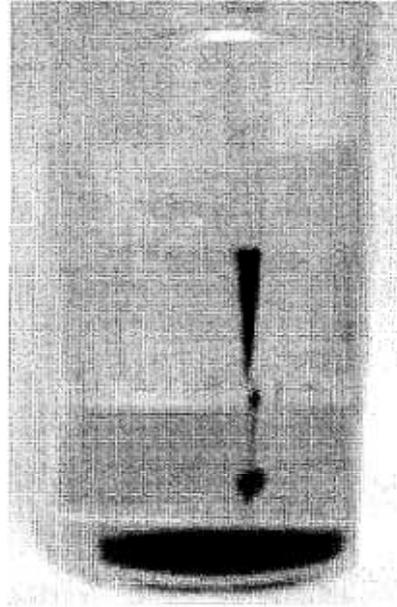


(d)

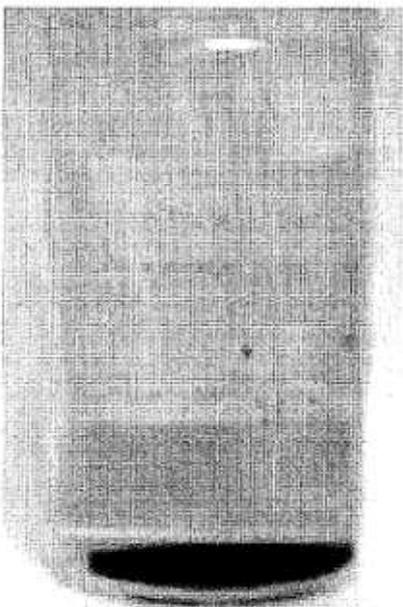
Figura 2 a-d



(e)



(f)



(g)

Figura 2 e-g

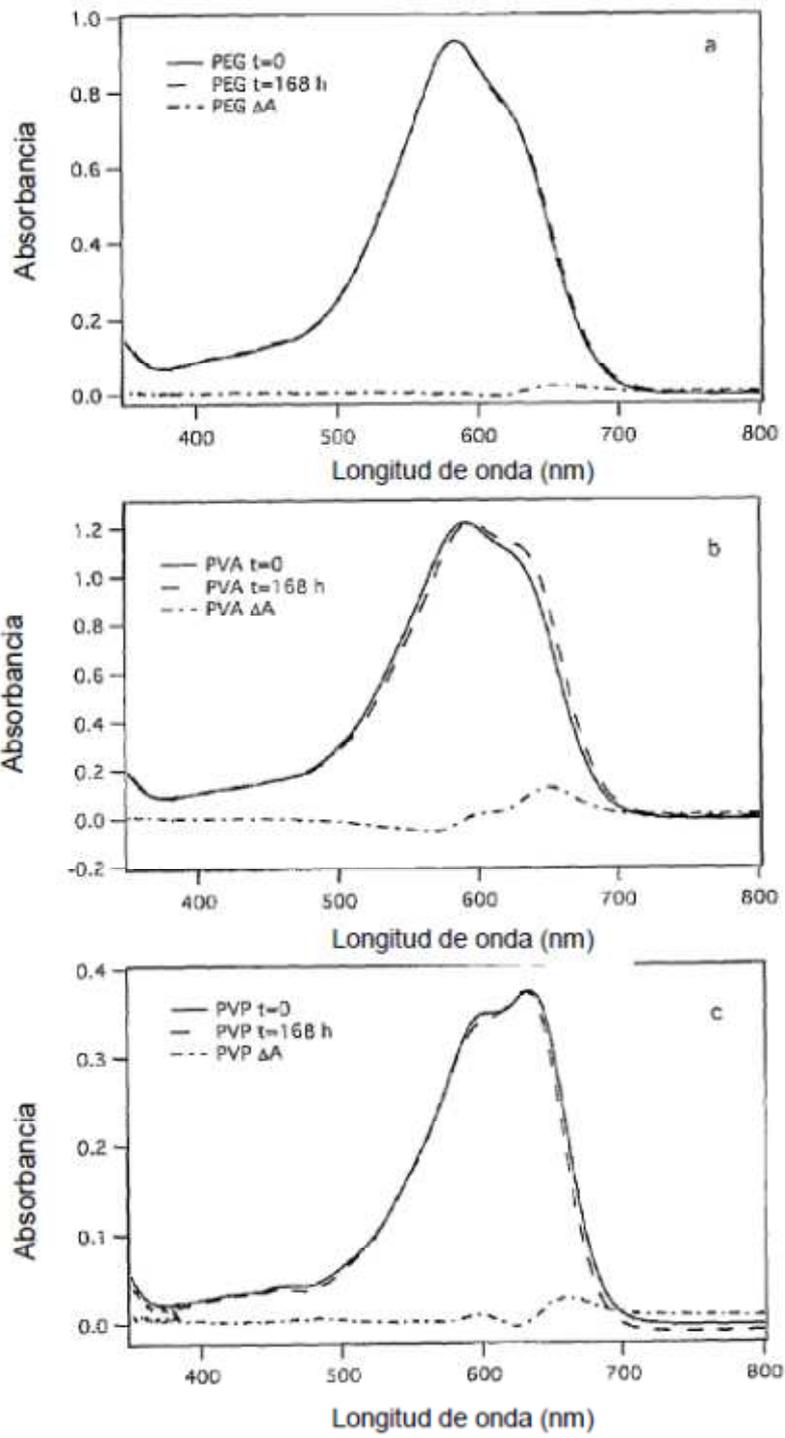


Figura 3

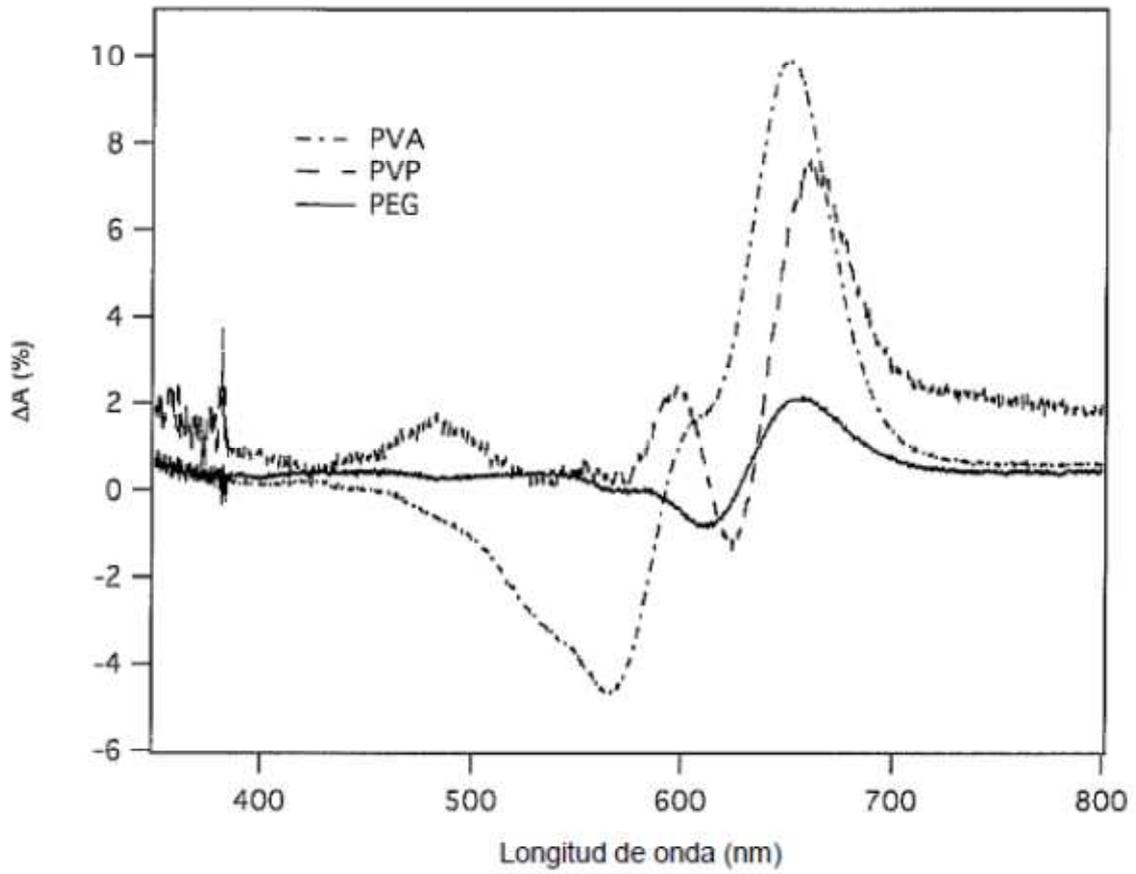


Figura 4

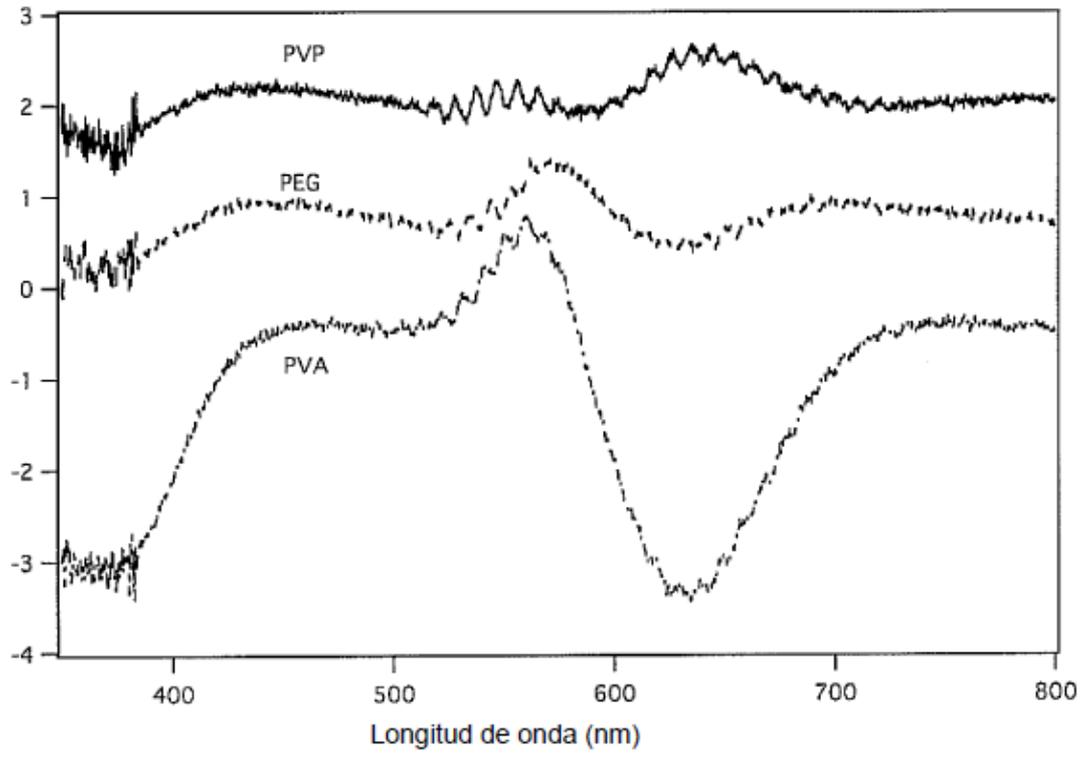


Figura 5