

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**Departamento de Cirugía**



**ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS EN LA  
PRÁCTICA CLÍNICA EN DEFECTOS EPITELIALES  
PERSISTENTES:**

SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA versus

REGENERADORES DE MATRIZ versus

TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA

***TESIS DOCTORAL***

**MARÍA EUGENIA GONZÁLEZ SÁNCHEZ**

**Madrid 2018**

## **RESUMEN**

### **ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS EN LA EN LA PRACTICA CLÍNICA EN ÚLCERA NEUROTRÓFICA: SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA VERSUS REGENERADORES DE MATRIZ VERSUS TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA.**

#### **INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:**

Las queratitis neurotróficas (QN) fueron descritas en 1824 y hoy en día siguen siendo un auténtico reto terapéutico, debido a que los tratamientos disponibles en la actualidad son ineficaces en el cierre de la úlcera en algunos casos, y, en otros, por el alto índice de recaídas.

El consumo de recursos en estos pacientes es elevado, por la complejidad del cuadro, su evolución prolongada, las complicaciones y sus secuelas. Por este motivo, continuamente se investigan nuevos tratamientos para favorecer una epitelización rápida y estable con el fin de evitar úlceras persistentes que llevarían hacia la opacificación, la neovascularización o la perforación corneal.

El propósito de este trabajo es evaluar la eficacia de tres tipos de tratamientos en el cierre de la QN, así como estudiar la evolución a corto y largo plazo de las mismas, a través de un estudio comparativo de tres líneas de tratamiento aplicadas en tres cohortes de pacientes (trasplante de membrana amniótica (TMA), suero de membrana amniótica (SMA) y regeneradores de la matriz de colágeno (RTGA)).

#### **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se diseñó un estudio observacional con tres brazos de tratamiento. La recogida de datos fue longitudinal prospectiva en los brazos SMA y RTGA y retrospectiva en el grupo TMA. Todos los pacientes habían firmado consentimiento informado. El protocolo de SMA había sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz.

Para el estudio se revisaron las historias de 124 pacientes (163 episodios) con el diagnóstico de QN en el hospital Universitario La Paz de Madrid, en el periodo que se comprende desde 2008 al 2017.

De estos episodios posteriormente se seleccionaron 101 episodios de pacientes con QN en estadio moderado-severo (Mackie 2-3) y que habían sido tratados con TMA (63 casos), RTGA (25 casos) y SMA (12 casos).

Se evaluaron la etiología de la úlcera y las características de la misma mediante la sensibilidad corneal, estadio de la úlcera, localización, área de la misma, características del cierre, adelgazamiento, reapertura, número de episodios, transparencia corneal y complicaciones

#### **RESULTADOS:**

No se demostraron diferencias acerca de la eficacia del cierre cuando se comparan los tres tratamientos, sin embargo, el grado de reapertura y la complicación de infección fue mayor en los pacientes tratados con RTGA. Se observó que las QN se localizaban con más frecuencia a nivel central y que la existencia de infección previa se relacionaba con estadios más severos.

Respecto a las variables que determinaban una peor respuesta al tratamiento, el antecedente de queratoplastia y de glaucoma determinaban un tiempo de cierre más prolongado y la coexistencia de 3 factores predisponentes de neurotrofia una mayor probabilidad de reapertura. En cuanto al coste económico, el trasplante de membrana amniótica implicaba un mayor gasto sanitario global, además de una pérdida de transparencia y visión.

#### **CONCLUSIONES:**

Los resultados de nuestro estudio demuestran que aunque no existen diferencias en cuanto a la eficacia entre los tres tratamientos, las complicaciones en forma de infección o reapertura de la úlcera eran menores tras la utilización de membrana amniótica tanto como injerto como con suero, a diferencia de con RTGA.

**Palabras Clave:** Queratitis neurotrófica, Suero de membrana amniótica, regenerador de matriz de colágeno, RTGA, trasplante de membrana amniótica.

**Departamento de Cirugía**



**ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS EN LA PRÁCTICA  
CLÍNICA EN DEFECTOS EPITELIALES PERSISTENTES:**

SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA versus

REGENERADORES DE MATRIZ versus

TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA

***TESIS DOCTORAL PRESENTADA***

**MARÍA EUGENIA GONZÁLEZ SÁNCHEZ**

**DIRECTORAS:**

- **DRA. ANA BOTO DE LOS BUEIS**
- **DRA. ALMUDENA DEL HIERRO ZARZUELO**

**TUTORA: DRA. SUSANA NOVAL MARTÍN**

**Madrid 2018**

**Doña Ana María Boto de los Bueis**, jefa de sección del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario la Paz, **Doña Almudena del Hierro Zarzuelo**, Médico Adjunto del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario La Paz y **Doña Susana Noval Martín**, profesora asociada del Departamento de Cirugía de la Universidad Autónoma de Madrid y jefa de sección del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario la Paz.

CERTIFICAN:

Que Doña MARÍA EUGENIA GONZÁLEZ Médico Adjunto del Servicio de Oftalmología del Hospital Santa Bárbara de Soria, ha estado trabajando bajo su dirección en el proyecto titulado “ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS EN LA PRÁCTICA CLÍNICA EN DEFECTOS EPITELIALES PERSISTENTES: SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA versus REGENERADORES DE MATRIZ versus TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA”, para optar al grado de Doctor en Medicina. Dicho trabajo reúne, a su juicio, las condiciones de originalidad y rigor metodológico necesarias para que pueda ser sometido a su lectura y discusión ante el tribunal Madrid.

Fd. Dra. Ana Boto de los Bueis

Fd. Dra. Almudena del Hierro Zarzuelo

Directora de Tesis

Directora de Tesis

Fd. Dra. Susana Noval Martín

Tutora de Tesis

Madrid, 2018.

“Por muy larga que sea la tormenta,  
el sol siempre vuelve a brillar entre las nubes.”

*Khalil Gibran*

## AGRADECIMIENTO

No pensé que algún día llegaría el momento de realizar una tesis doctoral en oftalmología, puesto que la decisión de dedicarme a esta bonita especialidad llegó el día antes de la elección de la plaza MIR. Pero una llamada inesperada, circunstancias personales y laborales favorables y un equipo inigualable hicieron posible este trabajo, no me dejaron que me rindiera, obligándome a mirar hacia delante porque sabían que todo el trabajo tiene su recompensa.

Esta tesis doctoral es fruto de la colaboración y coordinación de un gran equipo al que quiero reconocer su total disponibilidad, accesibilidad, generosidad, amabilidad y sobre todo, su inmensa profesionalidad. A estas personas quiero expresar mi más profundo agradecimiento.

En primer lugar, a mis directoras de tesis:

A la **Dra. Ana Boto**. Mis agradecimientos van más allá que por la dirección de esta tesis. Gracias por inculcarme que nunca se puede tirar la toalla, que toda córnea tiene una oportunidad y no rendirme a la primera de cambio. Porque el valor y la dedicación que expresas por tu trabajo a tus pupilos, es una virtud que todos nosotros nos llevamos para el ejercicio de nuestra práctica diaria una vez acabada la residencia.

A la **Dra. Almudena del Hierro**. Mi agradecimiento más profundo por estar siempre y siempre quiero decir desde el momento que entre en la residencia hasta hoy. Por tus palabras de apoyo cuando las cosas no salían como yo quería, cuando las fuerzas decaen y solo quieres llorar. Por enseñarme que nunca se acaba de aprender y que cada día es un nuevo día con nuevos retos. Hoy en día eres mi referencia de comportamiento en mi lugar de trabajo.

Al **Dr. Abelairas y Dra. Noval**. Mis más sinceros agradecimientos por enseñarme a luchar por los ideales personales, y no rendirse por lo que uno cree justo, aunque a veces no se corresponda con el trabajo duro llevado a cabo.

Por otra parte, no podría haber realizado este trabajo sin el apoyo de un conjunto de departamentos y personas a las que debó una mención:

**A la Botica de Argensola** por facilitarme toda la información necesaria en la preparación, coste y demás pesquisas del suero de membrana amniótica.

**Al Departamento de Estadística** y en especial al doctor **Jesús Díez**, por el análisis de los resultados, porque me han hecho recordar el primer año de carrera y lo duro y largo que resultó llegar al día de hoy.

**Al Jefe de Servicio Dr. Agustín Fonseca y al Dr. Félix Armadá** por facilitarme el acceso a la información sin ponerme restricción alguna.

**A mis excompañeros de trabajo, todos y cada uno de los médicos adjuntos, residentes del Hospital La Paz.** Gracias por el apoyo en cada momento, por vuestras risas y palabras amables cada vez que iba a visitarlos.

**Al Jefe de Servicio del Hospital Santa Bárbara de Soria, el Dr. Carlos Hajar y a todos mis compañeros** por facilitarme realizar esta tesis, sin poner ninguna adversidad, por darme apoyo y decirme que nunca me rinda, que todo en esta vida se ve recompensado y en especial **A Roslyn Manrique Lipa** por ser mi apoyo, mi profesora y mi mano izquierda, cuando mi derecha ya no puede más por pasar este proceso y resolver los problemas que surgían juntas.

**A mi pareja** por darme soporte psicológico cuando todo se vuelve en contra, cuando lo lógico para mí no es lógico para los demás, por los momentos malos vividos pero también por los buenos. Gracias Juanlu.

**A mis amigos y familiares,** por estar en los buenos y en los malos momentos, aquellos en los que quieres tirar todo por la borda porque no ves salida alguna. Por apoyarnos mutuamente en nuestras trayectorias profesionales. Gracias.

**A todos los que no menciono** y que de alguna manera contribuyen a estimular en mí sentimientos de responsabilidad, ilusión y mi afán por mejorar cada día.



## ÍNDICE

## ÍNDICE

**ÍNDICE**..... Pág. 1

**ABREVIATURAS**.....Pág. 9

### INTRODUCCIÓN

**1-INTRODUCCIÓN**..... Pág.13

1-1 Anatomía de la sensibilidad corneal.....Pág.14

1-2 Embriología corneal .....Pág.14

1-3 Organización nerviosa de la córnea.....Pág.16

1-4 Sensibilidad corneal.....Pág.18

1-4-1 Edad y Sensibilidad.....Pág.18

1-4-2 Evaluación de la inervación corneal .....Pág.18

1-4-3 Evaluación de la sensibilidad corneal .....Pág.19

1-5 Moduladores del crecimiento de las terminaciones nerviosas.....Pág.22

**2-QUERATITIS NEUROTRÓFICAS**..... Pág.25

2-1 Epidemiología.....Pág.25

2-2 Remodelación y regeneración corneal .....Pág.25

2-3 Causas..... Pág. 28

2-4 Diagnóstico..... Pág.33

## ÍNDICE

2-5 Fisiopatología.....	Pág.34
2-6 Diagnóstico diferencial.....	Pág.34
2-7 Gravedad.....	Pág.35
2-8 Clasificación.....	Pág.36
2-9 Tratamiento.....	Pág.37
2-9-1 Medios físicos.....	Pág.38
2-9-2 Medios farmacológico.....	Pág.39
2-9-3 Medios quirúrgicos.....	Pág.40
2-9-4 Medios biológicos.....	Pág.43
2-9-5 Otros fármacos a estudio .....	Pág.47
2-10 Pronóstico.....	Pág.49
2-11 Morbilidad.....	Pág.49
<b>3- ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS ESTUDIADAS EN ESTA TESIS.....</b>	<b>Pág.50</b>
3-1 REGENERADORES DE LA MATRIZ DE COLÁGENO (Cacicol <sup>®</sup> ).....	Pág.50
3-2 MEMBRANA AMNIÓTICA.....	Pág.52
3-2-1 Introducción.....	Pág.52
3-2-2 Uso de la membrana amniótica en España.....	Pág. 54
3-2-3 Histología de la membrana amniótica.....	Pág.55
3-2-4 Propiedades de la membrana amniótica.....	Pág.56
3-3 SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA.....	Pág.59
3-3-1 Factores de crecimiento del Suero de membrana amniótica.....	Pág.60

**JUSTIFICACIÓN**

4-1 Justificación.....Pág.67

    Objetivo.....Pág.69

**MATERIAL Y MÉTODOS**

5-1 Diseño del estudio.....Pág.73

5-2 Población en estudio.....Pág.73

5-3 Fuente de la muestra.....Pág.73

5-4 Tratamientos a estudio .....Pág.75

    5-4-1 Suero de membrana amniótica.....Pág.75

    5-4-2Membrana amniótica.....Pág.77

    5-4-3 Regeneradores de la matriz de colágeno.....Pág.77

5-5 Variables a estudio.....Pág.78

    5-5-1 Variables cualitativas.....Pág.78

    5-5-2 Variables cuantitativas.....Pág.81

5-6 Estudio económico.....Pág.84

5-7 Análisis estadístico.....Pág.84

**RESULTADOS**

6 Resultados ..... P á g . 8 9

6-1 Características basales de las queratitis neurotróficas.....Pág.90

    6-1-1 Causas de las queratitis neurotróficas .....Pág. 92

    6-1-2 Agudeza visual previa.....Pág.93

    6-1-3 Tratamientos previos.....Pág.94

    6-1-4 Adelgazamiento corneal.....Pág.95

## ÍNDICE

6-1-5 Tamaño del defecto epitelial.....	Pág.96
6-1-6 Neovascularización.....	Pág.97
6-1-7 Transparencia.....	Pág.98
6-2 Eficacia del tratamiento.....	Pág.99
6-2-1 Cierre del defecto epitelial .....	Pág. 100
6-2-2 Neovascularización corneal.....	Pág. 101
6-2-3 Reapertura.....	Pág. 103
6-2-4 Transparencia post tratamiento.....	Pág. 104
6-2-5 Adelgazamiento post tratamiento.....	Pág. 105
6-2-6 agudeza visual post tratamiento.....	Pág. 106
6-3 Variables propias de la membrana amniótica.....	Pág.107
6-3-1 Número de capas de membrana amniótica.....	Pág.107
6-3-2 Tiempo de reabsorción de la membrana amniótica.....	Pág.107
6-4 Seguridad.....	Pág.109
6-4-1 Tolerancia.....	Pág.109
6-4-2 Efectos secundarios.....	Pág.109
6-5 Complicaciones.....	Pág.110
6-6 Estudio de correlación.....	Pág.113
6-6-1 Test Shirmer.....	Pág.113
6-6-2 Estadio de Mackie.....	Pág.113
6-6-3 Estudio de las variables que determinan la agudeza visual.....	Pág.114
6-6-4 Estudio de las variables que determinan el adelgazamiento.....	Pág.114
6-6-5 Estudio de las variables que determinan tiempo de cierre.....	Pág.114
6-6-6 Estudio de las variables que determinan el cierre completo.....	Pág.118
6-6-7 Estudio de las variables que determinan la reapertura.....	Pág.120

6-6-8 Estudio de las variables que determinan nuevos episodio.....	Pág.122
6-7 Estudio económico.....	Pág.123

**DISCUSIÓN**

Discusión.....	Pág.127
Limitaciones.....	Pág.159

<b>CONCLUSION.....</b>	<b>Pág.158</b>
------------------------	----------------

<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>Pág.161</b>
--------------------------	----------------

**ANEXOS**

ANEXO I	Consentimientos informados.....	Pág.179
ANEXO II	Fotografías de casos tratados con suero de Membrana amniótica.....	Pág.186
ANEXO III	Fotografías de casos tratados con regeneradores de matriz (Cacicol <sup>®</sup> ).....	Pág.189
ANEXO IV	Fotografías de casos tratados con trasplante de membrana amniótica.....	Pág.197
ANEXO V	Protocolo de seguimiento del paciente en el estudio de SMA.....	Pág.206
ANEXO VI	Aprobación de estudio por parte del comité ético.....	Pág.207
ANEXO VII	Índice de tablas.....	Pág.208
ANEXO VIII	Índice de gráficas.....	Pág.210

## **ABREVIATURAS**

**ABREVIATURAS**

**Å:** ÁNGSTROM

**ANTI-VEGF:** ANTI FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR

**ARNm:** ÁCIDO RIBONUCLEICO MENSAJERO

**AV:** AGUDEZA VISUAL

**AVMC:** AGUDEZA MEJOR CORREGIDA

**BDNF:** NEUROTROFINA DERIVADA DEL CEREBRO

**BFGF:** FACTOR DE CRECIMIENTO BÁSICO DE FIBROBLASTO

**BOTOX®:** TOXINA BOTULÍNICA

**BUT:** TIEMPO DE RUPTURA DE LA PELÍCULA LAGRIMAL

**C-FOS:** PROTEINA CODIFICADA POR EL GEN FOS

**CGRP:** PÉPTIDO RELACIONADO CON EL GEN DE LA CALCITONINA

**CSA:** CICLOSPORINA A

**CXL:** CROSSLINKING

**DALK:** QUERATOPLASTIA LAMELAR ANTERIOR PROFUNDA

**DEP:** DEFECTO EPITELIAL PERSISTENTE

**DM:** DIABETES MELLITUS

**DMEK:** QUERATOPLASTIA ENDOTELIAL DE LA MEMBRANA DE DESCHEMET

**Ds:** DESVIACIÓN ESTANDAR

**EGF:** FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL

**EPHA3:** EPH RECEPTOR A3

**FGF:** FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLASTICO

**FIG:** FIGURA

**GAP-43:** PROTEINA 43

**GDNF:** FACTOR NEUROTRÓFICO DE LAS CELULAS GLIALES

**HGF:** FACTOR DE CRECIMIENTO DEL HEPATOCITO

**HLA:** ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO

**HSAN:** ENFERMEDADES HEREDITARIAS Y NEUROPATÍAS AUTONÓMICAS

**HULP:** HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

**HV:** VIRUS HERPES

**IDO:** INDOLEAMINE 2,3 DIOXYGENASE

**IL-1 RA:** RECEPTOR ANTAGONISTA DEL IL-1

**IL-17:** INTERLEUQUINA 7

**IL-6:** INTERLEUQUINA 6

**IVCM :** MICROSCOPIA CONFOCAL IN VIVO

**KDR/Fik-1:** KINASE INSERT DOMAIN RECEPTOR

**KGF:** FACTOR DE CRECIMIENTO DE LOS QUERATOCITOS

**LASEK:** LASER ASSISTED EPITELIAL KERATOMILEUSI

**LASIK:** LASER ASSISTED IN SITU KERATOMILEUSI

**LIF:** FACTOR INHIBIDOR DE LEUCOCITOS

**LINE:** INDUCED NEUROTROPHIC EPITHELIOPATHY



## ABREVIATURAS

**LPS:** LIPOPOLISACÁRIDOS

**M:** MEDIA

**MA:** MEMBRANA AMNIÓTICA

**MIF:** MACROPHAGE MIGRATION INHIBITING FACTOR

**NFATC1:** NUCLEAR FACTOR OF ACTIVATED T-CELLS CYTOPLASMIC 1

**NGF:** FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO

**NPN:** NEUROPILINA

**NT- 3,-4:** NEUROTROFINAS 3, 4

**NV:** NEOVASCULARIZACIÓN

**OCT:** TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA

**ONT:** ORGANIZACIÓN NACIONAL DE TRASPLANTE

**PACAP:** PIYUITARY ADENYLATE CYCLASE-ACTIVATING POLYPEPTIDO

**PRGF:** PLASMA RICO EN FACTORES DEL CRECIMIENTO

**PRP:** PLASMA RICO EN PLAQUETAS

**PRK:** QUERATECTOMÍA FOTORREFRACTIVA

**QN:** QUERATITIS NEUROTRÓFICA

**RGTA:** REGENERATING AGENTS

**RTGA:** REGENERADORES DE MATRIZ

**SA:** SUERO AUTÓLOGO

**SMA:** SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA

**SP:** SUSTANCIA P

**SPRR1A:** SMALL PROLINE-RICH PROTEIN 1A

**TBARS:** ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

**TGFβ:** TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA

**TH2:** LINFOCITOS HELPER 2

**TIMP:** TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASES

**TMA:** TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA

**TNFα:** FACTOR DE NECROSIS TUMORAL α

**TRAIL:** TUMOR NECROSIS FACTOR-RELATED APOPTOSIS-INDUCING LIGAND

**TrKA:** RECEPTOR DE ALTA AFINIDAD CATALÍTICA PARA LA NEUROTROFINA

**TUBB3 :** β TUBULINA III

**UN:** ÚLCERA NEUROTRÓFICA

**VEGF:** FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR

**VHB:** VIRUS DE LA HEPATITIS B

**VHC:** VIRUS DE LA HEPATITIS C

**VIH:** VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

## **INTRODUCCIÓN**

## 1- INTRODUCCIÓN

Los nervios sensitivos de la córnea son fundamentales para asegurar la integridad del epitelio corneal<sup>1</sup>. Es por ello que la pérdida de la inervación sensitiva provoca un desequilibrio en la actividad metabólica de las células epiteliales, produciéndose una pérdida de las microvellosidades, que son las encargadas de mantener la capa mucinosa de la película lagrimal<sup>2</sup>. Por otro lado, la secreción lagrimal producida de forma constante en vigilia, se debe en parte al *input* sensorial trigeminal: cuando el ojo se abre hay un aumento del reflejo sensorial estimulado por la superficie ocular expuesta que incrementa la secreción lagrimal, de hecho se ha demostrado experimentalmente que la denervación trigeminal modifica además la regulación de la secreción de proteínas de la lágrima. De esta manera, se produce una ausencia de soporte trófico a la superficie ocular debido a un déficit en la liberación de sustancia P y de expresión de factor de crecimiento nervioso (NGF)<sup>3-4</sup>; en estas situaciones el epitelio corneal es inestable y el ojo se vuelve vulnerable a la infección y al mínimo traumatismo, pudiendo ocasionar una queratitis que conocemos como queratitis neurotrófica.

La afectación de la inervación corneal puede ocurrir a diferentes niveles y por múltiples causas: infección herpética, *Diabetes Mellitus* (DM), tóxica, compromiso vascular, por sección, compresión o por causas congénitas<sup>5-23</sup>. Su manifestación corneal incluye la aparición de erosiones epiteliales que en un principio afectan a la zona interpalpebral; con la evolución de este cuadro, las células epiteliales tornan a un color grisáceo, edematizándose y opacificándose. Tras esto, el siguiente paso consiste en la ulceración corneal cuyo proceso de curación se caracteriza por ser un proceso lento, que si no mejora puede incluso llevar a la perforación.

El tratamiento de la queratitis neurotrófica supone un auténtico reto para el oftalmólogo. Hay diversas alternativas terapéuticas escalonadas según la gravedad de la queratitis. En los casos más severos no se ha conseguido un tratamiento médico curativo definitivo que pueda estar disponible para la clínica. Este es el motivo de haber seleccionado como objetivo de nuestro estudio la valoración de distintas opciones terapéuticas novedosas que nos permita tratar a pacientes con úlceras corneales neurotróficas de forma inmediata tras el diagnóstico.

## INTRODUCCIÓN

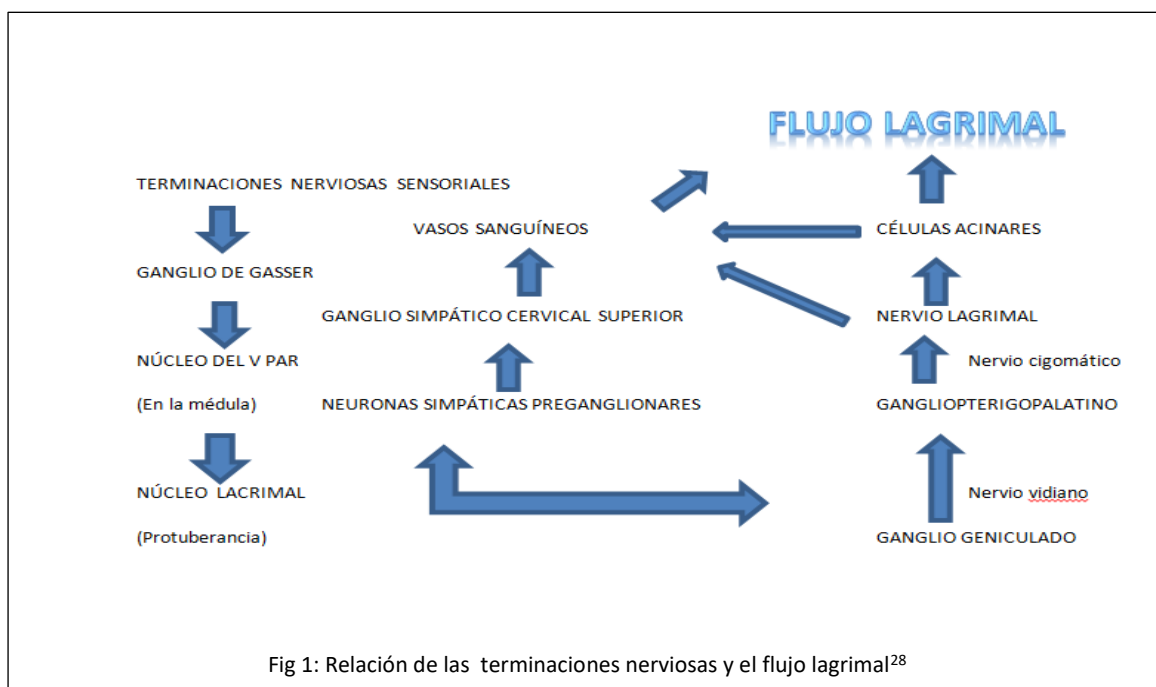
### 1-1 ANATOMÍA DE LA INERVACIÓN CORNEAL

Middlemore en 1835 describe la córnea como la estructura del cuerpo humano con mayor sensibilidad<sup>24</sup>, 40 veces más que la pulpa dental y 400 veces más que la piel<sup>25</sup>. Se estima que están presentes 7000 nociceptores / mm<sup>2</sup> en el epitelio corneal<sup>26</sup>.

En 1831 Schlemm descubre los nervios en la córnea y años después Bochdaleck disecciona los nervios ciliares identificando la división de la rama corneal y la rama iridiana. Estudios recientes de nos aportan aún más información de la distribución histológica y los factores para el crecimiento de las terminaciones nerviosas en dicho tejido<sup>27</sup>.

Los nervios de la córnea son los responsables de las sensaciones de contacto, dolor y temperatura, además juegan un rol importante en el reflejo del pestañeo, proceso de cicatrización y en la producción y secreción de la lágrima todos ellos implicados en la fisiología de la QN (Fig 1)

<sup>28</sup>.



### 1-2 EMBRIOLOGÍA<sup>29-30</sup>:

La córnea se genera a partir de tres orígenes embrionarios: el ectodermo superficial que dará lugar al epitelio corneal, el mesodermo al estroma y la cresta neural formará el endotelio corneal.

Al final de la cuarta semana, la vesícula cristalina se divide del epitelio de revestimiento y éste queda entonces constituido por dos filas de células y una membrana basal, que reposan sobre tejido mesenquimatoso que le separa del borde de la copa y del cristalino (Fig 2).

El mesénquima que envuelve el margen de la copa crece en sentido axial siguiendo tres ondas: la primera forma el endotelio de la córnea, la segunda el estroma de la misma y la tercer el estroma del iris.

A los 40 días la primera onda de crecimiento del mesénquima compone, posterior al epitelio, una doble línea de células cubriéndolo en toda su extensión formando el futuro endotelio.

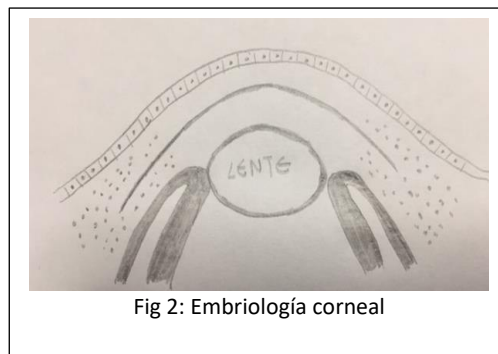


Fig 2: Embriología corneal

Al finalizar el segundo mes, entre estas dos estructuras: epitelio y endotelio, se desarrolla el mesénquima, segunda onda de crecimiento que formará el estroma corneal. El estroma corneal se continúa sin límite preciso con la esclera y es casi acelular.

Desde el principio las células más profundas del estroma y las fibrillas de colágeno que lo constituye, se disponen en capas paralelas entre si y van aumentando progresivamente. De esta manera el espesor y el diámetro de la córnea aumentan a la par del globo ocular.

El epitelio, que hasta el segundo mes solo tiene dos hileras de células: las superficiales o planas y las profundas o cúbicas, tiene ya estratos, el basal y el escamoso. Las células aladas que quedan entre estas dos capas no aparecerán hasta el cuarto o quinto mes.

El endotelio queda formado por una sola hilera de células a partir del tercer mes, pero la membrana de Descemet no es visible hasta la mitad del cuarto mes.

En el estroma desde el segundo mes pueden detectarse ácidos mucopolisacáridos que contienen grupos carboxil y sulfatos, pero el queratan sulfato no aparece hasta el sexto mes.

La lámina de Bowman, aparece durante el quinto mes formada por fibroblastos del estroma.

No existen fibras elásticas en el estroma. La córnea fetal es traslúcida por el alto contenido acuoso, pero mecanismos de deshidratación la aclaran progresivamente. Las curvaturas de esclerótica y córnea son similares hasta el tercer mes, después es mayor la de ésta última formándose entre ellas el surco esclerocorneal.

Por otro lado, los nervios sensoriales corneales derivan de la cresta neural y posteriormente residen a nivel del lóbulo oftálmico del ganglio del trigémino. Además el nervio trigémino a través de su núcleo caudal y el tálamo establece nexos con el sistema límbico y la corteza somatosensorial.

## INTRODUCCIÓN

En estudios realizados en pollos se ha observado que los nervios corneales derivan de la proto-córnea. Los derivados de la cresta neural y de la proto-córnea migran con las células derivadas de la placoda óptica a la mesénquima periocular, posiblemente dirigidos por el receptor EphA3<sup>27</sup>.

En pollos, esta migración de los nervios corneales está regulada por Sema 3A y Slit2 con sus respectivos receptores, Neuropilina (NPN) -1 y ROBO. Existe una regulación negativa que coincide con el desarrollo de los anillos nerviosos corneales, permitiendo la formación de los fascículos nerviosos y la extensión dorsal y ventralmente alrededor de la córnea para cubrir uniformemente las tres cuartas partes de su circunferencia. Esto es seguido por una regulación positiva favoreciendo la irrupción de estos en el estroma corneal. Niveles extracelulares de proteoglicanos sulfato de queratán altamente sulfatados, también regulan el proceso inicial de la invasión estromal corneal. La penetración completa de los nervios corneales a nivel central con ramificaciones en el epitelio corneal se realiza bajo el control de Sem3A/Npn1 y Sem3F/Npn2.

La inervación simpática es más escasa y deriva del ganglio cervical superior, en cambio no está esclarecida la inervación parasimpática en la córnea<sup>31-32</sup>.

### 1-3 ORGANIZACIÓN DE LOS NERVIOS CORNEALES<sup>33</sup>

Los nervios corneales son esenciales para la detección de los estímulos nocivos de la superficie corneal y para la protección de ésta.

En la córnea discurre la primera división del trigémino con 200 a 450 neuronas sensoriales, el 1.5% de todas las del ganglio del V par<sup>34-35</sup>. Se conoce también conocida como vía oftálmica, la cual se divide en dos nervios ciliares posteriores largos y seis ciliares posteriores cortos.

Los nervios ciliares posteriores largos entran en el globo ocular haciendo una <<S>>. Viajan anteriormente a través del espacio supracoroideo y se dirigen hacia la zona limbar corneo-escleral formando el plexo limbar, donde pierden la mielina. La inervación autonómica viaja también a lo largo de estas fibras.

- Plexo perilimbar: Posee efecto vasomotor de 900 a 1.500 axones incluidos en 42-44 fascículos.
- Los nervios estromales: surgen del plexo limbar y entran a nivel córnea, 11 por cuadrantes en forma de <<Y>>, posteriormente a través de tres ramas se ramifican en forma radial a una profundidad de 106-293 micras, por lo que se encuentran en el estroma anterior y medio pero no en el posterior. Los nervios estromales tienen un diámetro de 5.5-11.4  $\mu\text{m}$  y una densidad de 3.7 a 4.2  $\text{mm}/\text{mm}^2$ .
- Plexo subepitelial: Se aísla en la interfaz de la membrana de Bowman y el estroma anterior, se cree que está ausente a nivel central de la córnea. El 50% de estos presentan varicosidades y gránulos.
- Plexo subbasal (Fig 3): Esta localizado entre la capa de Bowman y el epitelio basal, se hallan fibras rectas con un diámetro de 0.52 a 4.68 $\mu\text{m}$  y con cuentas, 90 cuentas/mm a 198 cuentas/mm. Son fibras A $\delta$  y fibras C sensoriales (Tabla 1 y 2). Este plexo está comprometido en múltiples enfermedades oculares y en distrofias corneales<sup>36</sup>.

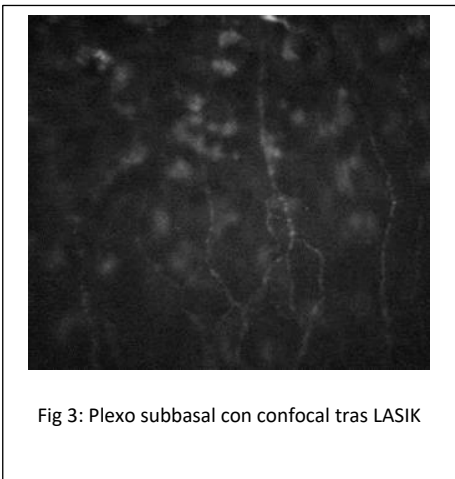


Tabla 1: TIPOS Y CARACTERISTICAS DE LAS FIBRAS NERVIOSAS.

TIPO DE FIBRA	VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN (m/s)	DIÁMETRO DE LA FIBRA (m)	FUNCIONES
Fibras A-Alfa	70-120	10-20	Motora, músculo esquelético
Fibras A-Beta	40-70	5-12	Sensitiva, tacto, presión, vibración
Fibras A- Gamma	10-50	3-6	Huso muscular
Fibras A -Delta	6-30	2-5	Dolor (agudo, localizado, temperatura, tacto)
Fibras B	3-15	<3	Autónomas preganglionares
Fibras C	0,5-2,0	0,4-1,2	Dolor (difuso profundo), temperatura, autónomas posganglionares

Tabla 2: CARACTERÍSTICAS DE LA INERVACIÓN CORNEAL<sup>37</sup>

TIPO DE NOCICEPTOR	ESTÍMULO AL QUE RESPONDEN	SENSACIÓN QUE PRODUCE SU ESTÍMULO	PORCENTAJE DE INERVACIÓN CORNEAL
MECÁNICOS	Fuerza mecánica	Dolor agudo punzante al tocar la córnea	20%
POLIMODALES	Temperaturas extremas, Irritantes químicos, mediadores endógenos de la inflamación (SP, CGRP)	Irritación sostenida asociada a la cicatrización.	70%
FRÍO	Frío	Evocan sensación de frío	10%

## 1-4 SENSIBILIDAD CORNEAL

### 1-4-1 EDAD Y SENSIBILIDAD

A través de estudios con microscopia confocal *in vivo* (IVCM) se ha observado una pérdida y mayor tortuosidad de las terminaciones nerviosas a nivel del plexo subbasal relacionadas con la edad. Demostrable también a través del estesiómetro de Cochet- Bonnet, donde se observa una pérdida de sensibilidad por disminución de las fibras A $\delta$ , que va desde la periferia hacia el centro corneal. Las fibras C, que se encargan de la sensibilidad química y térmica, comienzan a disminuir a partir de la segunda década, siendo esta pérdida aparente en la quinta década<sup>27</sup>.

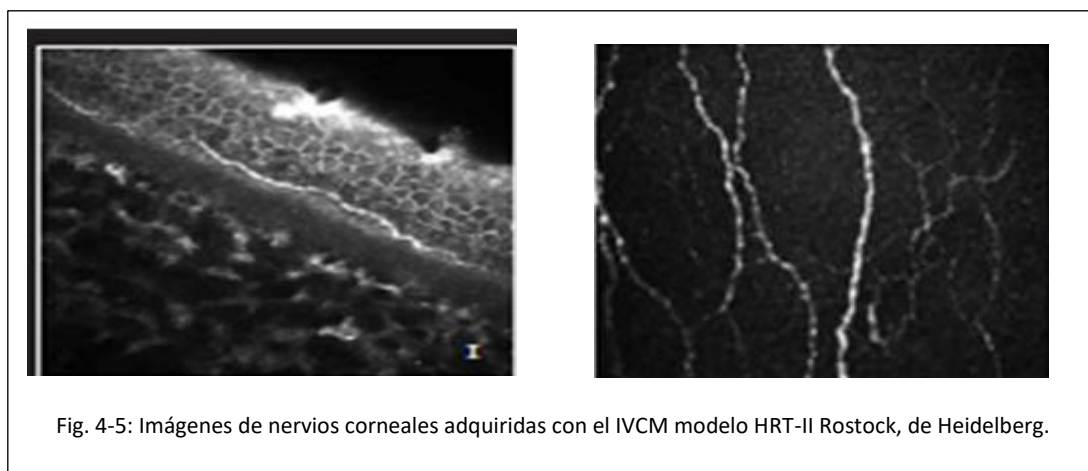
### 1-4-2 EVALUACIÓN DE LA INERVACIÓN CORNEAL

*Test directos:*

- Microscopia confocal *in vivo* (Fig 4-5)<sup>34-38</sup>: Esta herramienta no invasiva permite valorar la densidad de los nervios corneales. Por otra parte permite valorar las características de longitud, reflectividad y tortuosidad. Por ende, la microscopia confocal es un método útil para evaluar la anatomía, la degradación y la curación del epitelio corneal. No es una técnica de examen esencial para determinar la estrategia de tratamiento. Sin embargo, la relación entre los cambios morfológicos de los nervios corneales elucidados por esta prueba y enfermedades corneales es un campo de estudio que se está desarrollando. La IVCM ha



demostrado una disminución de la densidad de fibras nerviosas con alteraciones de la longitud y tortuosidad del plexo en casos de DMEK o PEX entre otros<sup>39-44</sup>.



Destacar que se necesitan entre tres a ocho imágenes de secciones corneales a nivel central para analizar los nervios de forma correcta<sup>40</sup>.

- Recientemente, se ha desarrollado un modelo de ratón neurofluorescente para estudiar la regeneración nerviosa in vivo. Específicamente, el ratón transgénico thy1-YFP permite la visualización de forma fluorescente de los nervios sensoriales. La regeneración axonal y la degeneración pueden visualizarse y cuantificarse in vivo, permitiendo la posibilidad de investigar el potencial neurotrófico de moléculas y fármacos<sup>45</sup>.

### 1-4-3 EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD CORNEAL

#### *Test directos:*

- La administración de gotas de solución salina hipertónica (3%) fue propuesta por Mandahl para evaluar la sensibilidad de la superficie ocular y mostró una mejor sensibilidad que el hilo de algodón, pero no fue mejor que el estesiómetro Cochet-Bonnet<sup>46</sup>.
- Estesiómetro de Cochet-Bonnet: Tradicionalmente la evaluación clínica de la sensibilidad corneal se ha realizado con la estesiómetro de Cochet-Bonnet que determina la sensibilidad mecánica por contacto corneal. A través de este procedimiento podemos estimular áreas corneales de 0,011 mm<sup>2</sup> que corresponden a 6-77 terminaciones nerviosas.

## INTRODUCCIÓN

- El método de empleo consiste en extender el filamento de nylon de forma perpendicular en el centro corneal. La longitud del filamento se va reduciendo gradualmente desde 60 mm a 5 mm, hasta que se produzca el reflejo del parpadeo. A medida que disminuye la longitud, la presión transmitida aumenta de 11 mm / grms a 200 mm / grms<sup>47</sup>.
- Estesiómetro de gas de Belmonte sin contacto: Es capaz de estimular un área de 0.196 mm<sup>2</sup> y medir los umbrales de sensibilidad corneal con estímulos mecánicos, químicos y termales<sup>27</sup>.

Los valores normales son variables, según estudios publicados (Fig 6)<sup>48</sup>.

EDAD	SENSIBILIDAD			
	MECANICA	QUÍMICA	CALOR	FRÍO
20-29	58,26 +/-1,84	25,59 +/-11,70	1,56 +/-0,99	-1,32 +/-1,52
30-39	69,73 +/-19,83	24,8 +/-13,46	1,47 +/-1,17	-2,14 +/-1,27
40-49	56,44 +/-17,70	18,06 +/-5,31	1,25 +/-1,02	-1,65 +/-1,41
50-59	56,11 +/-26,93	14,93 +/-6,56	1,44 +/-0,96	-1,65 +/-1,27
>60	56,20 +/-20,51	18,25 +/-9,52	1,39 +/-1,43	-1,65 +/-1,27
MEDIA	59,35 +/-6,3	20,27 +/- 3,01	1,42 +/-1,07	-1,68 +/-1,32

Fig. 6: Valores normales de la sensibilidad.

### Test indirectos:

Los test indirectos permiten ver la funcionalidad de la inervación corneal o su repercusión sobre la córnea y se utilizan en el estudio de diversas patologías como el síndrome de ojo seco o para investigar sobre la etiología de las úlceras corneales.

- Test de lágrima<sup>49</sup>:
  - Test de Schirmer: Valora la secreción de lágrima total, tanto la secreción basal como la secreción refleja (con anestesia y/o estimulación nasal). Se utiliza una tira de papel de filtro nº41 Whatman de 5 mm de ancho y 30 mm de longitud. Se coloca a nivel ínfero-temporal con los ojos abiertos y se mide la longitud de papel absorbido en 5 minutos. La medida normal es de 15 mm en 5 minutos. Se considera patológico una absorción lacrimal que impregne la tira menos de 5 mm en 5 minutos.
  - Test fenol rojo<sup>50</sup>: Fue descrito por Hamanao en 1983, sólo mide la secreción basal, consiste en colocar un hilo de algodón impregnado en rojo fenol en el fondo de sa-

co conjuntival ínfero-temporal durante 15 segundos. Se observa un cambio de color de amarillo a rojo una vez transcurrido el tiempo.

- Exploración biomicroscópica del epitelio corneal con colorante:
  - Fluoresceína: Colorante hidrosoluble que tiñe los espacios intracelulares y permite detectar defectos epiteliales. La tinción se realiza instalando de 2 a 3  $\mu$ l de fluoresceína al 1-2% en el saco conjuntival, después de 2 minutos se observan los defectos epiteliales con luz cobalto (Fig 7).
  - Rosa de Bengala: Derivado de la fluoresceína, tiñe los filamentos mucosos y las células muertas o degeneradas de la conjuntiva y la córnea. La técnica consiste en instilar de 2 a 5  $\mu$ l y observar con la lámpara de hendidura utilizando el filtro verde. Se divide en 3 sectores: conjuntiva nasal, conjuntiva temporal y córnea y se clasifica según el criterio de von Bigjsterverld. Tiene una especificidad del 90%, pero es citotóxica y puede producir irritación.
  - Verde lisamina: Se utiliza al 1%, tiñe la mucina y las células epiteliales degeneradas. No produce molestias en su instilación <sup>49</sup>.

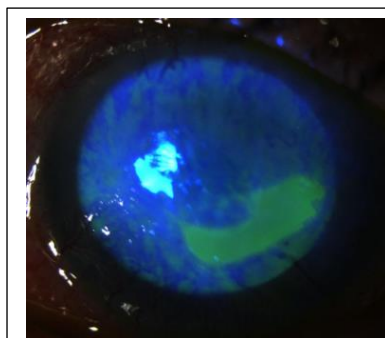


Fig 7: Tinción con fluoresceína

Existe una correlación significativa entre las terminaciones nerviosas, el test de Schirmer y rosa de Bengala. Siendo positiva la relación a la densidad de terminaciones nerviosas y negativa con respecto al arrosamiento de las fibras <sup>43</sup>.

- Estudio electrofisiológico del V par: El reflejo del parpadeo se utiliza para evaluar la integridad del nervio trigémino, las vías sensitivo-motoras del troncoencéfalo y la vía motora a través del nervio facial. En las lesiones del nervio trigémino, la sensibilidad diagnóstica de dicha prueba es baja, pero cuando la respuesta se encuentra alterada tiene un gran valor <sup>51</sup> (Fig 8).
- Estudio electrofisiológico del VII par<sup>52</sup>: Las lesiones del VII a nivel corneal pueden provocar lagofthalmos y alteración de la película lagrimal pero también ocasionar problemas de trefismo corneal. La electrofisiología tiene valor pronóstico, la probabilidad de mejoría es baja si se pierden el 90% de las fibras en comparación con el nervio contralateral.

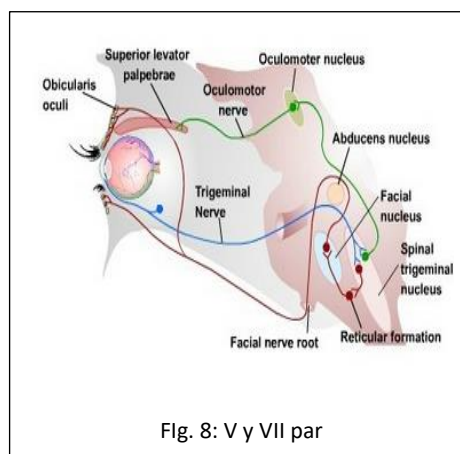


Fig. 8: V y VII par

### 1-5 MODULADORES DEL CRECIMIENTO DE LOS NERVIOS CORNEALES Y SU FUNCIÓN

Los factores de crecimiento endógenos, los mediadores inflamatorios y los reguladores endocrinos juegan un papel importante en el reemplazo de las células epiteliales corneales durante la cicatrización y en la regeneración de los nervios corneales.

La evidencia experimental y clínica sugiere que existe un control bidireccional de la proliferación del epitelio corneal entre los neuromediadores sensoriales promoviendo la mitosis de las células epiteliales. Los mediadores simpáticos, epinefrina y norepinefrina, inhiben estas mitosis.

Dentro de los factores de crecimiento que modulan la regeneración de los nervios corneales, los podemos dividir en neurotrofinas, factores inflamatorios y endocrinos, en neuroestimuladores y en otros.

#### *NEUROTROFINAS*<sup>27</sup>.

- FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF): Es imprescindible para la supervivencia y mantenimiento de la córnea así como la ramificación y la elongación de las terminaciones nerviosas durante la regeneración tras una agresión. Produce un aumento de la sensibilidad de la córnea y de fotofobia. El NGF también tiene propiedades antivirales y evita las infecciones del virus herpes simple I a nivel corneal.

Sus efectos están mediados por receptores TrkA y p75NTR. La activación del receptor TrkA mediada por NGF conduce a una variedad de vías de señalización directa que promueven la supervivencia celular, la proliferación y la migración<sup>53</sup>. Por el contrario, la activación del receptor de p75 puede iniciar la apoptosis.

- NEUROTROFINA DERIVADA DEL CEREBRO (BDNF): Es capaz de inducir la regeneración nerviosa a nivel central y periférico de los nervios. Es estimulada por otras neurotrofinas y otros factores neurotróficos como el Gap-43.
- FACTOR NEUOTRÓFICO DE LAS CELULAS GLIALES (GDNF): Esta dentro de la súper familia de los TGF- $\beta$ . Tiene función sinérgica con el NGF favoreciendo la migración de las células epiteliales hacia el defecto epitelial.

- NEUROTROFINAS 3, 4/5 (NT-3,-4): Regulan la diferenciación y la supervivencia de las células epiteliales y los queratocitos estromales.

#### *OTROS FACTORES Y PROTEINAS RELACIONADAS CON EL DESORROLLO NERVIOSO<sup>27</sup>:*

- FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF): Tiene acciones neuroprotectoras. Los fármacos anti-VEGF empleados en colirio para tratar neovascularización corneal, se han asociado a epitelopatía corneal por disminución del nivel de VEGF y NGF<sup>54</sup>.
- SEMAPHORINAS: Fueron originalmente identificadas como factores guía para los axones. Dentro de esta familia se incluyen Sema 3a, 4a, 4d, 6d y la 7a. La Sema 7a induce el crecimiento de las terminaciones trigeminales potenciando el NGF, en cambio la Sema 3a los inhibe, bloqueando el neuromodulador VEGF<sup>55-56</sup>.
- PROTEINA 43 (GAP 43): Localiza el axón afectado. Se eleva en infecciones por virus herpes simple I. Juega un papel crucial en la estimulación de la regeneración a través de BDNF y el NT-4/5. Sin embargo altas dosis de NGF lo suprime.
- $\beta$  TUBULINA III (Tubb3): EL NGF estimula la expresión de la  $\beta$ - tubulina.
- Small proline-rich protein 1<sup>a</sup> (sprr1A): Se sugiere que tiene efectos neurotróficos, debido a que ante una agresión corneal eleva cantidades de BDNF y GAP43. Es inducida durante la diferenciación de los queratocitos y puede contribuir a la función de permeabilidad del epitelio corneal.
- FIBRONECTINA: La adición de fibronectina exógena estimula la epitelización corneal tanto in vitro como in vivo en pacientes con enfermedades herpéticas y queratits neurotróficas<sup>57-58</sup>.

#### *MEDIADORES INFLAMATORIOS<sup>27</sup>*

- LINFOCITOS T: Se encuentran linfocitos T -helper. Una pérdida de estas células reduce la respuesta inflamatoria.

## INTRODUCCIÓN

- FACTOR INHIBIDOR DE LEUCOCITOS (LIF): Citoquina expresada por una variedad de tipos de células: células inflamatorias, células epiteliales y tejido corneal. Favorece la regeneración corneal.
- INTERLEUQUINAS 6-17 (IL-6, IL17):
  - IL-6: Esta aumentada en estados patológicos, como las inflamaciones crónicas y en el queratocono.
  - IL-17: Favorece la epitelización, una reducción de esta citoquina disminuye en más del 50% la regeneración nerviosa.

### *REGULADORES HORMONALES<sup>27</sup>:*

- TIROXINA: Aumenta los niveles de NGF y la regeneración nerviosa tanto a nivel central como periférico.
- CORTICOIDES: Regulan la inflamación y la proliferación celular, los corticoides endógenos también inducen cambios y regeneración en la células de Schwann.

### *MISCELANIA DE NEUROMODULADORES<sup>27</sup>*

- PIVUITARY ADENYLATE CYCLASE-ACTIVITING POLYPEPTIDO (PACAP): PACAP es un neurotransmisor y neuromodulador, cuya función es inducir el crecimiento nervioso y acelerar la recuperación de la sensibilidad tras la resección corneal por cirugía.
- COLAGENO XVIII: Es un componente de la matriz extracelular de la membrana basal.

## 2- QUERATITIS NEUROTRÓFICAS

En la literatura esta patología tiene múltiples nombres: defecto epitelial que no cierra, queratitis neuropática, neurotrófica o neuroparalítica. No fue hasta el simposium de Cambridge de oftalmología del 2003 que se unificó el término a queratitis neurotrófica (QN) <sup>25</sup>.

La queratopatía neurotrófica es una enfermedad corneal degenerativa caracterizada por una alteración en la sensibilidad corneal, asociada a una ruptura del epitelio corneal y a un proceso regenerador epitelial deficiente. Estos hechos ocasionan ulceración corneal persistente y pérdida de visión<sup>59</sup>.

### 2-1 EPIDEMIOLOGÍA:

Las queratitis neurotróficas se clasifican como enfermedad huérfana (ORPHA137596) con una prevalencia estimada de menos del 5/10.000 personas. No hay diferencias entre sexos y aumenta con la edad<sup>2</sup>. Se trata de una patología responsable de ceguera, infradiagnosticada a nivel mundial<sup>60</sup>.

Cabe destacar, que la queratitis por herpes simple produce QN en un 6% de los pacientes, afectando a 149/100.000 habitantes<sup>61</sup>.

### 2-2 REMODELACIÓN Y REGENERACIÓN CORNEAL <sup>62</sup>

El epitelio corneal está en continuo cambio y este hecho ha sido explicado por medio del concepto de célula primordial. Las evidencias de dicha teoría se basan en:

- Demostración de un ciclo celular lento y con gran capacidad de proliferación en cultivo ex vivo.
- Imposibilidad para realizar uniones a anticuerpos específicos de la córnea.
- Presencia de un movimiento centrípeto del epitelio.
- Existencia de células ricas en ATPasa y anhidrasa carbónica.
- La lesión en el limbo corneal ocasiona defectos de epitelización.
- Los tumores de la superficie ocular nacen en el área limbar.

## INTRODUCCIÓN

La teoría del movimiento XYZ de Thoft y Friend refiere que las células primordiales se dividen en dos células, una de ellas no pierde su condición de célula madre y es la otra la que por medio de la mitosis que amplifica la división y favorece la diferenciación terminal. Esta teoría se basa en tres premisas.

X: Proliferación de células basales.

Y: Migración centrípeta de las células limbares.

Z: Pérdida de células epiteliales.

La célula amplificadora, se va a diferenciar y dividir, sufriendo una migración centrípeta desde el epitelio basal del limbo hacia la superficie, descamándose como último paso. La velocidad de la migración centrípeta se ha calculado en 123  $\mu\text{m}$  por semana, pudiendo variar según la causa<sup>63</sup>.

Los intentos para incrementar la división celular, utilizando factores de crecimiento o vitaminas, no han resultado concluyentes.

La renovación epitelial se produce cada 5-7 días. Ante una erosión o un defecto epitelial se inicia una reacción que consiste en tres fases diferentes (*Fig 9*):

- La *fase latente* consiste en un periodo de 4 a 6 horas durante el cual se eliminan los detritus, las células se aplanan y comienzan a migrar a una velocidad de 0,75 micras/ minuto, implicando la destrucción y la formación de nuevos anclajes.
- En la *fase de migración celular* que dura entre 24 y 36 horas, la movilidad celular se acelera y llega a cubrir la pérdida de sustancia, gracias a un incremento de la superficie celular y a la formación de fibrillas y filamentos. Se le ha atribuido a la fibronectina un papel esencial en esta fase de la cicatrización, al permitir una fuerte adherencia celular con la membrana basal y al estroma.
- En la *fase de proliferación celular* se estimulan las células madre del limbo, se desarrollan los complejos de unión con la membrana basal y se restablecen las terminaciones nerviosas. Es clave para la recuperación epitelial, que exista tanto una membrana basal en condiciones como una adecuada capacidad regenerativa de las células primordiales del limbo<sup>57</sup>.



Para un correcto mantenimiento de la salud epitelial puede diferirse por medio de la ecuación  $X+Y=Z$ . Sin embargo en las queratitis neurotróficas esta remodelación se ve truncada, por lo que se produce un cierre errático e inestable. Las QN se producirán cuando no se cumpla alguna de estas premisas:

1. La integridad de la superficie ocular, asegurada por una relación estrecha entre el epitelio corneal y la película lagrimal.
2. Una película lagrimal estable, mantenida por la acción de anejos externos sanos.
3. Una integración neuroanatómica eficiente.
4. Un limbo corneoescleral sano.
5. Matriz estromal y fibroblastos no inflamados que aseguren una correcta función epitelial.

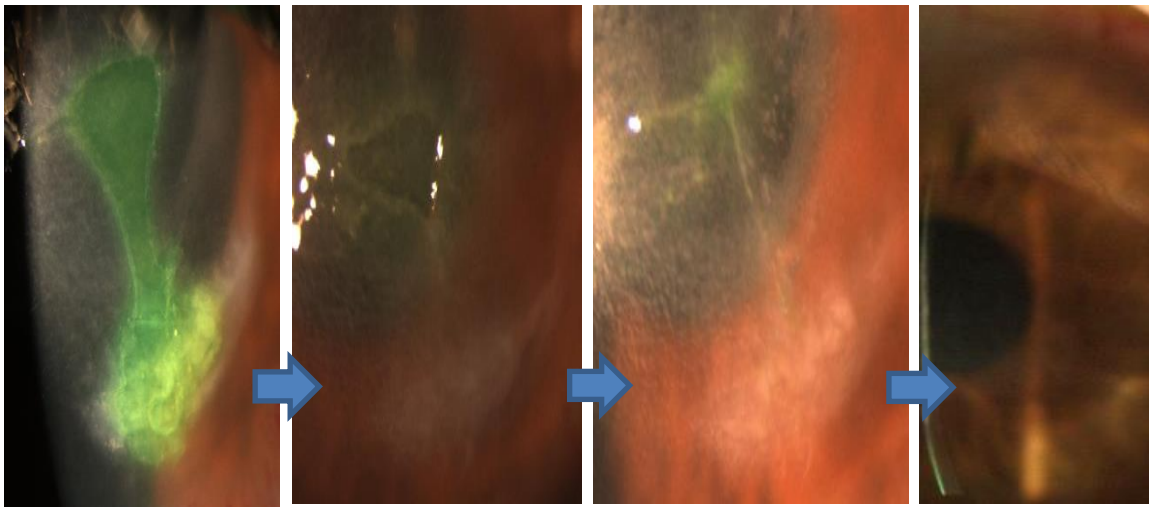


Fig 9: Evolución del cierre de una úlcera neurotrófica tratada con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>)

### 2-3 CAUSAS DE LAS QUERATITIS NEUROTRÓFICAS

Las etiologías que producen las queratitis neurotróficas son muy diversas, desde las infecciones víricas por la familia *herpeae*, pasando por la diabetes mellitus o causas menos frecuentes como la toxicidad por sulfuro de hidrógeno<sup>5-23</sup>.

#### 1. INFECCIÓN (Fig 10)

Se observa a través de microscopia confocal una reducción de las terminaciones nerviosas durante la fase de infección, tanto si se trata de un origen bacteriano, fúngico, como por *Acanthamoeba spp*<sup>7</sup>.

En la resolución del cuadro se observa una regeneración nerviosa, pero existe una menor densidad de las terminaciones. Este hecho se relaciona con una disminución de la sensibilidad<sup>27</sup>, un ejemplo estudiado es el caso de la lepra, la cual está asociada a cambios en la densidad de los nervios estromales y a la irregularidad de los nervios epiteliales que se acompañan de hipostesia.

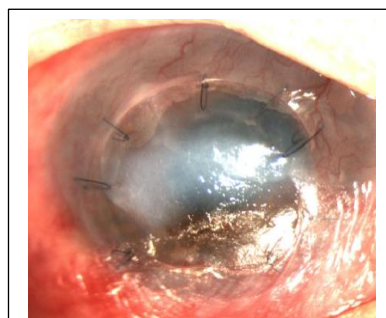


Fig 10: Perforación ocular por infección

Por otra parte, la queratopatía trófica también denominada “metaherpética”, se produce por pérdida de la inervación sensorial en pacientes con antecedentes herpéticos<sup>8</sup>.

#### 2-CIRUGÍA

- Sobre el trigémino: En estudios realizados con microscopia confocal en pacientes sometidos a cirugía sobre este nervio con QN, se ha observado una disminución de la densidad de las células basales epiteliales corneales, una disminución de la longitud de los nervios subbasales, hiperreflectividad de los queratinocitos y disminución de las células endoteliales<sup>9</sup>.

Acentuar que no todas las cirugías sobre el trigémino tienen la misma capacidad de producir QN, la afectación parcial ganglionar o preganglionar puede conservar la función trófica del epitelio corneal a pesar de la hipostesia y no producir signos ni síntomas de QN.

- Cirugía sobre masa a nivel del ángulo cerebelopontino (neurinoma del acústico o meningioma)

Hasta el 8% de las neoplasias intracraneales son neurinomas del acústico y el 36% de estos pacientes presentan una disminución en el reflejo corneal. Los tumores mayores de 2,5 cm presentan con mayor probabilidad disminución del reflejo corneal<sup>10</sup>.

- Cirugía del seno cavernoso.
- Cirugía ocular:
  - La cirugía vitreoretinana con cerclaje, pueden lesionar la inervación corneal.
  - La panfotocoagulación o el ciclodiodo se cree que no lesiona directamente los nervios corneales, sino que la disminución de la sensibilidad se debe a la causa que requirió dicho tratamiento. Sin embargo debemos no realizar una panfotocoagulación altamente confluyente a nivel de los nervios ciliares largos<sup>11-12</sup>.
  - La sensibilidad de corneal tras la cirugía de cataratas se altera pero no se ha observado una clara causa de QN.

### 3-HEREDITARIO/ CONGÉNITO

- Enfermedades hereditaria y neuropatías autonómicas (HSAN tipo IV y V)<sup>64</sup>.
- Anestesia congénita corneal: Enfermedad que puede ocurrir de forma aislada o asociada a déficits sensoriales. Su transmisibilidad es de carácter autosómico dominante pero de penetrancia variable. Se debe a una hipoplasia del ganglio de Gasser. El diagnóstico es de exclusión<sup>65-66</sup>.
- Síndrome de Moebius: Trastorno caracterizado por la lesión en los núcleos del VI y VII par craneal; dando lugar a parálisis facial, limitación a la abducción y alteración de las vergencias horizontales. Hasta un 40% de los pacientes tienen alteraciones en la superficie ocular<sup>67</sup>.
- Aniridia congénita: Dolencia causada por anormalidad del gen PAX6, se producen células madre aberrantes a nivel del nicho corneoescleral ocasionando disminución de la densidad de terminaciones nerviosas y siendo estas aberrantes. Un 80% de los pacientes sufren queratopatía relacionada con la pérdida de sensibilidad<sup>25</sup>.
- Síndrome de Goldenhar o displasia aurículo-vertebral: trastorno más frecuente en hombres, con una incidencia de 1 de cada 5,000 a 25,000, caracterizado por la triada, normal-

## INTRODUCCIÓN

mente unilateral de: microsomía craneofacial, quistes dermoides oculares y anomalías espinales<sup>68</sup>.

- Síndrome de neoplasias endocrinas múltiples tipo 2B<sup>2</sup>: Dicha enfermedad se ha asociado con adelgazamiento de los nervios corneales, por alteraciones genéticas a nivel de las células de Schwann y los axones. Además en el subgrupo B se acompaña de disfunción de las glándulas de Meibomio y queratoconjuntivitis sicca.
- Otros síndromes<sup>2, 65-66</sup>:
  - Polineuropatía familiar amiloidótica: Se han descrito casos de perforaciones corneales bilaterales por reducción de la sensibilidad corneal<sup>69</sup>.
  - Disautonomía familiar o Síndrome de Riley-Day.
  - Displasia congénita ectodérmica anhidrótica.
  - Síndrome de Parry-Romberg.
  - Síndrome de Bassen-Kornzweig.
  - Síndrome de insensibilidad congénita al dolor con anhidrosis (CIPA).
  - Disgénesias mesenquimal como síndrome de VACTERL.

## 4-ENFERMEDADES SISTÉMICAS

Patologías neurológicas como aneurismas cerebrales, accidentes cerebro vasculares o síndromes neurológicos<sup>70</sup> como el síndrome de Wallenberg pueden producir QN.

-El Síndrome de Wallenberg: Consiste en signos y síntomas causados por la oclusión de la arteria cerebelosa postero-inferior. La clínica consiste en la aparición de un conjunto de signos como vértigo, diplopía, disfonía, disfagia, disartria, hipoalgesia y termoanestesia de la cara ipsilateral a la lesión e hipoalgesia y termoanestesia de tronco y extremidades contralaterales a la lesión. Entre sus hallazgos clínicos oftalmológicos es posible encontrar un síndrome de Horner ipsilateral a la lesión por compromiso de la vía simpática descendente, un reflejo corneal disminuido y dolor facial ipsilaterales debido al compromiso trigeminal. De forma aislada han sido publicados casos de queratitis neurotróficas muy severas, característicamente unilaterales y resistentes a tratamiento pudiendo cursar con dolor neurálgico<sup>71-73</sup>.

Polineuropatías sistémicas: Tanto la diabetes mellitus, como la amiloidosis, sarcoidosis, deficiencias de la vitamina B12, deficiencia de vitamina A o el alcoholismo son causas de QN<sup>74-76</sup>.

-DM: La queratopatía diabética ocurre en un 7-64% de los pacientes, ocasionando defectos epiteliales, erosiones recurrentes, disminución de la sensibilidad, retraso en la cicatrización y aumento de infecciones.

Por ende, se aprecia una disminución significativa de la densidad de fibras nerviosas de la córnea, de la densidad de las ramas terminales y de su longitud en comparación a pacientes sanos<sup>76</sup>. Se observa a través de estudios con el estesiómetro de gas, una alteración marcada a la sensibilidad al frío.

#### 5-DISTROFIA CORNEAL

- En la distrofia de Fuchs existe una disminución de la sensibilidad corneal sin estar relacionado con la paquimetría central. Los mecanismos no están esclarecidos con seguridad. Es posible que sea a causa de la fibrosis subepitelial, resultando en el daño de los nervios subbasales, los cuales se observan tortuosos y con bucles<sup>77-79</sup>.
- Queratocono: La tendencia es clasificar al queratocono como enfermedad neurotrófica, puesto que existe una alteración morfológica con terminaciones nerviosas desordenadas y con bucles característicos, acompañado de una disminución de la sensibilidad corneal<sup>80</sup>.
- Otras distrofias también relacionadas con descenso de la sensibilidad son: distrofia granular, Lattice tipo II, síndrome de Meretoja o distrofia epitelial de membrana basal<sup>81-83</sup>.

#### 6- IATROGÉNICO

- LASIK (Laser Assisted in Situ Keratomileusis): Después de la cirugía del LASIK el plexo subbasal decrece hasta más del 80% y afecta también al plexo estromal. La densidad del plexo nervioso no se recupera hasta pasados 5 años. No se ha observado una diferencia significativa en la reinervación con la realización del flap con microqueratomo o con femtosegundo.

El LASIK produce un cuadro denominado LINE, epitelopatía neurotrófica post LASIK y cursa con un progresivo descenso del aclaramiento lagrimal con tinción corneal con fluoresceína patológica, test de schirmer normal y un aumento de me-

## INTRODUCCIÓN

diadores inflamatorios como la IL1, MMP3, MMP9. Es más común en LASIK por alta hipermetropía que en los casos por miopía<sup>84-85</sup>.

- LASEK, PRK (Laser Assisted Epithelial Keratomileusi, Photorefractive Keratectomy): Se ablaiona el plexo subbasal, pero el tiempo medio de recuperación de la sensibilidad es menor; 3,6 meses en el LASEK y 2,3 meses en el PRK en comparación con los 5,5 meses del LASIK<sup>84-85</sup>.
- Trasplante corneal penetrante: Al-qaba et al<sup>86</sup>. notifican que la densidad de los nervios de la capa subbasal no se recuperan hasta 30 años después de un queratoplastia penetrante (Fig 11).

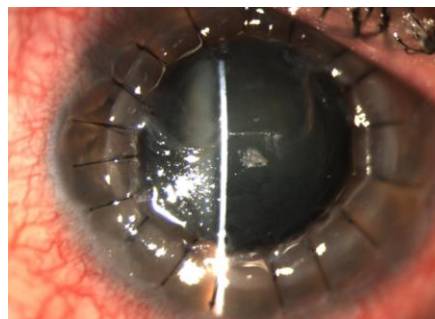


Fig 11: QN en pacientes con QP

En estudios comparativos entre queratoplastia penetrante y DALK (Queratoplastia Lamelar Anterior Profunda) refieren que la recuperación de la sensibilidad es muy similar<sup>41</sup>.

En estudios con microscopia confocal y DMEK (Queratoplastia Endotelial de la Membrana de Descemet) insinúan que el plexo subbasal se recupera en 4 a 10 meses tras la cirugía<sup>41</sup>.

- CROSSLINKING CORNEAL (CXL): En el CXL, estudios de microscopía confocal han demostrado una reducción significativa en la longitud nerviosa total y en la sensibilidad corneal hasta el sexto mes postoperatorio<sup>87</sup>.

## 7-TOXICIDAD

- Fármacos:
  - Con los antiinflamatorios no esteroideos, tanto los antiguos (diclofenaco) como los nuevos (nepafenaco o bromfenaco) existen casos publicados de melting corneal<sup>88-89</sup>.
  - Los anestésicos tópicos como propa-

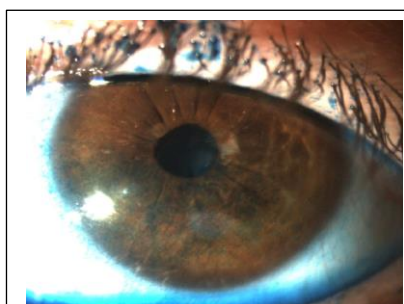


Fig 12: QPS por antipsicóticos

caína retardan el estímulo doloroso ocasionando un enlentecimiento de la cicatrización<sup>90</sup>.

- El timolol o el betaxolol también pueden causar toxicidad corneal.
  - Taxones.
  - Narcolépticos y antipsicóticos (*Fig 12*) .
  - Sulfacetamida el 30%.
- Tóxicos: La exposición a agentes químicos como, el disulfuro de carbono, disulfuro de hidrógeno o gas mostaza, reducen la sensibilidad corneal, llegando incluso a la desestructuración epitelial.
    - En estudios recientes comentan, que el uso abusivo de la cocaína inhalada podría contribuir al desarrollo de QN y ser factor de peor pronóstico en el llamado “crack eye síndrome”<sup>91</sup>.

#### 8-OTROS

- Histeria.
- Tabaco<sup>92</sup>.

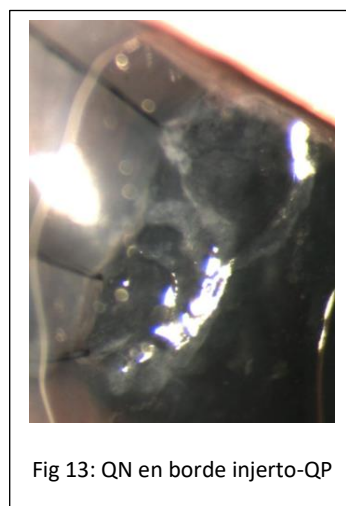


Fig 13: QN en borde injerto-QP

#### 2-4 DIAGNÓSTICO<sup>25</sup>

El diagnóstico de la queratitis o úlceras neurotróficas se basa en una historia clínica que indique daño o compromiso del nervio trigeminal, presencia de defecto epitelial persistente o úlceras corneales y disminución de la sensibilidad corneal.

Las características biomicroscópicas de las QN son (*Fig 13*):

- Lesión de contornos redondeados.
- Bordes edematosos y engrosados de color grisáceo debido a la acumulación del epitelio que es incapaz de migrar y adherirse a la base de la úlcera.
- Ausencia o escaso infiltrado estromal.
- Dolor leve en proporción al defecto corneal.

### 2-5 FISIOPATOLOGÍA<sup>47,93-95</sup>

Una vez la sensibilidad de la córnea se deteriora, se produce una secuencia de eventos:

- La secreción lagrimal se reduce y la película lagrimal es más delgada e inestable alterando la distribución de la mucina sobre la superficie ocular. La composición de la lágrima cambia con respecto a los factores de crecimiento, citoquinas, péptidos antimicrobianos e iones que afectan negativamente a la homeostasis epitelial y a su capacidad para protegerse contra las fuerzas de cizallamiento.
- Debido a la falta de neuromediadores tróficos, la mitosis y la migración centripeta se ralentizan. Los cambios en la película lagrimal y la falta de soporte trófico pueden llevar a una apariencia grisácea e irregularidad epitelial que puede afectar la calidad de visión.
- El daño epitelial continuo da lugar a la pérdida de las uniones celulares, ocasionando QN.
- Las citocinas inflamatorias, la sequedad y el daño epitelial crónico deja al estroma subyacente abierto a la actividad destructiva de las metaloproteinasas que producen melting estromal.
- La extensión y progresión del daño estromal está determinado por el desequilibrio entre activadores e inhibidores de las proteasas.

### 2-6 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL<sup>96</sup>

Se debe hacer énfasis al hecho que los pacientes con QN no se quejan de síntomas y esto hace que puedan buscar consejo médico meses o años después de que la enfermedad haya empezado. La visión borrosa o la fotobia pueden ser reportadas como primeros síntomas debidos al epitelio irregular, cicatrices o edema.

Como diagnóstico diferencial se debería descartar:

- Queratitis infecciosa (*Fig 14*).
- Síndrome de ojo seco.
- Déficit de células limbares.
- Queratitis por radiación.
- Queratitis por exposición.
- Lesión química leve.
- Trastornos relacionados con lentes de contacto.
- Queratitis ulcerativa postoperatoria.

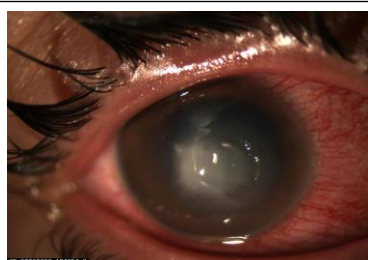


Fig 14: Queratitis bacteriana



## 2-7 GRAVEDAD

Las queratitis neutróficas más graves son aquellas que cumplen las siguientes premisas (Fig 15):

- Afectar al estroma posterior.
- Diámetro de más de 3 mm.
- A menos de 3 mm del eje pupilar.
- Acompañarse de alteraciones palpebrales.
- Existencia de patología lagrimal

La OCT (tomografía de coherencia óptica)<sup>97-98</sup> de polo anterior es una técnica de imagen que permite un análisis cualitativo y cuantitativo de una sección transversal del segmento anterior. En las QN permite localizar, visualizar la regularidad y estabilidad corneal en tres dimensiones y valorar la profundidad estromal, permitiendo evaluar la gravedad de la úlcera sin embargo, la reproducibilidad de la localización exacta del defecto tiene su dificultad, al no tener eye-track como sucede en el software de polo posterior:

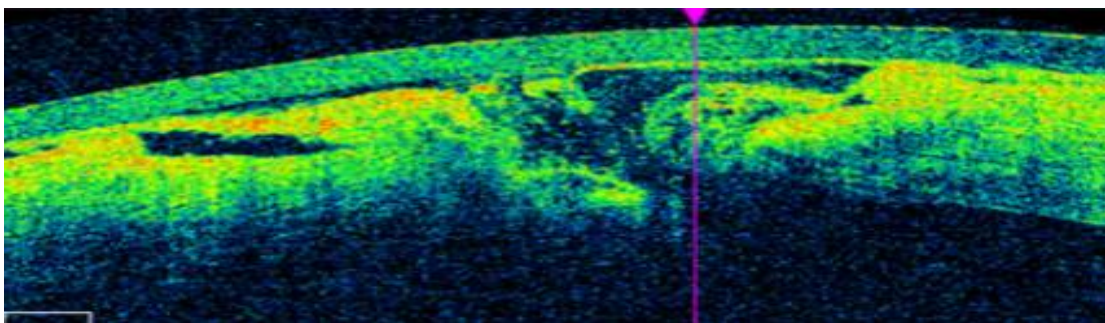


Fig 15: Perforación ocular por úlcera neurotrófica cubierta con lente de contacto.

## 2-8 CLASIFICACIÓN<sup>99</sup>

### Clasificación de Mackie (Fig 16)

#### Grado 1:

- Tinción con rosa de bengala de la conjuntiva palpebral inferior.
- Disminución del tiempo de ruptura lagrimal.
- El aumento de la viscosidad de la mucina..
- Tinción con fluoresceína : queratitis epitelial punteada.

#### Grado 2:

- Defecto epitelial , por lo general ovalado, en la cornea superior o central.
- Defecto rodondeado con un borde del epitelio suelto.
- Los bordes pueden llegar a ser suave y laminados.
- Hinchazón estromal con pliegues en la membrana de Descemet.
- A veces se asocia con inflamación de la cámara anterior.

#### Grado 3:

- Lisis del estroma / fusión.
- Puede producirse una perforación corneal.

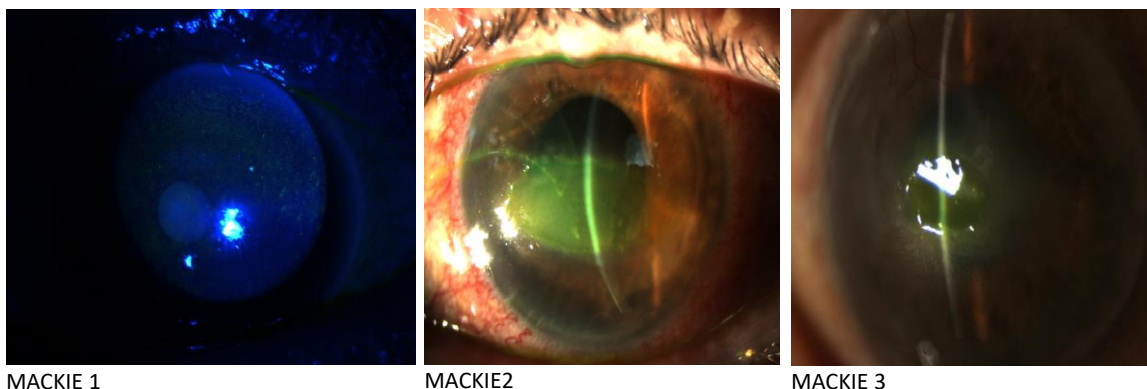


Fig 16: Fotografías de los diferentes grados de Mackie.

## 2-9 TRATAMIENTOS

El algoritmo diagnóstico y terapéutico ante la sospecha de una QN se muestra en la Tabla 3<sup>100</sup>.

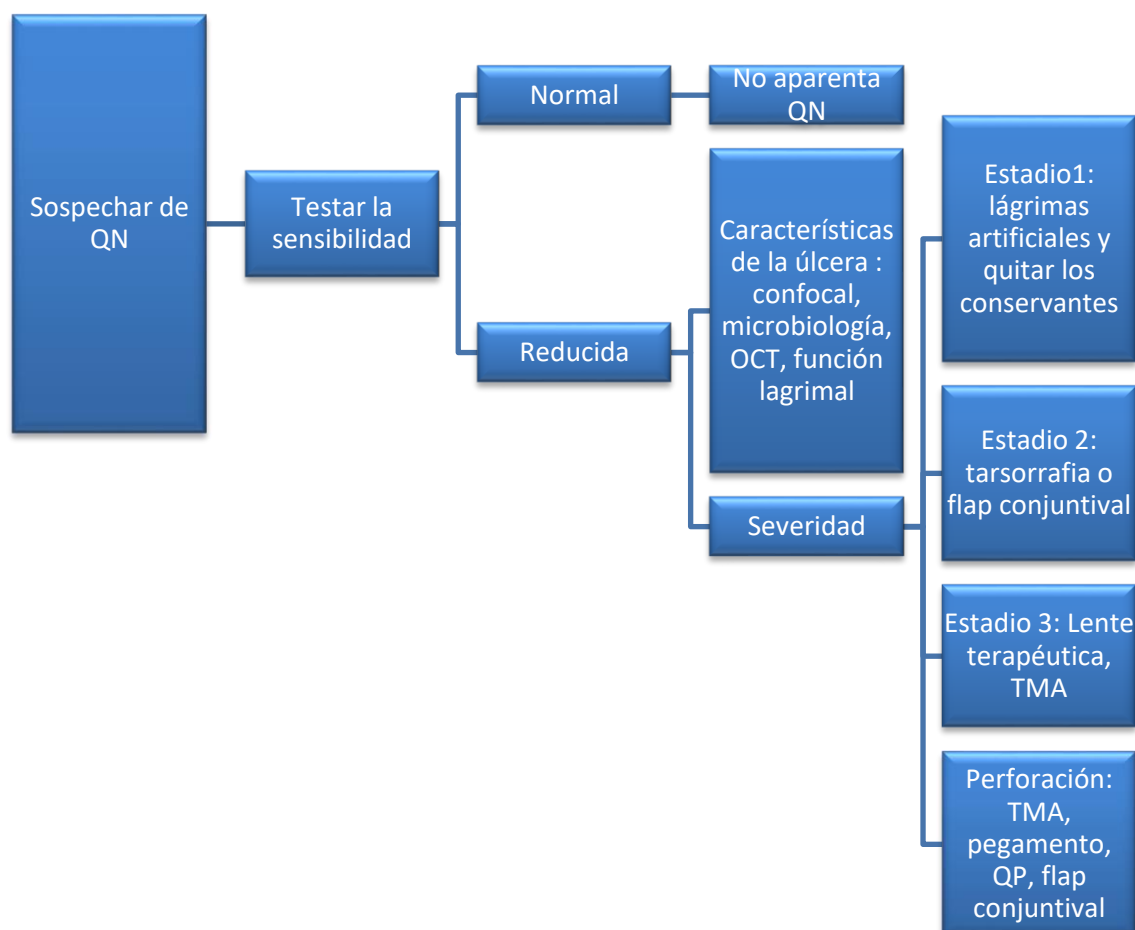


Tabla 3: Diagrama de actuación frente a una QN<sup>100</sup>

El tratamiento inicial siempre debe ser conservador. (Fig 17,18)<sup>100-102</sup>

En la **Etapa 1**, el tratamiento va encaminado a promover la calidad y transparencia del epitelio<sup>2</sup>, se aconseja la interrupción de todo medicamento tópico con toxicidad y la evaluación de los efectos secundarios de terapias sistémicas, como neurolépticos, antipsicóticos y antihistamínicos.

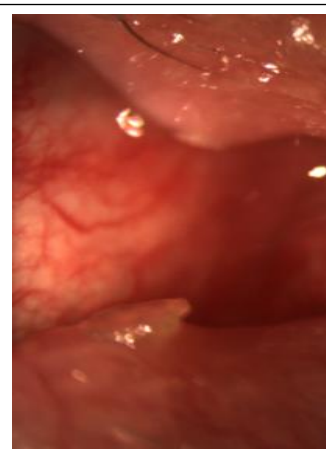


Fig 17: Taponos lagrimales

## INTRODUCCIÓN

La creación de cámaras húmedas con ocluidores especiales y la utilización de tapones o cauterización de los puntos lagrimales pueden favorecer la epitelización excepto cuando existe una inflamación importante, que favorecería un acúmulo de sustancias nocivas. (Fig 18)

En **fase 2**, se promueve la curación de la úlcera y se previene las recurrencias.

En **fase 3**, además se pretende mejorar la lisis estromal o melting y el riesgo de perforación.

En estas fases se requieren otros tratamientos que detallamos a continuación.



Fig 18: Cámara húmeda

### 2-9-1 MEDIOS FÍSICOS

**Ptois farmacéutica con toxina botulínica:** La quimiodenervación anterior del músculo elevador del párpado superior con toxina botulínica tipo A induce una ptois temporal significativa y ayuda a la curación de la ulceración corneal. Sin embargo puede producir diplopía<sup>103-104</sup>.

**Tarsorrafia:** La tarsorrafia disminuye la hendidura palpebral y decrece la tasa de evaporización de la lágrima<sup>105-106</sup> (Fig 19).



Fig 19: Tarsorrafia lateral

**Lentes de contacto:** Las lentes de hidrogel de silicona evitan el roce continuo del párpado sobre la córnea y las lentes esclerales y semiesclerales sirven de reservorio de lágrima en la córnea, pudiendo reducir la necesidad de intervención quirúrgica en el tratamiento de los defectos epiteliales persistentes<sup>107-108</sup>.

- ProKera<sup>®</sup> (BIO-Tissue, Inc, Miami, FL) y OmniLenz<sup>®</sup> : Son unas lentes diseñadas con



Fig 20: Tipo de lentes Prokera<sup>®</sup>

membrana amniótica que favorece la cicatrización. Prokera<sup>®</sup> consiste en 67,6 +/- 25,2 micras de membrana amniótica en una lente rígida de polietil metracrilato. La ProKera<sup>®</sup> plus consiste en multicapa de MA. Es fácil de usar al no necesitar suturas y relativamente bien tolerada. Ha demostrado un éxito moderado en las úlceras corneales y resultados alentadores en las lesiones aguda de origen químico<sup>109</sup>(Fig 20).

- PROSE<sup>®</sup> (*BostonSight®*) o EyePrintPro (*Advance visión Technologies*)<sup>110</sup>: Son lentes de contacto (cúpulas transparentes) hechas de plástico permeable a los gases de un tamaño de 5 centavos de dólar. Permite que el oxígeno alcance la superficie ocular.

Estos dispositivos encajan debajo de los párpados y en la esclerótica, saltando la córnea

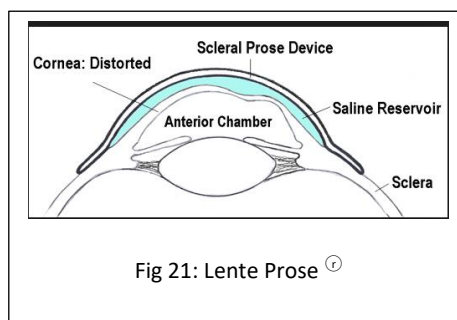


Fig 21: Lente Prose<sup>®</sup>

dañada. Crean una nueva superficie óptica lisa que protege el ojo del medio ambiente y del trauma causado por la apertura y cierre del párpado, mejorando la visión borrosa al enmascarar la superficie irregular y transmitir una imagen nítida. Esta lente se rellena de una solución salina en el momento de la colocación sobre la superficie ocular, creando un depósito de líquido que baña continuamente al ojo (Fig 21).

### 2-9-2 MEDIOS FARMACOLÓGICOS

**Inhibidores de las metaloproteinasas** (colirio de N-acetilcisteína, tetraciclinas y colirio medroxiprogesterona)<sup>111-113</sup>: Las colagenasas tisulares están implicadas en la vía final de los procesos de ulceración corneal. Federici et al<sup>113</sup>, sugieren que las tetraciclinas son capaces de reducir la inflamación en las glándulas de Meibomio del párpado, mejorar la claridad óptica de la córnea, retardar la formación de cataratas y limitar la angiogénesis ocular.

**Ciclosporina A (CSA)**: En las QN se aprecia un retardo en la regeneración de las fibras nerviosas debido a la IL6 y el IL17+, secretadas por las células T helper. La ciclosporina puede mejorar la regeneración corneal por su efecto antiinflamatorio e inmunosupresor<sup>114</sup> e incrementando la producción lagrimal, al promover la apoptosis de los linfocitos T e inhibir la apoptosis epitelial.

## INTRODUCCIÓN

**Los antagonistas de factor de crecimiento opioide:** El factor de crecimiento opioide (OGF) disminuye la división y la migración celular. En estudios in vitro con naltrexona se ha observado incremento en la proliferación del epitelio corneal. Tiene un bajo coste pero tiene un sabor amargo<sup>115</sup>.

### 2-9-3 MEDIOS QUIRÚRGICOS<sup>116</sup>

En las etapas 2 y 3 de la queratopatía neurotrófica se han propuesto tratamientos quirúrgicos orientados a recubrir el epitelio ulcerado para evitar o sellar perforaciones corneales.

**NEUROTIZACIÓN SENSORIAL:** La neurotización sensorial es un procedimiento quirúrgico, donde se pretende reinnervar la zona dañada. Se utilizan neuronas sanas colocándolas en la porción distal sana para que a través de sus fibras se pueda activar las zonas afectadas. Las fibras crecen dentro de la vaina para ir a los órganos efectores. Los nervios utilizados han sido el nervio supraorbital y supra-trocLEAR del ojo contralateral, también se ha propuesto el nervio sural<sup>117-119</sup>. En estudios a largo plazo se observa que la sensibilidad corneal tarda en recuperarse 2,8 años. El tiempo quirúrgico empleado para la realización de esta técnica puede durar hasta 6 horas, dado que se necesita la colaboración de otras especialidades médicas (Fig 22).



Fig 22: Proceso de la neurotización<sup>112</sup>

**QUERATOPROTESIS DE BOSTON<sup>®</sup>** (Boston K-Pro; Massachusetts Eye y Ear Infirmary, Boston, MA, EE.UU.): Se trata de una prótesis de plástico insertada en una córnea donante. Restaura la función visual<sup>120-122</sup>(Fig 23).

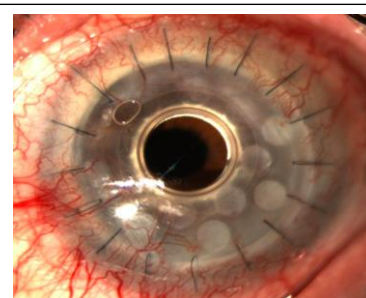


Fig 23: Queratoprotesis de Boston<sup>®</sup>

**ADHESIVOS TISULARES:** Pequeñas perforaciones (menores de 3 mm) pueden ser tratadas con la aplicación de pegamento de cianoacrilato o de fibrina (TisseI<sup>®</sup> o Tissuecol<sup>®</sup>) seguido de una lente de contacto terapéutica<sup>27</sup> (Fig 24). Si existe un prolapso del iris, se puede utilizar un disco circular de plástico sin pegamento y este a su vez cubrirlo con un disco más grande de plástico con adhesivo que se pega al tejido corneal alrededor del primer disco, lo que evita el pegamento se adhiera directamente al iris<sup>123</sup>.

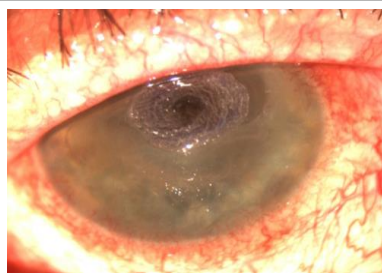


Fig 24: Paciente tratado con cianoacrilato

**TUTOPATCH<sup>®</sup>:** Se trata de una membrana colágena procedente del pericardio bobino. Es una excelente elección para el tratamiento de emergencia en perforaciones corneales, especialmente en aquellos centros que no tienen otras opciones terapéuticas. Se ha empleado en casos de pequeñas perforaciones en QN, acompañado de coágulo de fibrina o Tachosil<sup>®</sup><sup>124</sup>.

**TACHOSIL<sup>®</sup>** (Nycomed Pharma, Zurich, Suiza): Parche adhesivo de fibrina reabsorbible, que se ha utilizado con éxito para tratar perforaciones corneales por queratitis neurotróficas<sup>125</sup>.

**TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA (TMA):** Es una técnica quirúrgica para la reconstrucción de la superficie ocular que se debe considerar en el tratamiento de las QN corneales refractarias. Se ha empleado en pacientes adultos y pediátricos con buenos resultados e incluso se ha intentado bajar la morbilidad de la técnica quirúrgica realizando la sutura con pegamentos de fibrina (Fig 25-26).

Se están usando técnicas nuevas de trasplante de MA un ejemplo es "Pleats Fold" o la multicapa, propuesta para el tratamiento de QN profundas<sup>100,125-128</sup>.

Sin embargo la MA suele reabsorberse en 15 días, si en este plazo no se ha solucionado el cuadro ocular requerirá nueva cirugía.

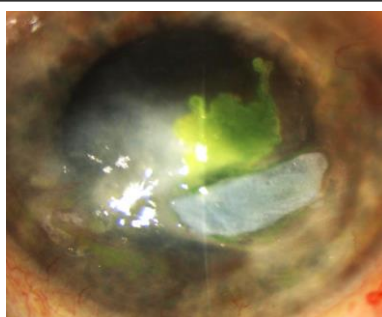


Fig 25: Injerto de MA en paciente con QN postherpética y recidiva de úlcera geográfica epitelial teñida con fluoresceína

## INTRODUCCIÓN

El AmnioGuard<sup>®</sup> es una membrana ultrafina y más compacta comercializada por Bio-Tissue<sup>®</sup> Inc USA, para el uso en caso de melting corneales<sup>129</sup>.

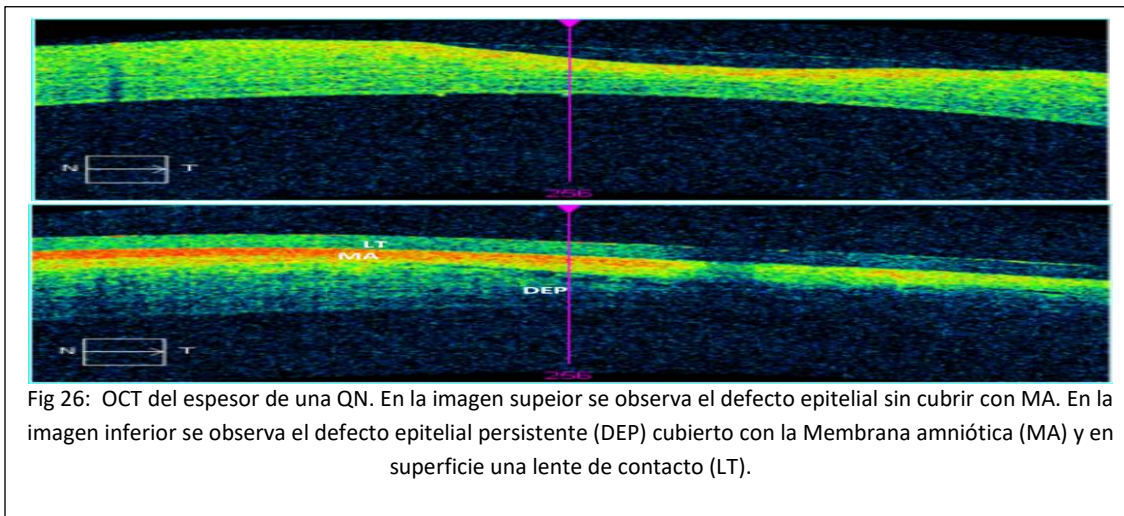


Fig 26: OCT del espesor de una QN. En la imagen superior se observa el defecto epitelial sin cubrir con MA. En la imagen inferior se observa el defecto epitelial persistente (DEP) cubierto con la Membrana amniótica (MA) y en superficie una lente de contacto (LT).

**COLGAJO CONJUNTIVAL (Gunderson)** (Fig 27): Procedimiento quirúrgico estándar capaz de restaurar la integridad de la superficie ocular, dando soporte mecánico y metabólico para la curación de la córnea. Este procedimiento es eficaz para el tratamiento de ulceración crónica de la córnea, se realiza cubriéndola con un colgajo conjuntival pediculado suturado. El objetivo principal de este procedimiento es el de preservar la anatomía e integridad del ojo, pero no restaura la función visual<sup>130-132</sup>.



Fig 27: QN tratada con colgajo conjuntival

**COLGAJO CON MUCOSA ORAL**<sup>133</sup>: El procedimiento es parecido al colgajo conjuntival, pero esta vez se emplea mucosa de la cavidad oral.

**MEMBRANA DE FIBRINA AUTÓLOGA**: Es una técnica donde se emplea material autólogo, fibrina, que se debe acompañar de una tarsorrafia parcial con el fin de mantenerla fijada. La membrana está presente durante 3 a 5 días y desaparece gradualmente. No hay estudios comparativos con trasplante de MA, tiene un alto coste dado que requiere al menos dos horas de trabajo en el laboratorio<sup>134</sup>.



**QUERATOPLASTIA** (Fig 28): El trasplante de córnea está destinado a restaurar la transparencia corneal, debe ser desalentado por el alto riesgo de defecto epitelial persistente (DEP), úlceras recurrentes, adelgazamiento corneal y perforación después de la cirugía, en pacientes con QN<sup>100</sup>.

Conviene poner énfasis en que los injertos corneales son escasos, por lo que se están buscando materiales para la realización de las llamadas “Biocorneas”. Por ejemplo se está estudiando la utilización de escamas de tilapia, un pez, que por su arquitectura y consistencia a partir de colágeno tipo I podría ser una alternativa<sup>135</sup>.

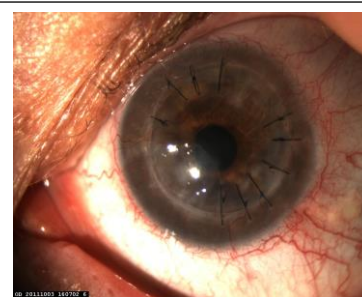


Fig 28: QP por QN

#### 2-9-4 MEDIOS BIOLÓGICOS

Los fluidos biológicos han sido utilizados como lágrimas naturales, por el alto contenido y variedad de factores de crecimiento, vitaminas e inmunoglobulinas<sup>136</sup>.

**COLIRIO DE ALBÚMINA:** La albúmina tiene efectos antiapoptóticos, protege la degradación de citoquinas y favorece la depleción de la acción de las caspasa-3.

La primera vez que se describe su uso fue en 2003. En pacientes con DEP se utiliza al 10% de concentración. En los estudios publicados se compara su acción con el suero autólogo y se observa reducción del discomfort y tinción corneal<sup>137-138</sup>.

#### COMPUESTOS DE VARIOS FACTORES DE CRECIMIENTO

**PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)**<sup>139</sup>: El PRP autólogo es una fuente de factores de crecimiento y plaquetas sin riesgo de reacción inmune o transmisibilidad de enfermedades, ya que se obtiene de la sangre del mismo paciente.

Los gránulos alfas son un reservorio natural de factores de crecimiento, formado por PDGF, TGF- $\beta$ , IGF1, FGF VEGF, Sema 7a, citoquinas, metabolitos activos. El VEGF y el Sema 7Am son dos factores regeneradores potentes, por lo que se cree que el efecto es más potente que con el suero autólogo.

## INTRODUCCIÓN

Se ha observado que la inyección del PRP a nivel de la glándula lagrimal, produce un incremento del volumen de la secreción lagrimal.

En su forma sólida tiene una gran utilidad para el tratamiento de casos severos de perforación corneal, en los que actúa como un verdadero cicatrizante.

**PLASMA RICO EN FACTORES DEL CRECIMIENTO (PRGF):** Numerosos estudios sitúan a las plaquetas y concretamente a los gránulos  $\alpha$ , como reservorios fisiológicos de gran número de mediadores biológicos, entre los que se encuentran factores de crecimiento, proteínas adhesivas, inhibidores de las proteasa y factores fibrinolíticos. EL PRGF, es considerado como un suero autólogo enriquecido<sup>140-141</sup>.

Las primeras utilizaciones de PRGF datan de 1999 en el campo de la odontología y cirugía maxilofacial<sup>142</sup>.

El PRGF es un producto plaquetario 100% autólogo, de sencilla obtención, con una base de concentración de plaquetas y ausencia de leucocitos.

EL PRGF tiene mayor concentración de EGF y se ha observado superior al colirio de suero autólogo (SA) en la estimulación del crecimiento y mantenimiento de las células corneales y conjuntivales. El tiempo medio de epitelización publicado en paciente con QN estadio 2 es de 10,4 semanas y en estadio 3, de 12,4 semanas<sup>143</sup>.

En el mercado español existe el Kit Endoret<sup>®</sup> que constituye una forma rápida y segura de obtención de PRGF <sup>144</sup>(Fig 29).



**SUERO DE CORDÓN UMBILICAL:** El suero umbilical posee factores de crecimiento EGF, vitamina A, TGF- $\beta$ , SP, IGF-1, $\alpha$ 2 macroglobulina, FGF, fibronectina y NGF<sup>145-146</sup>.

Se ha visto que el suero de cordón umbilical es superior al TMA, en términos de salud del epitelio corneal, dado que produce un aumento del BUT y del Schirmer estadísticamente significativo<sup>147</sup>.

Los estudios publicados concluyeron que ha demostrado buenos resultados para defectos corneales superficiales, pero destacan que no es adecuado su uso en úlceras corneales profundas, sin embargo la efectividad de esta alternativa terapéutica no ha sido avalada suficientemente por estudios científicos<sup>147-148</sup> (Fig 30).

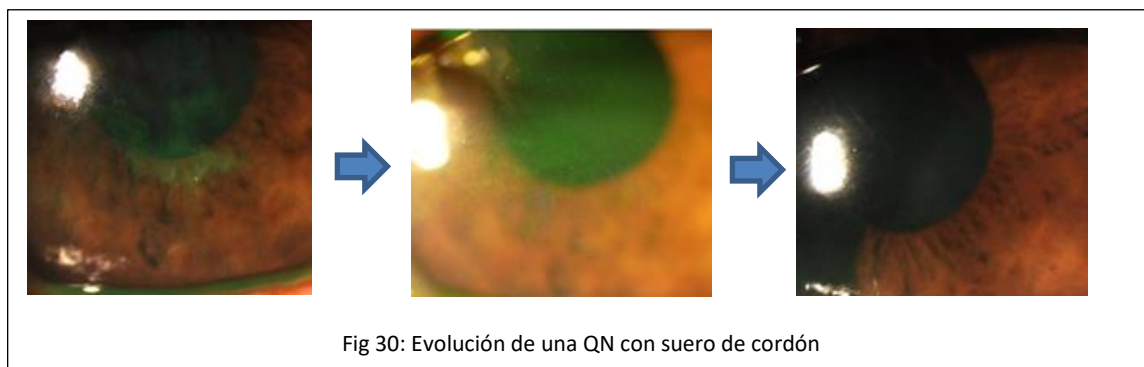


Fig 30: Evolución de una QN con suero de cordón

**COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO:** Ya en 1987 postulaban el uso de la fibronectina autóloga como beneficiosa para casos de úlceras tróficas refractarias por metaqueratitis herpética<sup>57-58</sup>.

El suero autólogo no sólo posee fibronectina, sino que también contiene una gran variedad de factores TGF- $\beta$ , Vit A, SP, IGF-1, NGF, EGF, LPS, TBARS, CGRP<sup>149</sup> (Tabla 4) .

Tabla 4: Relación comparada de las concentraciones de los principales factores epiteliotróficos encontrados en lágrima y en colirio de suero autólogo.

	LÁGRIMA	SA
EGF (ng/ml)	0.3-3	0.5
TGF-beta (ng/ml)	2-10	6-33
Vitamina A (mg/ml)	0.02	46
Fibronectina( $\mu$ g/ml)	1.4	6
Lisozima (mg/ml)	21	205

Es ampliamente utilizado en la clínica oftalmológica, sobretodo en pacientes con sintomatología de ojo seco, los cuales han demostrado tener los mismos niveles de factores de crecimiento que los pacientes sanos<sup>149</sup>.

En estudios de viabilidad de estas moléculas, comentan que a temperatura de 25°C la estabilidad es de 24 horas, a temperaturas superiores se reduce a 3 horas y a temperaturas de -15°C, la viabilidad puede llegar hasta 6 semanas<sup>150</sup>.

## INTRODUCCIÓN

Pero está contraindicado en anemia severa, pacientes extremadamente ancianos, enfermedades crónicas que requieran inmunosupresión y en pacientes con VIH, VHC, VHB o sífilis; por lo que queda significativamente reducido su uso en algunos pacientes con QN (Fig 31)



### COLIRIO A BASE DE UN SOLO FACTOR DE CRECIMIENTO

**Factor de crecimiento neurotrófico (NGF)<sup>144,151-154</sup>.** Es un dímero no covalente consistente en dos polipéptidos 118-de residuos, cada uno de los cuales contiene tres puentes disulfuro intramoleculares. Pertenece a la familia de las neurofinas. Promueve la supervivencia y la diferenciación de las neuronas. Receptores de la NGF, los TrKA, se han detectado en la córnea, conjuntiva, lágrima y glándulas lagrimales. Se ha observado que el NGF promueve el restablecimiento del epitelio en pacientes con queratitis neurotróficas y en desepitelizaciones después de la cirugía de cataratas.

NGF es el responsable de la elongación y la ramificación nerviosa en estudios experimentales. El NGF y los ácidos omega 3 se han postulado como neuroprotectores.

Sus efectos en la proliferación aparecen regulados directamente a través de un aumento en su receptor, TrkA, sin embargo los efectos sobre la migración también están mediados y reforzados por la MMP-9<sup>152</sup>.

En contra, tiene un alto coste; se está produciendo NGF recombinante a través de *Sacharocerevisiae* y *Echerichia coli*, incluso con células mamíferas. Colagelo et al<sup>155</sup> han sido capaces de producir a dosis de laboratorio rh-NGF con buenos resultados in vivo, pero produce hiperalgesia en la utilización tópica.

Ha sido desarrollado por Scil Proteins (Alemania) y optimizado para producción comercial por Dompé (Italia). Se ha demostrado en estudios clínicos en fase II su seguridad y eficacia (ClinicalTrials.gov Identificadores NCT01756456, NCT01794312 y NCT01165450).

El 6 de julio del 2017 se comercializó el Cenegermin o rh-NGF (20 µg/ml) bajo el nombre de Oxervate<sup>®</sup>, en forma de colirio multidosis y con una dosificación recomendada de 1 gota cada 2h o 6 veces al día durante 8 semanas<sup>156</sup>. Requiere preparación por parte del usuario y refrigeración puesto que a 25°C se mantiene estable solo 12h.

**Factor derivado del pigmento epitelial (PEDF):** PEDF con DHA en estudios experimentales favorece la regeneración corneal y mejora la sensibilidad e incluso con daños nerviosos importantes, a través de la activación de la transcripción del neuropéptido, proteína prolina pequeña 1a y péptido intestinal vasoactivo en los ganglios del trigémino<sup>157</sup>.

## 2-9- 5 OTROS FÁRMACOS EN ESTUDIO:

La industria farmacéutica está llena de nuevas expectativas para un futuro próximo. Por este motivo en estudios muy experimentales existen nuevas armas terapéuticas con prometedores resultados y tal vez algún día podremos solucionar este problema, estos son algunos de los fármacos.

**Coencima Q10 (Co Qun<sup>®</sup>)<sup>158-159</sup>:** Lípido soluble que actúa en el balance energético mitocondrial, como antioxidante. Dicha sustancia se ha comercializado por VISUfarma<sup>®</sup> a nivel Europeo, con la aprobación para su uso en patologías cuya causa se derive de la disfunción de la mitocondrial.

También se relaciona con la inhibición de la caspasa 2, causante de la activación de la apoptosis celular y en las QN se ha considerado como un tratamiento adyuvante, por promover la epitelización y la regeneración del plexo nervioso en casos refractarios.

**Nicergolina:** Derivado de la ergolina cuya función es incrementar los niveles de NGF. Lee et al han observado que con dosis orales en ratas, se incrementa la NGF a nivel corneal y lagrimal. A nivel tópico es fácil de formular. Puede ser beneficioso en pacientes que no han respondido a tratamientos convencionales<sup>160</sup>.

**Insulina<sup>161-162</sup>:** Ya en 1945 reportan, que el uso de insulina sistémica favorecía la epitelización corneal. En estudios recientes con ratas y humanos, se describe que aportes tópicos de insuli-

## INTRODUCCIÓN

na dos veces al día promueve la migración celular y cierre de QN. El rango del tiempo de epitelización es de 7 a 25 días.

**Substancia P (SP):** Neurotransmisor del nervio trigémino y miembro de la familia de las taquíninas. Se puede aislar en la lágrima, obteniéndose una correlación positiva de la concentración de substancia P y la densidad de los nervios corneales e incluso Markoulli et al indican que podría ser un potencial biomarcador de la salud de estos<sup>76</sup>.

En estudios realizados en ratas con denervación trigeminal, se ha observado que per se no tiene función pero en combinación con la IGF-1, realizan sinergia y facilitan la migración. La hipótesis es que la combinación de SP y el IGF-1 estimula el epitelio corneal la migración celular y la expresión de la integrina A5 y B1, esencial para la unión de las células epiteliales a las proteínas de la matriz extracelular<sup>25</sup>. Ha sido reportado que el uso de SP+IGF1 previenen la queratitis puntata en pacientes diabéticos tras cirugía de cataratas, al promover la adhesión de las células epiteliales corneales a la fibronectina de la matriz extracelular. Se ha descrito el cierre del 73% de los paciente con un tiempo medio de 4 semanas<sup>144,163</sup>.

**Timosina beta-4 :** Péptido cuya función principal es acoplarse a la G-actina. Ha demostrado un efecto estimulante en la cicatrización corneal a través de la regulación de las metaloproteinasas 1 y la laminina S. Está por confirmar la acción a nivel de los nervios corneales. En la actualidad se está desarrollando el estudio NCT02600429<sup>164</sup>.

**Netrina 1:** Mejora la cicatrización y reduce la neovascularización<sup>164</sup>.

**17β- estradiol:** Facilita el mantenimiento del efecto beneficioso sobre la migración del epitelio corneal y la proliferación. Esta parcialmente relacionado con el aumento de EGF in vitro<sup>165</sup>.

**CODA001 (Nexagon<sup>®</sup>):** Oligopéptido natural que inhibe la proteína de unión gap y a su vez inhibe la proteína de unión gap conexina 43 reduciendo la inflamación. En la actualidad se están haciendo estudios en fase II en DEP diabéticos postvitrectomía<sup>166</sup>.

**Capsaicina:** Promueve in vitro la reparación corneal.

**Células mesenquimales derivadas de adipocitos autólogos como aplicación tópica:** Se ha utilizado en DEP estériles, observándose una mejoría a partir de la segunda semana y sin recidivas tras 6 meses<sup>167</sup>.

**Fluido amniótico:** Se ha observado ex vivo la aceleración de la reepitelización corneal<sup>168</sup>.

**Keratin films de pelo humano:** En estudio en fases iniciales se ha propuesto para la reconstrucción corneal como alternativa a la MA, con buena biocompatibilidad y transparencia<sup>169</sup>.

Otra molécula en estudio es el **CNTF** (Ciliary neurotrophic factor) a nivel tópico, el cual aumenta la densidad de las fibras nerviosas en 8 semanas<sup>170</sup>. La inyección subconjuntival de **neuropeptido FF** en ratones diabéticos promueve la recuperación de lesiones de los nervios corneales y el cierre de úlceras.

**Rebamipide oftálmico en suspensión:** Se trata de un aminoácido derivado de 2- (1H) -quinolinona, utilizado para la protección de la mucosa, la curación de las úlceras gastroduodenales y el tratamiento de la gastritis. Recientemente se ha usado para tratar DEP en un paciente diabético debido a que promueve la secreción de mucina en el fluido lagrimal, aumenta el número de células caliciformes, restaura la función de barrera del epitelio corneal y posee actividad antiinflamatoria<sup>171</sup>.

## 2-10 PRONÓSTICO

Las QN son una de las enfermedades oculares de manejo más difícil y desafiante en la práctica clínica al carecer de un tratamiento específico. El pronóstico depende de la etapa de la enfermedad, la causa, la gravedad del daño del trigémino y la presencia de enfermedad de la superficie ocular asociada tal como: ojo seco, insuficiencia límbica o queratitis por exposición<sup>25</sup>. Está aceptado que cuanto más grave es la afección en la sensibilidad corneal, tanto más alta es la probabilidad de progresión de la enfermedad. El resultado quirúrgico, queratoplastia, en pacientes afectados por QN es generalmente pobre debido a la alteración en la cicatrización de heridas y el riesgo de recurrencia<sup>172</sup>.

Es importante recordar al paciente que debe ser revisado frecuentemente, ergo la patología habitualmente carece de signos y síntomas.

## 2-11 MORBILIDAD<sup>96</sup>

Tras una úlcera neurotrófica pueden quedar secuelas que van desde la visión borrosa secundaria a irregularidades epiteliales pasando por neovascularización y/o cicatrización leucomatosa hasta otras más devastadoras como son la infección secundaria por defectos epiteliales o la perforación ocular (Fig 32).



Fig 32: Leucoma sobre un QN

### 3-ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS ESTUDIADAS EN ESTA TESIS

#### 3-1 RTGA<sup>®</sup> (ReGeneraTing Agents Cacicol20<sup>®</sup>; OTR3, París, Francia).<sup>173-182</sup>

El Cacicol<sup>®</sup> o poli (sulfato de carboximetilglucosa) es un agente de la matriz de la familia de los polisacáridos derivado de dextranos por la sustitución química con grupos carboxymethyl y sulfatos imitando heparán sulfato (Fig 33). Favorece un microambiente para la migración (PH, temperatura) y la multiplicación celular, dado que protege los factores de crecimiento evitando la degradación e in vitro inhibe enzimas proteolíticas como las elastasas, plasminas y capeinas G.

Es dosis dependiente, solo se ha detectado en la zona de administración.

Es el primer terapéutico matricial en oftalmología que se ha comercializado. La Unión Europea aprobó su uso en 2008 en presentación de 1 ml y en el 2010 como presentación en unidosis.

Se suministra como una solución estéril de dosis única de

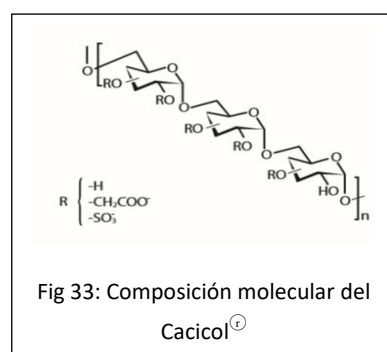
alfa 1-6 sulfato de glucosa policarboximetílico con T40 dextrano y 0.9% cloruro de sodio como excipientes. No posee componentes animales. El número de la patente es el 6689741.

Este nuevo producto se ha comercializado en España por la farmacéutica Thea con el nombre de Cacicol<sup>®</sup>, en unidosis de 33ml de solución estéril de cloruro sódico al 0.9% con un 0.1% de sustancia activa<sup>182</sup>.

Es estable durante 36 meses a temperatura de 4-25°C. Debe estar protegido de los rayos ultravioletas.

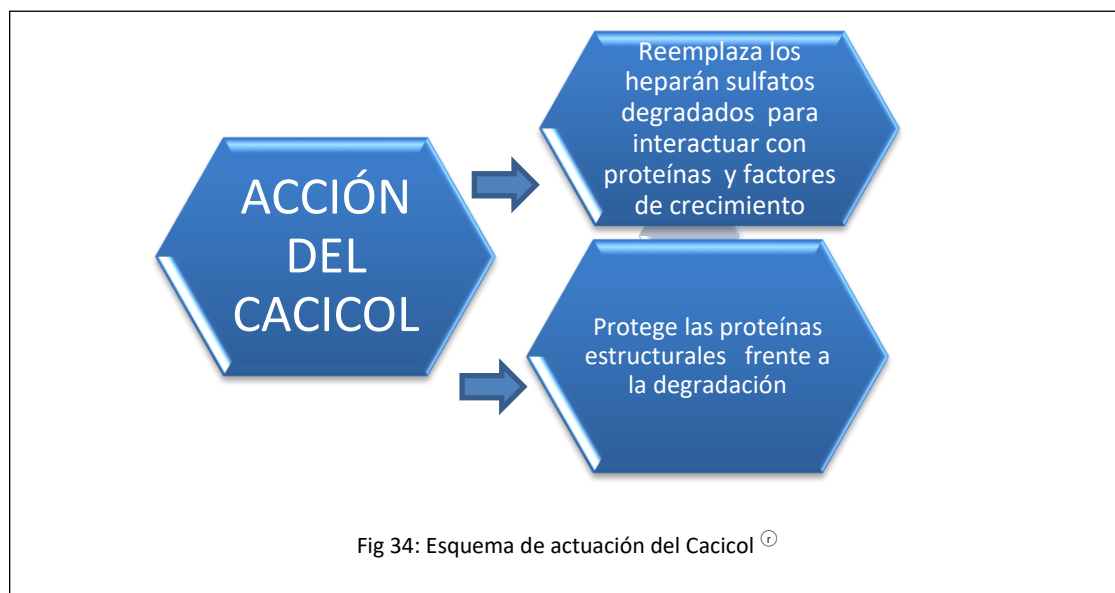
En ficha técnica se especifica que no se debe utilizar con aminoglucósidos como la neomicina o la gentamicina porque comparten ruta de acción y en pacientes alérgicos a las heparinas o heparinoides.

Se ha observado acción antifibrótica, al disminuir la síntesis del colágeno III y favorecer la organización. Mrukwa-kominek et al refieren a través de estudios de OCT de polo anterior, que en pacientes con QN no solo frena el adelgazamiento, sino que aumenta la paquimetría en la zona del adelgazamiento<sup>179</sup>.





Por otro lado, se ha observado en estudios in vitro inhibición de enzimas proteolíticas y potenciador de la actividad mitógena. Tiene baja degradación, se cree que es debido a la falta de dextranas de los mamíferos<sup>180</sup> (Fig 34).



Los regeneradores de matriz se han utilizado a nivel dérmico, debido a que acelera el cierre de úlceras agudas como en la epidermiolisis bullosa o en crónicas tanto de origen diabético como vascular.

Por otra parte un aumento de la instalación puede ocasionar una recaída de la QN. Este hecho desborda la capacidad de amarrar las proteínas de la estructura corneal y unirse a factores de crecimientos necesarios para el cierre epitelial.

No se ha observado la penetración a nivel intraocular<sup>182</sup>.

En los estudios realizados, no se observa que sea clastogénico ni mutagénico.

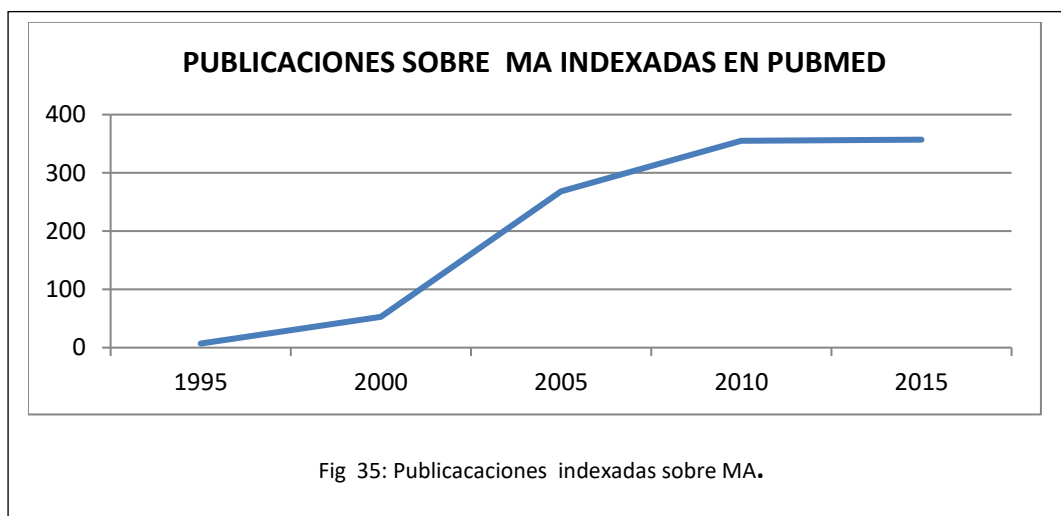
Se ha aprobado para su uso ocular mejorando también los síntomas de ojo seco, sin embargo no posee estudios estandarizados y aleatorizado que comprueben estos hechos, simplemente casos aislados. Los datos publicados el número de casos tratados en un mismo estudio son menores a 40<sup>181</sup>.

### 3-2 MEMBRANA AMNIÓTICA (MA)

#### 3-2-1 INTRODUCCIÓN

Data de 1910 el primer uso de la MA, Davis la implantó en un trasplante de piel<sup>183</sup>. La primera vez que se reporta la utilización de la membrana amniótica en oftalmología es en 1940 cuando De Röth usa membrana con amnios y corion para reparar un simblefaron. Más tarde Sorby et al en 1946 la utiliza pero a partir de aquí cae en decadencia y queda relegada al este de Europa y la India. No fue hasta 1995 que Kim y Tseng cuando la reintroducen hasta llegar a la popularidad de hoy en día, donde es usada para multitudes de circunstancias como: DEP, descematoceles, queratopatía bullosa o en banda, desórdenes de las células limbares, reconstrucciones conjuntivales, cirugía del pterigium o en la del simbléfaron, tumores escamosos, reconstrucción de ampollas de trabeculoplastia o expansión celular<sup>184-186</sup>.

Las publicaciones sobre el uso ocular y las características de la MA ha crecido de manera exponencial<sup>184</sup> en los últimos años (Fig 35), habiendo un total de 14.286 publicaciones sobre MA indexadas en Pubmed y 2.167 en los últimos 5 años, representando un 6.5 % de las publicaciones.



Esta arma terapéutica no queda relegada simplemente a la oftalmología sino también en otras especialidades como la neurología, donde parece promover la recuperación funcional de las terminaciones neuronales en modelos experimentales de lesión penetrante en el cerebro<sup>186</sup>. En enfermedades metabólicas por la acción esfingomielasa de la MA, donde se ha descrito mejoras en pacientes con Niemann-Pick<sup>187</sup> o en otorrinolaringología como reemplazo de la mucosa en el Rendu-Osler-Weber evitando sangrados profusos. Hoy en día el TMA es el Gold standard

en el tratamiento de UN<sup>188</sup> y también se ha descrito como sustrato para la expansión y transferencia de las células limbares.

La composición bioquímica de la MA se ve influenciada por la edad de la gestante y del tiempo de la gestación<sup>189</sup>. Existe una significación negativa en relación con el tiempo gestacional y los factores de crecimiento, b-FGF, HGF, KGF y TGF- $\beta$ 1; no hay correlación con los niveles de EGF. También se observa una correlación negativa con la edad de la gestante respecto con el total de proteínas y los factores de crecimiento sin que sean estadísticamente significante. No hay correlación con el número de partos ni con el número de abortos previos. Estudios recientes refieren diferencias de factor de necrosis tumoral, de IL6 y IL8 en fluidos amnióticos procedentes de afroamericanos y de caucasianos<sup>190-191</sup>.

Por otra parte el uso de la MA en fresco sería la opción ideal pero no es aplicable en la clínica debido al riesgo de transferencia de enfermedades tipo VIH o hepatitis C, por lo que hay que preservar el tejido durante 6 meses y realizar serologías a las donantes. Por ende, la calidad del tejido también depende de los métodos de preservación (criopreservación, congelación, liofilización, esterilización con radiación seguido de liofilización) así como en la calidad del suero de membrana amniótica influyen los protocolos de filtración y centrifugación (Tabla 5). Por ejemplo, se ha visto más eficaz la preservación en frío que en seco para el cultivo celular debido a las alteraciones que sufre la membrana basal en dicho proceso<sup>192-193</sup>.

Esto hechos podrían ser causas de diferencias en la efectividad del tratamiento<sup>189</sup>.

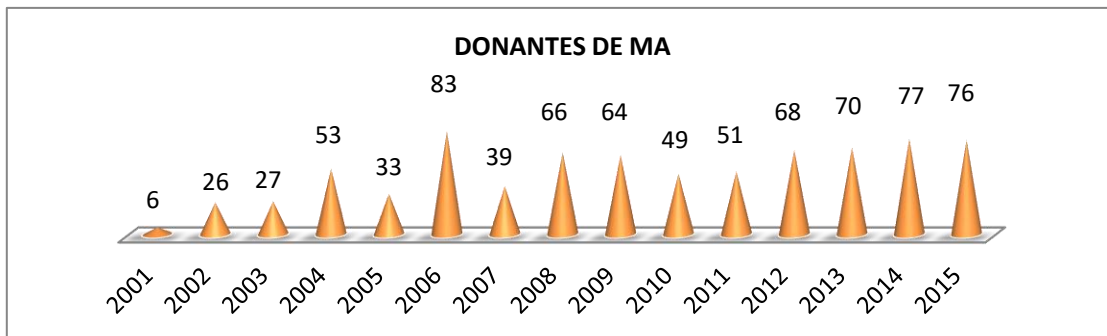
	Proteínas totales (mg/ml)	b-FGF (ng/mg)	EGF (ng/mg)	HGF (ng/mg)	KGF (ng/mg)	NGF (ng/mg)	TGF-alfa (ng/mg)	Tgf-beta1 (ng/mg)
MA-NP	0.30 (0-1,19)	0.92 (0-2.27)	0 (0-0.48)	7.22 (0-26.5)	0.13 (0-0.64)	0.44 (0-2.33)	0 (0-0.0001)	0.003 (0-0.59)
MA liofilizada	0.13 (0-0.3)	0.11 (0-1.63)	0.25 (0-2.2)	0.10 (0-12.90)	0 (0-0.17)	0.31 (0-3.12)	0	0.10 (0-1.91)
MA congelada	0.12 (0-0.91)	1.44 (0-2.83)	0.47 (0-1.1)	3.87 (0-10.93)	0.04 (0-0.17)	0.69 (0-2.08)	0 (0-0.0001)	0 (0-2.29)

Tabla 5: Factores de crecimiento dependiendo de la conservación de la MA.

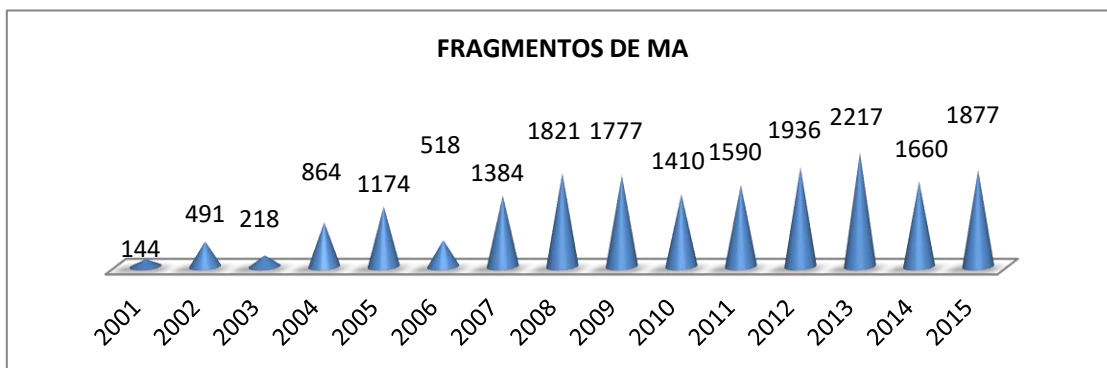
**3-2-2 USO DE LA MA EN EL ESTADO ESPAÑOL**

A través de los datos extraídos de la página web de la Organización Nacional de Trasplante (ONT), las siguientes gráficas muestran el uso de la MA en el estado español<sup>194</sup>.

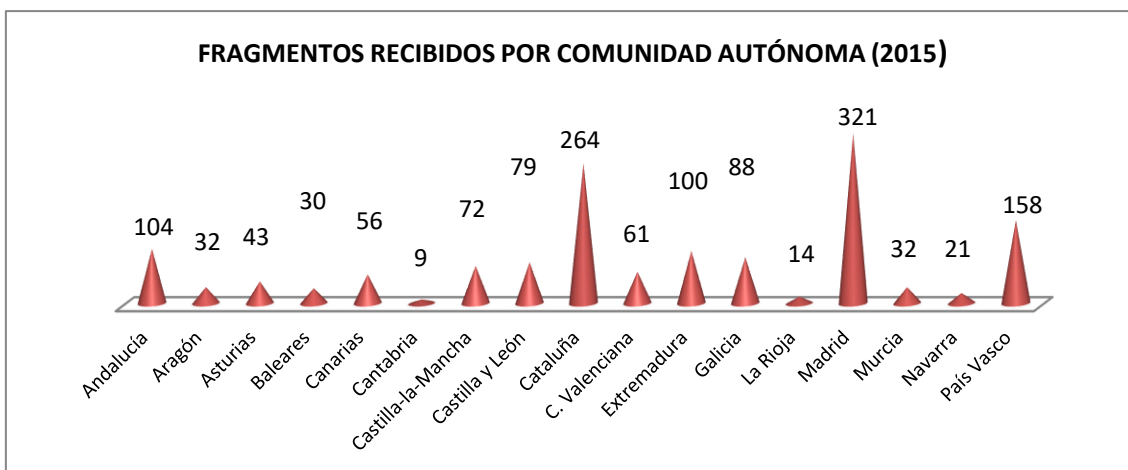
Gráfica 1: Donantes de MA en el estado español



Gráfica 2: Fragmentos producidos de Membrana amniótica.



Gráfica 3: Uso de los fragmentos de MA por comunidades autónomas.



Durante el año 2015 hubo 76 donantes de membrana amniótica, de los cuales se obtuvieron 1877 fragmentos de tejido. El número de pacientes trasplantados ascendió a 1484.

### 3-2-3 HISTOLOGÍA DE LA MA <sup>195-197</sup>

La membrana amniótica a término tiene una superficie de aproximadamente 700 a 1800 cm<sup>2</sup>, un peso de 15 a 35 g y un espesor que varía de 70 a 180 μm, pero depende de las gestantes

Es una membrana traslúcida y que está compuesta por (Fig 36):

- El epitelio amniótico forma un tapizado monocapa, continuo e ininterrumpido de células cilíndricas, cuboides o planas, con un gran número de microvellosidades sobre su superficie apical en contacto con el líquido amniótico.
- Reposa sobre una membrana basal bien definida, compuesta de una malla de fibras de colágenos tipo III y IV y glicoproteínas. Su cara interna guarda una relación compleja con las células epiteliales, dado que pequeños salientes romos y cortos del polo basal de dichas células se interdigitan con procesos similares de la lámina basal.
- Más externamente, se encuentra una capa muy variable en espesor, la capa intermedia o esponjosa, rica en elastina, proteoglicanos hidratados y fibras de colágeno predominantemente tipo III, que separa el amnios del corion.
- Su cara externa está unida con el mesoderma amniótico, en cuya parte más proximal se distingue una capa compacta, acelular, densa, probablemente la más fuerte de todas las capas amnióticas, compuesta de: fibronectina, colágeno intersticial tipo I y III y colágeno tipo V y VI, que forman conexiones filamentosas entre el colágeno intersticial y la membrana basal. Por fuera de esta, se encuentra una capa dispersa de células estromales de tipo fibroblastos y escasos macrófagos, embebidos en una malla de fibras reticulares.



Fig 36: Histología de la MA

El amnios es uno de los pocos tejidos carentes de músculos, nervios y vasos linfáticos. Sus nutrientes son obtenidos por difusión desde el líquido amniótico y/o la decidua subyacente.

### 3-2-4 PROPIEDADES DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA

#### **Propiedades inmunológicas**<sup>198-202</sup>:

Desde hace varios años, se ha señalado que las células de las membranas fetales son poco inmunogénicas y tienen propiedades inmunoreguladoras. Las pruebas provienen fundamentalmente de la tolerancia materno-fetal observada durante la gestación, así como de evidencias clínicas.

La MA se ha utilizado en tratamiento de heridas cutáneas, úlceras crónicas, quemaduras o en la reconstrucción del globo ocular, sin constatar rechazo a pesar de no utilizar inmunosupresión.

Las células MA no expresan o tienen muy baja expresión de los antígenos HLA clase Ia (HLA-A, HLA-B y HLA-C), no expresan antígenos HLA clase II (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR) y si expresan antígenos HLA clase Ib (HLA-E y HLA-G).

Está en contacto con la superficie ocular del feto durante el periodo fetal, es bien tolerada y cicatriza de forma correcta lesiones corneales iatrogénicas a nivel fetal.

#### **Propiedades biomecánicas:**

La MA es una de las membranas más resistentes de los tejidos humanos, posee una serie de características biomecánicas que la hacen óptima para los ensayos de reconstrucción e ingeniería tisular, especialmente como sostén de otras células o materiales<sup>203</sup>. Estas propiedades incluyen permeabilidad, elasticidad, estabilidad, flexibilidad, plasticidad, resistencia a la tracción y transparencia, que dependen de la constitución de la matriz extracelular y de la membrana<sup>187</sup>. Por ejemplo, se ha observado una buena adherencia y viabilidad de los fibroblastos en la MA, por lo que parece ser un buen sustituto temporal de la piel<sup>204-205</sup>.

Gracias a esta propiedad el TMA a nivel ocular puede resolver una perforación ocular o servir como puente a la espera de la queratoplastia en los casos de falta de respuesta.

#### **Propiedades antimicrobianas**<sup>206-213</sup>:

Tanto la placenta como las membranas fetales producen antimicrobianos naturales, un ejemplo son la familia de las defensinas y de las proteínas que contienen el dominio ácido whey (WAP).

La capacidad de producir  $\beta$ -defensinas, especialmente  $\beta$ 3-defensinas, las cuales forman parte de un grupo de péptidos antimicrobianos expresados en las superficies mucosas por las células epiteliales y leucocitos<sup>189</sup>, proporcionan al huésped protección antibacteriana y antiviral.

La familia de las proteínas que contienen el dominio ácido whey (WAP) incluye dos inhibidores de proteasas: el inhibidor de proteasa secretada por el leucocito y la elafina. Estas acciones conjuntamente funcionan como integrantes del sistema inmune innato para resguardar el epitelio de efectos dañinos de las proteasas durante las inflamaciones e infecciones.

En la MA se ha encontrado cistatina E, un miembro de la superfamilia de las cistatinas humanas, inhibidor de proteinasas y con propiedades antivirales.

Por otra parte, se ha demostrado efectos antimicrobianos *in vitro* contra: *Staphylococcus aureus*, *Hemolytic streptococcus* grupo A, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Nuevas publicaciones comentan el uso de injerto de MA en queratitis infecciosas activas no solo bacterianas sino también en queratitis ameboides y fúngicas.

#### **Propiedades antiinflamatorias y antiangiogénicas<sup>214-219</sup>:**

Los corticoides son una opción en procesos inflamatorios, pero a largo tiempo pueden conducir a la perforación ocular, al retraso de la epitelización y al aumento de la tensión ocular por lo que la MA podría ser considerada una ahorradora de corticoides en aquellos pacientes corticodependientes con problemas de superficie ocular<sup>219</sup>.

Se ha comprobado que la MA expresa varios marcadores antiangiogénicos y proteínas antiinflamatorias, como el antagonista del receptor a interleucina 1, inhibidores de las metaloproteasas 1, 2, 3 y 4 e interleucina 10.

Hao et al<sup>215</sup> y posteriormente Shao et al<sup>218</sup> demostraron efectos antiinflamatorios en la MA.

Igualmente las células de la MA producen factores antiangiogénicos e inhibidores de la trombosis como trombospondina 1 y endostatina, potentes sustancias antiangiogénicas. Además contienen proteínas de la matriz extracelular como el colágeno  $\alpha 2$ , laminina-1 y 5, fibronectina y colágeno tipo VII, que están involucrados en la supresión neovascular.

Por otra parte, expresa CD95, receptor de superficie celular que media en la apoptosis.

Estudios experimentales han probado que la matriz extracelular de la MA juega un papel relevante en la adhesión de células inflamatorias a través del ácido hialurónico.

#### **Propiedades epitelizantes o promovedoras de la regeneración:**

La MA ha sido ampliamente utilizada en clínica al promover la epitelización.

Su estructura y organización así como el mantenimiento de la integridad de la membrana basal y de la matriz estromal juegan un papel importante por las interacciones que se establecen entre los diversos ligandos que ofrecen las moléculas de sus componentes (lamininas, fibronectinas, etc.) y los receptores celulares.

## INTRODUCCIÓN

Además, la MA expresa diferentes factores de crecimiento (EGF, TGF $\alpha$ , KGF, HGF, bFGF y TGF $\beta$  1, 2 y 3) los cuales pueden estar involucrados en la epitelización<sup>220</sup>.

Algunas evidencias experimentales sustentan, que el efecto epitelizador de la MA podría deberse a que acelera la migración de los queratinocitos desde los bordes de la úlcera y favorece su diferenciación<sup>193</sup>. En estudios recientes se ha observado que también mejora la supervivencia y protege las neuronas por el aumento de la expresión del Akt<sup>221</sup>.

En contra, a pesar de los avances en la reparación nerviosa la recuperación funcional jamás vuelve al estado inicial.

### **Propiedades inhibitorias de la fibrosis:**

Si bien el mecanismo exacto de supresión de la fibrosis se desconoce, existen algunos indicios que señalan que el estroma de la MA regula negativamente el TGF- $\beta$  e inhibe la expresión de los receptores tipo II en los fibroblastos con lo cual disminuye la fibrosis. Tseng et al.<sup>127</sup> han confirmado esta premisa al apreciar en los fibroblastos limbares una regulación negativa de los sistemas de señalización de TGF $\beta$ .

También se ha atribuido importancia a la matriz estromal, al ser rica en ácido hialurónico implicado en la curación sin cicatriz de las heridas quirúrgicas producidas a nivel intraútero.

### **Propiedades pluripotenciales**

La MA posee células indiferenciadas con capacidad de autorenovación y diferenciación hacia células precursoras varios tipos celulares.

Las células madre localizadas en los diferentes órganos son difíciles de recolectar y expandir. La MA puede ser una muy buena opción para el estudio y aplicación de terapias basadas en células madre<sup>221</sup>.

### **Ausencia de tumorigenicidad<sup>199,222-225</sup>.**

En la literatura no existen evidencias de tumorigenicidad, se ha atribuido este hecho a la falta de expresión de la telomerasa, asimismo, la MA puede tener actividad anticancerígena, por la capacidad de inhibir el metabolismo, empero refieren depender de la la estirpe celular estudiada.

### **Pocos problemas éticos:**

Posee pocos problemas éticos debido a que la MA se desecha después del alumbramiento y es fácil de obtener.



Se ha establecido que la placenta pertenece al bebé y que los progenitores ejercen el control sobre el uso en nombre del él. Cualquier utilización para propósitos de investigación y/o aplicación clínica requiere la obtención del consentimiento informado por parte de los tutores legales y la aprobación previa por el Comité de Ética de cada institución.

Otra buena opción terapéutica es el líquido amniótico recolectado durante la amniocentesis al ser rico en células madres y factores del crecimiento. Sin embargo esta relegado su uso por existir riesgo de aborto del 0,06% hasta el 0,5 %<sup>199</sup>.

### 3-3 SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA

La idea de un nuevo producto medicinal biológico para uso humano basado en el procesamiento de la MA fue desarrollado por Bonci et al<sup>226</sup> en 2005, los cuales investigaron la efectividad de la suspensión con homogenizado de MA en 21 pacientes con problemas de superficie ocular, proponiendo la idea de que el SMA sea una arma terapéutica menos traumática que el implante quirúrgico.

En otros estudios se ha observado que el suero de membrana amniótica mejora la producción de lágrima y la tinción corneal en ratones con queratoconjuntivitis seca pero aún se necesitan estudios clínicos aleatorizados para determinar los beneficios de estas terapias en pacientes con trastornos de la superficie ocular asociadas con el ojo seco<sup>136</sup>.

Se ha testado la estabilidad de los factores b-FGF, EGF, NGF, HGF y la endostatina a 6 semanas bajo 4°C en el suero de membrana amniótica<sup>227</sup>.

Se ha demostrado que en comparación con el PRP y el suero autólogo existe un aumento de estos factores excepto en los niveles de EGF, que han sido menores<sup>227</sup>.

En estudios realizados con pacientes que habían sufrido quemadura ocular se vio que en todos ellos los defectos epiteliales habían sido solucionados en 3 meses, que ningún caso progreso la neovascularización, la conjuntivalización progreso más lentamente y el área limbar estaba menos inflamada, sin embargo remarcan que para casos mayores de 6 horas de isquemia limbar no está indicado el uso de colirio de MA<sup>219</sup>.

### 3-3-1 FACTORES ENCONTRADOS EN EL SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA

**EGF:** Factor angiogénico estimulante de la proliferación epitelial y endotelial, de la migración celular epitelial y de los queratocitos, de la síntesis de fibronectina y de la producción de mucina por las células caliciformes. Tiene efecto antiapoptótico y junto con otros factores favorece la angiogénesis (Fig 37).

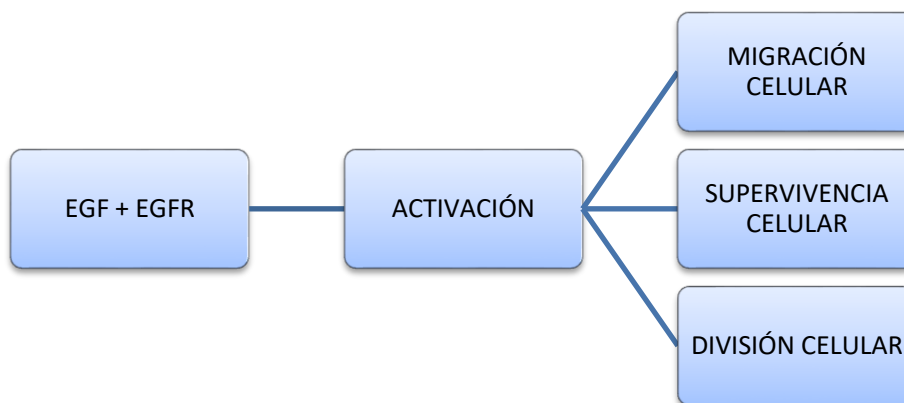


Fig 37: Acciones de EGF a nivel celular.

**KGF<sup>228-229</sup>:** KGF-2 puede estimular las células madre epiteliales del limbo y migrar hacia la córnea central. En dosis que van de 1 microg / ml a 100 microg / ml podría mejorar el proceso de cicatrización corneal.

Ya existe en el mercado el Palifermin (nombre comercial de *Kepivance*<sup>®</sup>, comercializado por Biovitrum) se trata de un recombinante humano del factor de crecimiento de queratinocitos, utilizado en estudios de ulceraciones orofaríngeas<sup>230</sup>. A nivel ocular en combinación con MA y SA parece ser un potenciador de los efectos beneficiosos de estos, al mejorar la transparencia, la neovascularización y el daño epitelial<sup>231</sup>.

**HGF<sup>228</sup>:** Las células epiteliales humanas de la córnea, los fibroblastos estromales y las células endoteliales producen ARNm que codifican HGF y KGF. El HGF tiene un potente efecto mitógeno.

La administración exógena de HGF y KGF puede ser útil en la conservación de la córnea y para la regulación de la cicatrización de heridas en la superficie ocular<sup>228</sup>.

**NGF:** Comentado previamente, este factor juega un papel importante durante el proceso de curación epitelial mediante la promoción de la proliferación y diferenciación de células epiteliales, estimula el crecimiento de los fibroblastos del estroma. Este efecto está mediado por tanto la regulación al alza de la MMP-9 y la escisión de la integrina  $\beta 4$ . Además se ha observado que podría incrementar las células caliciformes humanas y sería dosis dependiente <sup>151-139</sup>. Por otra parte, favorece la regeneración nerviosa.

**b-FGF:** Se ha demostrado que es un factor de neovascularización en la corneal, se libera en la superficie de la célula y en la matriz extracelular por varios tipos de estrés, incluyendo la lesión mecánica e inflamatoria y juega un papel importante en la migración y proliferación de células endoteliales vasculares, con el resultado de la formación de una red capilar.

**TGF $\beta$ 1:** Inhibe la proliferación epitelial y endotelial pero es considerado el mayor modulador de los fibroblastos, incrementa la migración y la proliferación, posiblemente este envuelto en la neovascularización corneal. También tiene efecto antiinflamatorio.

**TGF $\alpha$ :** Favorece el cierre epitelial<sup>232</sup>.

**Endostatina:** La endostatina se ha demostrado que se asocia con tropomiosinas, integrinas, receptor de VEGF, las MMPs y los glypicanos.

Tiene efecto antimigratorio y antiproliferativos sobre las células endoteliales vasculares. La endostatina provoca la detención del ciclo celular endotelial en la fase G<sub>1</sub>.

La unión de la endostatina a la tropomiosinas puede jugar papeles importantes en una variedad de funciones celulares, incluyendo la contracción, la citocinesis, el transporte intracelular, la secreción, la motilidad, la morfogénesis y la transformación celular.

La endostatina inhibe la unión del VEGF a las células endoteliales vasculares y a su receptor de superficie celular, KDR/Flk-1. La unión de la endostatina a KDR/Flk-1 pero no de VEGF sugiere una interacción directa que bloquea la unión de VEGF a las células endoteliales vasculares. Además, el tratamiento endostatina aumentó la actividad de la caspasa proteasa intracelular 3 mejorando la apoptosis de células endoteliales vasculares en diversos estudios.

## INTRODUCCIÓN

Tabla 6: Esquema de concentración de los diferentes factores de crecimiento en el SMA, según la concentración<sup>227</sup>

	bFGF (pg/ml)	Endostatina (pg/ml)	HGF (pg/ml)	NGF (pg/ml)	EGF (pg/ml)
20%	32467.52	20376.68	2585.97	682.95	144.42
30%	52371.45	28024.34	3996.57	714.76	303.5

## OTROS FACTORES RELACIONADOS

**PEDF:** En la córnea humana, PEDF ha sido localizado al epitelio y el endotelio. Se expresa ampliamente en una amplia gama de tejidos humanos fetales y en adultos. El PEDF pertenece a la familia de inhibidores de serina proteasa y los anticuerpos Anti-PEDF implantados en la córnea facilita la NV corneal. Además, el PEDF recombinante inhibe la NV inducida por bFGF.

Asimismo el PEDF interactúa con receptores en la superficie celular y activa los eventos de transducción de señales necesarias para las actividades de neurotróficos.

PEDF es un colaborador esencial para el mantenimiento de la avascularidad de los tejidos oculares. Actualmente, PEDF es un buen candidato para el desarrollo de fármacos al proporcionar la inhibición farmacológica de angiogénesis ocular, dada su eficacia contra múltiples inductores de la angiogénesis, incluyendo VEGF y la interleucina-8<sup>233</sup>.

**TIMP-1 (Inhibidor tisular de las metaloproteinasas 1):** Regulador del crecimiento y la apoptosis en varias extirpes celulares, tiene actividad antiangiogénica e inhibe la invasión tumoral<sup>214-219</sup>.

**Trombospondina 1:** Proteína de la familia de las trombospondina. Tiene varios dominios y un glicocálix. Se ha visto que es un inhibidor natural de la neovascularización y la tumorigénesis en los tejidos sanos, también se le atribuye la modulación positiva y negativa de la adhesión,

la motilidad y el crecimiento de las células endoteliales, pues esta interacciona con al menos 12 receptores de unión celular, entre los que encontramos: CD36,  $\alpha$  integrinas,  $\beta$ 1 integrinas y sindecanos.

Esta también interacciona con varias proteasas responsables de la angiogénesis, entre las que encontramos: plasminógeno, uroquinasa, trombina, catepsina y elastasa.

**2 microglobulina:** Posee actividades antibacterianas.

**IL-1 RA**<sup>234</sup>: Tiene características antiangiogénicas. Se está estudiando este hecho a través de la administración intravenosa. Se ha comprobado en estudios que la matriz estromal de la MA regula la IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Estos datos pueden explicar en parte el efecto del TMA en la reducción de la inflamación de la superficie ocular<sup>218</sup>.

Recientes estudios han identificado factores potentes de la antiangiogénesis, que incluyen la angioestatina, endostatina, trombospondina-1, PEDF, condromodulina-1 y el factor plaquetario 4<sup>214-219,220</sup>.

Además, se ha observado supresión de las células de Langerhans y evita el rechazo de los injertos corneales.

**IL10:** Es una citoquina antiinflamatoria con capacidad de inhibición de la IL1 y el TNF $\alpha$ . Está involucrada en la regulación de la proliferación celular<sup>235</sup>.

**INDOLEAMINE 2,3 DIOXYGENASE (IDO):** Es un factor inmunosupresor que promueve la inmunotolerancia<sup>206</sup>.

## **JUSTIFICACIÓN**

#### 4-JUSTIFICACIÓN

La superficie ocular y de ésta principalmente el epitelio corneal, es una estructura extremadamente sensible y dinámica, cuya salud es crucial para el funcionamiento óptimo y transparencia del ojo. Cada día más, existe un aumento de la demanda en consultas de oftalmología de polo anterior por patología derivada de la alteración del trofismo corneal, dentro de las cuales se incluyen las queratitis neurotróficas.

Las queratitis neurotróficas fueron ya descritas en 1824 y hoy en día siguen siendo un auténtico reto terapéutico para los especialistas, debido a que los tratamientos convencionales suelen ser insuficientes, suelen mejorar los síntomas pero no solucionan el problema de forma definitiva.

En un futuro no muy lejano se prevé que aumentará la incidencia, debido al aumento de cirugías refractivas, a enfermedades como la DM o al aumento de la esperanza de vida.

Estos pacientes consumen un número importantes de recursos tanto materiales como personales, por la complejidad del cuadro y sus complicaciones. Por este motivo continuamente se investigan mecanismos para favorecer una epitelización rápida y estable con el fin de evitar úlceras persistentes que llevarán hacia la opacificación, la neovascularización o a la terrible perforación que es el resultado de la degradación estromal máxima debida a la inflamación y desepitelización crónica.

Recientemente poseemos diferentes productos biológicos como el PRP o el suero autólogo con resultados aceptables. Sin embargo, nos vemos limitados al uso autólogo del producto, puesto que son producidos a través de hemoderivados propios. Por esta razón, se están estudiando otros productos biológicos para uso generalizado, como el suero de cordón umbilical, que aunque tiene muy buenas cualidades epiteliotróficas, es difícil de obtener. El colirio de MA liofilizada, a diferencia de los previos, permitiría disponer de una fuente no inmunógena de un colirio biológico rico en factores de crecimiento, de disponibilidad inmediata y caducidad prolongada.

El uso de derivados de la MA no solamente se está utilizando en oftalmología sino que actualmente se está empleando en otras especialidades como la neurología, o la otorrinolaringología y es una alternativa en auge en la industria de la ingeniería regenerativa. Con este proyecto pretendemos tratar a un pequeño grupo de pacientes cambiando la forma de aplicar un tratamiento ya habitual en la práctica clínica, como es el trasplante de MA. La razón principal de este cambio de aplicación es la dificultad de intervenir quirúrgicamente a

## JUSTIFICACIÓN

determinados pacientes, como ingresados en la UCI o en unidad de quemados y la posibilidad de evitar a los pacientes el estrés que supone cualquier intervención quirúrgica en el futuro, si nuestro estudio demostrase la misma o mejor eficacia del colirio de MA respecto al injerto de MA. Consideramos así, que el tratamiento de membrana amniótica administrado de forma tópica puede tener un efecto similar al tratamiento quirúrgico.

Los regeneradores de la matriz de colágeno (Cacicol<sup>®</sup>), son productos novedosos que se han incorporado hace poco en nuestra práctica clínica para el tratamiento de úlceras corneales que responden de forma tórpida a los tratamientos habituales.

Las características biológicas y microbiológicas de estos productos, el uso no autólogo, la facilidad de obtención, preparación y la aplicación hacen posible un uso generalizado y mantenido hasta la curación de la patología y abre un abanico en el tratamiento no solo de queratitis neurotróficas sino en un gran número de enfermedades de la superficie ocular.

Por todos estos motivos, nos parece justificado estudiar el efecto de diferentes productos de origen no autólogo en el tratamiento de las úlceras neurotróficas, a saber, el trasplante de membrana amniótica, el suero de membrana amniótica liofilizada y los regeneradores de matriz de colágeno.

## HIPÓTESIS

H1: Existen alternativas eficaces al trasplante de membrana amniótica en las queratitis neurotróficas corneales.

H0: No existen alternativas eficaces al trasplante de membrana amniótica en el cierre de queratitis neurotróficas.



## OBJETIVOS

### OBJETIVO PRINCIPAL:

- Describir la respuesta clínica a los tratamientos recibidos empleados con más frecuencia (trasplante de membrana amniótica, regenerador de matriz (Cacicol®) y suero de membrana amniótica).
- Analizar el curso clínico de las queratitis neurotróficas moderadas-severas de pacientes atendidos en un hospital de nivel terciario.
- Analizar:
  - Etiología.
  - Forma de presentación.
  - Complicaciones de las queratitis neurotróficas
  - Complicaciones y efectos secundarios de los tratamientos

### Objetivos secundarios:

- Valorar la relación de la causa de la queratitis neurotrófica con el estadio y la evolución.
- Características demográficas de la población afectada.
- Análisis del coste sanitario directo de los diversos tratamientos empleados para las queratitis neurotróficas.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

## 5-MATERIAL Y MÉTODOS

### 5-1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio comparativo de tres líneas de tratamiento aplicadas en tres cohortes de pacientes con queratitis neurotróficas, no paralelas en el tiempo.

Los grupos de tratamiento fueron:

1. Trasplante membrana amniótica.
2. RTGA (Cacicol<sup>®</sup>).
3. Suero, extracto o colirio de membrana amniótica.

La recogida de datos fue retrospectiva en el TMA y longitudinal en las otras dos cohortes.

### 5-2 POBLACIÓN EN ESTUDIO

Todo paciente diagnosticado y tratado de úlcera neurotrófica moderada-severa en el Hospital la Paz desde el 2008 hasta el 2017.

### 5-3 FUENTE DE LA MUESTRA

Los pacientes con diagnóstico de úlcera neurotróficas fueron localizados a través de diversas estrategias:

- Análisis de la lista de trasplantes de membrana amniótica proporcionada por los coordinadores de trasplantes de HULP desde el 2008 al 2017.

Se revisaron las historias de aquellos pacientes con diagnóstico de úlcera neurotrófica, úlcera trófica, neurotrofia, adelgazamiento corneal, descematocele, perforación, queratopatía, degeneración corneal, opacidad o leucoma, úlcera herpética, queratitis herpética, melting corneal, queratitis necrotizante, queratitis, y diagnóstico no especificado.

- Cohorte de pacientes tratados con suero de membrana amniótica, cuyos datos se recogieron de forma prospectiva al formar parte de un estudio aprobado por el comité de ética de investigación del HULP en el año 2012.

## MATERIAL Y MÉTODOS

- Cohorte de pacientes tratados con colirio RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), cuyos datos se recogieron de forma prospectiva a partir de 2014.

Una vez localizados los pacientes con queratitis neurotróficas, se seleccionaron aquellos que cumplieren los criterios de inclusión y exclusión en base a la información registrada en las historias clínicas digitalizadas en el HP doctor (programa informático de acceso a historias clínicas digitalizadas). En algunos casos, hubo que solicitar a la Unidad de Documentación las historias de pacientes que no dispusieran de historia informatizada.

- CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con defecto epitelial persistente por queratopatía neurotrófica de cualquier origen, (herpes, queratoplastia penetrante, vitrectomía.) en grado moderada-severa (estadio de Mackie superior a 2).

- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Infección corneal activa con clínica compatible.
- Hipopion, hasta excluir causa infecciosa.
- Sensibilidad corneal conservada.
- Riesgo inminente de perforación corneal.
- Seguimiento inferior a 3 meses.

## 5-4 TRATAMIENTOS

### 5-4-1 SUERO DE MA (SMA)

#### MÉTODO DE OBTENCIÓN DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA

Las donantes de membrana amniótica fueron seleccionadas en el departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico Universitario de Arrixaca (Murcia, España). Los criterios de inclusión que se aplicaron para la selección fueron: tener edad comprendida en 18-42, seronegatividad para el virus de la inmunodeficiencia humana, hepatitis B, C y sífilis, las cuales fueron constatadas en 2 ocasiones, embarazos llegados a término entre la semana 38-42 y cesáreas programadas. Los criterios de exclusión fueron enfermedad durante el periodo gestacional o fetal.

Las placentas humanas se gestionaron de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Tras obtener el consentimiento informado adecuado, fueron recolectadas después de cesáreas electivas y se procesaron inmediatamente después de la cirugía en condiciones estériles.

En primer lugar, se lavaron con solución salina estéril para eliminar los coágulos de sangre. Más tarde, la MA fue cuidadosamente separada del corion por disección roma y se enjuagó varias veces con una solución salina la cual contenía antibióticos y antimicrobóticos (penicilina 10.000 U / ml, estreptomina 50 mg / ml y anfotericina B 2,5 mg / ml).

A continuación, cada MA no troceada se introdujo en un recipiente estéril con una solución 1:1 de medio de Eagle modificado de Dulbecco: glicerol (Gibco<sup>®</sup> DMEM, EE.UU.) y se almacenó a -80 ° C hasta su uso.

Las MA congeladas fueron remitidas al HULP, desde donde se enviaron a la Botica de Argensola (Madrid) donde se preparó SMA.

#### PREPARACIÓN DEL SMA *(Fig 38)*

La preparación del SMA se llevó a cabo en la Botica de Argensola siguiendo el mismo protocolo descrito en un estudio previo realizado por nuestro equipo donde se analizó la estabilidad de sus factores de crecimiento<sup>175</sup>. Todo el proceso hasta su envasado se realizó bajo cabina de flujo laminar vertical clase II siguiendo controles de esterilidad estrictos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Brevemente la MA criopreservada se descongeló a temperatura ambiente y se cortó en pequeñas piezas de forma estéril. La extracción de las proteínas de la MA se realizó por sonicación y centrifugación: las piezas sonicadas se cargaron con micropipetas Pasteur y para, la suspensión se centrifugó durante 15 minutos a 3000 rpm y el sobrenadante se centrifugó en una segunda ocasión a 3000 rpm/15 min. Este sobrenadante fue cuidadosamente separado de forma estéril y transferido filtrado en volúmenes de 2 mL a tubos protegidos de la luz ultravioleta tras lo cual se procedió a la liofilización etiquetado. La estabilidad del colirio liofilizado estaría garantizada durante 2 años en frigorífico a temperatura (2-8°C) y de 6 meses a  $t^{\text{a}} >25^{\circ}\text{C}$ , protegido de la luz.

Se realizó un cultivo microbiológico procesado para bacterias y hongos de los colirios antes que el paciente se instalara la primera gota. A los pacientes se les informó que si observaban la presencia de alguna partícula flotante en el sérum antes de la instilación de las gotas descartaran el vial.

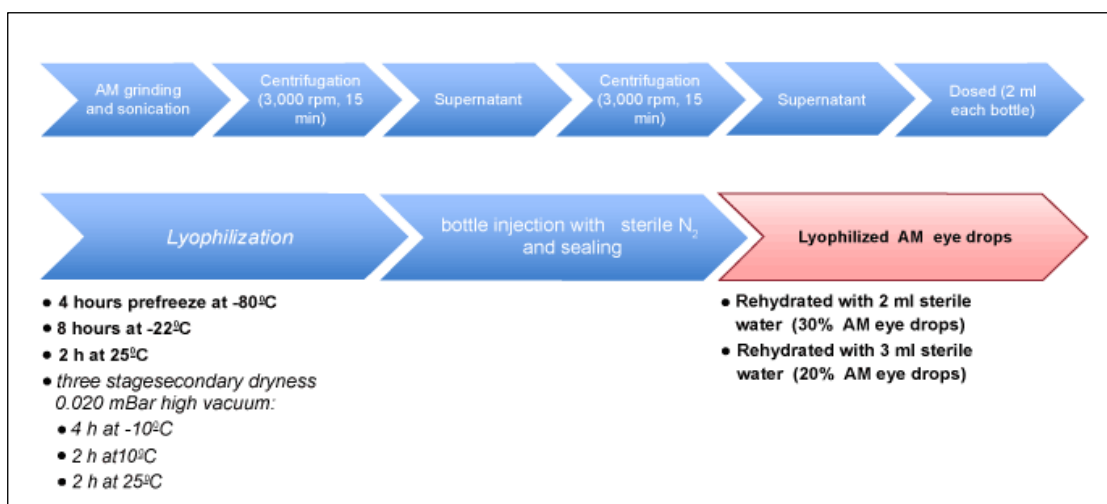


Fig 38. : Esquema de preparación del liofilizado de membrana amniótica<sup>227</sup>.

### MODO DE APLICACIÓN DEL SMA

El liofilizado de MA se reconstituía con 3 mL de agua para inyección en envases de dosificación oftálmica protegidos de la luz que se entregarán al paciente semanalmente. El SMA, fue aplicado sobre el ojo patológico 4 veces al día (cada 6h) después de su agitación. Una vez utilizado el colirio se debe mantener cerrado y en nevera, a temperatura 2-8°C, entre aplicación y aplicación.

### 5-4-2 TRASPLANTE DE MA (TMA)

#### TÉCNICA QUIRÚRGICA

En primer lugar la superficie ocular y el fórnix son irrigados con povidona-iodada al 5% y suero salino al 0.9%. La membrana amniótica, procedente del Banco de Tejidos de la Comunidad de Madrid criopreservada, es lavada con suero salino al 0.9%. La aplicación puede ser como injerto para rellenar el defecto epitelial, como parche cubriendo toda la córnea comportándose como una lentilla terapéutica biológica (17mm) o combinando ambos procedimientos con dos o más capas. Los injertos se fijan con Tissucol<sup>®</sup> o sutura y los parches mediante una sutura continua a epiesclera perilímbica, finalizando la cirugía con la colocación de una lente de contacto terapéutica. En el trasplante de membrana amniótica se evaluó el tiempo de permanencia en córnea de la MA.

### 5-4-3 RTGA (CACICOL<sup>®</sup>)

#### MODO DE APLICACIÓN DEL COLIRIO REGENERADOR DE MATRIZ

Cacicol<sup>®</sup> o poli sulfato de carboximetilglucosa, se presenta en una caja de 5 monodosis sin conservantes de 0.33 ml cada una.

Su posología, es de 1 gota/ 48h. Se debe dejar las monodosis en el interior del aluminio para protegerlas de la luz solar y conservarla en temperatura ambiente entre 4 a 25°C.

Una vez abierto el envase hay que utilizarlo inmediatamente y una vez usado hay que desecharlo.

### 5-5 VARIABLES A ESTUDIO

Las variables fueron analizadas por episodio de QN, considerando un episodio diferente del mismo paciente cuando el episodio previo había remitido durante 3 o más meses antes.

#### 5-5-1 VARIABLE CUALITATIVAS

##### 5-5-1-1 GÉNERO

- Femenino.
- Masculino.

##### 5-5-1-2 OJO AFECTADO

- Derecho.
- Izquierdo.
- Ambos ojos.

##### 5-5-1-3 ETIOLOGÍA

Dentro de los factores causantes de queratitis neurotróficas consideramos los siguientes:

- Queratitis por virus de la familia *herpeae*.
- Enfermedades inmunológicas.
- Antecedentes de cirugía cerebral y/o ictus, que pudieran afectar la sensibilidad corneal como ocurre en la enfermedad de Wallenberg.
- Antecedentes de cirugía corneal (queratoplastia o cirugía refractiva).
- Diabetes mellitus.
- Alteraciones palpebrales que favorecieran la exposición corneal.
- Antecedentes de infecciones no herpéticas: amebas, hongos y bacterias.
- Tratamientos tópicos crónicos (antiglaucomatosos).
- Antecedentes de cirugía de retina.
- Número total de cirugías oculares: cataratas, estrabismo, glaucoma.



### 5-5-1-4 CARACTERÍSTICAS CORNEALES

#### SENSIBILIDAD CORNEAL

Se recogen de la historia clínica los datos de sensibilidad corneal evaluada a través de la percepción táctil de un hisopo de algodón sobre la superficie corneal. Esta variable se clasifica como:

- Hipoestesia
  - Anestesia corneal/hipoestesia marcada
  - Hipostesia
- Normal
- Hiperestesia

#### ESTADIO DE MACKIE

Se clasifican los eventos de queratitis neurotrófica según la clasificación de Mackie (*Fig 16*) en estadios 1 a 3 de Mackie seleccionando para el análisis los superiores a 2.

#### DEFECTO EPITELIAL

- CIERRE DEL DEFECTO
  - Cierre total del DEP
  - Cierre parcial del DEP
  - Ausencia de respuesta.
- ADELGAZAMIENTO (*Fig 39*)
  - No adelgazamiento.
  - Adelgazamiento estroma anterior.
  - Adelgazamiento estroma medio.
  - Estroma posterior.
  - Descematocele o perforación.
- REAPERTURA (reapertura del defecto en los tres meses desde el inicio del tratamiento).
  - Si/No.

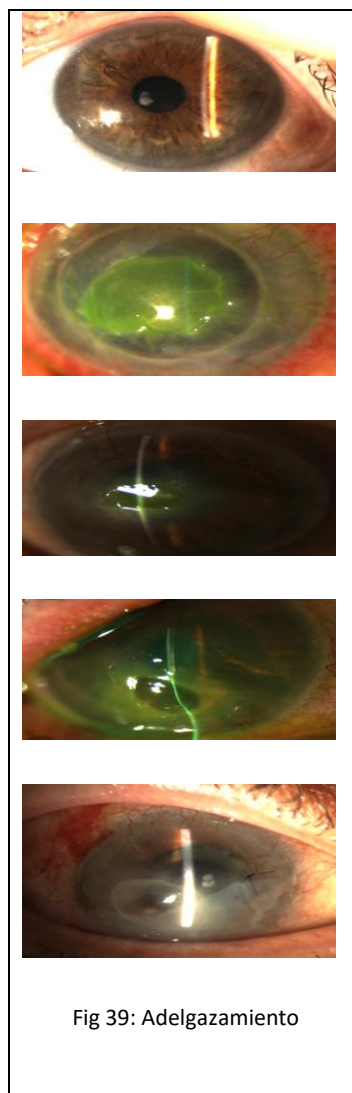


Fig 39: Adelgazamiento

## MATERIAL Y MÉTODOS

- Infecciones corneales.
- NUEVOS EPISODIOS (reapertura del defecto pasados tres meses)
- LOCALIZACIÓN: Afectación del eje visual.

## TRANSPARENCIA

Para analizar la transparencia utilizaremos la clasificación de Sotozono<sup>236</sup> (Fig 40)

La transparencia se gradúa de 0 a 3.

- 0- Córnea clara, pudiendo visualizar claramente los detalles del iris.
- 1- Pérdida parcial de los detalles del iris.
- 2- Detalles del iris muy poco visibles, siendo solo el margen pupilar.
- 3- Pérdida completa de los detalles del iris y de la pupila.

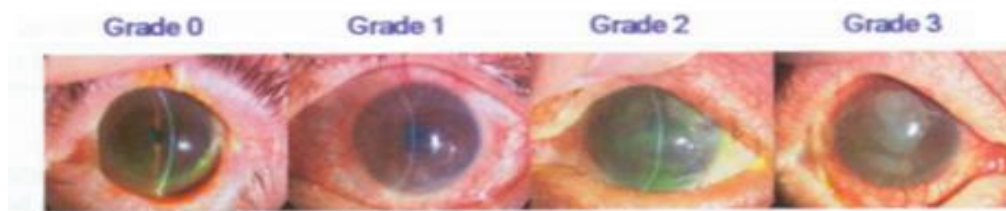


Fig 40: Graduación de Sotozono para la opacificación.

## EFFECTOS ADVERSOS DEL TRATAMIENTO

- Efectos adversos locales del tratamiento
- Efectos sistémicos del tratamiento

## COMPLICACIONES DE LAS QUERATITIS NEUROTRÓFICAS

## 5-5-2 VARIABLES CUANTITATIVAS

### 5-5-2-1 TEST DE SCHIRMER

Se considera como test normal los superiores a 5 mm en 5 minutos y patológicos los inferiores a este valor.

### 5-5-2-2 EDAD

### 5-5-2-3 DÍAS ENFERMEDAD ANTES DEL TRATAMIENTO

Se consideran los días previos de QN grado igual o mayor a 2 al tratamiento.

### 5-5-2-4 DÍAS HASTA EL CIERRE EPITELIAL

Días desde el inicio del tratamiento hasta el cierre del defecto.

### 5-5-2-5 NÚMERO TOTAL DE FACTORES PREDISPONENTES A QUERATITIS NEUROTRÓFICAS

Suma de los factores asociados en cada episodio de QN.

### 5-5-2-6 AGUDEZA VISUAL CON ESTENOPÉICO.

La agudeza visual de los pacientes seleccionada para análisis fue únicamente la AV en escala de Snellen anotada en la historia clínica con estenopeico puesto que en muchos casos no se especificaba si estaba tomada con graduación.

Posteriormente se transformó en escala logarítmica para su análisis estadístico.

En pacientes con AV menor a 0,1, damos los valores siguientes en la escala logarítmica con el fin de poder realizar la estadística:

- Cuenta dedos 1,7
- Movimientos de manos 2
- Amaurosis: 3

**5-5-2-7 ÁREA DE DEFECTO EPITELIAL Y ÁREA DE NEOVASCULARIZACIÓN CORNEAL.**<sup>243</sup>

A todos los pacientes que habían recibido tratamiento con RTGA o suero de MA, se les realizaron fotografías seriadas de polo anterior. El 14 % de pacientes con trasplante de membrana amniótica tenían fotografías digital (adquiridas con el sistema fotográfico IM900 de la lámpara de hendidura BQ LED) se analizaron el defecto epitelial y el área de neovascularización corneal. El área del defecto o de la NVC se calculó en relación al área corneal con el programa informático Image J 1.48v. (Desarrollado por Wayne Rasband, instituto nacional de salud, Bethesda, MD. <http://rsb.info.nih.gov/ij>). La información obtenida está basada en porcentaje de pixeles.

La toma de las medidas se repite hasta 3 ocasiones y se realiza la media de ellas con el fin de medir con mayor exactitud las áreas estudiadas. (Fig. 41-43)

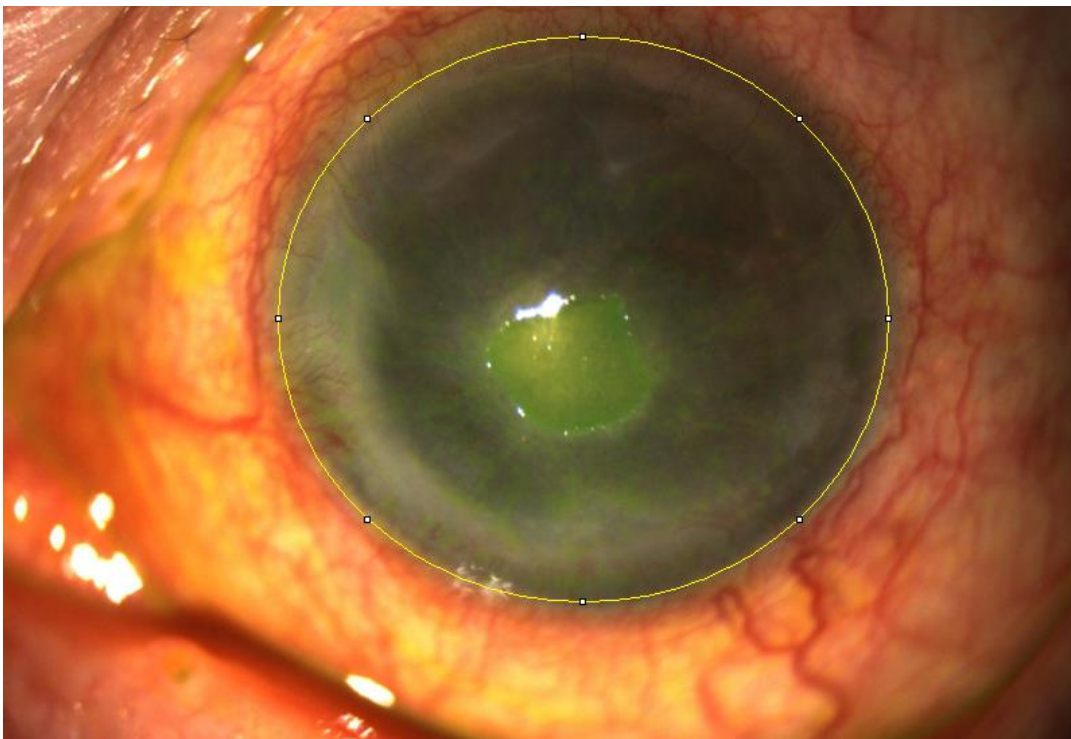


Fig 41: Superficie corneal

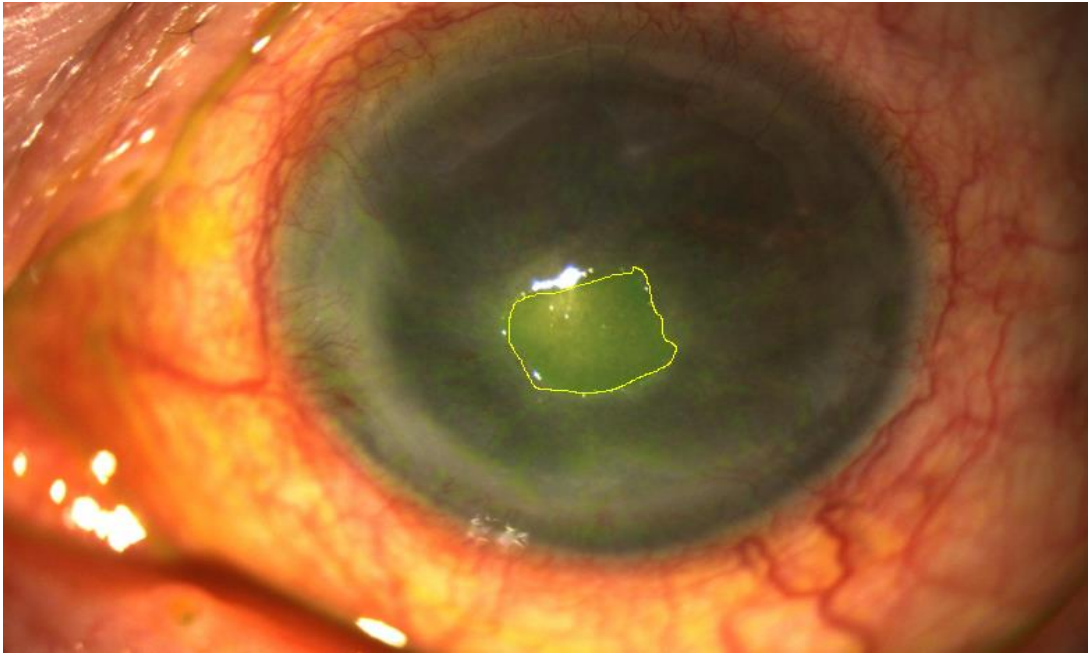


Fig 42: Superficie del DEP

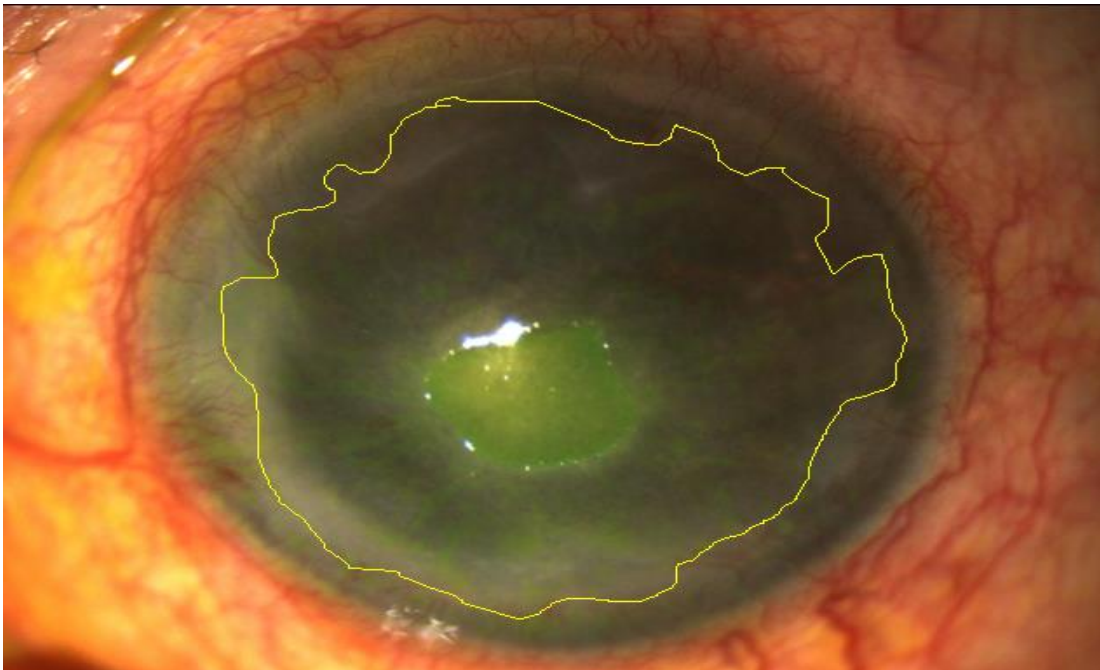


Fig 43: Superficie no vascularizada

### 5-6 ESTUDIO ECONÓMICO

Los precios respecto al uso del quirófano se aislaron según el boletín oficial de la comunidad de Madrid, datado en junio del 2013 y los de la comunidad murciana localizadas en las siguientes páginas webs:

- [http://w3.bocm.es/boletin/CM\\_Orden\\_BOCM/2013/09/10/BOCM-20130910-1.PDF](http://w3.bocm.es/boletin/CM_Orden_BOCM/2013/09/10/BOCM-20130910-1.PDF)
- [http://www.ffis.es/investigacion/precios\\_pruebas.php](http://www.ffis.es/investigacion/precios_pruebas.php)

El precio de la membrana amniótica se obtuvo a través de los coordinadores de tejidos y diversos bancos de tejidos públicos, que son los suministradores de la comunidad de Madrid y el Sacyl.

- [Banco de tejidos del SACyL](#)

El estudio del precio medio de RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) se aisló de diversas farmacias de la provincia de Soria y estudios comparativos de las principales empresas farmacéuticas de compra por internet.

### 5-7 MÉTODOS ESTADÍSTICOS

La descripción de los datos cualitativos se realiza en forma de frecuencias absolutas y porcentajes y los datos cuantitativos mediante  $\text{media} \pm \text{desviación típica}$ , mediana, mínimo y máximo.

Los datos cualitativos se han comparado usando el test de la Chi-cuadrado. Si se comparaban tablas de 2x2 se usó el test exacto de Fisher.

En la comparación de datos cuantitativos entre dos grupos, se utilizó un test de la t-Student para datos independientes como prueba paramétrica y el test de la U de Mann-Whitney como prueba no paramétrica, dependiendo de la distribución de los datos.

En la comparación de datos cuantitativos entre más de dos grupos, se utilizó un análisis de la varianza de un factor como prueba paramétrica y el test de Kruskal-Wallis como prueba no paramétrica, dependiendo de la distribución de los datos.

Los datos cualitativos se compararon mediante el test de la Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher.

Se usó el método de Kaplan-Meier para estimar la distribución del tiempo hasta éxito a largo plazo y el tiempo hasta enucleación o tarsorrafia o queratoplastia terapéutica. La comparación entre los grupos se ha realizado mediante el test “log-rank”. Se han probado modelos de regresión de Cox (de riesgo proporcional) multivariante para estimar los factores que se asocian con los tiempos hasta cada evento de manera independiente y para ver las diferencias entre los grupos ajustadas por posibles factores de confusión.

Se analizará la evolución de parámetros cuantitativos a lo largo del tiempo usando modelos de regresión con efectos mixtos, para controlar efecto de las medidas repetidas en el mismo paciente.

Todas las pruebas estadísticas se han considerado bilaterales y como valores significativos, aquellos p inferiores 0,05. Los datos se han analizado con el programa estadístico SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## **RESULTADOS**



## 6-RESULTADOS

Se han estudiado las QN moderadas-severas de pacientes tratados en la Sección de Córnea del Hospital Universitario la Paz, en el periodo 2008-2017.

Para el estudio se revisaron las historias de 124 pacientes (163 episodios) con el diagnóstico de QN. De estos episodios posteriormente se seleccionarían 101 episodios de pacientes con QN en estadio moderado-severo (Mackie 2-3) y que habían sido tratados con TMA, colirio regenerador de matriz (RTGA) o suero de MA.

- **TMA**

Se incluyeron un total de 65 episodios (65 pacientes).

- **Colirio RGTA (Cacicol<sup>®</sup>)**

Se incluyeron un total de 25 episodios (24 pacientes) de los cuales 6 pacientes se perdieron por falta de seguimiento, falta de respuesta o complicaciones y 1 por fallecimiento sin causa aparente con el tratamiento recibido.

- **SMA**

Se incluyeron un total de 12 episodios (12 pacientes) de los cuales 1 paciente fue excluido del estudio por mal cumplimiento. Presentamos resultados de 11 pacientes.

### 6.1 CARACTERÍSTICAS BASALES

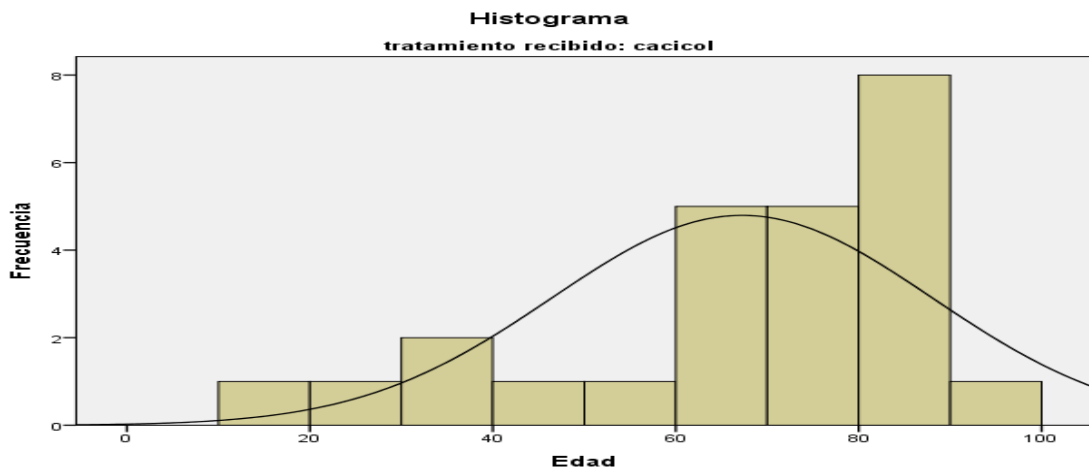
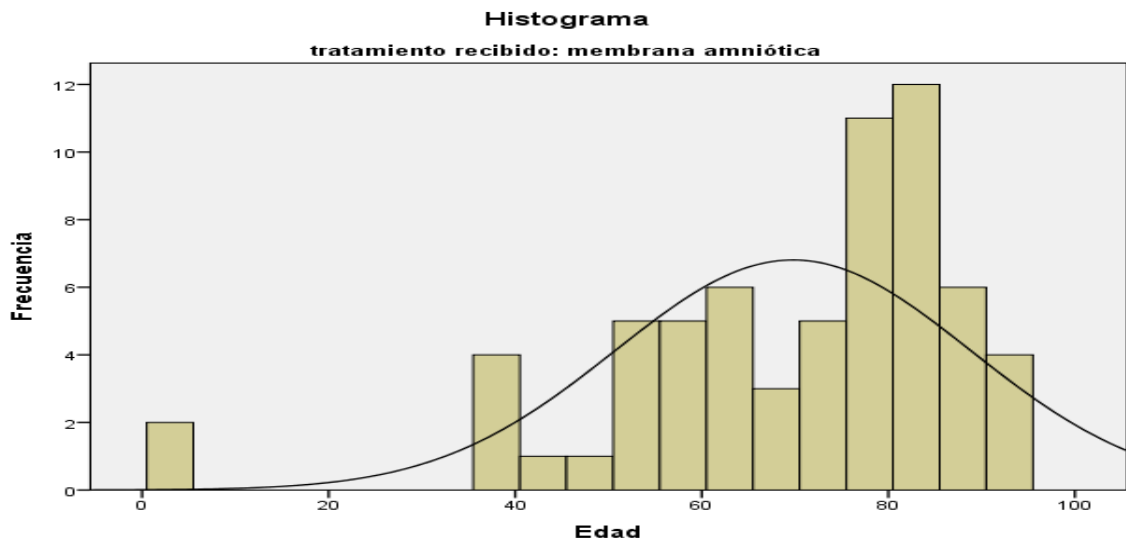
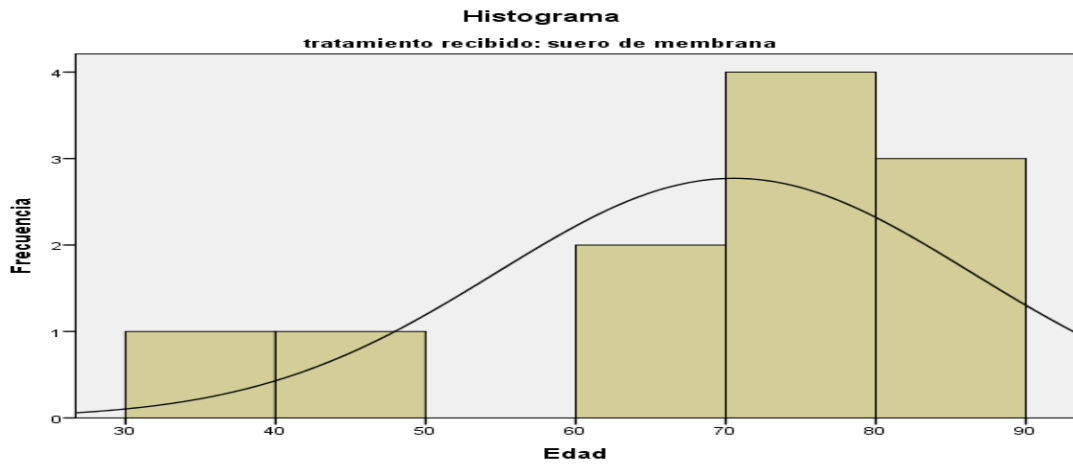
En la tabla 7 se muestran las características demográficas de nuestra muestra separadas por el tratamiento recibido: SMA, TMA y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>). En la última columna se muestra la significación estadística entre grupos.

	SMA	TMA	RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	p
EDAD MEDIA	70,5 años Ds: 15,83	69,77 años Ds:19,04	67,24 años Ds:20,08	0,406
RANGO DE EDAD	35-89 años	3-94 años	17-92 años	
MEDIANA DE EDAD	75 años	76 años	74 años	
SEXO	54,5% mujeres y 45,5% hombres	58,5% mujeres y 41,5% hombres	68% mujeres y 32% hombres	0,649

Tabla 7: Características demográficas.

El análisis de la distribución manifestó que los 3 grupos eran comparables entre sí respecto a las características edad y sexo.

En las siguientes gráficas se observan las distribuciones por edad de las diferentes opciones terapéuticas. En todas ellas existe una desviación hacia la derecha, media y mediana no son iguales. Existe una tendencia hacia pacientes mayores. (Gráfica 4).



Gráfica 4: Distribución de los casos según edad en los diversos tratamientos.

## RESULTADOS

### 6-1-1 CAUSAS DE LAS QUERATITIS NEUOTRÓFICAS

En la tabla 8 se resumen las causas de la QN estratificadas en las tres alternativas terapéuticas.

En la última columna se muestra la relación estadística entre los diversos grupos.

	SMA	TMA	RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	p
QUERATITIS HERPÉTICA	27,3%	45,9%	44%	0,529
DIABETES MELLITUS	9,1%	16,4%	8%	0,516
CIRUGÍA DE RETINA	36,4%	13,1%	8%	0,74
QUERATOPLASTIA	18,2%	24,6%	0%	0,024
GLAUCOMA	36,4%	32,8%	20%	0,44
INFECCIÓN CORNEAL	9,1%	36,1%	20%	0,101
ENFERMEDAD REUMÁTICA	9,1%	21,3%	28%	0,445
PRESENCIA DE EXPOSICIÓN CORNEAL	18,2%	29,5%	36%	0,557
PATOLOGÍA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	27,3%	16,1%	40%	0,062
CIRUGÍAS OCULARES PREVIAS (+DE 3)	66,66%	53,84%	33,3 %	0,707

Tabla 8: Causas de neurotrofia.

Se aprecia que únicamente en el caso de los antecedentes por queratoplastia los grupos no son comparables.

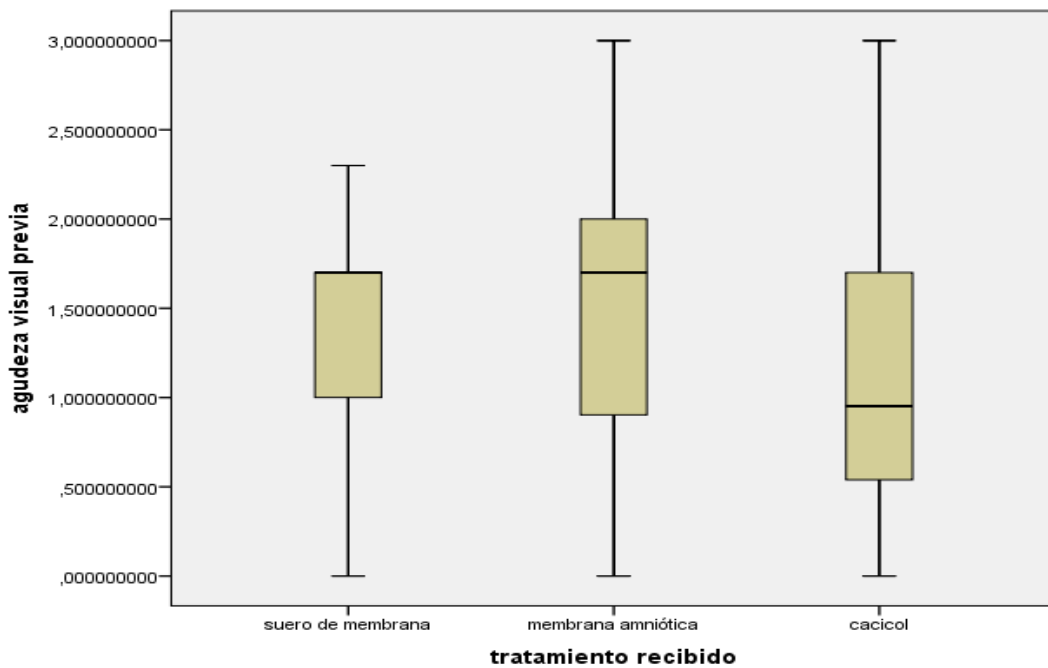
Por otra parte hemos analizado la suma media de factores desencadenantes de QN que nuestros casos padecían en los diferentes tratamientos, siendo para SMA: 2,18 factores (Ds:0,981) TMA: 2,80 (Ds:1,301) y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) : 2,4 (Ds: 1).

**6-1-2 AGUDEZA VISUAL PREVIA**

Se llevó a cabo una valoración de la mejor agudeza visual corregida (MAVC) en los pacientes previa a la intervención de tratamiento. La MAVC era superior a 1 en escala LogMAR en los tres grupos (Tabla 9, Gráfica 5). No hubo diferencia entre los 3 grupos (p: 0,06).

	SMA	TMA	RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )
MEDIA	1,310 (Ds: 0,720)	1,544 (Ds: 0,817)	1,136(Ds: 0,724)
RANGO	(0-2,3)	(0-3)	(0-3)

Tabla 9: Agudeza visual basal de los pacientes escala LogMAR.



Gráfica 5: Distribución de agudeza visual de los de los pacientes en escala LogMar, en los tres grupos de tratamiento: colirio de suero de membrana amniótica, trasplante de membrana amniótica y colirio regenerador de matriz, Cacicol<sup>®</sup>.

## RESULTADOS

### 6-1-3 TRATAMIENTOS PREVIOS

Se han recogido los tratamientos tópicos o sistémicos recibidos por los pacientes y que pueden influir en el curso de la QN (Tabla 10).

	SMA	TMA	RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	p
OCCLUSIÓN ocular	90,9%	65,5%	64%	0,002
USO DE METALOPROTEINASAS	72,7%	51,7%	64%	0,322
CSA	90,9%	41,4%	52%	0,052

Tabla 10: Distribución de los casos respecto tratamientos y uso de oclusión, metaloproteinasas inhibitoras de matriz (doxiciclina) o colirio de suero autólogo (CSA).

Existe mayor tendencia a utilizar métodos oclusivos en los pacientes con SMA en comparación con las otras dos opciones.

En la tabla 11, se resume las características basales de las QN tratadas con las diversas opciones. En la última columna se muestra la relación estadística entre los diversos grupos.

	SMA	TMA	RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	p
OJO AFECTO	27,3% OD 72,7% OI	58,3%OD 41,7 % OI	56% OD 44%OI	0,161
ESTADIO MACKIE	36,4% GRADO 3 63,6% GRADO 2	47,5% GRADO 3 52,5% GRADO 2	44% GRADO 3 56% GRADO 2	0,786
ANESTESIA	63,5%	33,3%	50%	0,176
TIEMPO PREVIO	116,27 días Ds:101,11	221,14 días Ds: 105,05	224,88 días Ds: 64,86	0,272

AFECCIÓN DE EJE PUPILAR	63,6%	76,7%	64%	0,403
ÁREA DE LA ULCERA	7,728% Ds: 8,323	7,997% Ds: 6,637	4,694% Ds: 4,455	0,552
ÁREA DE LA NEOVASCULARIZACIÓN	15,386% Ds: 17,763	3,7512% Ds: 6,209	2,612% Ds: 5,284	0,185

Tabla 11: Características basales de las QN en los tres grupos de estudio (SMA; suero de membrana amniótica, TMA; trasplante de membrana amniótica y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>). El área de la úlcera y el área de la neovascularización se definen como el porcentaje de área corneal afectada respecto al área corneal total.

Todos los pacientes tenían hiposensibilidad, sin embargo solo un porcentaje más reducido en los grupos tenían anestesia, evaluada al tacto corneal con algodón.

#### 6-1-4 ADELGAZAMIENTO

Tras realizar la revisión de las historias clínicas y las fotografías digitales se clasificó el adelgazamiento corneal del que partían nuestros casos (Tabla 12).

	SMA	TMA	RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	P
GRADO 0	0%	23,8%	21,7%	0,037
GRADO 1	45,5%	14,3%	52,2%	0,035
GRADO 2	45,5%	33,3%	26,1%	0,63
GRADO 3	9,1%	4,8%	0%	0,238
GRADO 4	0%	23,8%	0%	0,518

Tabla 12: Adelgazamiento estimado según el porcentaje de pérdida de espesor corneal evaluado a partir de fotografías digitales y de la historia clínica. Estadios: No existencia de adelgazamiento (grupo 0), adelgazamiento estroma anterior (grado 1), estroma medio (grado 2), estroma posterior (grado 3) y perforación o descematocele (grado 4).

## RESULTADOS

A diferencia de los pacientes tratados con SMA, el 20% aproximadamente de los pacientes de los otros grupos [TMA y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>)] no presentaron adelgazamiento corneal. El adelgazamiento leve predominó en los pacientes del grupo RTGA.

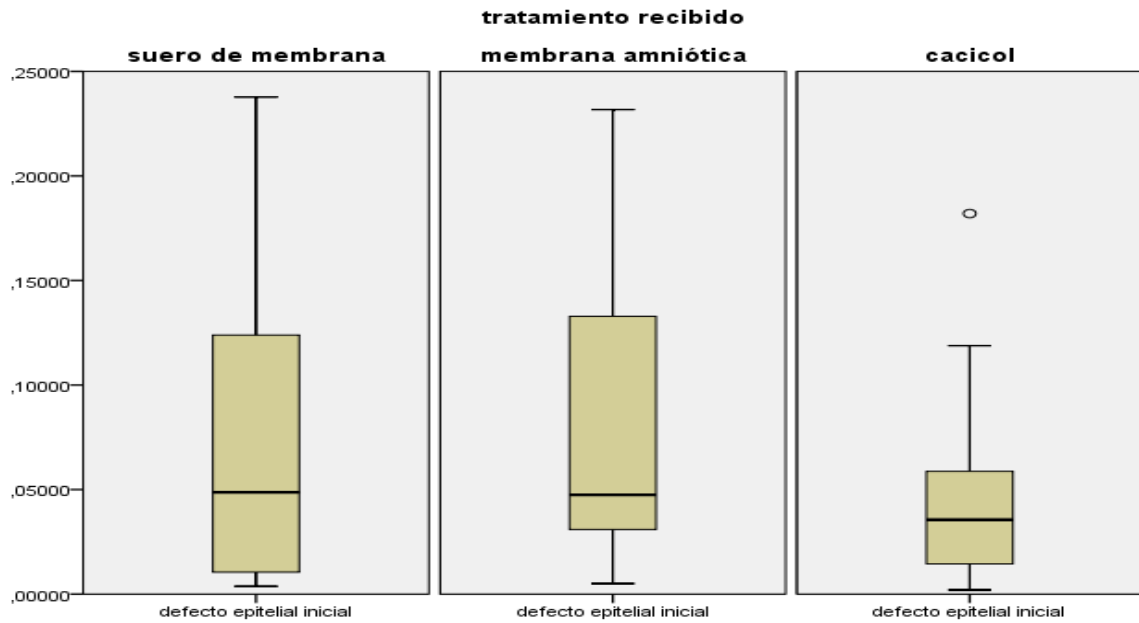
### 6-1-5 TAMAÑO DEL DEFECTO EPITELIAL

Respecto al tamaño de las úlceras, estadísticamente no existe significación entre los 3 grupos ( $p: 0,554$ ) (Tabla 13), (Gráfica 6).

Tratamiento	Media	Ds	Mínimo	Máximo
Suero de membrana	7,728%	8,323%	0,375%	23,775%
TMA	7,997%	6,637%	0,507%	23,171%
RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	4,694%	4,455%	0,202%	18,201%
Total	6,637%	6,321%	0,202%	23,775%

Tabla 13: Tamaño del defecto epitelial inicial de la QN en cada grupo de tratamiento.

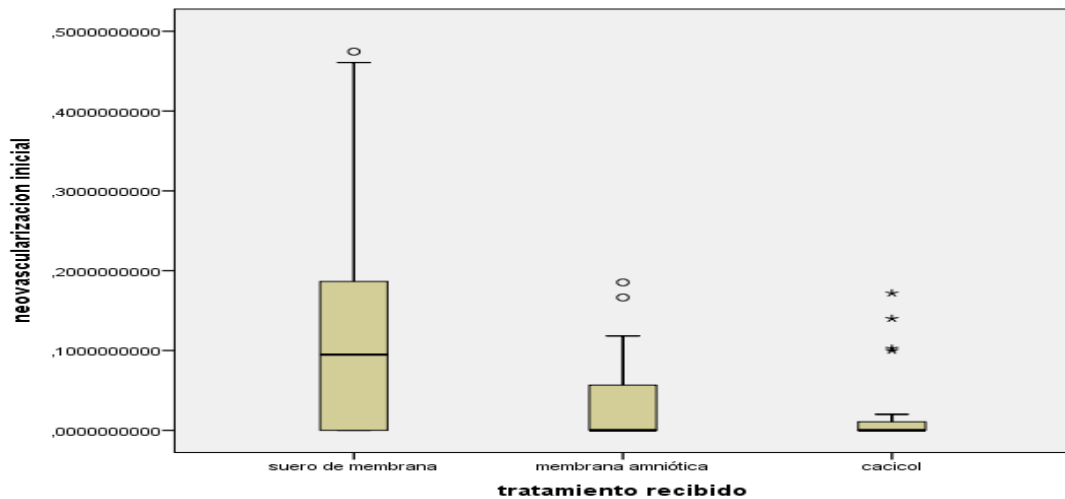




Gráfica 6: Distribución del defecto epitelial inicial en las tres opciones terapéuticas (suero de membrana amniótica, trasplante de membrana amniótica y colirio regenerador de matriz (RGTA, Cacicol<sup>®</sup>)).

### 6-1-6 NEOVASCULARIZACIÓN CORNEAL

Respecto a la neovascularización corneal la diferencia tampoco fue significativa entre los tres grupos de tratamiento (Gráfica 7).



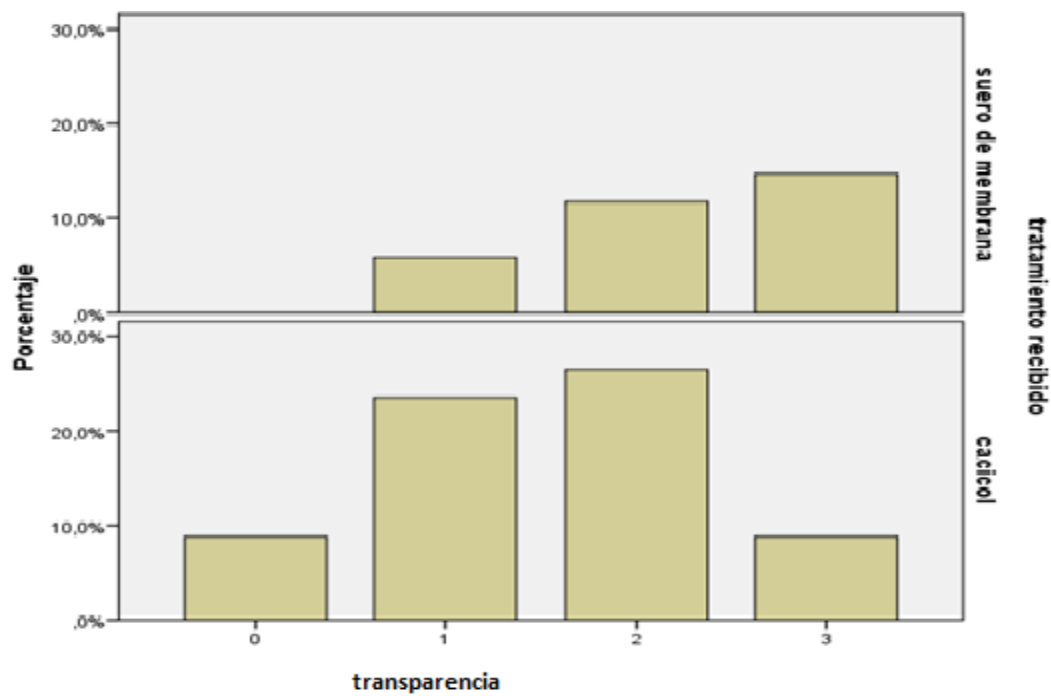
Gráfica 7: Distribución de la neovascularización en las tres opciones terapéuticas (suero de membrana amniótica, trasplante de membrana amniótica y colirio regenerador de matriz (RGTA, Cacicol<sup>®</sup>)).

## RESULTADOS

### 6-1-7 TRANSPARENCIA

En la gráfica 8 se observa la transparencia corneal antes del tratamiento en los casos de SMA y RGTA (Cacicol<sup>®</sup>) según la clasificación de Sotozono<sup>236</sup>. No se apreció diferencias en esta variable entre ambos grupos ( $p=0,14$ ).

Esta variable no pudo ser analizada en el grupo de TMA al faltar el dato en la mayoría de las historias clínicas.



Gráfica 8: Distribución de la transparencia corneal en dos de las opciones terapéuticas (suero de membrana amniótica y colirioregenerador de matriz RGTA, Cacicol<sup>®</sup>).

Por tanto, básicamente, las únicas variables no comparables entre las 3 cohortes fueron el antecedente de queratoplastia, más frecuente en los grupos TMA y SMA, el tratamiento con oclusión ocular más frecuente en el grupo de SMA, y la presencia de adelgazamiento del estroma corneal que fue menos frecuente y menos intenso en el grupo tratado con RGTA. Estas diferencias basales entre los tres grupos podrían sesgar los resultados de eficacia entre las 3 cohortes.

## 6.2 EFICACIA DEL TRATAMIENTO

Una vez analizados los parámetros basales de casos seleccionados, vamos a evaluar la eficacia de los tratamientos empleados. En tabla 14 mostramos de forma resumida los resultados de las variables consideradas en la evolución y éxito de los 3 tratamientos.

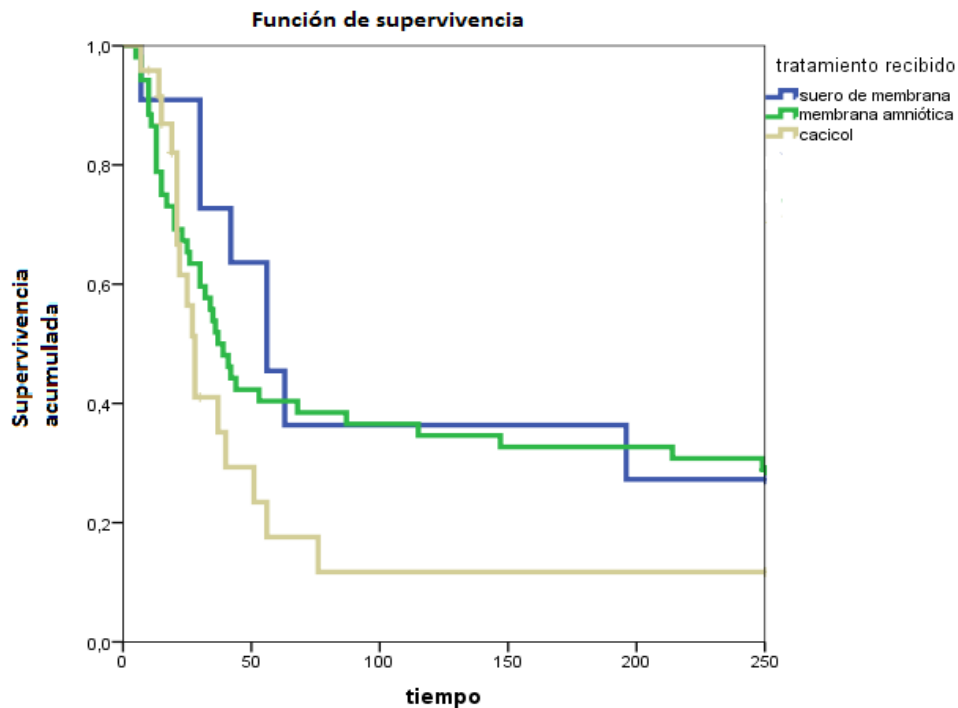
	SMA	TMA	RGTA (Cacicol <sup>®</sup> )	P
CIERRE	72,7%	73,2%	72%	0,964
CIERRE PARCIAL	18,2%	19,6%	24%	0,745
FALTA DE RESPUESTA	9,1%	7,2%	4%	0,833
DIAS HASTA EL CIERRE	73,2 días Ds:66,86	43,41 días Ds:54,59	27,09 días Ds:16,44	0,253
REAPERTURA	12,5%	7,5%	50%	<0,001
EMPEORAMIENTO DE NEOVASCULARIZACIÓN	45,5%	9,1%	45%	0,106
NUEVOS EPISODIOS	27,3%	26,8%	50%	0,120

Tabla 14: Porcentaje de cierre completo del defecto epitelial (epitelización completa), de epitelización parcial, falta de respuesta, número de días desde el inicio del tratamiento hasta la epitelización en los pacientes que alcanzan epitelización completa, porcentaje de pacientes en los que recidiva el defecto epitelial, en los que aumenta la neovascularización corneal y porcentaje de pacientes que cerrado el defecto epitelial y finalizado el tratamiento presentan un nuevo episodio de úlcera corneal.

Profundizando en los resultados de la tabla anterior se analiza a continuación de forma más exhaustiva las variables cierre, tiempo de cierre, neovascularización y reapertura.

### 6-2-1 CIERRE DEL DEFECTO EPITELIAL

El cierre de la QN en las tres opciones terapéuticas es superior al 70% de los casos y no existe diferencia significativa entre las 3 cohortes (p: 0,964). La gráfica 9 muestra que tampoco es significativa la diferencia entre los diversos tratamientos recibidos respecto al tiempo de cierre (p: 0,253), si bien parece haber una tendencia de cierre más rápido en los pacientes con RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

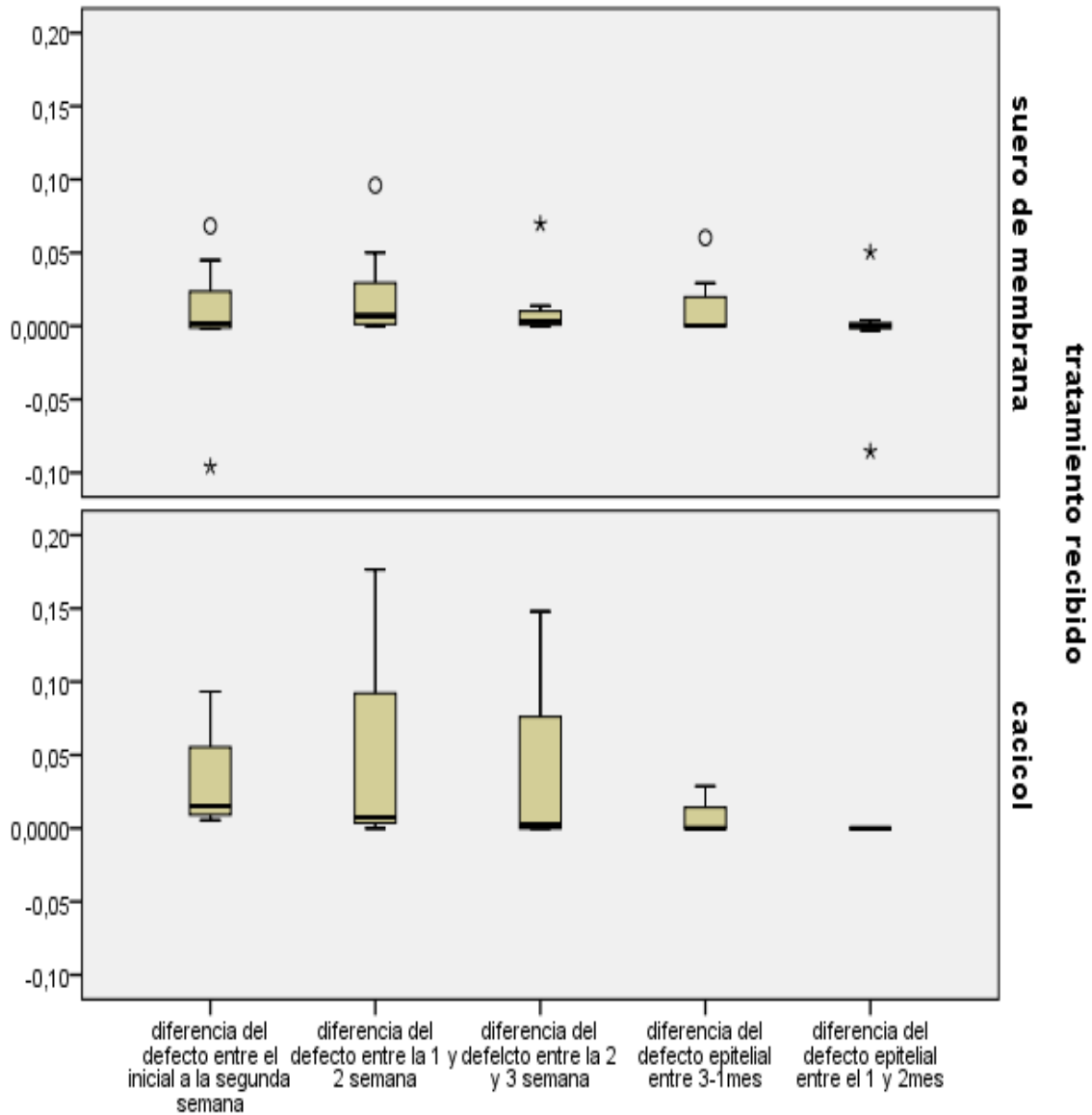


Gráfica 9: Kaplan-Meier entre tratamiento recibido y tiempo hasta cierre de la QN expresado en días de tratamiento.

Mediante el empleo del análisis de las fotografías se ha calculado la velocidad de cierre. No ha sido calculada para los pacientes con membrana amniótica debido a que no es factible el cálculo del tamaño de la úlcera con exactitud cuando existe una membrana amniótica que la recubre.

A continuación, en la gráfica 10 se aprecia que en un primer momento existe un empeoramiento en algunos casos de ambas alternativas, más marcado en el grupo RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

También en el grupo de RGTA (Cacicol<sup>®</sup>) aparenta más disparidad en la velocidad de cierre en comparación con los pacientes de SMA, pero no existen diferencias significativas entre las opciones.

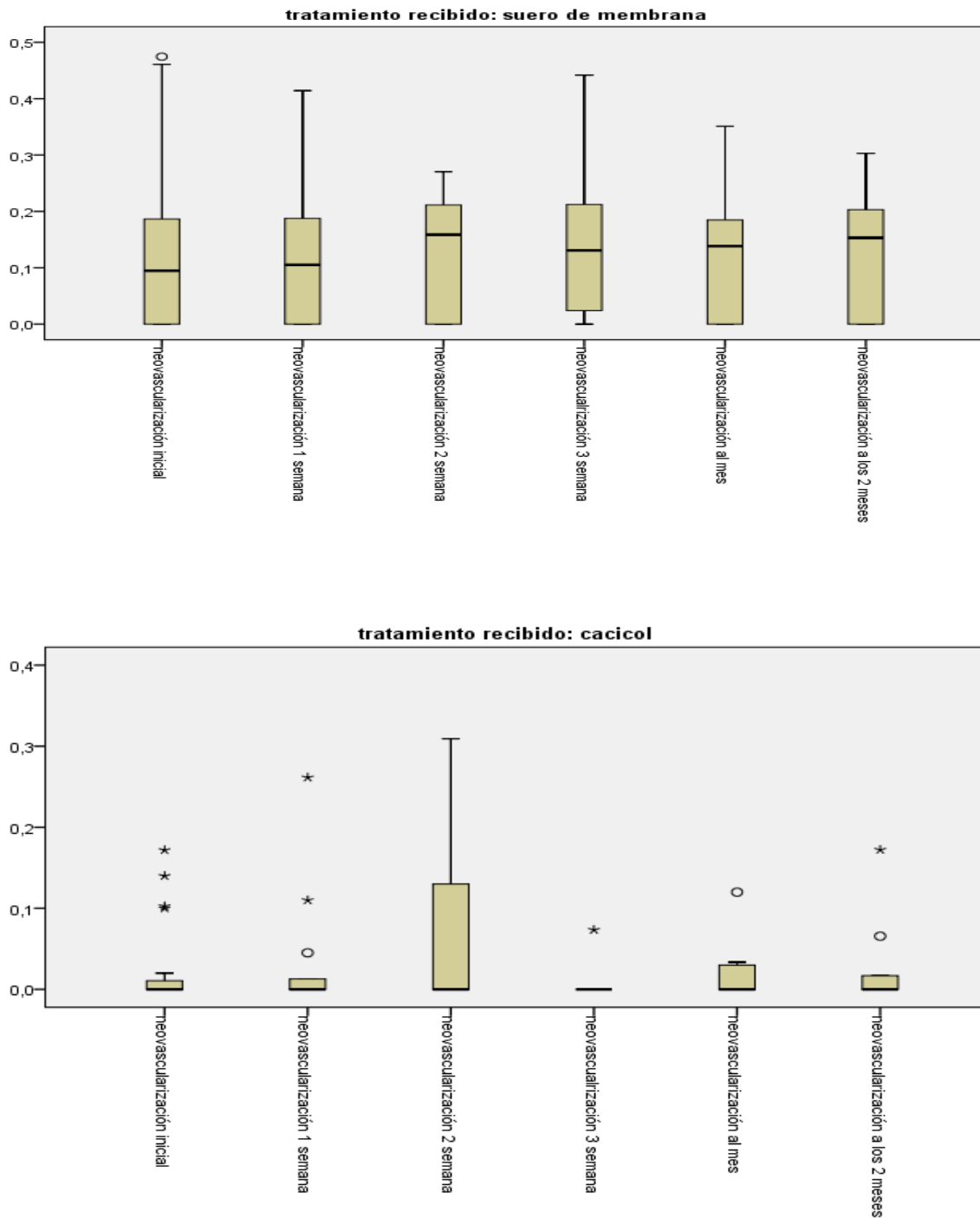


Gráfica 10: Velocidad de cierre de la QN del grupo SMA y RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

### 6-2-2 NEOVASCULARIZACIÓN CORNEAL

En la gráfica 11 se muestra el porcentaje medio del área de NVC respecto al tiempo basal y a las diferentes semanas del tratamiento en los pacientes con SMA y RGTA (Cacicol<sup>®</sup>). La evolución de la NVC no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0,14$ ).

## RESULTADOS



Gráfica 11: Cambios en el porcentaje de neovascularización corneal a diferentes tiempos de tratamiento, respecto a la situación basal en los grupos SMA y RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

En ambas gráficas se aprecia que la media del área es bastante estable, nos estamos moviendo en porcentajes muy bajos, incluso en el grupo RGTA (Cacicol<sup>®</sup>) cercano al 0 % del área.

Por otra parte, aparenta que la distribución de la NVC en el grupo SMA es más heterogénea en comparación con el grupo de pacientes tratado con RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

En la semana 2 del grupo RGTA (Cacicol<sup>®</sup>) se observa un empeoramiento y en la semana 3 una mejoría, este hecho es debido a la salida de dos pacientes de este brazo de tratamiento por empeoramiento de la QN.

En el grupo TMA, observamos que en las historias se describe la presencia de NVC solo en el 9,1% de los casos después del trasplante, en comparación al 54.5 % en el SMA y el 55% en el RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), sin que estas diferencias supongan significación estadística ( $p: 0,105$ ). Esta proporción de menor neovascularización en el grupo TMA (Fig 44), puede estar sesgada porque la recogida de datos en el grupo TMA fue retrospectiva.

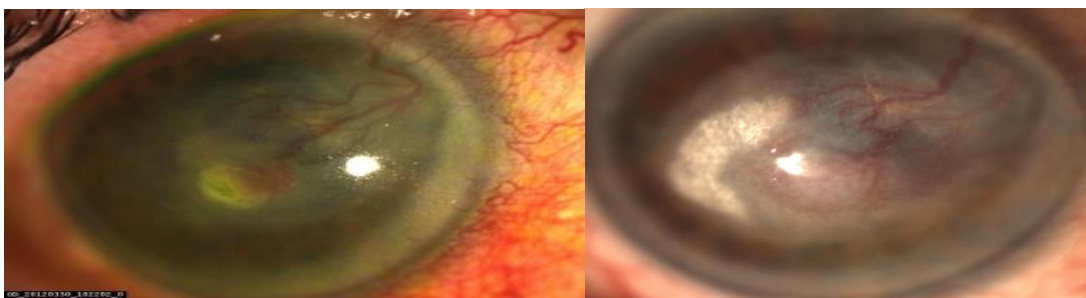


Fig 44: Ejemplo de neovascularización antes y después.

### 6-2-3 REAPERTURA

Las reaperturas de la QN son más frecuentes en el grupo de RGTA en comparación con las otras dos opciones ( $p < 0.001$ ), con un 12,5%, 7,5% y 50% en los grupos SMA; TMA y RGTA respectivamente (Tabla 14) (Fig 45).

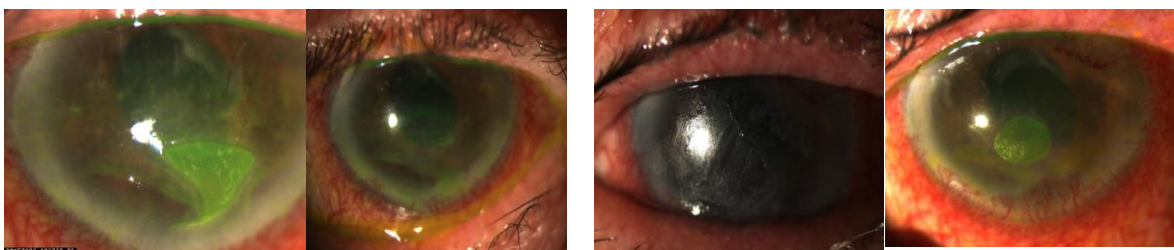
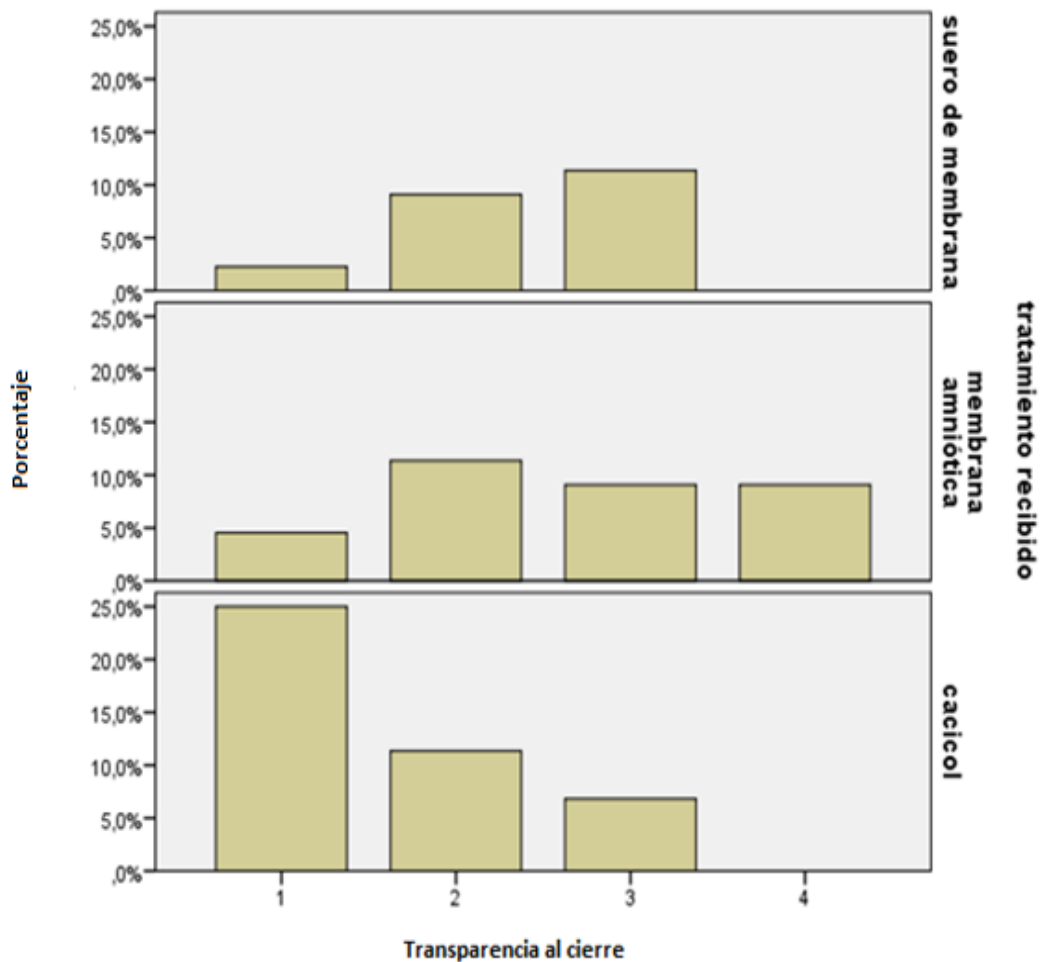


Fig. 45: Reapertura de un paciente tratado con RGTA: se aprecia una QN inferior que cierra inicialmente con RGTA, apreciándose una reapertura del defecto epitelial al suspender el tratamiento.

**6-2-4 TRANSPARENCIA**

En la gráfica 12 se expone la distribución de los estadios de transparencia corneal (clasificación de Sotozono) en las tres opciones terapéuticas al final del seguimiento.



Gráfica 12: Transparencia al cierre

Si empleamos el test bivariante, para valorar la transparencia antes y después del uso de los diversos tratamientos, se observa que no existen diferencias entre los dos tiempos siendo  $p: 1$  para SMA y  $p: 0,595$  en el grupo RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

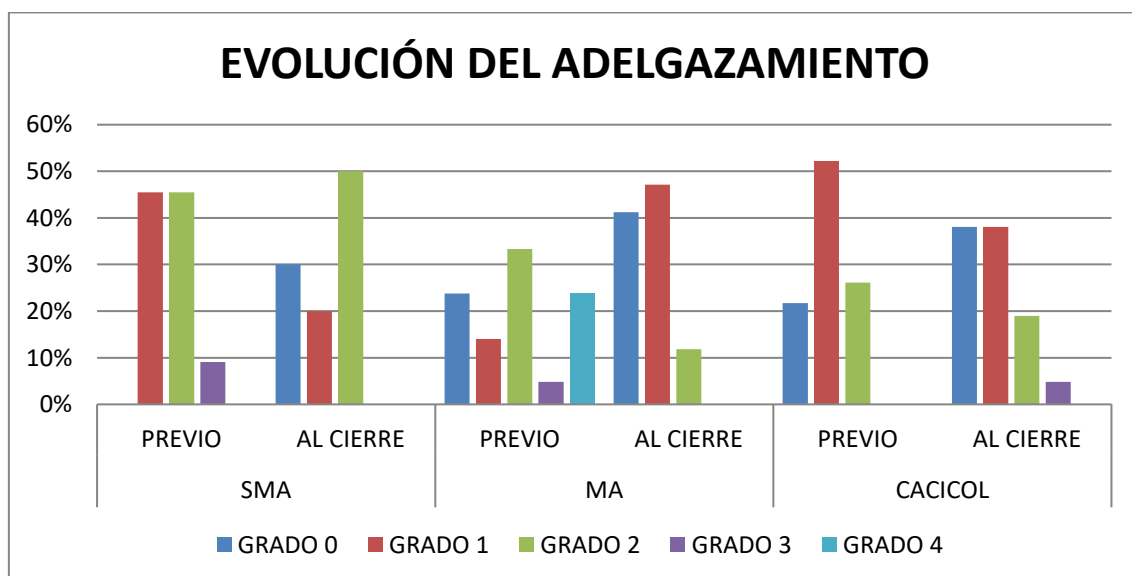


**6-2-5 ADELGAZAMIENTO POST TRATAMIENTO**

No se apreció diferencia estadísticamente significativa en el grado de adelgazamiento del estroma corneal al final del tratamiento entre los 3 grupos (*tabla 15*), si bien se aprecia una reducción del adelgazamiento en los pacientes con TMA, con la presencia de mayor grosor corneal al cierre respecto a su estado basal (*gráfica 13*).

	SMA	TMA	RGTA (Cacicol <sup>®</sup> )	p
GRADO 0	30 %	41,2%	38,1%	0,209
GRADO 1	20%	47,1%	38,1%	0,098
GRADO 2	50%	11,8%	19%	0,263
GRADO 3	0%	0%	4,8%	0,257
GRADO 4	0%	0%	0%	

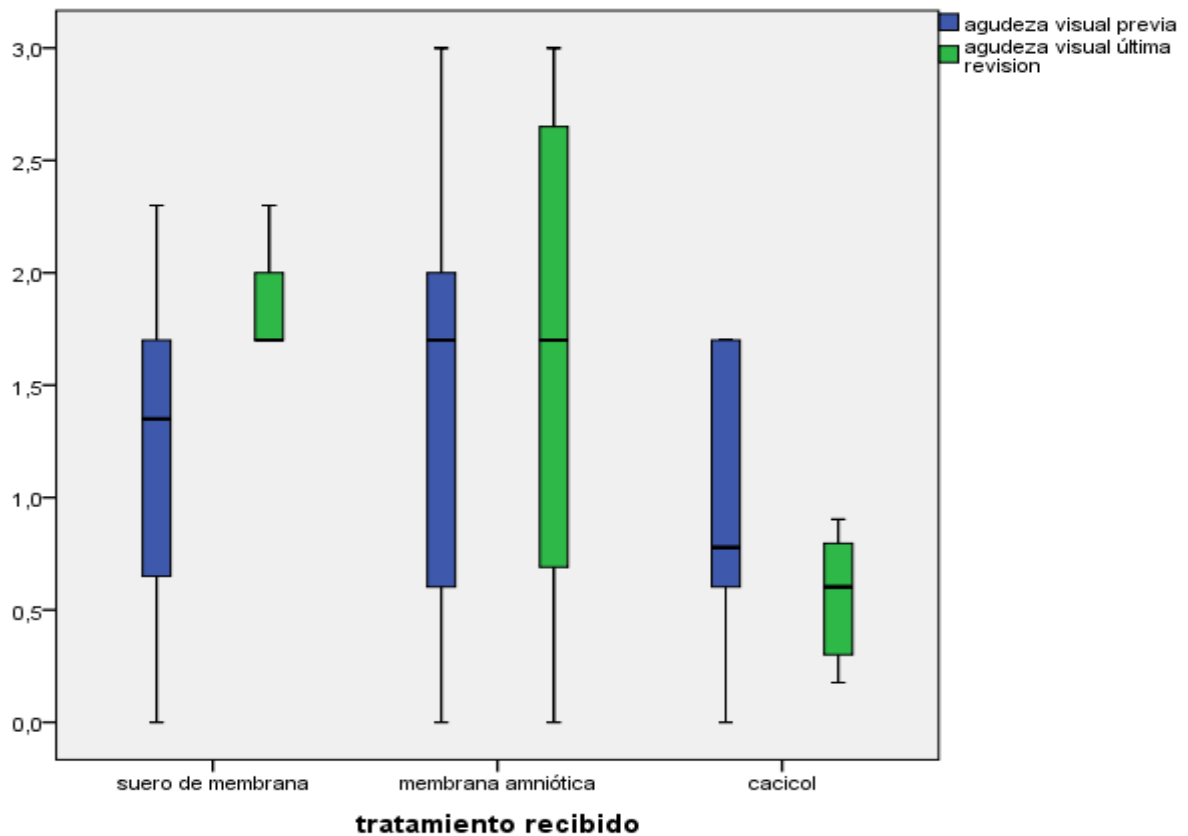
Tabla 15: Adelgazamiento del estroma corneal post tratamiento.



Gráfica 13: Evolución del adelgazamiento en las distintas opciones (SMA, suero de membrana amniótica. MA, trasplante de membrana amniótica. Cacicol<sup>®</sup>: colirioregenerador de matriz de matriz RGTA).

### 6-2-6 AGUDEZA VISUAL POST TRATAMIENTO

La MAVC se ha expresado en escala LogMar. La MAVC media en estos pacientes en la última revisión post tratamiento fue: SMA 1,85 (Ds: 0,250), TMA: 1,722 (Ds: 0,861), RGTA (Cacicol<sup>®</sup>): 0,861 (Ds: 0,788) (Gráfica 14).



Gráfica 14: Agudeza visual en la última revisión en las diferentes opciones.

Se realizó un estudio bivalente para comparar la AV inicial y la AV final, en el que no se apreció diferencias estadísticamente significativas entre las tres alternativas terapéuticas, SMA (p: 0,317), MA (p: 0,483) y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) (p: 0,197).

### 6.3 VARIABLES PROPIAS DEL TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA

En este grupo de tratamiento se describen algunas variables propias de este procedimiento quirúrgico, que por tanto no han sido analizadas en los otros dos grupos de tratamiento.

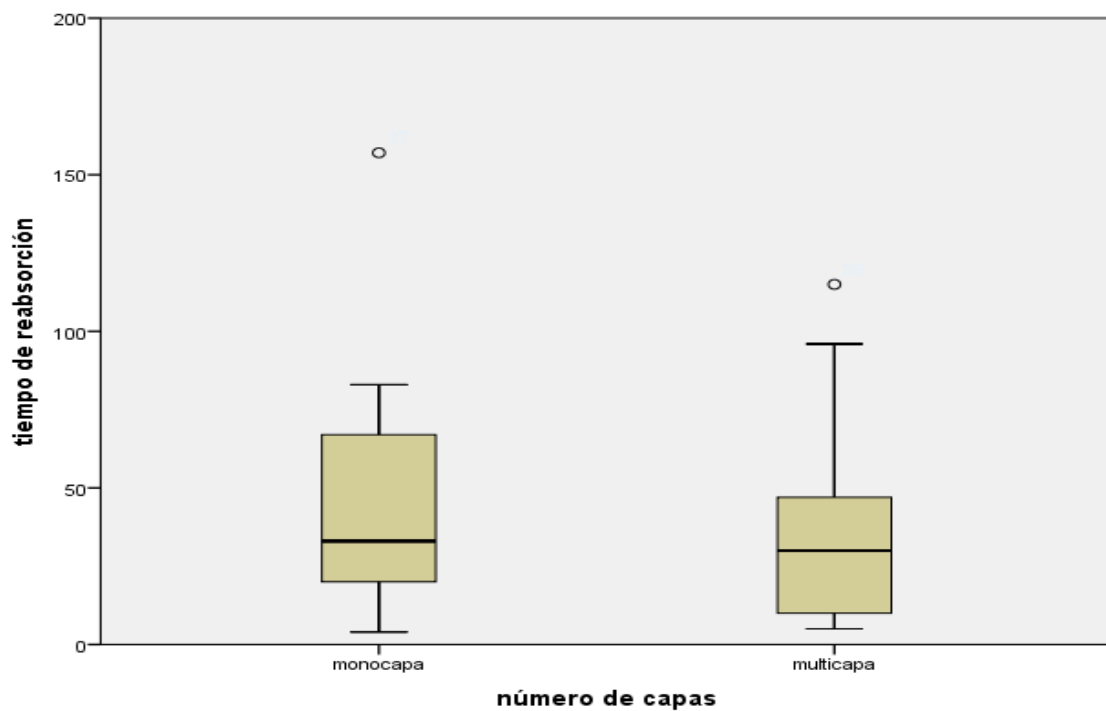
#### 6-3-1 NÚMERO DE CAPAS DE MEMBRANA

En el 64,4% de los casos se realizó una cirugía donde se emplearon 2 o más capas de MA, con una desviación estándar de 0,484.

#### 6-3-2 TIEMPO DE REABSORCIÓN DE LA MEMBRANA

El tiempo medio de reabsorción ha sido de 39,05 días con un Ds de 33,068 días.

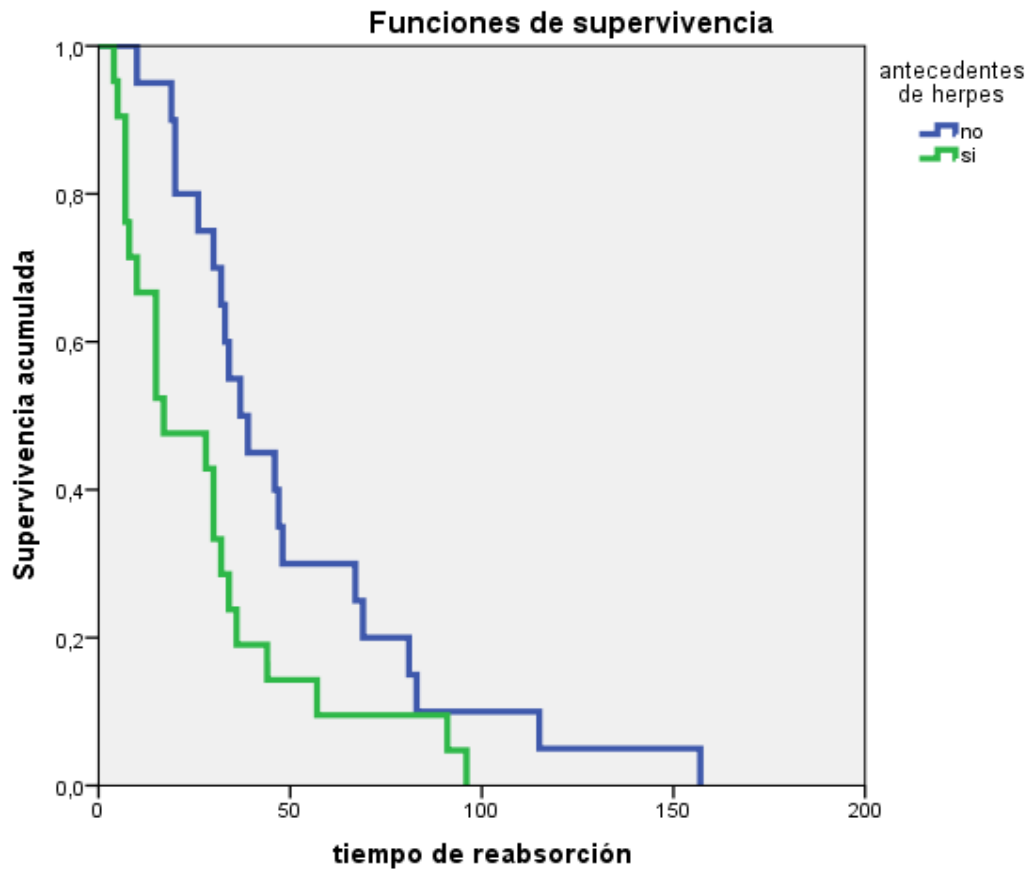
No existe asociación entre el número de capas y el tiempo de reabsorción  $p > 0,321$  tal y como se observa en el gráfico 15, en las dos opciones tanto la media como el rango han sido muy similares.



Gráfica 15: Relación del número de capas y el tiempo de reabsorción de la MA.

## RESULTADOS

Dentro de las causas de QN se observa que la presencia de antecedentes de enfermedad herpética es un factor la rápida reabsorción de la membrana amniótica con  $p < 0.026$  (Gráfica 16). Los otros factores demográficos y predisponentes de QN no son determinantes para este parámetro.



Gráfica 16: Relación del tiempo de cierre con la existencia de antecedentes herpéticos.

## 6.4 SEGURIDAD

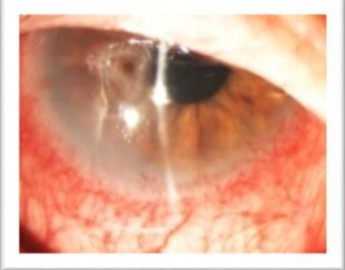
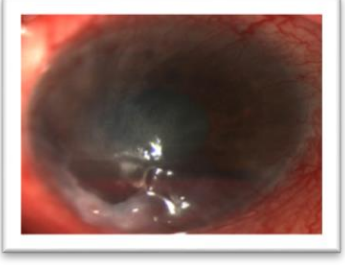
### 6-4-1 TOLERANCIA

En cuanto a este parámetro, todos los pacientes del grupo SMA y RGTA (Cacicol<sup>®</sup>) tuvieron buena tolerancia. Respecto al grupo de TMA, la queja mayor vino determinada por la sensación de cuerpo extraño debido al uso de puntos de sutura y por pérdida de agudeza visual transitoria debida al propio injerto de membrana amniótica en 5 pacientes, representando el 7,6% de los casos analizados.

### 6-4-2 EFECTOS SECUNDARIOS

Dentro de nuestra serie, ningún paciente refirió efectos sistémicos tras la administración de las diferentes opciones. Un paciente falleció durante el seguimiento por causas ajenas al producto administrado.

A nivel local sólo se registraron efectos locales en el grupo RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), correspondientes a un caso de melting estromal y otro de hifema y conjuntivitis folicular.

Melting estromal	
Hifema + queratoconjuntivitis folicular aguda	

## 6.5 COMPLICACIONES

Dentro de estas hemos considerado la perforación, la descompensación corneal y las infecciones (Tabla 16).

TRATAMIENTO	PORCENTAJE DE COMPLICACIONES
SMA	27,3%
TMA	36,9%
RGTA (Cacicol <sup>®</sup> )	32%

Tabla 16: Porcentaje de complicación en las diversas opciones.

No existen diferencias respecto a las complicaciones entre los tres grupos de tratamiento (p: 0,88).

Sin embargo la infección, resultó ser más frecuente, sin ser estadísticamente significativo (p: 0,174) en los pacientes con RGTA (Cacicol<sup>®</sup>), (Tabla 17). Seis pacientes tratados con RGTA presentaron una supuesta infección corneal a lo largo del seguimiento, en los tiempos 17 días, 18 días, 51 días, 58 días, 127 y 339 días desde el inicio del tratamiento. En 4 de estos casos se aislaron bacterias en el raspado corneal (2 *Stafilococcus epidermidis*, 1 *Pseudomonas auriginosa*, 1 *Hemophilus sp* y 1 *Staphilococcus aureus*).

En los pacientes tratados con SMA hubo una infección corneal con aislamiento de *Klebsiella oxytoca* (Fig 46) y en el grupo de TMA hubo dos queratitis infecciosas (una por *Staphilococo sp*, y una por *Alternaria*)

TRATAMIENTO	INFECCIÓN	PERFORACIÓN	DESCOMPENSACIÓN-LEUCOMA : QP
SMA	9,1%	0%	18,2%
TMA	9,2%	7,7%	6,2%
RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	24%	8%	0%

Tabla 17: Complicaciones en los tres grupos de tratamiento.

No observamos diferencias estadísticamente significativas en la presencia de perforación corneal entre los 3 grupos de tratamiento ( $p: 0,978$ ). Por otra parte, si nos centramos en la localización de la perforación ocular, se observa que el 71,4% se localiza a nivel central y el 28,6% a nivel periférico (Gráfica 17).

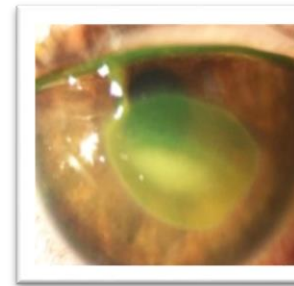
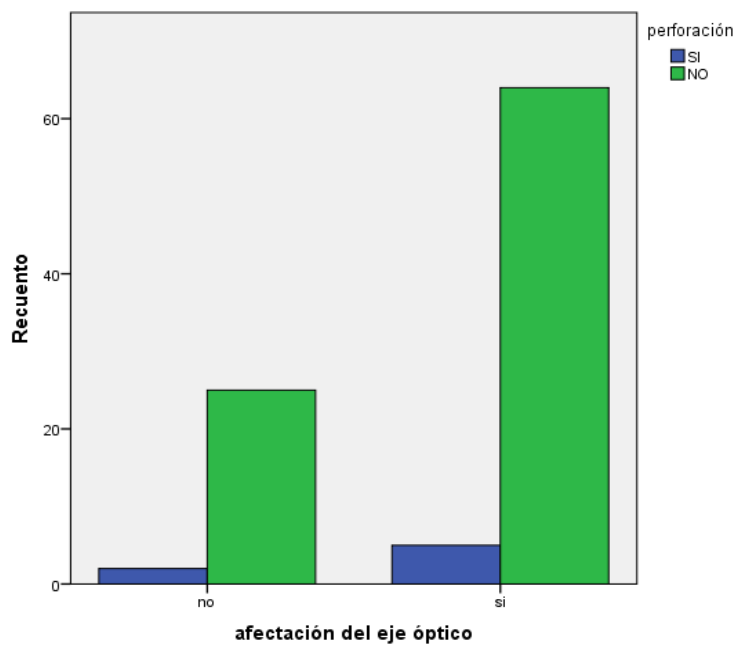


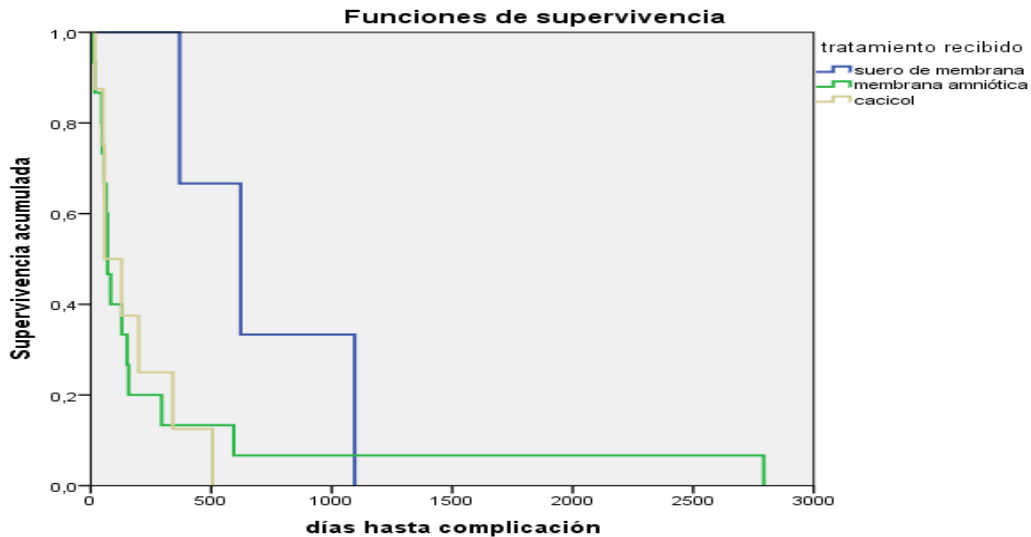
Fig 46: Infección



Gráfica 17: Localización de la perforación ocular.

## RESULTADOS

En la gráfica 18 se analiza el momento de aparición de la complicación con el tratamiento percibido, se observa que no existen diferencias estadísticas entre las tres opciones  $p: 0,060$  (Tabla18).



Gráfica 18: Relación de días de complicación y tratamiento recibido.

TRATAMIENTO	MEDIA DE DÍAS HASTA LA COMPLICACIÓN
SMA	695,33 días Ds: 368,514 días
MA	305,33 días Ds: 703,784 días
RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	169,38 días Ds: 171,801 días

Tabla 18: Media de días hasta la complicación respecto al tratamiento recibido.

Empero el tiempo de seguimiento desde el tratamiento ha sido menor con  $p < 0,012$  en el caso del RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), por lo que las complicaciones y nuevos brotes podrían acontecer si el tiempo de seguimiento a largo plazo fuera el mismo (Tabla19).

TRATAMIENTO	MEDIA DE DÍAS DE SEGUIMIENTO
SMA	795,4 días Ds: 485,323 días
MA	724,04 días Ds: 558,160 días
RTGA (Cacicol <sup>®</sup> )	375,87 días Ds: 322,87 días

Tabla 19: Media de días de seguimiento respecto al inicio del tratamiento recibido.



## 6.6 ESTUDIO DE CORRELACIÓN

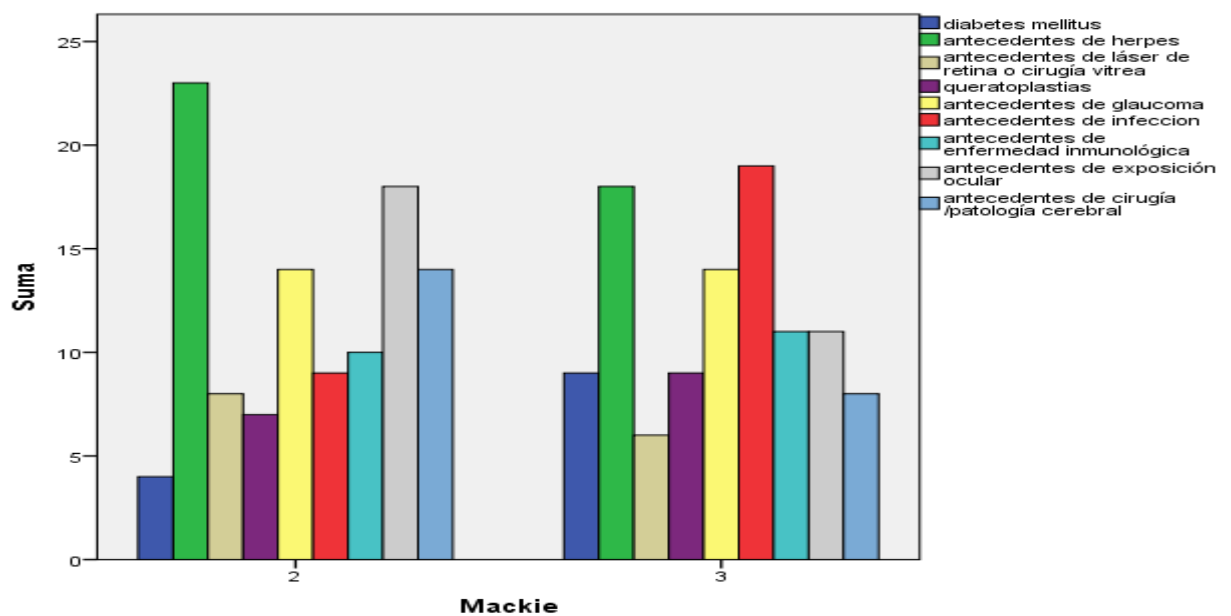
Dejando de lado la segmentación de los casos dependiendo de los tratamientos empleados, a continuación se observa las diferentes variables iniciales relacionadas entre sí con el fin de asociarlas.

### 6-6-1 TEST DE SCHIRMER

La media de los ojos afectados respecto al test de Schirmer fue de 6,72 mm (Ds: 6,382) y en el ojo adelfo que fue de 11,79 mm (Ds: 7,2398). Si comparamos las dos medias es significativa la diferencia entre los dos ojos con  $p < 0,05$ .

### 6-6-2 ESTADIO DE MACKIE

No se ha relacionado la presencia de estadio de Mackie más severo con la edad ( $p: 0,328$ ) ni con el sexo ( $p: 0,328$ ). El estadio de Mackie más severo (QN más graves), se ha relacionado únicamente con la existencia de infección corneal previa con  $p < 0,004$  (gráfica 19).



Gráfica 19: Relación del grado 2 y 3 de Mackie con las causas de neurotrofia.

## RESULTADOS

### 6-6-3 ESTUDIO DE VARIABLES QUE DETERMINAN LA AGUDEZA VISUAL

La pérdida de transparencia corneal es uno de los motivos por los que la visión se puede ver afectada, se comprueba que existe una asociación positiva entre la AV inicial y la transparencia inicial  $p < 0,012$ .

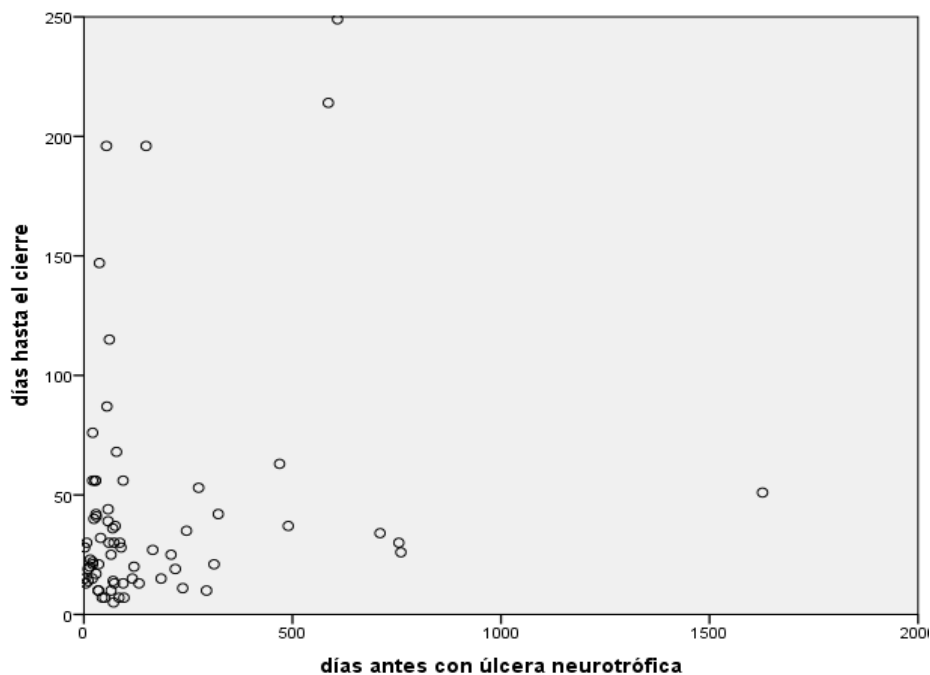
Las otras características de las queratitis y de los pacientes analizados no se asocian con la agudeza visual.

### 6-6-4 ESTUDIO DE VARIABLES QUE DETERMINAN EL ADELGAZAMIENTO

No existe asociación entre el adelgazamiento y otras características de las queratitis y de los pacientes analizados. Tampoco se relaciona con el éxito del cierre y la reapertura de la QN.

### 6-6-5 ESTUDIO DE VARIABLES QUE DETERMINAN EL TIEMPO DE CIERRE

#### 6-6-5-1 RELACIÓN DEL TIEMPO CIERRE Y EL TIEMPO PREVIO AL TRATAMIENTO

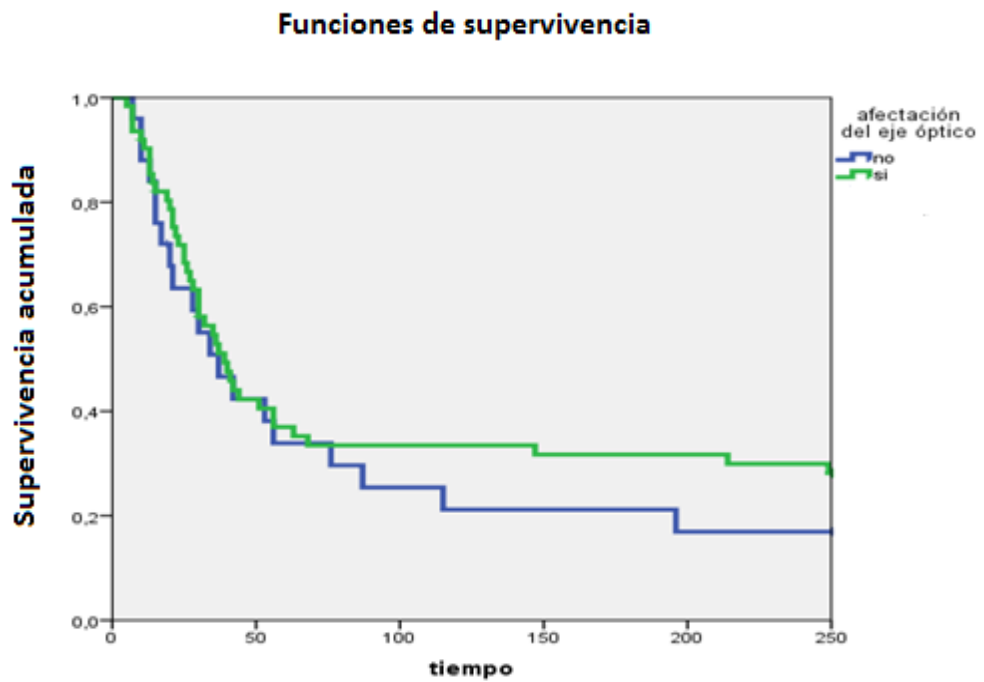


Gráfica 20: Correlación entre días de evolución con días hasta el cierre de la QN.

En la gráfica 20 se observa que no existe correlación respecto a los días hasta el cierre de la úlcera y con la variable independiente días previos de evolución de la QN (correlación de Pearson 0,209,  $p: 0,085$ ).

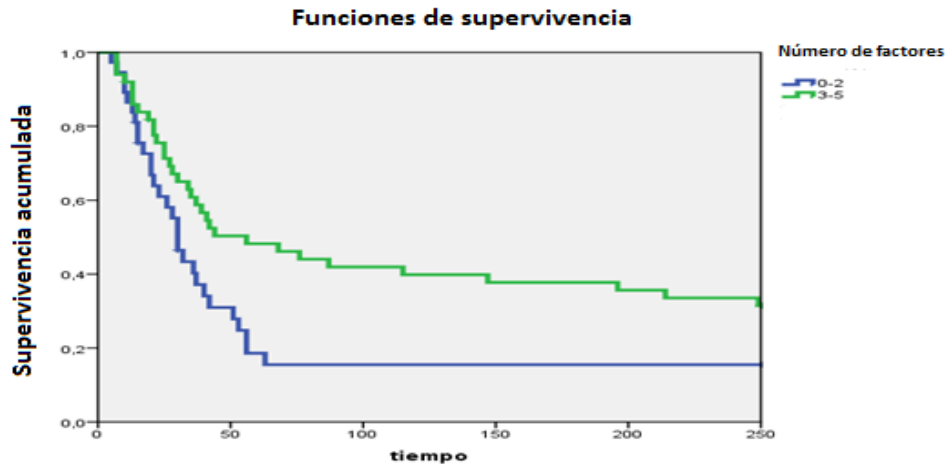
### 6-6-5-2 AFECTACIÓN DE EJE VISUAL

A continuación en la gráfica 21 de Kaplan–Meier, observamos que no se aprecian diferencias estadísticamente significativas ( $p: 0,4$ ) entre la variable independiente localización de la QN a nivel del eje visual y el tiempo de cierre.



Gráfica 21: Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la afectación del eje visual.

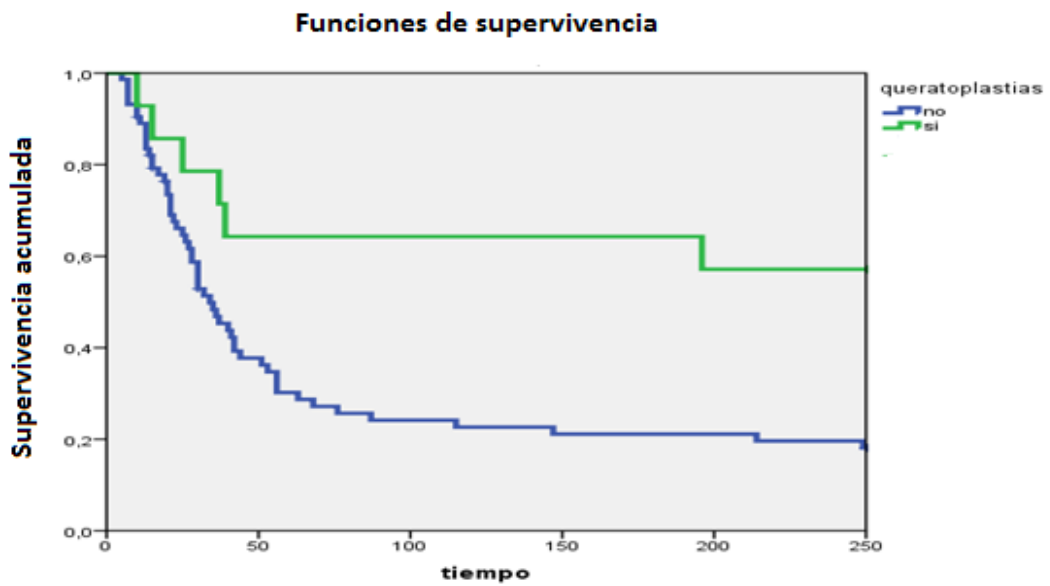
6-6-5-3 FACTORES PREDISONENTES



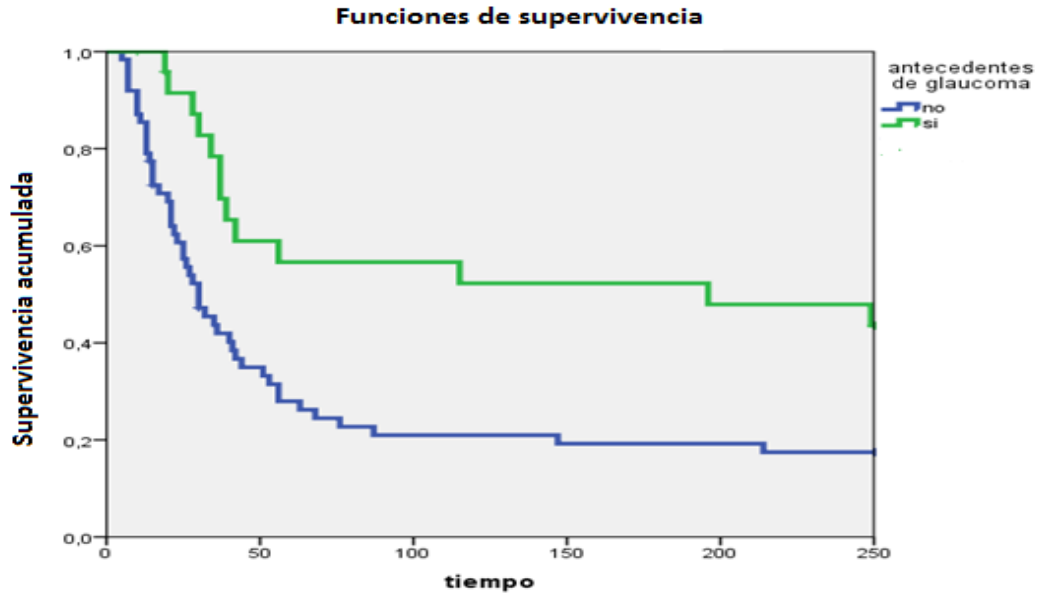
Gráfica 22: Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la afectación del eje visual.

A través de la gráfica 22 se observa que la presencia de más de 3 factores es un factor negativo para el éxito de cierre de las QN ( $p < 0,031$ ).

Si analizamos la existencia o no de las diversas causas con el éxito del cierre de la QN observamos que solo la presencia de queratoplastia con  $p < 0,011$  y de antecedentes de glaucoma con  $p < 0,004$ , determinan la menor tasa de cierre (Gráfica 23 y 24).

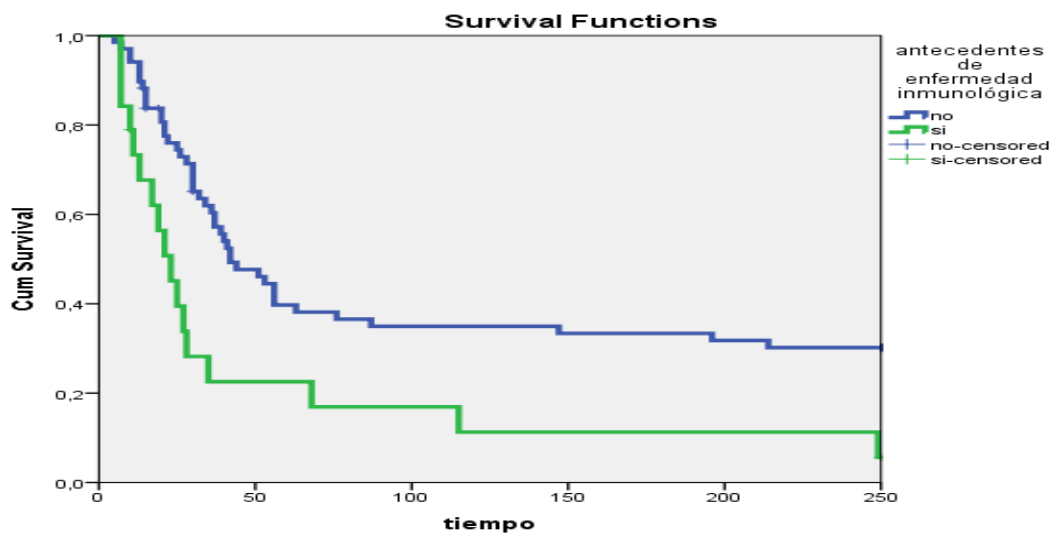


Gráfica 23: Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la existencia de queratoplastia.



Gráfica 24: Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la afectación de glaucoma.

Sin embargo, la presencia de antecedentes de enfermedad inmunológica/reumática como causa de QN, determina una mayor tasa de cierre, con  $p < 0,02$ , tal y como se observa en la gráfica 25.

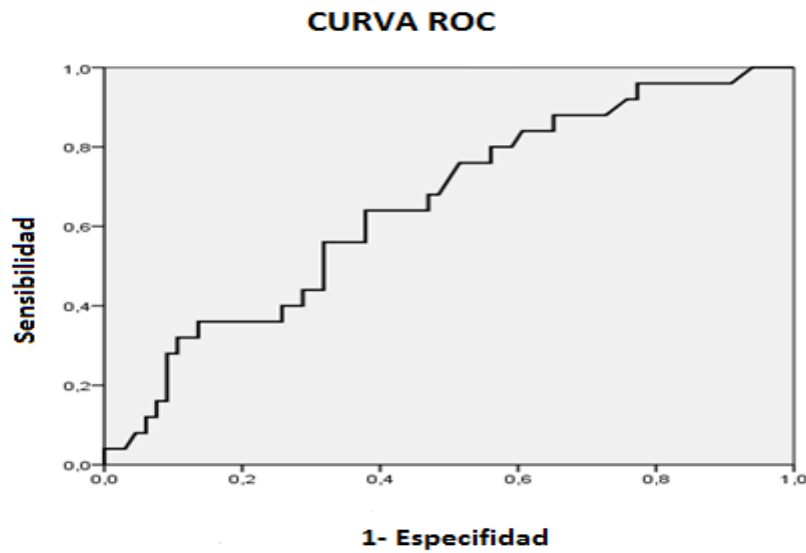


Gráfica 25: Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y antecedentes de enfermedad inmunológica/reumática.

## RESULTADOS

### 6-6-6 ESTUDIOS DE VARIABLES QUE DETERMINAN EL CIERRE COMPLETO DE LA ÚLCERA.

#### 6-6-6-1 RELACIÓN DEL ÉXITO CON EL TIEMPO PREVIO



Gráfica 26: Relación entre el cierre del defecto y el tiempo previo.

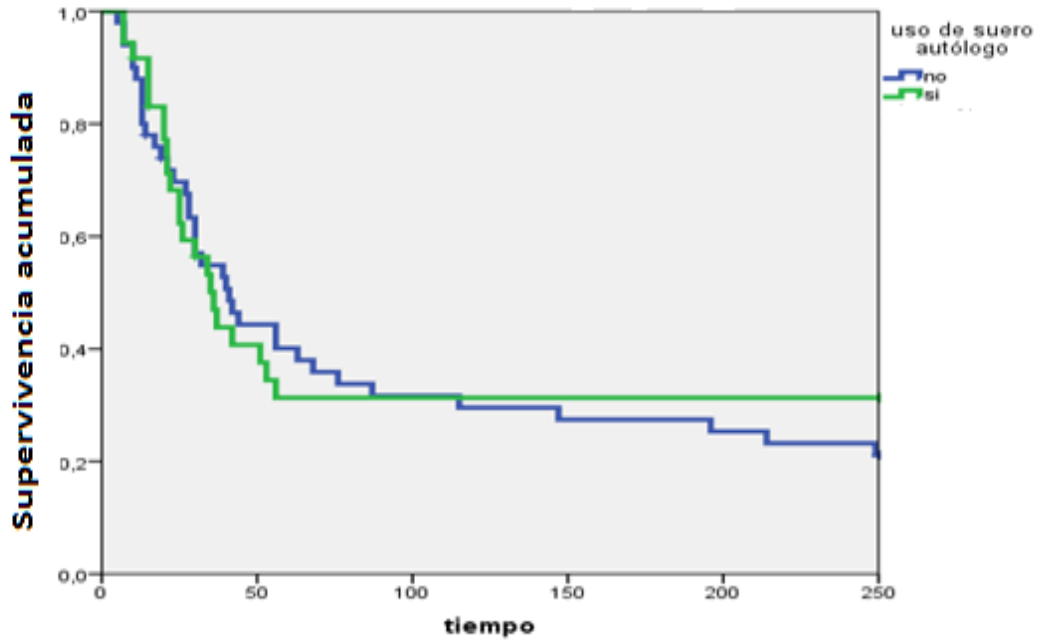
El gráfico 26 se observa una capacidad discriminativa levemente positiva entre el éxito de cierre y tiempo previo de evolución con  $p: 0,024$  y área debajo de la curva de  $0,653$ .

#### 6-6-6-2 EDAD

Si separamos en rangos de edad en aquellos menores de 18 años, de los de edad media y mayores de 65 años, no observamos que exista mayor tasa de cierre en alguno de los 3 grupos. La edad no determina éxito de cierre con  $p: 0,57$ .

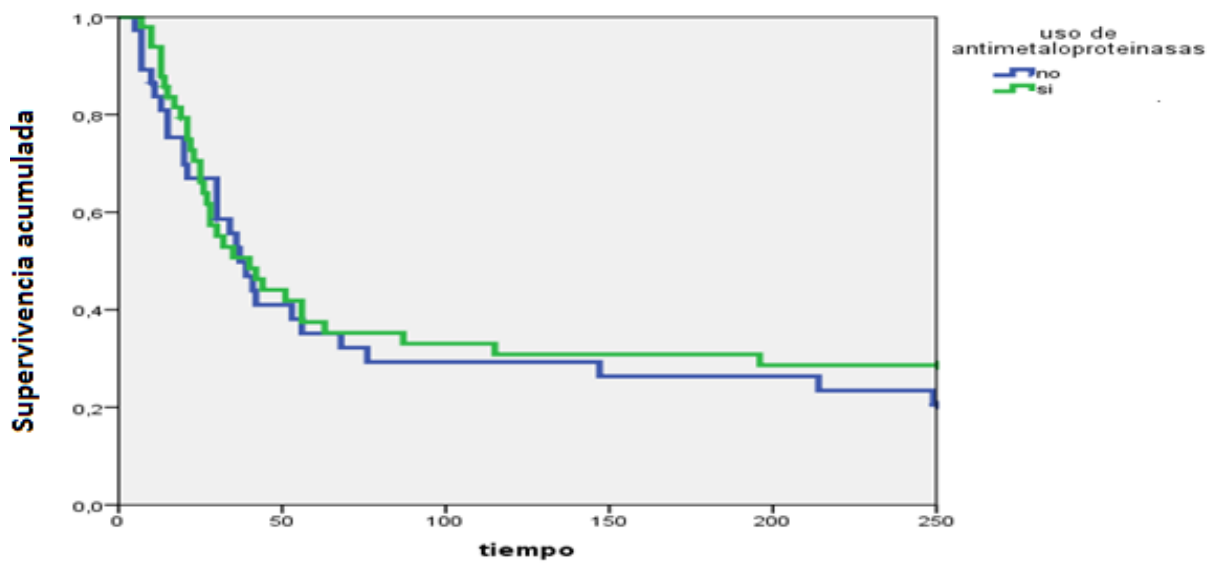
6-6-6-3 TRATAMIENTOS PREVIOS

**Funciones de supervivencia**

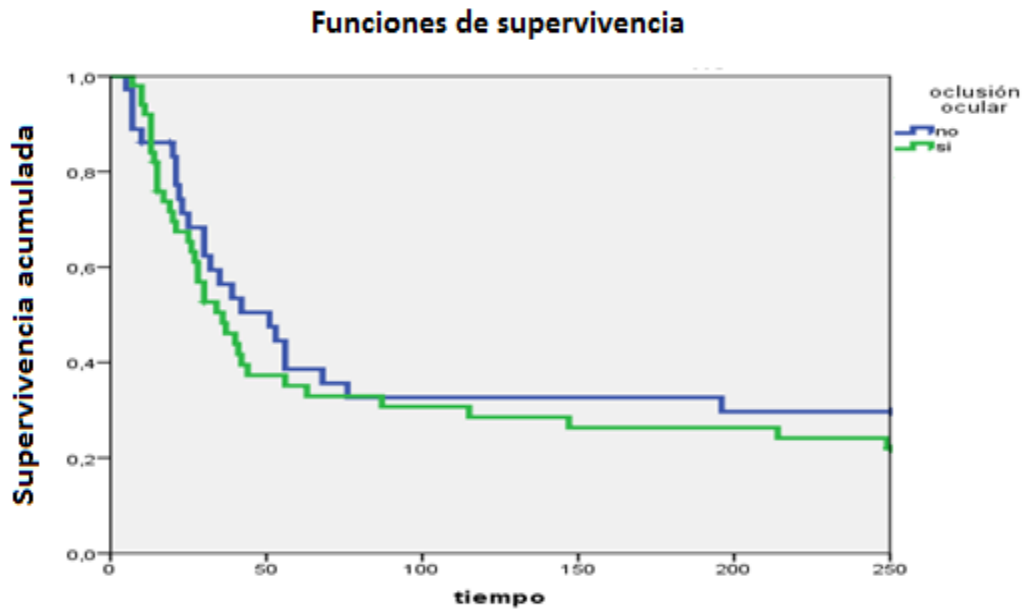


Gráfica 27: Curva de supervivencia entre el tiempo de cierre y el uso de colirio de suero autólogo (CSA).

**Funciones de supervivencia**



Gráfica 28: Curva de supervivencia entre el tiempo de cierre y el uso de metaloproteinasas inhibidoras de matriz.



Gráfica 29: Curva de supervivencia entre el tiempo de cierre y el uso de oclusión ocular antes de los tratamientos TMA, SMA, RGTA.

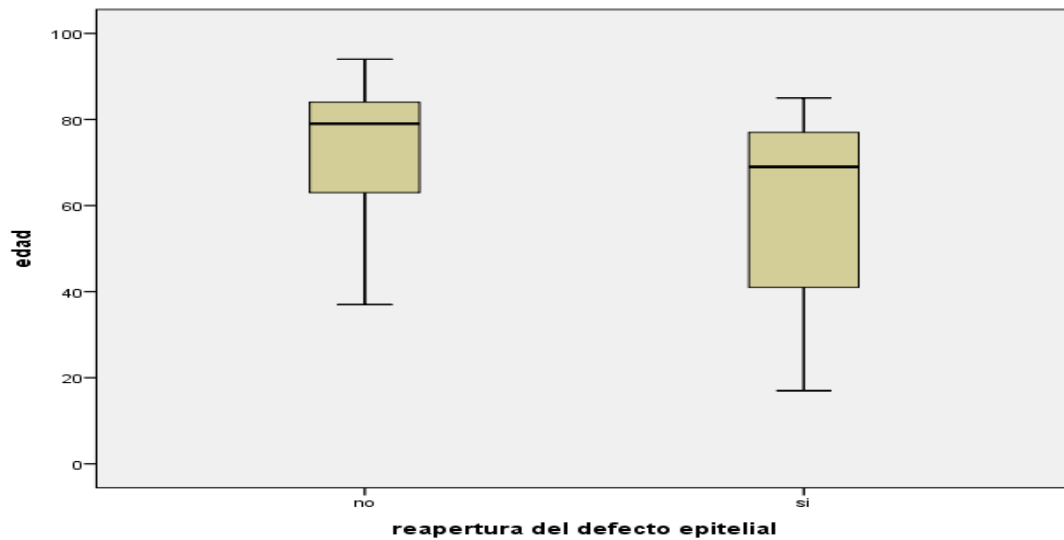
Las gráficas 27, 28 y 29 muestran que los tratamientos previos, tanto el CSA, la oclusión o las metaloproteinasas inhibidoras de matriz, no se han relacionado con la tasa del cierre de las QN ni con el tiempo de cierre ( $p: 0,662$   $p: 0,417$   $p: 0,547$  respectivamente).

#### 6-6-7 ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE DETERMINAN LA REAPERTURA DE LA QN

La gráfica 30 muestra que los casos donde ha habido reapertura de la QN tienen una media de edad de 60,46 años con Ds: 22,754, en cambio los que no se han reabierto tienen una media de 73,037 años y una Ds: 14,85.

Según el análisis estadístico de este estudio se obtiene que la edad es un factor protector para la reapertura de las QN con una  $p < 0,042$ .

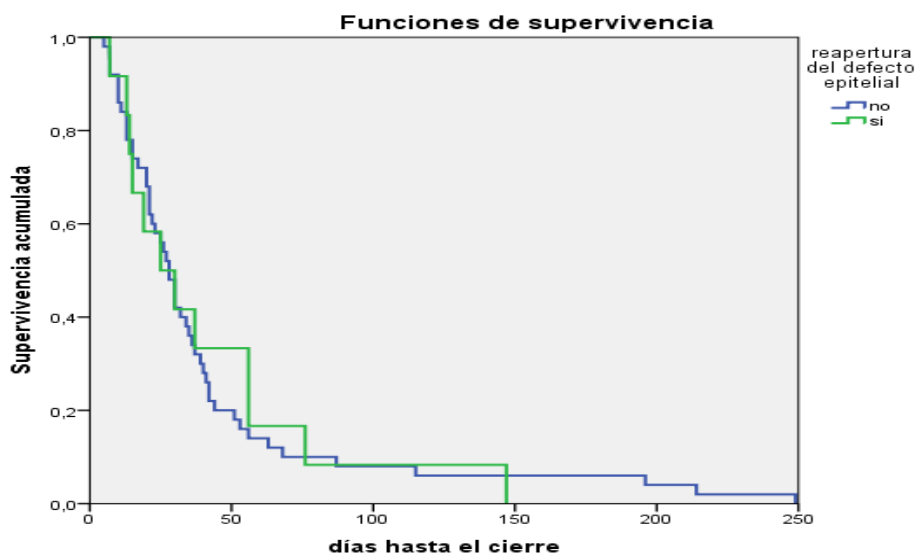




Gráfica 30: Relación entre reapertura del defecto epitelial y la edad del paciente.

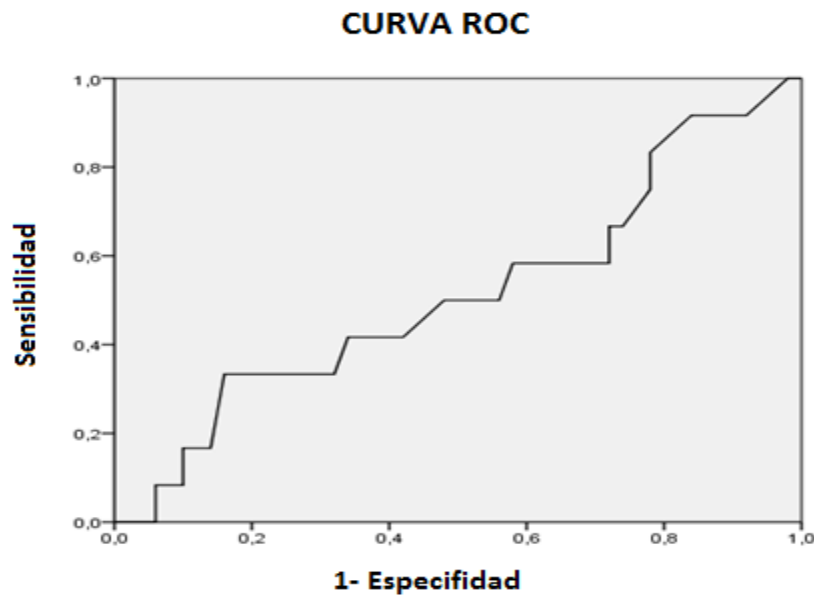
Tanto el estadío de Mackie con  $p < 0.289$ , como los antecedentes de los pacientes o las características de las queratitis son factores que no determinan el riesgo de reapertura.

Mediante los datos aislados hemos intentado relacionar el tiempo hasta el cierre de la úlcera con el riesgo de reapertura, pero tal y como se aprecia a través de la gráfica de supervivencia 31 no existe relación entre estas dos variables.



Gráfica 31: Gráfica de Kaplan-Meier sobre los días hasta el cierre y la reapertura.

Por otra parte en la gráfica 32 se observa que tampoco existe capacidad predictiva entre el tiempo de cierre y la reapertura del defecto epitelial con un área debajo de la curva 0,514 y una significación de  $p: 0,880$ .



Gráfica 32: Asociación entre el tiempo de cierre y la reapertura.

### 6-6-8 ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE DETERMINAN NUEVOS EPISODIOS

#### DEPENDIENTE

La existencia de más de 3 factores predisponentes de QN determina una relación con la aparición de nuevos episodios de QN a más de 3 meses tras el cierre primario con  $p < 0.041$ . También el test del Schirmer del ojo afecto con  $p < 0.049$  predispone a nuevos episodios.

#### INDEPENDIENTES

Sin embargo el estadio inicial de Mackie, el tiempo de cierre o el tiempo previo hasta iniciar tratamiento, no se han relacionado con la aparición de nuevos episodios, así como los tratamientos previos o las características epidemiológicas del paciente.

**Podemos resumir que la respuesta a los tratamientos (considerada como cierre de la QN) es inferior en los pacientes con más de 3 factores predisponentes, con antecedentes de glaucoma o de queratoplastia previa, que en los pacientes de mayor edad la reapertura de la QN es menos frecuente y que la aparición de nuevos episodios de QN se asocia a un test de Schirmer patológico y la presencia, de nuevo, de más de 3 factores predisponentes.**

## 6-7 ESTUDIO ECONÓMICO

Se representa a continuación los gastos directos sanitarios de la intervención a análisis.

- **PRECIO DE TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA:** En este caso el gasto total viene determinado por la necesidad del uso de un quirófano y f producto en sí.
  - El precio total es 1.359,46 euros, totalmente financiados. Incluye:
    - La propia membrana amniótica (350 euros).
    - El proceso quirúrgico (1009.46 euros).
- **PRECIO RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) :** Al no ser un fármaco incluido dentro del paquete de medicamentos subvencionados por el estado español, tiene una gran variabilidad de precio siendo el precio medio de 72 euros por caja según casa comercial pero en farmacias tiene un rango de precio que oscila entre los 53,40 euros a 99 euros.

Por otra parte, el uso medio de cajas de RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) entre los diferentes pacientes ha sido de 3,69.

PRECIO POR TRATAMIENTO: 265,68 sin financiación

- **PRECIO SMA:** Tenía un coste de 180 euros por envase/semana que si lo multiplicamos por el número medio de semanas que fue de 9,7, tuvo un precio medio de 1746 euros. No tiene financiación, ya que no se utiliza de forma reglada y solamente se realiza para estudios experimentales.

### ○ **PRECIO CONSULTAS Y PRIMERA VISITAS**

Dentro del precio de la consulta y de las revisiones consideraremos mismo precio para los diferentes preparados:

- Consulta primera: 101 euros.
- Consulta sucesiva: 61 euros.

Para determinar el número medio de consultas se ha considerado aquellas previas al tratamiento que estuvieran relacionada con la QN como las que acontecen durante y tras el tratamiento.

## RESULTADOS

El número veces que el paciente ha requerido ser visto por el equipo de la Sección de Córnea del HULP ha sido de 23,49 consultas con un rango de 3 a 68 consultas una desviación estándar de 17,566 y una varianza de 308,572.

Dentro de los subgrupos el grupo de RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) tiene una media de 26,24 consultas (Ds: 13,632), el grupo de SMA 21,3 (Ds: 15,804) y en los trasplantes de MA de 22 (Ds: 12,636).

**PRECIO DEFINITIVO:**  $(101 + (61 \times \text{número de consultas} - 1)) \pm$  INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA:  
**PRECIO FINAL**

○ **PRECIO TOTAL:**

El precio total de la opción terapéutica es la siguiente:

- **SMA:** 3085,3 euros.
- **MA:** 2741,46 euros.
- **CACICOL<sup>®</sup>:** 1906,32 euros.

## **DISCUSIÓN**

## 7-DISCUSIÓN

Aproximadamente 285 millones de personas en el mundo sufren alteración de la visión, de estos 2.85 millones se deben a problemas de opacidades corneales<sup>27</sup>.

La córnea es el único tejido humano transparente y la pérdida de la transparencia puede ocasionar graves trastornos de visión. Si la opacidad corneal permanece origina un leucoma que puede ocasionar disminución de la AV o incluso ambliopía en los niños.

La córnea transmite aproximadamente el 90% de la luz visible y se ha constatado que no se produce una dispersión luminosa apreciable, a no ser que las fluctuaciones en el índice de refracción superen los 2.000 Å (La luz visible es de 4.000 a 7.000 Å). El estroma corneal no dispersa la luz porque en condiciones normales el diámetro de sus fibrillas de colágeno es pequeño (aprox. 300 Å) y su separación es estrecha (aprox. 550 Å). La edematización del estroma provoca que la distancia interfibrilar supere los 2.000 Å, se produce una córnea translúcida<sup>237</sup>. La ausencia de un epitelio estable ocasiona inflamación estromal, adelgazamiento y fibrosis. El daño en la inervación corneal perpetúa la ulceración epitelial y la lisis estromal, la pérdida de transparencia y por tanto de agudeza visual.

En este sentido es crucial adoptar medidas terapéuticas que consigan una reepitelización estable y rápida, restaurando la transparencia corneal. Los tratamientos estudiados: SMA, TMA y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) van encaminados a realizar esta acción con la mayor eficacia. Nos centramos por lo tanto en un fármaco recientemente comercializado, otro en fase experimental y el tratamiento estrella durante muchos años.

A pesar de la gravedad de las queratitis neurotróficas, la incidencia de este tipo de úlcera no es muy elevada, en comparación con el total de las queratitis corneales, por lo que el estudio comparativo de todas las opciones terapéuticas disponibles para este tipo de úlcera es difícil.

Esta tesis presenta una serie de pacientes con úlcera neurotrófica. Revisada la literatura creemos que recoge el mayor número de pacientes con esta patología, donde no solo se analiza las características propias de la úlcera y del tratamiento, sino de los factores que precipitan su aparición.

## 7-1 EPIDEMIOLOGÍA

Bonini et al en su revisión del 2003 para Eye<sup>25</sup>, refiere que no hay un sexo ni edad en el padecimiento de QN pero que hay una tendencia a presentarse en pacientes mayores. En esta tesis tampoco hay una franja de edad, ni un sexo que podamos excluir de poder padecer una QN. Los factores que determinan la aparición de la enfermedad son muy heterogéneos, desde tumores cerebrales a cirugía vitreoretiniana.

Como decimos, nuestros resultados están en correlación con lo que publica Bonini. Aunque encontremos un rango de edad muy variable, la edad media de nuestro pacientes es de unos 65 años y la mediana de 75, existe una tendencia hacia la derecha, tal y como se observa en la gráfica 46. La QN acontece más frecuentemente en pacientes mayores con múltiples factores, que determinan la existencia de esta patología.

## 7-2 FACTORES DE LAS QUERATITIS NEUROTRÓFICAS ESTUDIADAS

### 7-2-1-CARACTERÍSTICAS

#### - TIEMPO PREVIO A LA INTERVENCIÓN

La afectación de la sensibilidad puede ser causada durante un largo periodo de tiempo hasta que el paciente y /o el oftalmólogo aprecien que existe un grave problema.

En nuestro caso decidimos tomar como punto de partida el tiempo desde que se observa la úlcera corneal y no la QPS que sería el primer grado de afectación de la neurotrofia, puesto que muchas veces los pacientes no acuden por pequeñas molestias o no son referidas de importancia por parte del oftalmólogo, por lo tanto no estaría correctamente documentado en la historia clínica y cometeríamos un error estadístico grave.

No encontramos publicaciones donde estudien el tiempo previo de la úlcera corneal antes de la intervención terapéutica y determinen si existe causa-efecto sobre la evolución de esta. En nuestras series, el tiempo medio ha sido muy prolongado: de 209,74 días en el total de la muestra estudiada, con 116,27 en el grupo de SMA, 221,14 días para MA y 224,88 días para RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) con p: 0,175 entre grupos.

Remarcar que no existe correlación entre el tiempo previo y el tiempo de cierre, pero si se observa que cuanto más tiempo previo del DEP la probabilidad de éxito/cierre decae. Si estos

datos los extrapolamos a estudios de otras patologías neurotróficas más estudiadas como el pie diabético, los estudios determinan como factor negativo el tiempo previo al cierre igual que los datos obtenidos<sup>238</sup>.

#### - CAUSA

Dentro de las causas de úlcera neurotrófica en los estudios publicados se describe como causa principal la infección por herpes, otras son cirugías repetitivas de córnea, abuso de anestésicos, quemadura química, secuelas por neurocirugía, diabetes o radioterapia<sup>240</sup>. Empero, aparenta una enfermedad infradiagnosticada en estadios iniciales.

Nosotros hemos obtenido que la causa más prevalente ha sido el antecedente de múltiples procedimientos quirúrgicos oftalmológicos, el 66,66% en el grupo de SMA, el 53,84% en el grupo de TMA y el 33,3% en el grupo RTGA (Cacicol<sup>®</sup>). Además, la existencia de múltiples cirugías oftalmológicas es un factor que ha determinado un peor pronóstico en el cierre de las úlceras. Concretamente el antecedente de queratoplastia penetrante, un procedimiento donde se secciona el 360º de la inervación corneal, se ha relacionado con peor epitelización. En este grupo de pacientes cualquier inicio de afectación epitelial corneal debería alertar de una posible neurotrofia y actuar en consecuencia.

La segunda causa más frecuente ha sido tener antecedentes de patología corneal herpética, con una prevalencia cercana al 50%. Cabe destacar que cerca del 100% de la población europea mayor de 60 años es serológicamente positiva a virus herpes<sup>241</sup>. En la literatura se describe que un 6% de las úlceras por VHS 1 y un 12,8% de las causadas por el virus herpes zóster producen queratitis neurotróficas<sup>61,242</sup>. La reactivación del virus herpes se produce en un 20-30% de los casos<sup>243</sup>. La infección, destruye las células y las fibras sensitivas del ganglio del V par. Hay casos reportados de pérdida de nervios corneales en ambos ojos tras padecer herpes zoster oftálmico unilateral y se postula que existe proyecciones axonales en el hemisferio contralateral<sup>239,244</sup>. Además, se ha observado que no solo el herpes puede causar QN por el propio efecto sobre los nervios sensitivos, sino también por el hecho de producir la reducción del reflejo del lagrimeo, del parpadeo y por aumento de la evaporización, aumento de la osmolaridad e inestabilidad de la película lagrimal<sup>239</sup>.

La tercera causa fue la existencia de antecedentes de glaucoma, presente en el 40% de los pacientes. Martone et al<sup>245</sup> refiere que los pacientes en tratamiento con glaucoma presentan menor número de nervios subbasales y significativamente más tortuosos, existiendo relación



## DISCUSIÓN

entre la disminución de las fibras y la presencia de hipoestesia como de disminución de la secreción lagrimal. Por lo tanto la neurotrofia epitelial podría venir marcada por la toxicidad de los colirios, por la propia patología o por las cirugías de glaucoma. Debemos señalar que todos los pacientes en tratamiento antiglaucomatoso compartían otros factores predisponentes de QN, el tratamiento antiglaucomatoso probablemente agrave de manera significativa una condición corneal ya presente, aunque el glaucoma es otra enfermedad neuropática, que comparte potenciales dianas terapéuticas con las QN como el factor de crecimiento neuronal (NGF) o la coencima Q10<sup>158-159,246</sup>.

En nuestra serie el antecedente de infección corneal no herpética fue poco frecuente. Las queratitis bacterianas graves son raras, aproximadamente de 11/100000 en EEUU. La primera parte del tratamiento es frenar la proliferación microbiana y en un segundo paso, promover la epitelización. Sin embargo, a veces se produce un defecto epitelial persistente por la toxicidad de los fármacos utilizados o por la propia infección<sup>7,247</sup>.

Finalmente las úlceras corneales iatrogénicas procedentes de una lesión del nervio trigémino, acontecen en el 2,8 % de los pacientes que se someten a procedimientos quirúrgicos y en el 0.6% en los que se someten a termocoagulación con radiofrecuencia según Dhillon<sup>6</sup>. La posibilidad de padecer una QN por esta causa puede diferir más de 15 años<sup>9</sup>. En nuestro caso las QN por esta causa representan un porcentaje nada desdeñable, próximo al 20% y creemos que deberíamos revisar de forma protocolizada a estos pacientes, no solo antes y después de la intervención, sino por un periodo largo de tiempo.

Aunque la distribución de la incidencia de cirugía sobre la córnea de forma tectónica o refractiva<sup>248</sup> ha sido diferente en las diversas opciones, son causa importante de QN. En la cirugía refractiva se cree que la técnica SMILE puede producir menos lesiones en los nervios corneales, siendo una opción de prevención de esta patología<sup>249</sup>.

El porcentaje de QN causadas por otras afecciones como la esclerosis múltiple o enfermedades congénitas no pueden estimarse al no haber datos sobre su prevalencia disponibles en la literatura. Sin embargo, en la diabetes la incidencia de trastornos corneales se ha estimado en un 47-64% de los pacientes<sup>249</sup>, en nuestra serie la diabetes mellitus estaba presente en un 10 % de los casos. Las alteraciones de las fibras corneales pudieran determinar el grado de neuropatía periférica diabética, siendo una técnica menos agresiva que la biopsia cutánea.

Cuando se estudian los artículos publicados sobre el tema, normalmente hablan de una causa primordial y pocos como el de Seitz hablan de factores secundarios, que contribuyen a la cau-

sa<sup>250</sup>. Nosotros hemos obtenido que la presencia de más de tres factores fuera motivo para la aparición de nuevos episodios de QN tras el cierre primario.

En la actualidad existen publicaciones donde comentan que los fumadores tiene tendencia a la irritación, isquemia, degeneración macular, orbitopatía de Graves y cataratas; pero también tienen un mayor tiempo de reepitelización (23.9 día más en queratitis y 1.1 días en abrasiones). Este es un factor en el que podemos y debemos actuar<sup>92</sup>. Factores nutritivos o hábitos no los hemos analizado y podrían producir un sesgo en nuestro estudio.

Si analizamos las QN estudiadas con las diversas causas que determinan el éxito de cierre se observa como factores negativos los antecedentes de queratoplastia y glaucoma. Como factor positivo la presencia de enfermedad inmunológica. Este último hecho, tal vez se deba a que nuestros pacientes referían cierta hipoestesia en comparación de los severos signos corneales que presentaban, pero se trate de pacientes con ojos hiposecretorios cuyas terminaciones nerviosas no estén tan alteradas.

#### **-TEST DE SCHIRMER**

El estudio de la lágrima, tanto en su composición como en sus características, ha evolucionado en los últimos años. No hemos realizado estudios especiales, como la osmolaridad o el PH que podrían favorecer la discriminación con otras patologías<sup>251</sup>.

Sin embargo se demostró ya hace más de 20 años que el test de Schirmer, esta sencilla prueba, diferencia los ojos con hiposecreción lagrimal<sup>252</sup>. En nuestra serie los ojos con QN presentaban un test de Schirmer menor a los ojos adelfos y encontramos relación de un valor de Schirmer alterado con la recidiva de la úlcera, sin estar relacionado con la forma de presentación o la causa.

#### **-GRADO DE MACKIE**

Muchas de las publicaciones de QN no especifican su grado de severidad según la clasificación de Mackie. Nuestras queratitis presentaban afectación moderada o severa, correspondiendo a grados 2-3 de Mackie.

Aunque la clasificación de Mackie esta internacionalmente aprobada para el estadiaje de las QN, cabe apuntar que no precisa datos relevantes para la evolución como: la localización, la opacificación epitelial y/o estromal o la presencia de neovascularización, por lo que creemos que se debería redefinir una clasificación que se adecuase mejor al pronóstico en esta patolo-

## DISCUSIÓN

gía, tal y como comenta Dua en su último artículo sobre queratitis neurotróficas<sup>47</sup>, donde las clasifica en leve, moderada y severa según la profundidad de la úlcera y la sensibilidad corneal entre otros parámetros.

En nuestro estudio las QN grado 3 no epitelizaban peor o más tardíamente que las QN grado 2, parece depender de otros factores externos al Mackie.

### -TRATAMIENTOS PREVIOS

Se observa que existe un posible sesgo en la distribución de su uso, los pacientes de SMA formaron parte de un ensayo clínico donde la indicación del SMA se realizaba tras el fallo de tratamiento con CSA. Por este motivo el 91% de los pacientes de este grupo recibieron CSA (solo un paciente no lo recibió por serología de virus de hepatitis B positiva que contraindicó la preparación de CSA).

El uso CSA al 20% representa un tratamiento efectivo para la queratopatía neurotrófica grados 1 y 2, pero es un tratamiento insuficiente para una queratopatía grado 3<sup>253</sup>.

Por otro lado puede poseer diferentes concentraciones de factores de crecimiento y proteínas para él, cosa que podría determinar la eficacia del producto<sup>95,253</sup>. (Tabla 20)

AUTOR	EGF (ng/ml)	TGF (ng/ml)	PDGF (ng/ml)	Fibronectina (ng/ml)	Vit A (nmol/ml)	Vit E
Liu 2006	0,82+/-0,46	45,84+/-3,2	15,6+/-6	455,1+/-65,6	3,52+/-1	35,6+/-8,2
Bradley 2008	0,2+/-0,06	44+/-13,9	19,8+/-10,2			
López-García 2016	0,46+/-0,06	18,04+/-6,01	8,04+/-1,57			
Geerling 2004	0.5	6+/-11		205	4.6 mg/ml	

Tabla 20: Concentraciones de los factores de crecimiento del SA en diversos artículos<sup>150, 256-258</sup>.

Remarcar que en la tabla cruzada respecto al CSA, podríamos pensar que tendría que existir significación estadística, pero este resultado se debe a pérdida de información para este parámetro. Al partir de un número menor de casos analizados no existe significación.

En la tesis se describe que los tratamientos previos no han sido determinantes para el éxito y el tiempo de cierre, pero la literatura no dice lo mismo<sup>254-255</sup>. Un ensayo controlado aleatorizado comparando TMA con los tratamientos convencionales en ojos con QN de evolución tórpida, mostraron que tanto TMA como la gestión convencional (tarsorrafia, lente de contacto o vendaje) eran tratamientos eficaces, con un tiempo medio para completar la epitelización de 21 días en ambas opciones<sup>254</sup>.

La tarsorrafia tiene un éxito de cicatrización de más del 90% en queratitis neurotróficas refractarias al tratamiento convencional. Otras opciones son la cantoplastia lateral, la blefarorafia o el punto de Frost<sup>105-106</sup>. Sin embargo, la tarsorrafia (lateral, medial o central) se indica poco en nuestra práctica clínica (menos de un 15%), debido al efecto antiestético, a la dificultad del seguimiento de la QN y a la reducción de agudeza visual que conlleva este procedimiento. Por otra parte cabe destacar que la toxina botulínica puede tener una latencia de hasta una semana por lo que si necesitamos una oclusión urgente puede no ser la opción ideal. El cierre con un esparadrappo u oclisor puede ocasionar escoriación y/o eccema a nivel palpebral<sup>47</sup>.

Por otra parte, el uso de las tetraciclinas en oftalmología por su efecto antimetaloproteinasa data de los años ochenta. Las tetraciclinas pueden proteger la córnea contra la degradación proteolítica. Inhiben las metaloproteinasas de la matriz por mecanismos independientes de sus propiedades antimicrobianas, principalmente mediante la restricción de la expresión génica de la colagenasa de neutrófilos, la gelatinasa epitelial y la supresión de la degradación de alfa1-antitripsina reactivas<sup>112</sup>. En estudios parecidos de Guadilla et al mencionan que el uso de metaproteinasas orales (minociclina, doxiciclina) es del 45% de los pacientes con QN, en nuestro caso ha sido superior al 50% en todas las opciones<sup>253</sup>. Destacar que las tetraciclinas a nivel oral son mal toleradas y no están exentas de efectos secundarios.

Dentro de los tratamientos previos, señalar que en el presente la industria farmacéutica está dejando de fabricar productos que hemos utilizado para el tratamiento de este tipo de úlceras con función antiinflamatoria y antimetaloproteinasa como la Medroxiprogesterona (Medivas<sup>®</sup> Alcon) debido a una alerta sanitaria del clorhidrato de tetrahidrozolina y que tenemos que solicitar a farmacias especializadas para su preparación, lo que encarece y dificulta su utilización.

Por otra parte, la administración de lágrimas artificiales mejora la lubricación y la humectación, pero no aportan e incluso lavan las sustancias promotoras de la cicatrización y el metabolismo

## DISCUSIÓN

corneal. Es recomendable entonces que se empleen con preferencia lubricantes de alta densidad y permanencia (carbómeros, p.e.) con una cadencia de dos a cuatro veces al día <sup>259-260</sup>. Tampoco ha sido analizado el tipo de lágrima artificial que utilizaban los pacientes, aunque se recomendó lágrimas sin conservantes.

### - LOCALIZACIÓN DE LA LESIÓN.

En nuestro trabajo se observa que las QN se localizan a nivel central- paracentral en el 68% de los casos, lo que podría ir acorde con la literatura<sup>86</sup>. Chen et al refieren que la mayoría de sus casos se encuentran a nivel central y en los casos de injerto corneal, a nivel de la unión de los dos tejidos<sup>261</sup>. A través de la iconografía también constatamos queratitis neurotróficas en el borde de injerto-límbo de la queratoplastia. Esta localización es de suma importancia por ser la zona más débil y susceptible a la apertura ocular tras un injerto corneal.

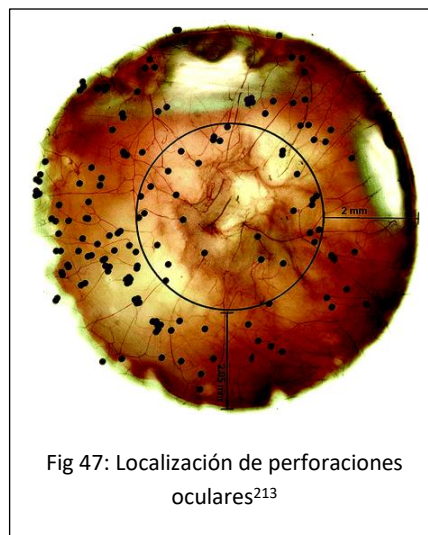


Fig 47: Localización de perforaciones oculares<sup>213</sup>

Por otra parte, la localización típica de la perforación corneal según la literatura se sitúa a nivel de media periferia (Fig 47). Probablemente esta zona está más expuesta y no está protegida por el párpado o bien, la explicación venga dada por la histología corneal. La capa de Dua separa la última fila de queratocitos en la córnea, tiene un espesor de 15 micrones y es increíblemente dura y resistente como para poder soportar una presión de 200 kilopascales, pudiendo explicar la resistencia de las córneas con descematocele al estallido en la zona central<sup>262</sup>. En nuestro caso el 7.7% de los pacientes tratados con TMA y el 8% tratados con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) se perforaron; sin embargo esta premisa no ha podido ser comprobada, localizando perforaciones oculares tanto a nivel central (71.4%) como periférico (28.6%).

**-SENSIBILIDAD**

La sensibilidad corneal puede afectar a todas las estructuras corneales resultado de la combinación de diferentes efectos que incluyen, la disminución de la inervación, alteraciones metabólicas y efectos citopáticos<sup>9</sup>.

El daño en las terminaciones nerviosas corneales no solo afectan a la córnea produciendo un progresivo adelgazamiento corneal, hinchazón celular, pérdida de microvellosidades y producción anómala de la membrana basal sino también a nivel de la película lagrimal, disminuyendo el reflejo corneal y aumentando la viscosidad de la lágrima y a nivel conjuntival disminuye las células caliciformes y aumentando la longitud de la superficie de las microvellosidades. En QN por cirugía del trigémino no solo se ve afectado el epitelio con una disminución celular y una hiperreflexividad de los queratinocitos, sino también se ve afectado el endotelio con una pérdida celular<sup>9</sup>.

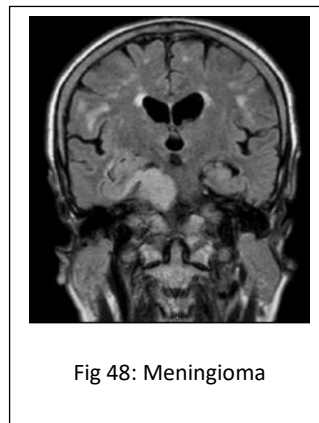


Fig 48: Meningioma

Es importante valorar la sensibilidad en varias localizaciones corneales, conjuntivales y palpebrales, para localizar el nivel de la lesión nerviosa.

Si la lesión se encuentra en la neurona de la rama preganglionar se va a producir una pérdida de sensibilidad, pero el trofismo celular se mantiene, sin embargo si se produce a nivel del núcleo o postganglionar no solo se va a perder la sensibilidad, sino que también tendremos problemas de trofismo<sup>155</sup>. Este dato es importante en los pacientes que se van a someter a cirugía cerebral, que como se observa anteriormente es un subgrupo importante de posibles paciente de QN (Fig 48).

Estudios de Chucair-Elliott hablan que la reinervación comienza a los 30 días en las queratitis neurotróficas por herpes pero, la sensibilidad no se recupera a la par<sup>55</sup>.

Por otra parte hay que referenciar, que en esta tesis no se ha tenido en cuenta otros aspectos como podría ser la densidad de células progenitoras corneales (ABCG2). Estudios recientes sobre la salud epitelial relacionan los nervios sensitivos con estas células<sup>263</sup>.

En nuestro caso no poseíamos un estesiómetro para cuantificar la sensibilidad corneal. Nuestra evaluación consistió en la detección cualitativa de hipoestesia/anestesia a través de un hisopo, comparando la sensación táctil del ojo afectado respecto al ojo sano. Esto determino una hipoestesia marcada o anestesia en más del 30% de los casos, si bien no encontramos

## DISCUSIÓN

relación entre esta variable y el grado de epitelización de la úlcera neurotrófica, podría existir un error al considerar el ojo adelfo como normal.

### **-AGUDEZA VISUAL**

Según los datos poblacionales publicados por el Instituto Nacional de Estadística, el índice de dependencia ha aumentado un 3,98% en España entre los años 2012 y 2014. El aumento más notable se ha producido en Madrid y el más pequeño ha tenido lugar en Extremadura<sup>194,264</sup>.

La discapacidad visual, menos de 20/200 en escala Snellen, es un factor a tener en cuenta como consecuencia de una QN. La AV media inicial en las tres opciones ronda este valor.

En los casos estudiados, la agudeza visual tanto final como inicial podría venir influenciada por otras comorbilidades oculares como la retinopatía diabética, el glaucoma en estado avanzado o el desprendimiento de retina.

Las diversas alternativas utilizadas promueven la restauración de la integridad ocular, controlan la inflamación y previenen la infección pero no es significativa la mejoría de AV en ninguna de las tres opciones. A favor de esta premisa existen publicaciones<sup>265-266</sup> como la de Uhlir et al.<sup>265</sup> donde refieren que no existen diferencias entre las agudezas basales y finales.

Aunque estudios previos con PRGF refieren que pacientes mayores de 60 años mejoran la AV en vez de los pacientes entre 18-60<sup>143</sup>. Nosotros este dato no lo hemos podido corroborar.

En estudios con PROKERA<sup>®</sup> (lentes de membrana amniótica), se ha observado disminución de AV a distancias lejanas y cercanas en pacientes debido a falta de transparencia relativa de los parches de membrana amniótica<sup>106</sup>. En nuestro, 5 pacientes del grupo TMA también han referido este hecho.

## 7-2 -2 ÉXITO DEL CIERRE

### -CIERRE DE LAS ÚLCERAS

En nuestras series, el cierre de nuestras queratitis ha sido superior al 70% en las tres opciones estudiadas, similar a los trabajos publicados. Más de un cuarto de los pacientes aún con estos tratamientos no se van a cerrar<sup>143,250</sup>.

Si revisamos la literatura sobre QN, en el estudio que compara homogenizados de MA y TMA de Guo et al<sup>266</sup>, se observa un éxito similar entre estas dos opciones, sin diferencias estadísticas y en estudios sobre RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) (15 pacientes) a nivel ocular ha logrado la curación completa en ocho de los once pacientes (73%)<sup>188</sup>.

### -TIEMPO DE EPITELIZACIÓN

En nuestras series, el cierre del defecto epitelial fue de 73,2 días en ojos tratados con SMA, 43,41 días, en los tratados con TMA y 27,09 días, si el tratamiento era RTGA (Cacicol<sup>®</sup>). No observamos diferencias significativas entre los tres tratamientos respecto al tiempo de epitelización.

En cuanto al cierre con regeneradores de matriz, diversas publicaciones describen que el tiempo medio de epitelización con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) es de 8,7 semanas (1 a 22 semanas)<sup>188</sup>. En nuestro caso ha sido menor.

Por otra parte, la variabilidad en el tiempo de cierre, tal y como se demuestra en resultados podría deberse a otros factores no estudiados.

### -VELOCIDAD DEL CIERRE DEL DEFECTO EPITELIAL.

Estudios sobre velocidad del cierre de las úlceras corneales datan ya desde los años noventa por Rask et al<sup>269</sup>. Nosotros pretendíamos evaluar también este parámetro con el fin de saber si alguna de las opciones era más veloz que las otras.

La velocidad de cierre del defecto epitelial fue semejante en los pacientes con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) y SMA. El RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) es un agente regenerante comercializado y por tanto disponible de forma inmediata en las farmacias. En nuestro estudio existe una tendencia, no significativa, del empleo de RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), en pacientes con QN más pequeñas, que posiblemente sea explicada por



## DISCUSIÓN

la facilidad en su disponibilidad y que pudiera originar un posible sesgo en la velocidad de cierre. Que su eficacia en tasa y velocidad de cierre de las QN no sea inferior a los otros grupos de tratamiento favorecerá su uso en las consultas de oftalmología.

Reseñar que el defecto epitelial no fue valorado en los pacientes con la MA, puesto que no era factible a través de fotografía, cosa que tal vez si hubiéramos realizado con una OCT Visante podríamos haberla evaluado tal y como refiere Schwarz et al<sup>98</sup>.

Según la publicación de Khokar et al<sup>254</sup>, la epitelización es más pronunciada a partir de la semana del tratamiento con membrana amniótica. No obstante, no está tan reportado en los pacientes con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) o SMA.

### -NEOVASCULARIZACIÓN

La neovascularización corneal desempeña papeles fundamentales en la resolución de las infecciones y en la curación de heridas. Se ha observado que las diversas causas pueden determinar un grado de neovascularización u otra, Faraj et al comenta que las infecciones por *Acanthamoeba spp* produce menos neovascularización que las producidas por la familia *herpeae*<sup>270</sup>. Este parámetro no lo hemos analizado al presentarse múltiples combinaciones de las causas de QN con un volumen reducido de pacientes.

Frecuentemente se produce una pérdida de visión por la cicatriz u opacificación, la queratopatía lipídica o por la persistencia de la inflamación<sup>217</sup>. Los pacientes con QN son más propensos a desarrollar neovascularización corneal<sup>271</sup>.

Shao et al<sup>195</sup>, refiere que la MA juega un papel fundamental para la supresión de la neovascularización y según Jiang et al<sup>272</sup> y Kobayashi et al<sup>273</sup> el extracto de membrana también inhibe el crecimiento de neovasos, debido a la existencia de factores antiangiogénicos, aunque se necesitan más estudios para determinar si regresa la neovascularización.

De lo publicado hasta el momento sobre RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), no existen estudios específicos que evalúen esta variable a nivel corneal, no obstante estudios de la familia RTGA a nivel celular comentan que podría estimular la neoangiogénesis<sup>174</sup> (Fig 49).



Fig 49: Neovascularización hacia el DEP

Aunque la diferencia no es significativa, en la mayoría de los pacientes que recibieron un TMA no aumentaba la neovascularización a diferencia de los otros grupos donde este porcentaje se producía en el 55%. La MA tiene propiedades antiangiogénicas demostradas y nuestro grupo publicó la presencia de factores antiangiogénicos en el SMA<sup>227</sup>. Hay que destacar por tanto que es la MA trasplantada como un injerto sobre la superficie ocular la que parece tener más efecto inhibitor de la NVC que la MA en colirio, aunque estas diferencias podrían deberse a la concentración de factores de crecimiento que varían según la forma de aplicación de la MA.

#### **-TRANSPARENCIA**

La transparencia es una de las características más importantes de la córnea, ya que cualquier disminución en ésta limitará el paso de la luz y por lo tanto la AV.

Hasta ahora, el nivel de transparencia corneal se ha evaluado mediante hallazgos de biomicroscopía como nosotros hemos realizado. Empero cada día más se está utilizando la microscopía confocal, la OCT o el HRT.

En el TMA como hemos comentado existe una pérdida de transparencia transitoria hasta que se produce la reabsorción del injerto. Nuestros resultados no mostraron cambios en las transparencias con las otras opciones: SMA y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>).

La cicatrización del estroma en forma de leucoma es la causa más importante de disminución de la visión, produciendo un astigmatismo irregular y una pérdida de transparencia, esta última se relaciona con el número de células positivas para  $\alpha$ -actina, marcador de miofibroblastos<sup>140</sup>. La MA tiene efectos anticicatriciales demostrados, que parecen explicarse por la modificación de la expresión de las proteínas y receptores de la familia del factor de crecimiento transformador (TGF). De esta forma, modifica el comportamiento proliferativo y migratorio de los fibroblastos<sup>127</sup>. En nuestro estudio sin embargo, no encontramos diferencias en la opacidad corneal residual entre los 3 grupos de tratamiento.

La AV inicial de los pacientes de nuestro estudio era baja y la transparencia está inversamente relacionada de forma significativa con ella. En estudios donde se estudia este parámetro como el de Khokhar et al, también demuestran la relación con AV bajas<sup>254</sup>.

### **-REAPERTURA**

Nuestras series mostraron una tasa de reapertura del 23%, en la literatura se describen series con recurrencia de hasta en el 51.8% de los casos analizados<sup>265</sup>. Hay que destacar que de los tres grupos de tratamiento, la tasa de reapertura fue significativamente mayor en los pacientes con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>). Esto no puede ser explicado por las características de los pacientes o de la úlcera, porque a excepción del antecedente de queratoplastia penetrante, ausente en pacientes con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) y que además influiría en un peor pronóstico en los otros grupos, los demás factores eran comparables. El mecanismo de acción de los regeneradores de matriz y de los tratamientos con MA, son claramente diferentes. Puede que su eficacia a largo plazo en la estabilización corneal de estos pacientes se agote al suspender el tratamiento y ante situaciones de neurotrofia corneal crónica se podría mantener una mínima dosis profiláctica. Aunque la batalla parece que la ganamos, no ganamos siempre la guerra.

### **-NUEVOS EPISODIOS.**

La presencia de recurrencia de los DEP después del TMA en queratoplastias es de 16+/-13 meses y se puede producir en más de un 40% según publicaciones<sup>250</sup>. En nuestro caso la presencia de nuevos casos es menor, entorno al 28% de los casos con SMA y TMA, y algo más en RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), sin ser significativa la diferencia.

En revisiones del uso de MA, no observan diferencias significativas en la aplicación de 1 o 2 capas de membrana, ni en las diferentes técnicas usadas en las recurrencias<sup>265</sup>. Nosotros tampoco hemos observado relación aparente con la probabilidad de recurrencias.

Si hemos encontrado relación entre la existencia de más de 3 causas de neurotrofia y la aparición de nuevos episodios. Parece lógico que si la suma de las causas, sobre todo las crónicas, no se solucionan, el substrato aunque haya mejorado puede volver a dar problemas. Estos tratamientos no actúan directamente en la causa, sino que aportan un mejor ambiente para la curación del DEP.

**-TOLERANCIA**

En lo que a tolerancia se refiere todas las opciones han sido muy buena. Hasta la fecha, la mayoría de los datos publicados refieren lo mismo<sup>173</sup>. Otras opciones como el PRGF tiene también una tolerancia por encima del 95%, donde solo refieren rojez y leve quemazón<sup>141</sup>.

**-EFECTOS SECUNDARIOS: LOCALES Y SISTÉMICOS**

En ningún caso se han observado efectos secundarios sistémicos relacionados con los productos de estudio.

Aunque a nivel local en ningún caso hemos podido demostrar la asociación directa del producto con estos hechos, por lo que podría considerarse simplemente un hallazgo casual, si bien en el caso particular del “melting”, éste se mejoro con la suspensión de RTGA (Cacicol<sup>®</sup>).

A continuación reflexionamos sobre los efectos locales de las diversas opciones terapéuticas.

**SMA**

En nuestro caso como en la literatura, no se ha observado efectos locales ni sistémicos. Este producto aún está en fase de estudio, no está comercializado. El tiempo dirá si sale al mercado, los efectos secundarios y complicaciones que producirá.

**TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA.**

Las complicaciones más descritas en la literatura son la dislocación del injerto, el granuloma piogénico, el microhipema iatrogénico, el hematoma y la infección microbiana cuando se usa membrana fresca<sup>274</sup>.

En nuestra experiencia, el hiposfagma o el hematoma conjuntival no fueron descritos en la historia clínica ya que no se consideró como una complicación sino que, es un evento esperable en este tipo de cirugía.

## DISCUSIÓN

La necesidad de un nuevo TMA vino marcado por:

- **TIEMPO MEDIO DE REABSORCIÓN:** Aunque las características de la membrana vienen determinadas por el donante, siendo ésta una variable no controlable que puede ocasionar un sesgo, se ha publicado que el tiempo medio de reabsorción en procesos inflamados en algunas series es de 21+/- 3 días o de tres a cinco semanas<sup>275</sup>. En nuestro caso el tiempo medio es similar al publicado. Llama la atención sin embargo, la gran variabilidad de 4 a 157 días.

En nuestro caso la existencia de antecedentes herpéticos tiene menor tiempo de reabsorción en comparación con las otras causas de neutrofia, por lo que deberíamos prestar atención a la hora de espaciar las fechas de las posibles revisiones, con el fin de no encontrarnos sorpresas desagradables. La MA es especialmente eficaz en QN post-herpética. Khokhar et al<sup>254</sup>, comparó pacientes con QN herpética y no herpética, observando que los TMA consiguen la resolución de la QN mejor que la tarsorrafia y lente de contacto en la población herpética, siendo ambos tratamientos similares en los pacientes no herpéticos. La infiltración por polimorfonucleares neutrófilos es prominente en queratitis herpética y aunque los PMN eliminan el VHS, también provocan destrucción estromal y opacidad corneal. LA MA, en trasplante sobre la úlcera corneal, pero también el extracto soluble de MA<sup>276</sup> inhiben esta actividad inflamatoria. El ritmo de reabsorción de la MA se ha relacionado con la inflamación, lo que podría explicar la rapidez de la reabsorción apreciada en los pacientes con antecedentes de queratitis herpética de nuestra muestra.

- **REINTERVENCIÓN:** La reintervención puede ser considerada en los pacientes con desplazamiento o pérdida del injerto de MA o bien en los casos que el tejido se ha reabsorbido antes del cierre completo de la úlcera<sup>185</sup>. En nuestra serie no ha sido valorado el número de reintervenciones.

## RTGA (Cacicol<sup>®</sup>)

Es un producto novedoso y tenemos la obligación de realizar farmacovigilancia para detectar efectos adversos no previstos en las etapas previas.

Se describen dos posibles complicaciones derivadas de él.

- Aumento del melting o lisis corneal: Complicación o falta de respuesta, esa es la cuestión; sin embargo es llamativo la evolución tan tórpida del paciente tratado con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>), que presentó un adelgazamiento progresivo desde las primeras instilaciones del agente regenerante, por lo que decidimos señalar este hecho como complicación y no como falta de respuesta. No hay que olvidar, que un aumento de la instilación (sobredosificación) puede producir efectos paradójicos.
- Hifema y queratoconjuntivitis folicular: Se trataba de un paciente con antecedentes herpéticos y neovascularización corneal. En Japón, la queratoconjuntivitis folicular por herpes representa el 4.3% de todas ellas, por lo que la complicación pudiera deberse a la patología basal<sup>277</sup>. Sin embargo en estudios con ratas, se ha observado que la familia RTGA a dosis de 60 mg/kg tiene efectos anticoagulantes al modificar los tiempos de trombina, protrombina y la activación parcial de la tromboplasmina, también puede disminuir los niveles de glucosa. Puede estimular la proliferación endotelial y favorecer la neoangiogénesis. Por lo que consideramos este hecho como posible y no probable efecto adverso<sup>180,175</sup>.

### -COMPLICACIONES

La existencia de complicaciones a largo plazo puede no estar causada por el fármaco a estudio, sino por la propia patología.

Las complicaciones pueden relacionarse con variaciones en los cambios anatómicos producidos durante la intervención o bien con la repercusión que éstos tienen en la fisiología corneal. Por estar todos directamente relacionados con las QN, se han analizado las tres complicaciones que se presentan con mayor frecuencia en nuestra serie: la necesidad de queratoplastias y la infección o absceso corneal.

## DISCUSIÓN

La pérdida de transparencia y por lo tanto de AV ha sido la causa más frecuente de necesidad de queratoplastia. La queratoplastia en estos casos puede ocasionar complicaciones secundarias y no tenemos que olvidar que como refiere Williams KA et al<sup>278</sup>, la probabilidad de supervivencia es de 55 % a 15 años resultados obtenidos en más de 10.000 queratoplastias de espesor completo. Además los DEP pueden recurrir en las queratoplastias en pacientes con daño en la inervación corneal.

Como hemos señalado con anterioridad, la reepitelización no va a la par con la restauración de la sensibilidad corneal. La superficie corneal no responderá de igual forma contra agentes tóxicos o nocivos, siendo susceptible a infecciones. Se observa que la flora bacteriana no difiere de las aisladas por otras causas. En una reciente publicación de Dua et al aconsejan que ante la sospecha de infección en QN tratar con Azitromicina 1 gramo cada 24 horas durante 3 días<sup>47</sup>, evitando así la toxicidad de aminoglicosidos y quinolonas<sup>268</sup>.

La tasa de infección ha sido superior en el grupo RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) (24% respecto al 9% en los otros dos grupos), destacar que no existen estudios comparativos con las diversas opciones pero tal vez se deba al hecho de no aportar factores de crecimiento, tampoco se ha demostrado efectos bactericidas como si lo ha hecho la membrana amniótica<sup>206-213</sup>.

La temida perforación puede ocurrir en poco tiempo, aún con todos los medios puestos. En nuestro estudio aproximadamente el 8% de los grupos RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) y TMA sufrió una perforación. Cabe remarcar que cerca del 60% de estos pacientes tenían antecedentes de enfermedad herpética.

Por otra parte en la gráfica de supervivencia y tiempo de complicación se observa que la línea de RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) y MA son más similares que las atribuidas a SMA, pero esta observación se debe a que el número de pacientes con SMA ha sido menor y por lo tanto la distribución es más escalonada.

### 7-2-3 TRATAMIENTOS

La medicina basada en la evidencia clínica, es a día de hoy, el criterio seguido por muchos especialistas en medicina cuando no existen ensayos clínicos para demostrar la eficiencia de un fármaco. Sin embargo tenemos que evaluar siempre los efectos beneficiosos y contradictorios de las opciones que tengamos disponibles antes de actuar.

Remarcar, que con estudios descriptivos como el nuestro, las afirmaciones tajantes sobre la superioridad de las diferentes opciones no pueden ser dadas. Sin embargo si podemos valorar hallazgos positivos y negativos de los resultados obtenidos. A continuación evaluamos estos aspectos de las tres opciones estudiadas.

## SMA

### ASPECTOS BENEFICIOSOS

1. Guo et al<sup>266</sup> refiere que el homogenizado de MA y el trasplante de MA tienen eficacia similar para el cierre de los defectos epiteliales corneales. A través de los datos obtenidos, los resultados del SMA pudieran ser comparable con las otras dos alternativas estudiadas.
2. Esta nueva arma terapéutica posee ventajas importantes: es una suspensión fácil de realizar por los diferentes bancos de tejidos, microbiológicamente segura, potencialmente utilizable durante largos periodos de tiempo al estar liofilizada y se puede utilizar para diversas patologías oculares.
3. El suero de MA puede ser el tratamiento de elección en los casos donde exista contraindicaciones para someter a un paciente a cirugía, como los ingresados en UCI, en grandes quemados o en pacientes en los que el injerto estuviera contraindicado<sup>2</sup>. El SMA se podría utilizar en niños evitándoles así someterse a una intervención quirúrgica que requiera anestesia general<sup>146</sup>.

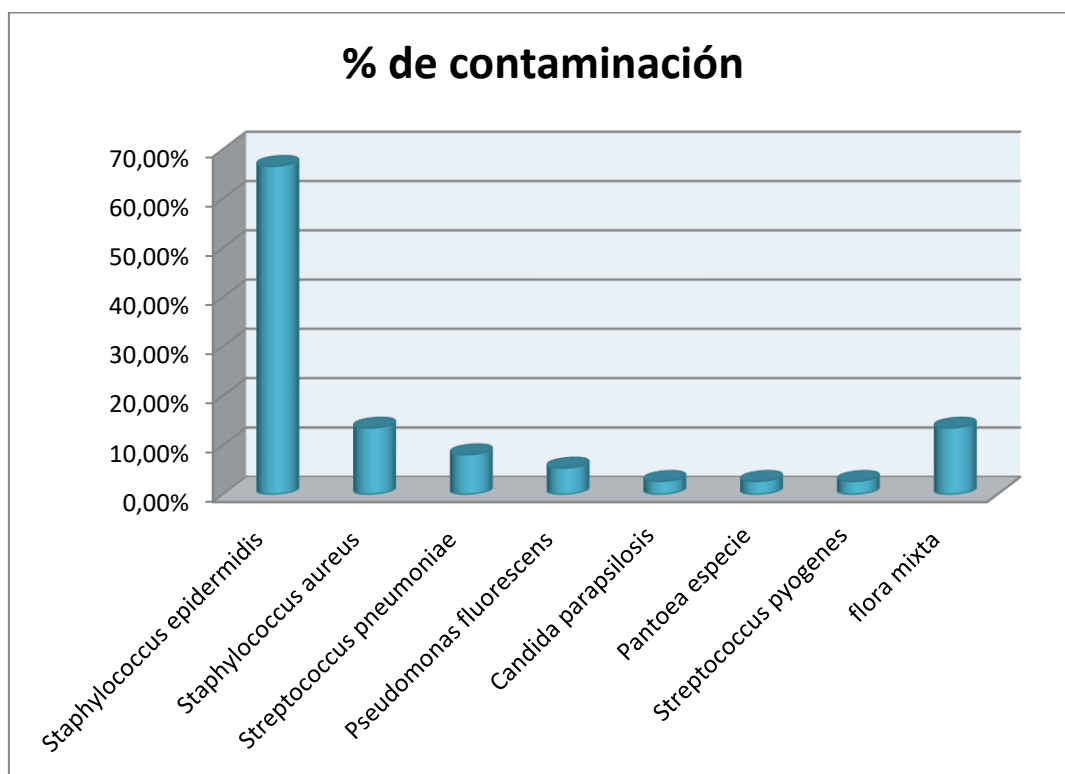
Jin A Choi<sup>281</sup>, refiere que con el SMA en comparación al CSA en lesiones por álcalis, la epitelización es más rápida reduciendo también la opacificación, la neovascularización y la presencia de polimorfonucleares. En nuestra serie, el tiempo de epitelización fue sin embargo semejante entre los 3 grupos.

4. La transparencia corneal no se ve influenciada por el producto como sucedería con el injerto de MA y por lo tanto no habría pérdida transitoria de la visión. Una ventaja a tener en cuenta en paciente cuyo ojo adelfo tenga agudeza visual reducida.



### ASPECTOS EN CONTRA

1. Las concentraciones de SMA no están estandarizadas. Hay disparidad de estudios donde comentan que aumentos de concentraciones de SMA, elevan la migración, proliferación y actividad celular, pero otros refieren lo contrario. No por más concentración hace más efecto<sup>189-281</sup>.
2. La fabricación del SMA tampoco está protocolizada, los diferentes métodos de preparación pueden ocasionar variaciones en las concentraciones de factores de crecimiento y con ellos de efecto, por ejemplo se ha observado que realizando tres centrifugaciones de la MA seca duplica las concentraciones de factores de crecimiento<sup>282</sup>.
3. En las publicaciones tienen diferentes nomenclaturas para un mismo producto: Extracto de MA, suspensión de MA o serum de MA (*Tabla 21*).
4. Vale la pena señalar, que los estudios previos realizados con SMA no especifican el tipo de envase usado en su almacenamiento. Por ejemplo no especifican si el envase dosificador es transparente o no, con el fin de proteger de la degradación fotolumínica. O si es monodosis o multidosis (*Tabla 21*).
5. La contaminación de los colirios biológicos no es despreciable, si bien no suele trascender clínicamente y podría acontecer en el SMA una vez reconstruido. Estudios CSA del que si hay estudios como el de Lagnado et al<sup>283</sup>, encuentran contaminación en 13 de las 134 muestras estudiadas (8,8%), de las que el 84,6% se contaminaron con *S. epidermidis* y otros tres casos se contaminaron por *S. aureus*, *S. viridans* y por micrococcos coagulasa negativos. La mala manipulación y/o el tiempo de utilización de los envases, son los principales factores implicados en la contaminación microbiológica de las muestras<sup>284</sup> (*Fig 50*).

Fig 50: Gérmenes más comunes causantes de sobreinfección del SA <sup>284</sup>

En la tabla 21 se observa la comparativa de la preparación en los diferentes estudios

Por otra parte, no existen estudios sobre el riesgo de contaminación de los colirios de SMA, pero si de CSA, donde comentan la formulación con antibióticos como cloranfenicol al 0,5% para prevenir este hecho<sup>285-286</sup>. Sin embargo, otros como Nakamura et al., afirman que el uso de antibióticos reduce los efectos del suero autólogo sobre el epitelio corneal. En nuestro caso no hemos usado antibiótico en la preparación del SMA<sup>287-288</sup>. Los colirios fueron preparados en condiciones de esterilidad y filtrados para evitar cualquier contaminación durante el proceso de la liofilización<sup>227</sup>.

AUTORES	NOMENCLATURA	DISOLVENTE	CONSERVACIÓN	CONCENTRACIÓN	ESTABILIDAD	TIPO DE ENVASE
Quinto et al <sup>136</sup>	Sérum		-20°C	100%		
Wichayacoop et al <sup>176</sup>	Supernadante	Tripsina	4º			
Kordic et al	Extracto de membrana		Liofilizado			

## DISCUSIÓN

Jiang et al <sup>216</sup>	Extracto	Solución salina con antibiótico		50 ng/ml 100ng/ml 200ng/ml		
Deng-Bryant et al <sup>186</sup>	Suspensión					
Liang et al <sup>219</sup>	Extracto					
Kang et al <sup>289</sup>	Extracto		Liofilizado	1.7 µg/ml		
Tauzin et al <sup>288</sup>	Extracto	PBS	-20°C	10 µg/ml	MTT test	
Bonci P et al <sup>226</sup>	Suspensión	BSS con antibiótico	-20°C	2cmm <sup>2</sup> MA/5cc BSS		
Jin A. Choi et al <sup>280</sup>	Suspensión	PBS	4 °C	30%		Botes
Jin A. Choi et al	Suspensión	Dulcebecco's Modified Eagle Medium	Liofilizado	10%, 15% 30%	Si	
Shahriari H et al <sup>281</sup>	Suspensión	Suero salino	4 °C	50%		Botes
Dudok D et al <sup>290</sup>	Extracto			0.01% 0.05%, 0.1% 0.5% 1% 5%		
Stachon et al <sup>292</sup>	Homogenizado y suspensión			15% y 30% en suspensión  15%y 30% homogenizado		
Boto de los bueis et al <sup>227</sup>	Homogenizado y suspensión	Solución 1: 1 de medio de Eagle modificado por Dulbecco: glicerol (Gibco® DMEM, EE. UU.)	4 °C	20 y 30 %	Sí	Contenedor estéril
Baradaran-Rafii et al <sup>293</sup>	Extracto	Solución 1: 2 de medio de agua destila-		0.5mg/ml		

		da				
Laranjeira et al <sup>294</sup>	Extracto	PBS		3.7+/-0.2 mg/ml		
Mukesh et al <sup>295</sup>	Extracto	Solución 1: 1 de medio de PBS	-80 °C	5 µl/25		
Ming-Feng Wu et al <sup>296</sup>	Suspensión	5 ml dulbecos modificated Eagle's Medium con 5%FBS	Incubación a 37°	Supernadante		
Hua H.et al <sup>297</sup>	Extracto	FBS	-80°C	50%		Alícuotas de 0.5ml/1.0ml

Tabla 21: Esquema de los artículos más relevantes sobre la preparación del SMA.

- En la actualidad tenemos que tener en cuenta, que la Unión Europea tiene regulaciones muy estrictas sobre de la trasmisión de enfermedades por injertos o sangre, por ejemplo en Alemania solo se puede realizar determinados colirios en bancos de sangre certificados<sup>137</sup>. Además no todos los centros pueden disponer de ella debido a que en muchos países se requiere una autorización para su uso<sup>126,134,212</sup>.
- No existen ensayos clínicos comparándolo con las otras alternativas y los artículos publicados, bien el número de participantes es pequeño o están realizados con animales. La tabla 22 se esquematiza los artículos más relevantes de SMA.

## COMPARATIVA DE DATOS ANALIZADOS

AUTORES	QUE ANALIZAN	TIPO MUESTRA	DOSIS	NÚMERO DE LA MUESTRA	CONCLUSIONES
Quinto et al <sup>136</sup>	Fluoresceína, producción de lágrima, Túnel test, densidad de las células glovet	Ratas	4 veces/día /4 semanas	30	Es más eficaz que el suero autólogo
Bonci P et al <sup>226</sup>	Inflamación corneal, DEP y transparencia	Humanos	2 gotas 6 veces al día	19	Evidencia reducción y mejora del DEP, aumenta la transparencia y disminuye las células CK19+

## DISCUSIÓN

Baradaran-Rafii et al <sup>294</sup>	Rol del extracto de membrana en el cultivo de las células limbares	Humanos	0.5 mg/ml /3h/3 días y después cada 6h hasta epitelizar	14 casos 6 control	El extracto de membrana puede ser útil para el cultivo de células limbares
Wichayacoop et al <sup>276</sup>	Características biomicroscópicas, concentración de IL $\beta$ y óxido nitroso.	Perros	4 veces/día	25	Disminuye la inflamación, la neovascularización y disminuye el óxido nitroso y el IL1 $\beta$
Kordic et al <sup>298</sup>	Defectos epiteliales persistentes y su evolución	Humanos	2 veces	2	Disminución del defecto epitelial
Jiang et al <sup>216</sup>	Neovascularización	Ratas	4 veces/día	40	La neovascularización se inhibe
Liang et al <sup>219</sup>	Inflamación reepitelización en quemaduras	Humanos	1h/4seanas y después 2h/2semanas	14	Mejora la inflamación y la reepitelización en quemaduras corneales
Jin A Choi et al	Comparan la neovascularización la opacificación y la histología corneal el SMA con SA y control en ratas con quemaduras por álcalis	Ratas	4 veces/día	30	Neovascularización, o opacificación y las células inflamatorias se reducen
Jin A Choi et al <sup>280</sup>	Rol biomecánico del SMA en el epitelio corneal	Células	2ml por 1x10 <sup>5</sup> células		Aumenta la migración celular
Shahriari H et al <sup>281</sup>	Comparación de SMA y SA	Conejos	1 gota/4 veces al día	30	SMA tiene un éxito antes
Dudok D et al <sup>291</sup>	Efecto del SMA en las células corneales epiteliales y células limbares humanas	Células	Diferentes concentraciones durante diferente tiempo		Aumento de la viabilidad y proliferación celular
Ming-Feng Wu et al <sup>297</sup>	Efecto de la suspensión y la homogenización de la MA en el epitelio corneal humano	Células	Diferentes concentraciones		Concentración del 15%-30% de suspensión mejora la epitelización.
Laranjeira et al <sup>295</sup>	Efectos antiinflamatorios del extracto de membrana	Células	3.7-/ +0.2 mg/ml		Sugieren efectos antiinflamatorios sobre las células T
Mukesh et al <sup>296</sup>	Efecto antimicrobiano y antiobiofilm del extracto de membrana en el <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Células	Diferentes concentraciones		Puede usarse como Inhibidor del crecimiento del <i>Streptococcus pneumoniae</i> .

SUERO DE MEMBRANA AMNIOTICA UTILIZADA EN OTRAS ESPECIALIDADES					
Deng-Bryant et al <sup>186</sup>	Funciones neuronales	Células neuronales de ratas	Infusión de MA	Indeterminado	Efectos neuroprotectoras
Kang et al <sup>290</sup>	Función de la cicatrización	Células epidermales y dermales	Inyecciones intradermales	Indeterminado	Promueve la regeneración epidermal y dermal y disminuye la hiperproliferación
Tauzin et al <sup>289</sup>	Fibrosis de úlceras recalcitrante de las piernas	Fibroblastos procedentes de úlceras recalcitrante en las piernas	Medio de cultivo	Indeterminado	Efectos beneficiosos en la modulación de los queratinocitos de las úlceras recalcitrantes

Tabla 22: Esquema de los artículos más relevantes de SMA.

## MA

Los trasplantes de membrana amniótica se utilizan para tratar enfermedades de la superficie ocular. Las causas han variado y han aumentado con el paso de los años. En la revisión realizada en el Biratnagar Eye Hospital, la causa más frecuente de su uso es la cirugía de pterigium, el simblefaron y las úlceras producidas por químicos<sup>202</sup>.

El tratamiento de referencia durante las últimas décadas en las QN graves ha sido el trasplante de membrana amniótica. Esta prolonga la supervivencia y la capacidad de clonación de las células progenitoras epiteliales, promueve la diferenciación de las células epiteliales no caliciformes, promueve la diferenciación de las células epiteliales caliciformes en presencia de fibroblastos conjuntivales, excluye células inflamatorias con propiedades antiproteasas, suprime el sistema de señalización mediante TGF- $\beta$  y la diferenciación miofibroblástica de los fibroblastos normales<sup>203</sup>. Pero también tiene efectos secundarios.

Por otra parte, múltiples capas de membrana amniótica pueden integrarse en el estroma corneal con el consiguiente aumento del grosor corneal<sup>204</sup>. En nuestro caso más del 64% se realizó una cirugía multicapa.

### ASPECTOS BENEFICIOSOS:

1. La MA tiene acciones de estimulación y clonación de los progenitores epiteliales, de promover la diferenciación de las células califormes y de los mioblastos en fibroblastos y la capacidad de excluir las de células inflamatorias, por lo que los pacientes refieren mejoría del dolor en las erosiones corneales recurrentes<sup>22,275,300</sup>. Esta variable no ha sido considerada en nuestro estudio, porque las QN característicamente no ocasionan dolor.
2. El uso del amnios como medicamento proviene de la medicina china tradicional y su uso en la medicina moderna data de más de 100 años, en comparación con las otras dos opciones que se consideran novedosas. Sin embargo se observa que su uso en España ha crecido considerablemente en los últimos años, siendo la comunidad de Madrid y Cataluña donde más se emplea.
3. La efectividad del uso de la MA en úlceras corneales fue ya descrita por Lee&Tseng en 1997<sup>127</sup>. En estudios publicados sugieren mejorar la epitelización de casi el 30% en comparación con los tratamientos convencionales<sup>241</sup>. En nuestro estudio el 73 % de las QN cierran con TMA; un porcentaje semejante al alcanzado con SMA y RTGA (Cacicol<sup>®</sup>). La principal ventaja que hemos encontrado respecto a estos tratamientos es la mejoría en el espesor corneal. La MA aplicada como injerto recupera el grosor de las córneas muy adelgazadas: modifica la proliferación y migración de queratocitos vecinos sintetizando estroma de novo<sup>301</sup>. En este sentido, posiblemente la MA en forma de injerto, continúe siendo el procedimiento de elección en córneas muy adelgazadas.
4. Una de las características más comunes de la gran mayoría de trabajos consultados, entre ellos el trabajo de Tseng et al<sup>204</sup>, es la coincidencia en destacar la menor vascularización de la córnea en comparación con los ojos no sometidos a TMA. Existen pocos tejidos en la naturaleza que mantenga su avascularidad y tenga capacidad antiangiogénicas en contacto directo con otro tejido tan vascularizado como el corion<sup>215</sup>. Este hecho podría ser determinante, dado que podría reducir los tejidos de granulación vascularizados y las cicatrices en el postoperatorio. En comparación con las otras dos opciones, no aumenta tanto la neovascularización.
5. Respecto al gasto sanitario, remarcar que tal y como se observa en la gráfica número 2 un mismo donante puede aportar múltiples fragmentos para múltiples pacientes, aportando tiempo cuando el suministro de córnea es limitado y permite que la QP se realice en un período de tranquilidad al haberse suprimido la inflamación.

**ASPECTOS EN CONTRA:**

1. Requiere pasar por quirófano con la incapacidad temporal que ello conlleva.
2. Se puede producir degradación prematura de la membrana en el llamado “cheese wiring” y requerir reintervenciones<sup>184</sup>.
3. Existe una pérdida de visión transitoria y ocasionalmente pueden persistir residuos subepiteliales que pueden ocasionar opacidad del eje visual permanente<sup>135</sup>. Ijiri et al<sup>107</sup>, relacionan la AV y la visión de color con el grosor de la MA, en nuestro caso más del 60% de los pacientes han requerido multicapa que podrían ir acorde a la pérdida de transparencia si la MA se integra bajo el epitelio y perdura en el tiempo (Fig 51).
4. Se utilizan suturas para posicionar y mantener la MA a nivel corneal que pueden afectar a la tolerancia<sup>107</sup>.
5. Se ha observado una incidencia del 1,6%-8,0% de infecciones por Gram positivos del injerto. Aparte la membrana amniótica puede tener presencia de contaminantes virales y priones<sup>134</sup>.
6. El TMA no debe ser usado como sustrato de la epitelización en patologías con déficit total de células madre epiteliales limbares y tiene que ser asociado a injerto de células madre. Tampoco es eficaz en déficit severo de lágrima, alteraciones dinámicas palpebrales, problemas neurotróficos muy importantes o en tejidos necróticos o isquémicos<sup>185</sup>.



Fig 51: QN tratada con TMA

**RTGA (Cacicol<sup>®</sup>)****ASPECTOS BENEFICIOSOS**

1. El acceso al fármaco es fácil, puesto que se encuentra comercializado y no requiere intervención quirúrgica. Este es el primer estudio que compara el RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) con las otras opciones terapéuticas para esta patología.
2. Presentación en monodosis y se conserva a temperatura ambiente (entre 4°C a 25°C), cosa que el SMA reconstituido requiere refrigeración para su conservación.
3. El éxito en nuestro estudio es comparable con las otras alternativas, aproximadamente el 70%. Los primeros estudios refieren el mismo porcentaje que en nuestro estudio, pero Arvola reseña una tasa muy por debajo con un simple 33%<sup>112</sup> (Tabla 23).



## DISCUSIÓN

AUTORES	QUE ANALIZAN	DOSIS	NÚMERO DE LA MUESTRA	CONCLUSIONES
Arvola et al <sup>302</sup>	Úlceras neurotróficas severas	1 gota /24h	6 ojos	33% epitelización completa, 1 paciente se perforo
Kymionis et al <sup>108</sup>	Úlcera corneal tras crooslinking	1 gota /24h	36 ojos	Al día 3 postoperatorio, el 61,1% de los ojos se reepitelizaron en comparación con el 11,1% de los ojos control (P = 0,002). Al día 4 postoperatorio, el 100% (18/18) de los ojos del grupo de estudio se repitelizó. Fueron totalmente reepitelizadas, frente al 77,8% (14/18) de los ojos del grupo de control. Pero no hubo diferencia estadísticamente significativa
Mateo et al <sup>304</sup>	Úlcera tras <i>Acanthamoeba spp</i>	1 gota /48h 8 semanas	1 ojo	El defecto corneal fue totalmente reparado en 3 semanas. El tratamiento fue bien tolerado y no hubo efectos secundarios sistémicos
Aslanides et al <sup>305</sup>	Defecto epitelial tras ablación con laser		40 ojos	El área del defecto epitelial fue menor en el día 1 postoperatorio para los ojos tratados con RTGA pero fue mayor que el grupo no tratado en el día 2 La diferencia no fue estadísticamente significativa Todos los defectos epiteliales cerraron a las 72 h. Al 1 mes, el grupo RTGA tenía una AV media de 0,037 y el grupo no-RTGA había una VA logMAR media de 0,02. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos (P = 0,29).
Renault et al <sup>308</sup>	Inflamación de la superficie ocular con ulcera severas	1 gota /24h por 4 semanas	5 ojos	En 7 días se observó una disminución en el dolor VAS escala. Y al 15 día todos los casos se reepitelizaron
Kymionis et al <sup>306</sup>	Defectos epiteliales persistentes	1 gota /24h+ LT	3 ojos	Los defectos epiteliales persistentes curaron en todos los pacientes en 4-21 d y sin efectos secundarios
Hugny et al <sup>307</sup>	Úlceras corneales crónicas	1 gota /48-72h	20 ojos	La cicatrización completa se observó en 13 pacientes, con una tasa de curación del 65%. Sin embargo 6 pacientes (30%) no hubo mejoría y 1(5%) mejoría sin curación.
Cochener et al <sup>303</sup>	Úlceras corneales crónicas	1 gota /48-72h	20 ojos	La cicatrización completa se observó en 12 pacientes con una tasa de curación del 69%. Por otra parte en 3 pacientes no se observó mejoría y en 1 mejoría sin curación completa
Aifa et al <sup>188</sup>	Úlceras neurotróficas graves	1 gota /48h	11 ojos	Ocho pacientes presentaron curación completa de la córnea, después de un período medio de 8,7 semanas (Intervalo, 1-22 semanas). Se observó un fracaso del tratamiento en 3 casos,

				requiriendo tratamiento con MA en 2 pacientes y QP en 1 paciente. No hubo problemas sistémicos ni locales.
Chappelet et al <sup>309</sup>	Úlcera corneal tras queratitis bacterianas severas	1gota/48h la primera semana 1/72h después	14 ojos	Epitelización completa en 3 meses en el 100%
Chebbi et al <sup>310</sup>	Distrofia corneal o úlceras dolorosas	1 gota /7 días	11 ojos	Cuatro casos curaron durante el protocolo. Pero 2 casos se reabrieron.
Guerra et al <sup>116</sup>	Úlcera neurotrófica grado 2 postquirúrgico	4 veces a la semana	25 ojos	Tiempo de epitelización de 28.76+/-3.21.días. En el segundo mes se cerraron todas pero 2 casos recurrieron
Julienne et al <sup>311</sup>	Defectos epitelial tras queratoplastia	1 gota después del trasplante y después 1g/48h	33 ojos	Todas las córneas se cicatrizaron después de una media 2,7 días con una mediana 3 y un rango, 1-6. No hubo efectos secundarios sistémicos ni locales.
Fankuchen et al <sup>181</sup>	Queratitis severa ulcerativa resistente al tratamiento convencional en pacientes con síndrome de Sjögren		3 ojos	Mejora las sensaciones de dolor, irritación, cuerpo extraño.  Mejora la AV.  Puede ser efectivo los regeneradores de matrix en estos casos.

Tabla 23: Estudios más relevantes sobre RTGA (Cacicol<sup>®</sup>)

- No solo se ha empleado para casos de QN sino que también se ha empleado en DEP debido a infecciones causadas por *Acanthamoeba sp* o bacterias y en queratitis por quemaduras<sup>304-305,312</sup> (Fig 52).
- En comparación con las otras dos opciones el gasto sanitario directo es menor.
- En la mayoría de los estudios la dosificación es 1 gota por la mañana en días alternos, la posología es cómoda para el paciente. La dosificación del SMA es mayor.
- Se puede utilizar con lentes de contacto sin dejar depósitos en ellas<sup>105-106</sup>.

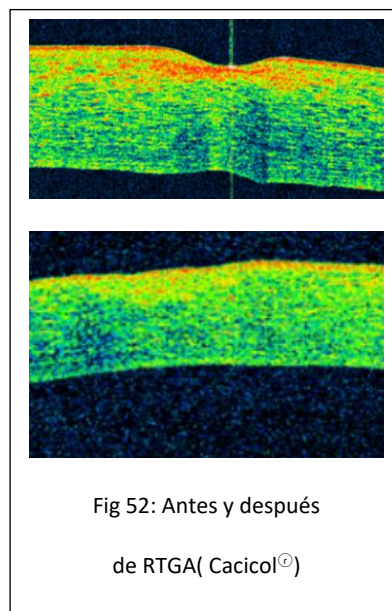


Fig 52: Antes y después de RTGA( Cacicol<sup>®</sup>)

### ASPECTOS EN CONTRA

1. El número de pacientes estudiados en publicaciones previas es reducido y no existen ensayos clínicos que demuestren contundentemente su eficacia.
2. Los resultados de un primer estudio donde se evaluó el efecto de RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) en 11 pacientes con queratitis neurotrófica refractaria, mostraron una curación completa de la córnea en el 73% de los casos<sup>188</sup>. Sin embargo, estos datos no se confirmaron en un segundo estudio donde se describió una curación completa de la córnea de solo el 33% de 6 pacientes después de 6-10 semanas de tratamiento<sup>112</sup>.
3. En los artículos sobre RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) se centran en el éxito del cierre y el tiempo del cierre pero no refieren la evolución de los pacientes a largo plazo, más de 6 meses<sup>304-305</sup>. En esta tesis se observa que el RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) cierra las QN, pero que la tasa de reapertura es significativa y parece haber una tendencia a ser mayor que las otras dos alternativas.
4. El tiempo de cierre en las publicaciones con pacientes con QN es muy variable desde 29 días hasta 22 semanas (*Tabla 23*).
5. Tiene tendencia a la sobreinfección siendo esta complicación estadísticamente significativa en comparación con las otras dos alternativas. La membrana amniótica y los nuevos estudios sobre SMA refieren que ambas tienen efectos antimicrobianos, que pudieran evitar la sobreinfección, hecho que no posee RTGA (Cacicol<sup>®</sup>).
6. Aunque estadísticamente no existe diferencias, parece haber existido una tendencia de haber usado el fármaco en úlceras con mejores características: más pequeñas y con menos neovascularización.
7. Es un tratamiento comercializado pero no financiado al considerarse producto sanitario, lo que ocasiona estar penalizado con un 21% de IVA y venta al público libre. Este hecho ocasiona un gasto elevado para la economía media española.

### OTROS TRATAMIENTO

Se han evaluado tres tratamientos con un 70% de eficacia en cuanto al cierre de QN severas en todos ellos (*Fig 53*). Empero, en la literatura más reciente existe una gran variabilidad de tratamientos a estudio con resultados preliminares, que parecen prometedores como el SP o la coencima Q10, que no han sido testados. Si



Fig 53. MA en una QN

existen y se estudian más alternativas es debido a que tal vez la solución definitiva no la hayamos encontrado aún.

El tratamiento tópico con NGF (Oxervate<sup>®</sup>, laboratorio Dompé, Italia) representa una estrategia prometedora para inducir una recuperación duradera de la función del nervio trigémino. España ha participado en el estudio REPARO, estudio multicéntrico (39 centros), doble ciego, con grupo aleatorizado y grupo control paralelo, de ocho semanas de duración. Se pretendía evaluar la eficacia y la seguridad de dos dosis del factor de crecimiento nervioso humano recombinante (10 microgramos/ml y 20microgramos/ml) en QN Mackie 2 y 3. Los estudios preliminares indican una excelente tolerancia y mejoría de síntomas. Tal vez nos aporte otra herramienta para el arsenal terapéutico.

Por otro lado, otros productos como el colirio de albúmina no tienen suficiente evidencia científica en cuanto a los resultados ni a la estabilidad del colirio para su uso. Y con el PRP hay que tener en cuenta que la actividad de las plaquetas se ve influenciada por algunos fármacos como los antiagregantes, altamente consumible en la población de edad avanzada.

También, se observa que las concentraciones de diversos factores de crecimiento en el SA, PRP y PRGF, no son iguales pero si parecidas, con concentraciones interindividuales muy diferentes que podrían influir en su eficacia (Tabla 24).

Preparados sanguíneos	EGF	FGF	VEGF	HGF	PDGF	Fibronectina
SA	471,9+/-82,6	58,5+/-54,6	160+/-89,9	275,8+/-101,6	17,3+/-3,7	31112+/-6758
PRP	279,8 +/-78,1	57+/-44,4	60,3+/-42,5	84,6+/-63,8	18,2+/- 6,4	30547+/-5104
PRGF	489,1+/- 95,4	58,2+/-41,2	124,+/-79,6	83,7+/-79,4	15,5+/- 4,6	31832+/-3563

Tabla 24: Concentración de los diversos factores de crecimiento en el SA, PRP y PRGF<sup>314</sup>

### 7-2-4-PRECIO

Al menos 15.000 millones de euros fue la cifra de déficit reconocido en el sistema sanitario español en el 2011, por lo que la reducción, si es posible, del gasto sanitario es importante.

Es necesario conocer cuál es el efecto de los medicamentos, cuando se utilizan en el mundo real y se emplean en condiciones en las que el incumplimiento terapéutico es elevado y en regímenes terapéuticos crónicos, donde los pacientes consumirán el medicamento durante largos períodos.

El RTGA (Cacicol<sup>®</sup>) en comparación con el implante de MA es más barato, debido al hecho que no requiere quirófano ni hospitalización. Aún más cuando se requiere una reintervención. Por otra parte, se vaticina que el coste sanitario del Cenergemin<sup>®</sup> será aproximadamente de 20.000 dólares por 8 semanas de tratamiento.

Cabe reseñar que no existen estudios de coste-beneficio de los diferentes tratamientos estudiados para las QN.

En estudios sobre coste-beneficio del TMA para úlceras venosas de extremidades inferiores refractarias a tratamiento convencional, el precio medio por paciente, con un seguimiento de tres meses y en comparación con tres alternativas terapéuticas fue de 5.767 € con aloinjerto artificial, de 1.825 € con membrana amniótica y 1.053 € con el autoinjerto<sup>315</sup>, por lo que no supe un coste-beneficio excesivamente mayor al autoinjerto.

A nivel ocular los estudios sobre gasto sanitario se centran en patologías como las conjuntivitis alérgicas. En un estudio realizado en un centro privado sobre la conjuntivitis, el gasto económico de la enfermedad per cápita estiman que es de 384.5 euros<sup>316</sup>. Si se objetiva el salario anual en la comunidad autónoma de Madrid que es de 24.025 euros /año, esta enfermedad representa un 1.6% del capital. Las QN cuyo gasto sanitario no hemos comprobado, pero que dada su cronicidad debe ser superior, pueden suponer por lo tanto un gasto inasumible para algunas familias, un dato a tener en cuenta en la vorágine de la consulta de oftalmología.

Pero si además, consideramos no sólo los costes causados por oftalmología sino los repercutibles al sistema sanitario/hospital directos o indirectos (otras especialistas: neurólogos, endocrinos, reumatólogos...) o al propio paciente: incapacidad laboral, traslados, o gastos asociados a la causa, hay que aumentar el desembolso económico<sup>316</sup>.

En la actualidad, la Organización de Consumidores y Usuarios han descrito diferencias de hasta el 77% de precio de productos no subvencionados entre diversas farmacias, por lo que han surgido páginas web donde comparan los precios de los distintos fármacos, pudiendo llevar a aprovecharse de la ingenuidad y desesperación de este tipo de pacientes, los cuales ansían la recuperación funcional y permanente de la enfermedad.

### 7-3 LIMITACIONES.

A finales del 2013, cuando se comenzó a definir esta investigación, no existían la disparidad de tratamientos y la abundancia de bibliografía como ocurre en la actualidad, donde las publicaciones sobre regeneradores de matriz de colágeno han aumentado de forma exponencial. En este sentido la temporalidad sirvió para reflexionar los estudios llevados a cabo con mayor discriminación e ímpetu y poder revalidar los resultados obtenidos.

Se trata de un estudio descriptivo, donde había pérdidas de información de algunos pacientes. Pero es un estudio de práctica clínica donde las condiciones ideales de un ensayo clínico no son factibles.

Aunque no existen publicaciones con “n” mayores, aun así se considera que la muestra es pequeña para demostrar que los efectos y beneficios no se deban simplemente al azar. Una segunda limitación es la complejidad de la patología, con múltiples factores que puedan afectar su curso. Se deberían hacer estudios multicéntricos y aleatorizados, donde se realice un estudio estadístico multivariante con el fin de saber cuándo es mejor un fármaco y cuando es mejor otro, dentro de la misma patología.

La investigación se desarrolló en un único centro. Debido al ámbito monocéntrico puede suponer alguna limitación en la extrapolación de los resultados a poblaciones con características o manejo diferentes.

Por último, la evaluación de las fotografías aunque se realizó 3 veces para cada una de ellas, las realizó un único observador. Éste pudiera estar cometiendo un sesgo de información.

## 8- CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados de esta tesis, obtenemos las siguientes conclusiones:

- 1- De los tres tratamientos comparados para la QN: SMA, TMA y colirio regenerador de matriz (Cacicol<sup>®</sup>), no existen diferencias respecto a la eficacia del cierre.
- 2- El grado de reapertura fue mayor con el colirio regenerador de matriz, Cacicol<sup>®</sup>.
- 3- En el grupo de TMA, la reabsorción de la membrana ha sido más precoz en los pacientes con antecedentes herpéticos.
- 4- Respecto a las variables que determinan una peor respuesta al tratamiento, el antecedente de queratoplastia y el glaucoma determinan un tiempo de cierre más prolongado.
- 5- La coexistencia de 3 factores predisponentes de neurotrofia conlleva mayor probabilidad de reapertura.
- 6- Las QN se localizan con más frecuencia a nivel central, con su repercusión óptica secundaria.
- 7- La existencia de infección previa se relaciona con QN de estadios más severos.
- 8- La complicación infección corneal fue más frecuente en pacientes tratados con RTGA (Cacicol<sup>®</sup>).
- 9- En cuanto al coste económico, el trasplante de membrana amniótica implica un mayor gasto sanitario global, una pérdida de transparencia y visión que puede acarrear un aumento del gasto no sanitario.

## **BIBLIOGRAFÍA**



## 9-BIBLIOGRAFÍA

1. Wells, J.R., Michelson, M.A. Diagnosing and Treating Neurotrophic Keratopathy. *EyeNet Magazine*. Am J Ophthalmol. 2008. Disponible en:<https://www.aao.org/eyenet/article/diagnosing-treating-neurotrophic-keratopathy?julyaugust-2008>
2. Goins KM. New insights into the diagnosis and treatment of neurotrophic keratopathy. *Ocul Surf*. 2005; 3(2):96–110
3. Garcia-Hirschfeld, J., Lopez-Briones, L.G., Belmonte, C., Neurotrophic influences on corneal epithelial cells. *Exp. Eye Res*. 1994; 59:597–605.
4. Reid, T.W., Murphy, C.J., Iwahashi, C.K., Foster, B.A., Mannis, M.J. Stimulation of epithelial cell growth by the neuropeptide substance P. *J. Cell. Biochem*. 1993; 52: 476–485.
5. Feroze KB, Bhimji SS. Keratitis Neurotrophic. StatPearls .Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; [acceso 2017-2018] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431106/>
6. Dhillon VK , Elalfy MS , Al-Aqaba M , Dua SA . Anaesthetic corneas with intact sub-basal nerve plexus. *Br J Ophthalmol*. 2014; 98 (3): 417-8
7. Müller RT, Abedi F, Cruzat A, Witkin D, Baniasadi N, Cavalcanti BM, Jamali A, Chodosh J, Dana R, Pavan-Langston D, Hamrah P. Degeneration and Regeneration of Subbasal Corneal Nerves after Infectious Keratitis: A Longitudinal In Vivo Confocal Microscopy Study. *Ophthalmology*. 2015; 122: 2200-2209
8. Pavan-Langston D. Diagnosis and management of herpes simplex ocular infection. *Int Ophthalmol Clin*. 1975; 15(4):19-35
9. Lambiase A, Sacchetti M, Mastropasqua A, Bonini S. Corneal changes in neurosurgically induced neurotrophic keratitis. *JAMA Ophthalmol*. 2013 ;131(12):1547-53
10. Van meter WS, Younge BR, Harner SG Ophthalmic manifestations of acoustic neurinoma *Ophthalmology* 1983; 90(8):917-22
11. Misra S , Ahn HN , Craig JP , Pradhan M , Patel DV , McGhee CN . Effect of panretinal photocoagulation on corneal sensation and the corneal subbasal nerve plexus in diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol*. 2013; 254(7):4485-90
12. Banerjee PJ, Chandra A, Sullivan PM, Charteris DG. Neurotrophic corneal ulceration after retinal detachment surgery with retinectomy and endolaser: a case series. *JAMA Ophthalmol*. 2014; 132(6):750-2
13. Tan MH, Bryars J, Moore J. Use of nerve growth factor to treat congenital neurotrophic corneal ulceration. *Cornea*. 2006; 25(3):352-5.
14. Ohana M, Lipsker D, Chaigne D, Speeg-Schatz C, Sauer A. Unilateral ulceration of the cornea secondary to congenital trigeminal nerve agenesis. *Eur J Ophthalmol*. 2015; 25;25(4):e35-7
15. Borbolla Pertierra AM, et al. Manifestaciones oculares y sistémicas del síndrome de Möebius. *An Pediatr*. 2014; 81(5):297-302
16. Dosso A, Rungger-Brändle E, Bilateral perforration in familiar amyloidotic polyneuropathy. *Graefe's Arch Clin Exp Optthalmol*. 2005 243:273-277
17. Lambley RG, Pereyra-Muñoz N, Parulekar M, Mireskandari K, Ali A. Structural and functional outcomes of anaesthetic cornea in children. *Br J Ophthalmol*. 2015; 99(3):418-24
18. Komiya H, Saeki N, Iwadata Y, Sunami K, Yamaura A. Posterior inferior cerebellar artery dissecting aneurysm presenting with Wallenberg's syndrome. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 1988; 28(4):404-8.
19. Rousseaux M, Cassim F, Bayle B, Laureau E. Analysis of the perception of and reactivity to pain and heat in patients with Wallenberg syndrome and severe spinothalamic tract dysfunction. *Stroke*. 1999; 30(10):2223-9.
20. Hippias WM, Wilhelmus KR. Persistent visual loss from neurotrophic corneal ulceration after dorsolateral medullary infarction (Wallenberg syndrome). *J Neuroophthalmol*. 2004; 24(4):345-6.
21. Carrot E, Ardouin M. Neuro-paralytic keratitis during the evolution of Wallenberg's syndrome". *Rev Otoneuroophthalmol*. 1950; 22(7):579-82.
22. Messmer EM, Schmid-Tannwald C, Zapp D, Kampik .In vivo confocal microscopy of corneal small fiber damage in diabetes mellitus A.

## BIBLIOGRAFÍA

- Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2010; 248: 1307-12
23. Reynolds MM, Veverka KK, Gertz MA, Dispenzieri A, Zeldenrust SR, Leung N, Pulido JS. Ocular manifestations of systemic amyloidosis. *Retina*. 2018; 38(7):1371-1376
24. Middlemore, R., Capítulo 3: diseases of the cornea. In: Middlemore, R. (Ed.), *A Treatise on the Diseases of the Eye and its Appendages*, vol. 1 Longman, Rees, Orme, Brown, Green, and Longman, and James Drake, London, Birmingham. 1835.
25. S Bonini, P Rama, D Olzi and A Lambiase, Neurotrophic Keratitis. *Eye*. 2003; 17: 989–995
26. Müller L. J., Marfurt C. F., Kruse F., Tervo T. M. T. Corneal nerves: structure, contents and function. *Experimental Eye Research*. 2003; 76(5):521–542.
27. Shaheen BS , Bakir M , Jain S . Corneal nerves in health and disease. *Surv Ophthalmol*. 2014;59(3):263-85
28. Vico E, Vallejo A y JM Benítez del Castillo. Cirugía refractiva. Thea. Disponible en: [http://www.laboratoriosthea.com/medias/thea\\_superficie\\_ocular\\_7.pdf](http://www.laboratoriosthea.com/medias/thea_superficie_ocular_7.pdf)
29. Belmonte C, Aracil A, Acosta MC, Luna C, Gallar J. Nerves and sensations from the eye surface. *Ocul Surf*. 2004; 2(4):248-53.
30. Sadler TW. Ojo. En: Sadler TW (ed.). *Langman Embriología Médica con orientación clínica 8ª ed*. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2001.
31. Ehinger, B. A comparative study of the adrenergic nerves to the anterior eye segment of some primates. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*. 1971; 116(2):157-77
32. Toivanen, M., Tervo, T., Partanen, M., Vannas, A., Hervonen, A. Histochemical demonstration of adrenergic nerves in the stroma of human cornea. *Invest Ophthalmol*. 1987; 28 398–400.
33. Patel DV, McGhee CN .Quantitative analysis of in vivo confocal microscopy images: a review .*Surv Ophthalmol*. 2013; 58(5):466-75
34. Felipe, C.D., Gonzalez, G.G., Gallar, J., Belmonte, C., Quantification and immunocytochemical characteristics of trigeminal ganglion neurons projecting to the cornea: effect of corneal wounding. *Eur. J. Pain*. 1999; 3, 31–39
35. Launay, P.S., Godefroy, D., Khabou, H., Rostene, W., Sahel, J.A., Baudouin, C., Melik Parsadaniantz, S., Reaux-Le Goazigo, A.,. Combined 3 DISCO clearing method, retrograde tracer and ultramicroscopy to map corneal neurons in a whole adult mouse trigeminal ganglion. *Exp. Eye Res*. 2015:139, 136–143.
36. Efron N, Lee G, Lim RN, Qiu A, Thea E, Ton T, Wu G, Malik RA, Pritchard N. Development and validation of the QUT corneal nerve grading scale. *Córnea*. 2014; 33 (4) :376-81
37. Belmonte C, Aracil A, Acosta MC, Luna C, Gallar J. Nerves and sensations from the eye surface. *Ocul Surf*. 2004; 2(4):248-53
38. Nubile M, Dua HS, Lanzini TE, Carpineto P, Ciancaglini M, Toto L, Mastropasqua L. Amniotic membrane transplantation for the management of corneal epithelial defects: an in vivo confocal microscopic study. *Br J Ophthalmol*. 2008; 92(1):54-60
39. Fung SSM, Catapano J, Elbaz U, Zuker RM, Borschel GH, Ali A. In Vivo Confocal Microscopy Reveals Corneal Reinnervation After Treatment of Neurotrophic Keratopathy With Corneal Neurotization. *Cornea*. 2018; 37(1):109-112.
40. Kocabeyoglu S, Mocan MC, Irkec M, Karakaya J. In vivo Confocal Microscopic Evaluation of Corneas in Patients With Exfoliation Syndrome. *J Glaucoma*. 2016 Feb;25(2):193-7.
41. Bucher F, Hos D, Matthaei M, Steven P, Cursiefen C, Heind I LM. Corneal Nerve Alterations After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: An In Vivo Confocal Microscopy Study. *Cornea*. 2014;33(11):1134-9
42. Martone G, Pichierri P, Franceschini R, Moramarco A, Ciompi L, Tosi GM, Balestrazzi A. In vivo confocal microscopy and anterior segment optical coherence tomography in a case of alternaria keratitis. *Cornea*. 2011 Apr;30(4):449-53
43. Patel DV, McGhee CN. In vivo confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease, and following corneal surgery: a review. *Br J Ophthalmol*. 2009; 93(7):853-60
44. Labbé A, Alalwani H, Van Went C, Brasnu E, Georgescu D, Baudouin C. The relationship between subbasal nerve morph

- ology and corneal sensation in ocular surface disease. *Invest Ophthalmol*. 2012; 53(8):4926-31
45. Namavari A, Chaudhary S, Sarkar J, Yco L, Patel K, Han KY, Yue BY, Chang JH, Jain S. In vivo serial imaging of regenerating corneal nerves after surgical transection in transgenic thy1-YFP mice. *Invest Ophthalmol*. 2011; 52(11):8025-32
  46. Mandahl A. Hypertonic saline test for ophthalmic nerve impairment. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1993; 71(4):556-9
  47. Dua H, Said D, Messmer E, Rolando M, Benitez del Castillo JM, Hossain PN, Shortt AJ, Geerling G, Nubile M, Figueiredo FC, Rauz S, Mastropasqua L, Rama P, Baudouin C. Neurotrophic keratopathy *Prog Retin Eye Res*. 2018; 9462(17)30121-0.
  48. Tesón M, Calonge M, et al. Caracterización de Belmonte por Gas estesiómetro de Mecánica, Química y Térmica corneales umbrales de sensibilidad en una población normal. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012; 53
  49. Fraga FJ, Garrote JI, Abengozas A, Calonge M, González-García MJ. Técnicas diagnósticas para ojo seco. *Gaceta optometría y óptica oftálmica*. 2011; 12-20
  50. Hamano H, Hori M, Hamano T, Mitsunaga S, Maeshima J, Kojima S, Kawabe H, Hamano T. A new method for measuring tears. *CLAO J*. 1983; 9(3):281-9.
  51. Yamaguchi T, Turhan A., Harris D, Hu K, Pruss H, VonAndrian U, Hamrah P. Bilateral Nerve Alterations in a Unilateral Experimental Neurotrophic Keratopathy Model: A Lateral Conjunctival Approach for Trigeminal Axotomy. *PLoS One*. 2013; 8(8):e70908.
  52. Ingelmo I., G<sup>a</sup>-Trapero J., Puig A., De Blas G., Regidor I., León J.M. Monitorización intraoperatoria del nervio facial: consideraciones anestésicas y neurofisiológicas *Rev. Esp. Anestesiología y Reanimación*. 2003; 50: 460-471
  53. Blanco-Mezquita T, Martínez-García C, Proença R, Zieske JD, Bonini S, Lambiase A, Merayo-Llomes J. Nerve growth factor promotes corneal epithelial migration by enhancing expression of matrix metalloproteinase-9. *Invest Ophthalmol*. 2013;54(6):3880-90
  54. Kim EC, Lee WS, Kim MS. The inhibitory effects of bevacizumab eye drops on NGF expression and corneal wound healing in rats. *Invest Ophthalmol*. 2010; 51(9):4569-73.
  55. Chucair-Elliott AJ, Zheng M, Carr DJ. Degeneration and regeneration of corneal nerves in response to HSV-1 infection. *Invest Ophthalmol*. 2015; 56(2):1097-107.
  56. Shukla D. Semaphorin 7a in herpetic neurotrophic keratitis. *Invest Ophthalmol*. 2015; 56(2):1108
  57. Phan TM, Foster CS, Boruchoff SA, Zagachin LM, Colvin RB. Topical fibronectin in the treatment of persistent corneal epithelial defects and trophic ulcers. *Am J Ophthalmol*. 1987;104(5):494-501
  58. McCluskey P, Wakefield D, York L. Topical fibronectin therapy in persistent corneal ulceration. *Aust Ophthalmol*. 1987; 15(4):257-62
  59. Dhillon VK, Elalfy MS, Al-Aqaba M, Gupta A, Basu S, Dua HS. Corneal hypoesthesia with normal sub-basal nerve density following surgery for trigeminal neuralgia. *Acta Ophthalmol*. 2016; 94(1):e6-10.
  60. Versura P, Giannaccare G, Pellegrini M, Sebastiani S, Campos E. Neurotrophic keratitis: current challenges and future prospects. *Eye Brain*. 2018; 10: 37-45.
  61. Labetoulle M, Auquier P, Conrad H, Crochard A, Daniloski M, Bouée S, El Hasnaoui A, Colin J. Incidence of herpes simplex virus keratitis in France. *Ophthalmology*. 2005 ;112(5):888-95
  62. Juan A. Durán de la Colina. Complicaciones de las lentes de contacto. Ponencia oficial de la sociedad española de oftalmología. Teecnimedia editorial. Madrid 1998
  63. Fernández A, Moreno J, Prósper F, García M, Echeveste J. Regeneration of the ocular surface: stem cells and reconstructive techniques. *Anales Sis San Navarra*. 2008; 53-69
  64. Pérez Villena A, Dorronzoro Ramírez E, González García B, Jiménez Martínez J. Neurotrophic keratitis secondary to cerebral malformation. *Neurología*. 2017; 32(1):62-63.
  65. Tan MH, Bryars J, Moore J. Use of nerve growth factor to treat congenital neurotrophic corneal ulceration. *Cornea*. 2006; 25(3):352-5.
  66. Ohana M, Lipsker D, Chaigne D, Speeg-Schatz C, Sauer A. Unilateral ulceration of

## BIBLIOGRAFÍA

- the cornea secondary to congenital trigeminal nerve agenesis. *Eur J Ophthalmol.* 2015; 25(4):e35-7.
67. Borbolla Pertierra AM, Acevedo González P., Bosch Canto V., Ordaz Favila J.C. and Juárez Echenique J.C. Manifestaciones oculares y sistémicas del síndrome de Möebius. *An Pediatr (Barc).* 2014; 273-340
68. Olavarri González G, García-Valcarcel González B, Baeza Autillo A, Balado Vazquez P. Neurotrophic keratopathy secondary to trigeminal nerve aplasia in patient with Goldenhar syndrome. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2016;91(4):191-4
69. Dosso A, Rungger-Brändle E. Bilateral perforation in familiar amyloidotic polyneuropathy. *Graefes Arch Clin Exp Optthalmol.* 2005; 243:273-277
70. Lambley RG, Pereyra-Muñoz N, Parulekar M, Mireskandari K, Ali A Structural and functional outcomes of anaesthetic cornea in children. *Br J Ophthalmol.* 2015; 99(3):418-24.
71. Komiya H, Saeki N, et al. Posterior inferior cerebellar artery dissecting aneurysm presenting with Wallenberg's syndrome. *Neurol Med Chir.* 1988; 28(4):404-8.
72. Hipps WM, Wilhelmus KR. Persistent visual loss from neurotrophic corneal ulceration after dorsolateral medullary infarction (Wallenberg syndrome). *J Neuroophthalmol.* 2004; 24(4):345-6.
73. Carrot E, Ardouin M. Neuro-paralytic keratitis during the evolution of "Wallenberg's syndrome" *Rev Otoneuroophthalmol.* 1950;22(7):579-82
74. Messmer EM, Schmid-Tannwald C, Zapp D, Kampik In vivo confocal microscopy of corneal small fiber damage in diabetes mellitus *A.Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010; 248: 1307-12
75. Martins AC, Rosa AM, Costa E, Tavares C, Quadrado MJ, Murta JN. Ocular Manifestations and Therapeutic Options in Patients with Familial Amyloid Polyneuropathy: A Systematic Review. *Biomed Res Int.* 2015; 2015:282405
76. Markoulli M, You J, Kim J, Duong CL, Tolentino JB, Karras J, Lum E Corneal Nerve Morphology and Tear Film Substance P in Diabetes. *Optom.* 2017; 94(7):726-731
77. Ahuja Y, Baratz KH, McLaren JW, Bourne WM, Patel SV. Decreased corneal sensitivity and abnormal corneal nerves in Fuchs endothelial dystrophy. *Cornea.* 2012; 31(11):1257-63.
78. Bucher F, Adler W, Lehmann HC, Hos D, Steven P, Cursiefen C, Heindl LM. Corneal nerve alterations in different stages of Fuchs' endothelial corneal dystrophy: an in vivo confocal microscopy study. *Graef Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2014; 252 : 1119-26
79. Schrems-Hoesl LM, Schrems WA, Cruzat A, Shahatit BM, Bayhan HA, Jurkunas UV, Hamrah P. Cellular and subbasal nerve alterations in early stage Fuchs' endothelial corneal dystrophy: an in vivo confocal microscopy study. *Eye.* 2013; 27:42-49
80. Chung ES, Lee KH, Kim M, Chang EJ, Chung TY, Kim EK, Lee HK. Expression of neurotrophic factors and their receptors in keratoconic cornea. *Curr Eye Res.* 2013; 38(7):743-50.
81. Vesaluoma MH, Linna TU, Sankila EM, Weiss JS, Tervo TM. In vivo confocal microscopy of a family with Schnyder crystalline corneal dystrophy. *Ophthalmology.* 1990; 106: 944-51,
82. Rosenberg ME, Tervo TM, Petroll WM, Vesaluoma MH. In vivo confocal microscopy of patients with corneal recurrent erosion syndrome or epithelial basement membrane dystrophy. *Ophthalmology.* 2000; 107 : 565-73
83. Rothstein A, Auran JD, Wittpenn JR, Koester CJ, Florakis GJ. Confocal microscopy in Meretoja syndrome. *Cornea.* 2002; 21(4):364-7.
84. Ambrósio R Jr, Tervo T, Wilson SE. LASIK-associated dry eye and neurotrophic epitheliopathy: pathophysiology and strategies for prevention and treatment. *J Refract Surg.* 2008; 24(4):396-407.
85. Jerome C. Ramos-Esteban, MD and Steven E. Wilson, MD Optimizing Patients with Symptoms and/or Signs of Dry Eye Prior to Refractive Surgery *Saudi Journal of Ophthalmology.* 2007
86. Al-Aqaba MA, Fares U, Suleman H, Lowe J, Dua HS Architecture and distribution of human corneal nerves. *Br J Ophthalmol.* 2010; 94(6):784-9
87. Wasilewski D, Mello GH, Moreira H. Impact of collagen crosslinking on corneal sensitivity in

- keratoconus patients. *Cornea*. 2013;32(7):899-902.
88. Lobo EJ, Kleiman LZ, Schrier A. Nepafenac-associated corneal melting. *J Cataract Refract Surg*. 2007; 33 (11):1974-5
  89. Asai T, Nakagami T, Mochizuki M, N Hata, Tsuchiya T, Hotta Y. Three cases of corneal melting after instillation of a new nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Cornea*. 2006 ; 25 (2) :224-7
  90. Yagci A, Bozkurt B, Egrilmez S, Palamar M, Ozturk BT, Pekel H. Topical anesthetic abuse keratopathy: a commonly overlooked health care problem. *Cornea*. 2011; 30(5):571-575.
  91. Mantelli F, Lambiase A, Sacchetti M, Orlandi V, Rosa A, Casella P, Bonini S. Cocaine snorting may induce ocular surface damage through corneal sensitivity impairment. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015; 253(5):765-72
  92. Jetton JA, Ding K, Kim Y, Stone DU. Effects of tobacco smoking on human corneal wound healing. *Cornea*. 2014; 33(5):453-6
  93. Fernández García AI, Balado Vázquez P. Queratopatía neurotrófica y suero autólogo. Nuevas perspectivas en su tratamiento *Boletín de la Soc. Oftalmol. de Madrid - N.º 46*. 2006
  94. Ma JJ, Dohlman CH. Mechanisms of corneal ulceration. *Ophthalmol Clin North Am*. 2002; 15: 27-33
  95. Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, Chen LZ, de Piva CS, Olmos LC, Li DQ, Fini ME. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol*. 2005; 166(1):61-71.
  96. Sainz de la Maza. Protocolo diagnóstico y terapéutico ante una queratitis neurotrófica. *Studium* 2009 Disponible en: [www.oftalmol.com/studium/studium2009/stud09-3/09c-08.htm](http://www.oftalmol.com/studium/studium2009/stud09-3/09c-08.htm).
  97. Yenerel NM, Kucumen RB, Gorgun E. The complementary benefit of anterior segment optical coherence tomography in penetrating keratoplasty. *Clin Ophthalmol*. 2013; 7:1515-23.
  98. Schwarz C, Dang Burgener NP, Dosso A. A-OCT Visante observation of the progression of a perforated neurotrophic cornea ulcer treated with amniotic membrane grafts. *J Fr Ophtalmol*. 2008; 31(4):419-21.
  99. Mackie L. Neuroparalytic keratitis, Current ocular therapy. 1995; 452-454
  100. Sacchetti M, Lambiase A. Diagnosis and management of neurotrophic keratitis. *Clin Ophthalmol*. 2014; 8: 571-579
  101. Duran de la Colina J Úlcera corneal progresiva; Stadium 2004; 22.
  102. Okada Y, Reinach PS, Kitano A, Shirai K, Kao WW, Saika S. Neurotrophic keratopathy; its pathophysiology and treatment. *Histol Histopathol*. 2010; 25(6):771-80.
  103. Naik MN, Gangopadhyay N, M Fernandes, Murthy R, Honavar SG. Anterior chemodectoma of elevator palpebrae superioris with botulinum toxin type-A (Botox) to induce temporary ptosis for corneal protection. *Eye (Lond)*. 2008; 22 (9) :1132-6.
  104. Ellis MF, Daniell M. An evaluation of the safety and efficacy of botulinum toxin type A (BOTOX) when used to produce a protective ptosis. *Experimento. Clin Ophthalmol*. 2001; 29 (6) :394-9.
  105. Pakarinen M, Tervo T, Tarkkanen A. Tarsorrhaphy in the treatment of persistent corneal lesions. *Acta Ophthalmol*. 1987;182:69-73
  106. Sohrab M, Abugo U, Grant M, Merbs S. Management of the eye in facial paralysis. *Facial Plast Surg*. 2015; 31(2):140-4.
  107. Blackmore SJ. The use of contact lenses in the treatment of persistent epithelial defects. *Contact Lens Anterior Eye*. 2010; 33(5):239-44.
  108. Kymionis GD, Liakopoulos DA, Grentzelos MA, Diakonis VF, Klados NE, Tsoulnaris KI, Tsilimbaris MK, Pallikaris IG. Combined Topical Application of a Regenerative Agent With a Bandage Contact Lens for the Treatment of Persistent Epithelial Defects. *Cornea*. 2014; 33(8):868-72.
  109. Suri K, Kosker M, Raber IM, Hammersmith KM, Nagra PK, Ayres BD, Halfpenny CP, Rapuano CJ. Sutureless amniotic membrane ProKera for ocular surface disorders: short-term results *Eye Contact Lens*. 2013 ;39(5):341-7
  110. Nguyen MTB, Thakrar V, Chan CC. Eye-PrintPRO therapeutic scleral contact lens: indications and outcomes. *Can J Ophthalmol*. 2018; 53(1):66-70.
  111. Gordon MK, Desantis A, Deshmukh M, Lacey CJ, Hahn RA, Beloni J, Anumolu SS, Schlager

## BIBLIOGRAFÍA

- JJ, Gallo MA, Gerecke DR, Heindel ND, Svoboda KK, Babin MC, Sinko PJ. Doxycycline hydrogels as a potential therapy for ocular vesicant injury. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2010;26(5):407-19
112. Ralph RA. Tetracyclines and the treatment of corneal stromal ulceration: a review. *Cornea.* 2000; 19(3):274-7
113. Federici TJ. The non-antibiotic properties of tetracyclines: clinical potential in ophthalmic disease. *Res Pharmacol.* 2011; 64 (6) :614-23.
114. Ambrósio R Jr, Tervo T, Wilson SE. LASIK-associated dry eye and neurotrophic epitheliopathy: pathophysiology and strategies for prevention and treatment. *J Refract Surg.* 2008; 24 (4):396-407.
115. Silva ML, Ribeiro AP, Silva GA, Sanchez IX, Renzo R, Uscategui R, Lima TB, Aldrovani M, Laus JL. Expressions of matrix metalloproteinases-1 and -9 and opioid growth factor in rabbit cornea after lamellar keratectomy and treatment with 1% nalbuphine. *Arq Bras Oftalmol.* 2015;78(3):141-5
116. Yokogawa H, Kobayashi A, Yamazaki N, Masaki T, Sugiyama K. Surgical therapies for corneal perforations: 10 years of cases in a tertiary referral hospital. *Clin Ophthalmol.* 2014;8:2165-70
117. Hontanilla B, D Marre and A Cabello. Cross-face nerve grafting for reanimation of incomplete facial paralysis: quantitative outcomes using the facial clima system and patient satisfaccction. *J Reconstr Microsurg.* 2014; 30(1)p 25-30
118. Terzis JK, Dryer M M MD; Bodner, BI. Corneal Neurotization: A Novel Technique for the Anesthetic. *Cornea.* 2010; 29(7):812-9
119. Bains RD, Elbaz U, Zuker RM, Ali A, Borschel GH. Corneal neurotization from the supratrochlear nerve with sural nerve grafts: a minimally invasive approach. *Plast Reconstr Surg.* 2015 ;135(2):397
120. Katzman LR, Jeng BH. Management strategies for persistent epithelial defects of the cornea. *Saudi J Ophthalmol.* 2014;28(3):168-72
121. Ziai S, Rootman DS, Slomovic AR, Chan CC. Oral buccal mucous membrane allograft with a corneal lamellar graft for the repair of Boston type 1 keratoprosthesis stromal melts. *Cornea.* 2013;32(11):1516-9.
122. Brown CR, Wagoner MD, Welder JD, Cohen AW, Goins KM, Greiner MA, Kitzmann AS. Boston keratoprosthesis type 1 for herpes simplex and herpes zoster keratopathy. *Cornea.* 2014; 33(8):801-5
123. Gandhewar J, Savant V, Prydal J, Dua H. Double drape tectonic patch with cyanoacrylate glue in the management of corneal perforation with iris incarceration. *Cornea.* 2013 ; 32(5):e137-8.
124. Ortuño-Prados V.J. and L.Alió J., Tratamiento de úlceras neurotóxicas con plasma rico en plaquetas y Tutopatch. *Arch Soc Oftalmol.* 2011; 86(4)121-123
125. Grau AE, Durán JA. Treatment of a large corneal perforation with a multilayer of amniotic membrane and TachoSil. *Cornea.* 2012;31(1):98-100
126. Namba H, Narumi M, Nishi K, Goto S, S Hayashi, Yamashita H. "Pleatsfold" technique of amniotic membrane transplantation for management of corneal perforations. *Cornea.* 2014; 33 (6) :653-7
127. Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol.* 1997; 124(6):765-74.
128. Wang MX, Gray TB, Park WC, Prabhasawat P, Culbertson W, Forster R, Hanna K, Tseng SC. Reduction in corneal haze and apoptosis by a mniotic membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits. *J Cataract Refract Surg.* 2001; 27(2):310-9.
129. Biotissue [fecha de consulta 15 de mayo de 2017] Disponible en: [http://www.biotissue.com/downloads/amnioguard-insert\\_PI-BT-002E\\_V1%20](http://www.biotissue.com/downloads/amnioguard-insert_PI-BT-002E_V1%20)
130. Vasseneix C, Toubreau D, Brasseur G, Muraine M. Surgical management of nontraumatic corneal perforations: an 8-year retrospective study. *J Fr Ophtalmol.* 2006; 29(7):751-62.
131. Chung HW, Mehta JS. Fibrin glue for Gundersen flap surgery. *Clin Ophthalmol.* 2013;7:479-84
132. Lim LS, How AC, Ang LP, Tan DT. Gundersen flaps in the management of ocular surface disease in an Asian population. *Cornea.* 2009;28(7):747-51

133. Oikarinen VJ, Ihalainen U. Neurotrophic ulcer of the palatal mucosa. Case report. Proc Finn Dent Soc. 1976; 72(1):23-6
134. Alió JL, Rodríguez AE, Martínez LM, Rio AL. Autologous fibrin membrane combined with solid platelet-rich plasma in the management of perforated corneal ulcers: a pilot study. JAMA Ophthalmol. 2013; 131(6):745-51
135. Hos D, van Essen TH, Bock F, Chou CH, Pan HA, Lin CC, Huang MC, Chen SC, Cursiefen C, Jäger MJ. Decellularized collagen matrix from tilapia fish scales for corneal reconstruction Ophthalmologie. 2014; 111(11):1027-32
136. Quinto GG, Camacho W, Castro-peines J, Li L, Martins SA, Wittmann P, Campos M, A Behrens. Effects of topical human amniotic fluid and human serum in a mouse model of keratoconjunctivitis sicca. Cornea. 2012; 31 (4) :424-30
137. Schargus M, Kohlhaas M, Unterlauff JD Treatment of severe ocular surface disorders with albumin eye drops. J Ocul Pharmacol Ther. 2015; 31(5):291-5.
138. Shimmura S, Ueno R, Matsumoto Y, Goto E, Higuchi A, Shimazaki J, Tsubota K. Albumin as a tear supplement in the treatment of severe dry eye. Br J Ophthalmol. 2003; 87(10):1279-83.
139. Avila MY. Restoration of human lacrimal function following Platelet-Rich plasma injection. Cornea. 2014 ;33 18-21
140. Anitua E, Muruzabal F, Alcalde I, Merayo-Llodes J, Orive G. Plasma rich in growth factor (PRGF-endoret) stimulates corneal wound healing and reduces haze formation after PRK surgery. Exp Eye Res. 2013; 115:153-61
141. López-Plandolit S, Morales MC, Freire V, Etxebarria J, Durán JA. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. Cornea. 2010; 29(8):843-8.
142. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. Int J Oral Maxillofac Implants. 1999; 14(4):529-35.
143. Sanchez-Avila RM, Merayo-Llodes J, Riestra AC, Fernandez-Vega Cueto L, Anitua E, Begoña L, Muruzabal F, Orive G. Treatment of patients with neurotrophic keratitis stages 2 and 3 with plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) eye-drops. Int Ophthalmol. 2018;38(3):1193-1204
144. Nishida T and Yanai R. Advances in treatment for neurotrophic keratopathy. Current Opinion in Ophthalmology. 2009; 20:276-281
145. Oh HJ, Jang JY, Li Z, Parque SH, Yoon KC. Effects of umbilical cord serum eye drops in a mouse model of ocular chemical burn. Curr Eye Res. 2012; 37 (12) :1084-90
146. Sharma N, Lathi SS, Sehra SV, Agarwal T, Sinha R, Titiyal JS, Velpandian T, Tandon R, Vajpayee RB. Comparison of umbilical cord serum and amniotic membrane transplantation in acute ocular chemical burns. Br J Ophthalmol. 2015; 99(5):669-73.
147. Erdem E, Yagmur M, Harbiyeli I, Taylan-Sekeroglu H, Ersoz R. Umbilical cord blood serum therapy for the management of persistent corneal epithelial defects. Int J Ophthalmol. 2014; 7(5):807-10
148. Sharma N, Singh D, Maharana PK, Kriplani A, Velpandian T, Pandey RM, Vajpayee RB. Comparison of Amniotic Membrane Transplantation and Umbilical Cord Serum in Acute Ocular Chemical Burns: A Randomized Controlled Trial. Am J Ophthalmol. 2016; 168:157-63.
149. Bradley JC, Bradley RH, McCartney DL, Mannis MJ. Serum growth factor analysis in dry eye syndrome. Clin Experiment Ophthalmol. 2008; 36(8):717-20
150. Bradley JC, Simoni J, Bradley RH, McCartney DL, Brown SM. Time- and temperature-dependent stability of growth factor peptides in human autologous serum eye drops. Cornea. 2009; 28 (2) :200-5
151. Li W, Sun X, Wang Z, Li R, Li L. The effect of nerve growth factor on differentiation of corneal limbal epithelial cells to conjunctival goblet cells in vitro. Mol Vis. 2010;16:2739-44
152. Blanco-Mezquita T, Martínez-García C, Proença R, Zieske JD, Bonini S, Lambiase A, Merayo-Llodes J. Nerve growth factor promotes corneal epithelial migration by enhancing expression of matrix metalloproteinase-9. Invest Ophthalmol. 2013; 54(6):3880-90.
153. Cellini M, Bendo E, Bravetti GO, Campos EC. The use of nerve growth factor in surgical wound

## BIBLIOGRAFÍA

- healing of the cornea. *Ophthalmic Res.* 2006; 38(4):177-81
154. Abdelkader H, Patel DV, McGhee CNJ, Alany RG. New therapeutic approaches in the treatment on diabetic keratopathy: a review. *Clinical and experimental ophthalmology.* 2011; 39:259-270
155. Colangelo AM, Bianco MR, Vitagliano L, Cavaliere C, Cirillo G, De Gioia L, Diana D, Colombo D, Redaelli C, Zaccaro L, Morelli G, Papa M, Sarmientos P, Alberghina L, Martegani E. A new nerve growth factor-mimetic peptide active on neuropathic pain in rats. *Neurosci.* 2008; 28(11):2698-709.
156. Sacchetti m, Bruscolini A, Lambiese A. Cenermgin for the treatment of neurotrophic keratitis. *Drugs Today (Barc).* 2017; 53(11):585-595
157. Pham TL, He J, Kakazu A, Jun B, Bazan NG, Bazan HEP. Defining a mechanistic link between pigment epithelium-derived factor docosahexaenoic acid and corneal nerve regeneration. *J Biol Chem.* 2017; 292(45):18486-18499
158. Fogagnolo P, Sacchi M, Ceresara G, Paderni R, Lapadula P, Orzalesi N, Rossetti L. The effects of topical coenzyme Q10 and vitamin E D- $\alpha$ -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate after cataract surgery: a clinical and in vivo confocal study. *Ophthalmologica.* 2013; 229(1):26-31.
159. Chen CC, Liou SW, Chen CC, Chen WC, Hu FR, Wang JJ, Lin SJ. Coenzyme Q10 rescues ethanol-induced corneal fibroblast apoptosis through the inhibition of caspase-2 activation. *J Biol Chem.* 2013; 288(17):11689-704
160. Lee YC, Kim SY. Treatment of neurotrophic keratopathy with nicergoline. *Cornea.* 2015; 34(3):303-7
161. Bastion ML, Ling KP. Topical insulin for healing of diabetic epithelial defects?: A retrospective review of corneal debridement during vitreoretinal surgery in Malaysian patients. *Med J Malaysia.* 2013; 68(3):208-16.
162. Wang AL, Weinlander E, Metcalf BM, Barney NP, Gamm DM, Nehls SM, Struck MC. Use of Topical Insulin to Treat Refractory Neurotrophic Corneal Ulcers. *Cornea.* 2017; 36(11):1426-1428
163. Yanai R, Nishida T, Chikama T, Morishige N, Yamada N, Sonoda KH. Potential New Modes of Treatment of Neurotrophic Keratopathy Cornea. 2015;34 Suppl 11:S121-7
164. Muñoz-Hernández AM, Santos-Bueso E, Cuiña-Sardiña R, Díaz-Valle D, Gegúndez-Fernández JA, Benítez-Del-Castillo JM. New therapies for neurotrophic keratitis. *Arch Soc Esp Ophthalmol.* 2016;91(3):105-107.
165. Oh TH, Chang DJ, Choi JS, Joo CK. Effects of 17 $\beta$ -estradiol on human corneal wound healing in vitro. *Cornea.* 2012; 31 (10) :1158-64
166. Guerra M, Marques S, Quadrado Gil J, Campos J, Ramos P, Rosa AM, Quadrado MJ, Murta JN. Neurotrophic Keratopathy: Therapeutic Approach Using a Novel Matrix Regenerating Agent. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2017 ; 33(9):662-669
167. Agorogiannis GI, Alexaki VI, Castana O, Kymionis GD. Topical application of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells (MSCs) for persistent sterile corneal epithelial defect. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2012;250(3):455-7
168. Castro-Combs J, Noguera G, Cano M, Yew M, Gehlbach PL, Palmer J, Behrens A. Corneal wound healing is modulated by topical application of amniotic fluid in an ex vivo organ culture model. *Exp Eye Res.* 2008; 87(1):56-63
169. Borrelli M, Joepen N, Reichl S, Finis D, Schoppe M, Geerling G, Schrader S. Keratin films for ocular surface reconstruction: evaluation of biocompatibility in an in-vivo model. *Biomaterials.* 2015; 42:112-20
170. Sacchetti M, Lambiasi A. Neurotrophic factors and corneal nerve regeneration. *Neural Regen Res.* 2017;12(8):1220-1224
171. Hayashi Y, Toshida H, Matsuzaki Y, Matsui A, Ohta T. Persistent corneal epithelial defect responding to rebamipide ophthalmic solution in a patient with diabetes. *Int Med Case Rep J.* 2016 10;9:113-6.
172. Jonas JB, Rank RM, Budde WM. Tectonic sclerokeratoplasty and tectonic penetrating keratoplasty as treatment for perforated or pre-descemetal corneal ulcers. *Am J Ophthalmol.* 2001; 132(1):14-8.
173. Brignole-Baudouin F, Warnet JM, Barritault D, Baudouin C. RGTa-based matrix therapy in se-



- vere experimental corneal lesions: safety and efficacy studies. *J Fr Ophthalmol.* 2013;36(9):740-7
174. Blanquaert F, Barritault D, Caruelle JP. Effects of heparan-like polymers associated with growth factors on osteoblast proliferation and phenotype expression. *J Biomed Mater Res.* 1999; 44(1):63-72.
175. Charef S, Tulliez M, Esmilaire L, Courty J, Papy-Garcia D. Toxicological evaluation of RGTA OTR4120, a heparan sulfate mimetic. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48(7):1965-8.
176. Malaq AA, Denis B. A Rapid Response to Matrix Therapy With RGTA in Severe Epidermolysis Bullosa Eplasty. 2012; 12:ic 15.
177. De Monchy I, Labbé A, Pogorzalek N, Gendron G, M'Garrech M, Kaswin G, Labetoulle M. Management of herpes zoster neurotrophic ulcer using a new matrix therapy agent (RGTA): A case report. *J Fr Ophthalmol.* 2012;35(3):187.e1-6.
178. Kymionis GD, Liakopoulos DA, Grentzelos MA, Diakonis VF, Klados NE, Tsoulnaras KI, Tsilimbaris MK, Pallikaris IG. Combined Topical Application of Regenerative Agent With a Bandage Contact Lens for the Treatment of Persistent Epithelial Defect. *Cornea.* 2014;33(8):868-72
179. Mrukwa-kominek E, Te efficacy of matrix regeneration therapy in progressive corneal thinning due to neurotrophic keratopathy AAO 2015, Las Vegas 2015
180. Desgranges P, Caruelle JP, Carpentier G, Barritault D, Tardieu M. Beneficial use of fibroblast growth factor 2 and RGTA, a new family of heparan mimics, for endothelialization of PET prostheses. *J Biomed Mater Res.* 2001; 58(1):1-9
181. Fajnkuchen F, Barritault D, Giocanti-Aurégan A. Evaluation of a new matrix regenerating agent in patients with Sjögren syndrome and superficial ulcerative keratitis resistant to conventional therapy: A report of 3 cases. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(10):e9935
182. Pison A, Feumi C, Bourges JL Healing of a resistant neurotrophic corneal ulcer using a new matrix therapy agent. *J Fr Ophthalmol.* 2014; 37(7):e101-4
183. Ricciardelli G, Ceccuzzi R, Raneri M, Scalisi A, Bianchi PE. Management of recurrent corneal ulcers: use of amniotic membrane. *Eur J Ophthalmol.* 2014; 24(5):793-6.
184. Malhotra C, Jain AK. Human amniotic membrane transplantation: Different modalities of its use in ophthalmology. *World J Transplant.* 2014;4(2):111-21
185. Hamal D, Singh SK, Lamichhane B, Sharma A, Anwar A, Mahaseth V. Amniotic membrane transplantation: Current indications in a tertiary eye hospital of eastern Nepal. *Nepal J Ophthalmol.* 2016;8(16):151-160
186. Deng-Bryant Y, Chen Z, van der Merwe C, Liao Z, Dave JR, Rupp R, Shear DA, Tortella FC. Long-term administration of amnion derived cellular cytokine suspension promotes functional recovery in a model of penetrating ballistic-like brain injury *J Trauma Acute Care Surg.* 2012;73(2 Suppl 1):S156-64
187. Scaggiante B, Pineschi A, Sustersich M, Andolina M, Agosti E, Romeo D. Successful therapy of Niemann-Pick disease by implantation of human amniotic membrane. *Transplantation.* 1987; 44:59.
188. Aifa A, Gueudry J, Portmann A, Delcampe A, Muraine M. Topical treatment with a new matrix therapy agent (RGTA) for the treatment of corneal neurotrophic ulcers. *Invertir Ophthalmol.* 2012; 53 (13) :8181-5
189. López-Valladares MJ, Teresa Rodríguez-Ares M, Touriño R, Gude F, Teresa Silva M, J Couceiro. Donor age and gestational age influence on growth factor levels in human amniotic membrane. *Acta Ophthalmol.* 2010, 88 (6): E211-6.
190. Velez DR, Menon R, Thorsen P, Jiang L, Simhan H, Morgan N, Fortunato SJ, Williams SM. Ethnic differences in interleukin 6 (IL-6) and IL6 receptor genes in spontaneous preterm birth and effects on amniotic fluid protein levels. *Ann Hum Genet.* 2007; 71:586-600.

## BIBLIOGRAFÍA

191. Menon R, Velez DR, Morgan N, Lombardi SJ, Fortunato SJ, Williams SM. Genetic regulation of amniotic fluid TNF-alpha and soluble TNF receptor concentrations affected by race and pre-term birth. *Hum Genet.* 2008;124(3):243-53
192. Thomasen H, Pauklin M, Steuhl KP, Meller D. Comparison of cryopreserved and air-dried human amniotic membrane for ophthalmologic Applications. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009; 247 (12) :1691-700
193. Russo A, Bonci P, Bonci P. The effects of different preservation processes on the total protein and growth factor content in a new biological product developed from human amniotic membrane. *Cell Tissue Bank.* 2012;13(2):353-61
194. Organización nacional de trasplante [fecha de consulta 17 de agosto de 2016] Disponible en:<http://www.ont.es/infesp/Memorias/Memoria%20de%20Tejidos.pdf>
195. Bourne G. The Fetal Membranes. A Review of the Anatomy of Normal Amnion and Chorion and Some Aspects of Their Function. *Postgrad Med J.* 1962; 38: 193- 201. 60.
196. Benirschke K., Kaufman P. Anatomy and Pathology of the placental membranes. *Pathology of the Human Placenta* 2012; 249-307
197. Ortega-Molina JM, Salgado-Miranda A , Chaves-Samaniego MJ, Solans Pérez-Larraya A .The amniotic membrane in ophthalmology: from the coating- graf to the tisular engineering. Review article .*Rev Esp Inv Oftal.* 2014; (5)117-122
198. Hunt JS, Petroff MG, McIntire RH, Ober C. HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *FABER J.* 2005; 19:681-693. 75.
199. Akle CA, Adinolfi M, Welsh KI, Leibowitz. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation in volunteers. *Lancet.* 1981; 2: 003-1005. 76.
200. Adinolfi M, Akle CA, McColl I, Fenson AH, Tansley L, Connolly P, Hsi BL, Faulk WP, Travers P and Bodmer WF. Expression of HLA antigens, b2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature.* 1982; 295: 325- 327.
201. Miki T, Lehmann T, Cai H, Stolz D, Strom S. Stem Cell Characteristics of Amniotic Epithelial Cells. *Stem Cells.* 2005; 23:1549-1559. 68.
202. Ilancheran S, Michalska A, Peh G, Wallace EM, Pera M, Manuelpillai U. Stem cell derived from human fetal membranes display multilineage differentiation potential. *Biol Reprod.* 2007; 77:577-588.
203. Prabhasawat P, Ekpo P, Uiprasertkul M, Chotikavanich S, Tesavibul N, Pornpanich K, Luemsamran P. Long-term result of autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation for severe ocular surface disease. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(3):491-50
204. Grueterich M , Espana EM , Tseng SC. Ex vivo expansion of limbal epithelial stem cells niche. *Surv Ophthalmol.* 2003; 48 (6) :631-4
205. Mahmoudi-Rad M, Abolhasani E, Moravvej H, Mahmoudi-Rad N, Mirdamadi Y. Acellular amniotic membrane: an appropriate scaffold for fibroblast proliferation. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38(6):646-51
206. Sangwan VS, Basu S. Antimicrobial properties of amniotic membrane. *Br J Ophthalmol.* 2011; 95(1):1-2.
207. Buhimschi IA, Jabr M, Buhimschi CS, Petkova AP, Weiner CP, Saed GM. The novel antimicrobial beta 3 defensin is produced by the amnion: a possible role of the fetal membranes in innate immunity of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; 191:1678-1687.122.
208. Chen HC, Tan HY, Hsiao CH, Huang SC, Lin KK, Ma DH. Amniotic membrane transplantation for persistent corneal ulcers and perforations in acute fungal keratitis. *Cornea.* 2006; 25(5):564-72
209. Abdulhalim BE, Wagih MM, Gad AA, Boghdadi G, Nagy RR. Amniotic membrane graft to conjunctival flap in treatment of non-viral resistant infectious keratitis: a randomised clinical study. *Br J Ophthalmol.* 2015; 99(1):59-63.
210. King AE, Paltoo A, Nelly RW, Sallenave JM, Bocking AD, Challis JR. Expression of natural antimicrobials by human placenta y foetal membranes. *Placenta.* 2007; 28:161-169.121.
211. Ni J, Abrahamson M, Zhang M. Cystatin E is a novel human cysteine proteinase inhibitor with structural resemblance to family 2 cystatins. *J Biol Chem.* 1997; 272:10853-10858. 123.
212. Kjaergaard N, Hein M, Hytte L. Antibacterial properties of human amnion and chorion in

- vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001; 94:224-229
213. Zeng B, Wang P, Xu LJ, Li XY, Zhang H, Li GG Amniotic membrane covering promotes healing of cornea epithelium and improves visual acuity after debridement for fungal keratitis. *Int J Ophthalmol.* 2014 18;7(5):785-9
214. Niknejad H, Yazdanpanah G, Kakavand M. Extract of fetal membrane would inhibit thrombosis and hemolysis. *Med Hypotheses.* 2015; 85(2):197-202
215. Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Kim WS, Zhang F. Identification of antiangiogenic and anti-inflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea.* 2000; 19 (3): 348-52.
216. Jiang A, Li C, Gao Y, Zhang M, Hu J, Kuang W, Hao S, Yang W, Xu C, Gao G, Wang Z, Liu Z. In vivo and in vitro inhibitory effect of amniotic extraction on neovascularization. *Cornea.* 2006;25: S36-40
217. Kamiya K, Wang M, Uchida S, Amano S, Oshika T, Sakuragawa N, Hori J. Topical application of culture supernatant from human amniotic epithelial cells suppresses inflammatory reactions in cornea. *Exp. Eye Res.* 2005; 80 (5): 671-9
218. Shao C, Sima J, Zhang SX, Jin J, Reinach P, Wang Z, Ma JX. Suppression of corneal neovascularization by PEDF release from human amniotic membranes. *Invest Ophthalmol.* 2004; 45(6):1758-62
219. Liang L, Li W, S Ling, Sheha H, Qiu W, Li C, Liu Z. Amniotic membrane extraction solution for ocular chemical burns. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2009; 37 (9):855-63.
220. Koizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ, Full wood NJ, Quantock AJ, Kinoshita S. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res.* 2000; 20 (3) :173
221. Li Y, Guo L, Ahn SA, Kim MH, Kim SW. Amniotic mesenchymal stem cells display neurovascular tropism and aid in the recovery of injured peripheral nerves. *J Cell Mol Med.* 2014; 18(6):1028-34
222. Mamede AC<sup>1</sup>, Laranjo M, Carvalho MJ, Abrantes AM, Pires AS, Brito AF, Moura P, Maia CJ, Botelho MF. Effect of amniotic membrane proteins in human cancer cell lines: an exploratory study. *J Membr Biol.* 2014; 247(4):357-60
223. Sakuragawa N, Yoshikawa H, Sasaki M. Amniotic tissue transplantation: and biochemical evaluations for some lysosomal storage diseases. *Brain Dev.* 1992; 14:7-11.
224. Wolbank S, Peterbauer A, Fahrner M, Henerbichler S, van Griensven M, Stadler G, Redl H, Gabriel C. Dose-dependent immunomodulatory effect of human stem cells from amniotic membrane: a comparison with human mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Tissue Eng.* 2007; 13:1173-83
225. Magatti M, de Munari S, Vertua E, Nassuato C, Albertini A, Wengel GS, Parolini O. Amniotic mesenchymal tissue cell inhibit dendritic cell differentiation of peripheral blood and amnion resident monocytes. *Cell Transplant.* 2009; 18:899-914
226. Bonci P, Bonci P, Lia A. Suspension made with amniotic membrane: Clinical trial. *Eur J Ophthalmol.* 2005;15(4):441-445
227. Boto-de-los-Bueis A, Del-Hierro-Zarzuelo A, García-Gómez I, Valiente BSJ, García-Arranz M, A Corral-Aragón A and Acera A. Time-Dependent Stability of Growth Factors and Endostatin in Human Amniotic Membrane Eye Drops. *J Clinic Experiment Ophthalmol.* 2012; 3:2
228. Wilson SE, Walker JW, Chwang EL, He YG. Hepatocyte growth factor, keratinocyte growth factor, their receptors, fibroblast growth factor receptor-2, and the cells of the cornea. *Invest Ophthalmol.* 1993; 34(8):2544-61.
229. Liu L, Li YP, Huang SQ, Lin JX, Zhang WX. Mechanism of keratinocyte growth factor-2 accelerating corneal epithelial wound healing on rabbit alkali burned cornea. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 2005; 41 (4) :364-8
230. Kiliç Y, Rajewski K, Dörr W. Effect of post-exposure administration of keratinocyte growth factor (Palifermin) on radiation effects in oral mucosa in mice. *Radiat Environ Biophys.* 2007;46(1):13-9
231. Pınarlı FA, Okten G, Beden U, Fişgin T, Kefeli M, Kara N, Duru F, Tomak L. Keratinocyte growth factor-2 and autologous serum potentiate the regenerative effect of mesenchymal stem cells in cornea damage in rats. *Int J Ophthalmol.* 2014 ;18 :7(2):211-9

## BIBLIOGRAFÍA

232. Qin P, Kurpakus MA. The role of laminin-5 in TGF alpha/EGF-mediated Corneal epithelial cell motility. *Exp Eye Res.* 1998;66(5):569-79
233. Shao C, Sima J, Zhang SX, Jin J, Reinach P, Wang Z, Ma JX. Suppression of corneal neovascularization by PEDF release from human amniotic membranes. *Invest Ophthalmol.* 2004; 45(6):1758-62
234. Yu-Bao Z, Xiao-Hong Z, Zhan-Lian H, Chao-Shuang L, Jing L, Yu-Rong G, Bin-Liang L, Dong-Ying X, Shi-Bin X, Liang P, Zhi-Liang G. Amniotic-Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells Overexpressing Interleukin-1 Receptor Antagonist Improve Fulminant Hepatic Failure. *PLoS One* [revista en Internet]. Published online 2012 Jul. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041392>
235. He H, Tan Y, Duffort S, Perez VL, Tseng SC. In vivo downregulation of innate and adaptive immune responses in corneal allograft rejection by HC-HA/PTX3 complex purified from amniotic membrane. *Invest Ophthalmol.* 2014 19;55(3):1647-56.
236. Sotozono C, Ang LP, Koizumi N, Higashihara H, Ueta M, Inatomi T, Yokoi N, Kaido M, Dogru M, Shimazaki J, Tsubota K, Yamada M, Kinoshita S. New grading system for the evaluation of chronic ocular manifestations in patients with Stevens-Johnson syndrome. *Ophthalmology.* 2007; 114(7):1294-302.
237. Maurice DM. The structure and transparency of the cornea. *J Physiol.* 1957; 136(2):263-28
238. Ndosi M, Wright-Hughes A, Brown S, Backhouse M, Lipsky BA, Bhogal M, Reynolds C, Vowden P, Jude EB, Nixon J, Nelson EA. Prognosis of the infected diabetic foot ulcer: a 12-month prospective observational study. *Diabet Med.* 2018; 35(1):78-88
239. Jabbarvand M, Hashemian H, Khodaparast M, Rafatnejad A, Beheshtnejad A, Salami A. Do Unilateral Herpetic Stromal Keratitis and Neurotrophic Ulcers Cause Bilateral Dry Eye?. *Cornea.* 2015;34(7):768-72
240. Hsu HY, Modi D. Etiologies, Quantitative Hypoesthesia, and Clinical Outcomes of Neurotrophic Keratopathy. *Eye Contact Lens.* 2015; 41(5):314-7.
241. Liedtke W, Opalka B, Zimmermann CW, Lignitz E. Age distribution of latent herpes simplex virus 1 and varicella-zoster virus genome in human nervous tissue. *J Neurol Sci.* 1993; 116(1):6-11
242. Dworkin RH, Johnson RW, Breuer J, Gnann JW, Levin MJ, Backonja M, Betts RF, Gershon AA, Haanpaa ML, McKendrick MW, Nurmikko TJ, Oaklander AL, Oxman MN, Pavan-Langston D, Petersen KL, Rowbotham MC, Schmader KE, Stacey BR, Tyring SK, van Wijck AJ, Wallace MS, Wassilew SW, Whitley RJ. Recommendations for the management of herpes zoster. *Clin Infect Dis.* 2007;44 Suppl 1:S1-26.
243. Liesegang TJ. Herpes simplex virus epidemiology and ocular importance. *Cornea.* 2001;20(1):1-13.
244. Cavalcanti BM, Cruzat A, Sahin A, Pavan-Langston D, Samayoa E, Hamrah P. In vivo confocal microscopy detects bilateral changes of corneal immune cells and nerves in unilateral herpes zoster ophthalmicus. *Ocul Surf.* 2018;16(1):101-111
245. Martone G, Frezzotti P, Tosi GM, Traversi C, Mittica V, Malandrini A, Pichierrri P, Balestrazzi A, Motolese PA, Motolese I, Motolese E. An in vivo confocal microscopy analysis of effects of topical antiglaucoma therapy with preservative on corneal innervation and morphology. *Am J Ophthalmol.* 2009;147(4):725-735
246. Oddone F, Roberti G, Micera A, Busanello A, Bonini S, Quaranta L, Agnifili L, Manni G. Exploring Serum Levels of Brain Derived Neurotrophic Factor and Nerve Growth Factor Across Glaucoma Stages. *PLoS One.* 2017 9;12(1):e0168565
247. Ayaki M, Iwasawa A, Niwano Y. In vitro assessment of the cytotoxicity of six topical antibiotics to four cultured ocular surface cell lines. *Biocontrol Sci.* 2012; 17(2):93-9.
248. Azuma M, Yabuta C, Fraunfelder FW, Shearer TR. Dry eye in LASIK patients. *BMC Res Notes.* 2014 3;7:420.
249. Eguchi H, Hiura A, Nakagawa H, Kusaka S, Shimomura Y. Corneal Nerve Fiber Structure, Its Role in Corneal Function, and Its Changes in Corneal Diseases. *Biomed Res Int.* 2017; 2017:3242649
250. Seitz B, Das S, Sauer R, Mena D, Hofmann-Rummelt C. Amniotic membrane transplantation

- for persistent corneal epithelial defects in eyes after penetrating keratoplasty. *Eye*. 2009; 23(4):840-8
251. Belmonte C, Nichols JJ, Cox SM, Brock JA, Begley CG, Bereiter DA, Dartt DA, Galor A, Hamrah P, Ivanusic JJ, Jacobs DS, McNamara NA, Rosenblatt MI, Stapleton F, Wolffsohn JS. TFOS DEWS II pain and sensation report *Ocul Surf*. 2017; 15(3):404-437.
  252. Heigle TJ, Pflugfelder SC. Aqueous tear production in patients with neurotrophic keratitis *Cornea*. 1996; 15(2):135-8.
  253. Guadilla AM, Balado P, Baeza A, Merino M. Effectiveness of topical autologous serum treatment in neurotrophic keratopathy. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2013;88(8):302-6
  254. Khokhar S, Natung T, Sony P, Sharma N, Agarwal N, Vajpayee RB. Amniotic membrane transplantation in refractory neurotrophic corneal ulcers: a randomized, controlled clinical trial. *Cornea*. 2005; 24(6):654-60
  255. Turkoglu E, Celik E, Alagoz G.A comparison of the efficacy of autologous serum eye drops with amniotic membrane transplantation in neurotrophic keratitis. *Semin Ophthalmol*. 2014; 29(3):119-26.
  256. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D.Br. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *J Ophthalmol*. 2004;88(11):1467-74.
  257. Liu L, Li S, Fan J The experimental study on culture of human oral keratinocyte and epithelium using autologous serum and fetal bovine serum *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2006; 20(4):467-70
  258. López-García JS, García-Lozano I, Rivas L, Ramírez N, Méndez MT, Raposo R. Stability of Growth Factors in Autologous Serum Eyedrops After Long-Term Storage. *Curr Eye Res*. 2016; 41(3):292-8.
  259. López Molina M, Granados Centeno JM, Ortíz Egea JM, Sotoca Fernández JV. Úlcera neurotrófica secundaria a herpes simple. *iMedPub Journals*. 2010. <http://www.archivosdemedicina.com>
  260. Garrett Q, Simmons PA, Xu S, Vehige J, Zhao Z, Ehrmann K, Willcox M. Carboxymethylcellulose binds to human corneal epithelial cells and is a modulator of corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol*. 2007; 48(4):1559-67.
  261. H. Chen, R. Pires, and S. Tseng. Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol*. 2000; 84(8): 826–833
  262. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer) *Ophthalmology*. 2013; 120(9):1778-85.
  263. Ueno H, Ferrari G, Hattori T, Saban DR, Kati-kireddy KR, Chauhan SK, Dana R. Dependence of corneal stem/progenitor cells on ocular surface innervation *Invest Ophthalmol*. 2012; 53(2):867-72.
  264. Organización nacional de trasplante [fecha de consulta 17 de agosto de 2016] Disponible en <http://www.ont.es/infesp/Paginas/Biovigilancia.aspx>
  265. Uhlig CE, Frings C, Rohloff N, Harmsen-Aasman C, Schmitz R, Kiesel L, Eter N, Busse H, Alex AF. Long-term efficacy of glycerine-processed amniotic membrane transplantation in patients with corneal ulcer. *Acta Ophthalmol*. 2015; 93(6):e481-7.
  266. Guo Q, Hao J, Yang Q, Guan L, Ouyang S, Wang J.A. Comparison of the effectiveness between amniotic membrane homogenate and transplanted amniotic membrane in healing corneal damage in a rabbit model. *Acta Ophthalmol*. 2011; 89(4):e315-9.
  267. Moreira LB, Lee RF, de Oliveira C, LaBree L, McDonnell PJ. Effect of topical fluoroquinolones on corneal re-epithelialization after excimer laser keratectomy. *J Cataract Refract Surg*. 1997; 23(6):845-8.
  268. Mencucci R, Paladini I, Pellegrini-Giampietro D, Menchini U, Scartabelli T. In vitro comparison of the cytotoxic effects of clinically available ophthalmic solutions of fluoroquinolones on human keratocytes. *Can J Ophthalmol*. 2011; 46(6):513-20.
  269. Rask R, Jensen PK, Ehlers N. Healing velocity of corneal epithelium evaluated by computer. The effect of topical steroid. *Acta Ophthalmol Scand*. 1995; 73(2):162-5.
  270. Faraj LA, Said DG, Al-Aqaba M, Otri AM, Dua HS. Clinical evaluation and characterisation of corneal vascularisation. *Br J Ophthalmol*. 2016; 100(3):315-22

## BIBLIOGRAFÍA

271. Ferrari G, Hajrasouliha AR, Sadrai Z, Ueno H, Chauhan SK, Dana R. Nerves and neovessels inhibit each other in the cornea. *Invest Ophthalmol*. 2013; 54(1):813-20
272. Jiang A, Li C, Gao Y, Zhang M, Hu J, Kuang W, Hao S, Yang W, Xu C, Gao G, Wang Z, Liu Z. In vivo and in vitro inhibitory effect of amniotic extraction on neovascularization. *Cornea*. 2006; 25:S36-40
273. Kobayashi N, Kabuyama Y, Sasaki S, Kato K, Homma Y. Suppression of corneal neovascularization by culture supernatant of human amniotic cells. *Cornea*. 2002; 21 (1) :62-7
274. Solomon A, Meller D, Prabhasawat P, John T, Espana EM, Steuhl KP, Tseng SC. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetocoeles, and deep ulcers. *Ophthalmology*. 2002; 109(4):694-703.
275. Gris O, Güell JL, Lopez-navidad A, Caballero del campo F. Application of the amniotic membrane in ocular Surface pathology *Ann Transplant*. 1999; 4(3-4):82-4.
276. Wichayacoop T, Briksawan P, Tuntivanich P, Yibchok-Anun S. Anti-inflammatory effects of topical supernatant from human amniotic membrane cell culture on canine deep corneal ulcer after human amniotic membrane transplantation. *Vet Ophthalmol*. 2009; 12(1):28-35.
277. Uchio E, Takeuchi S, Itoh N, Matsuura N, Ohno S, Aoki K. Clinical and epidemiological features of acute follicular conjunctivitis with special reference to that caused by herpes simplex virus type 1. *Br J Ophthalmol*. 2000; 84(9):968-72.
278. Williams KA, Esterman AJ, Bartlett C, Holland H, Hornsby NB, Coster DJ. How effective is penetrating corneal transplantation? Factors influencing long-term outcome in multivariate analysis. *Transplantation*. 2006; 81: 896-901.
279. Corral A, Perez A, Corral L, Corral J. *Colirio de membrana Amniotica*, Infarma 2012, Madrid
280. Choi J, Joo C. Effects of amniotic membrane suspension in the rat alkali burn model. *Mol Vis*. 2011; 17: 404-412.
281. Jin A, Choi, Hyun-Jin, Jin, Samhyun, Jung, Eunkyung, Yang, Jun-Sub, Choi, So-Hyang, Chung, Choun-Ki, Joo. Effects of amniotic membrane suspension in human corneal wound healing in vitro. *Mol Vis*. 2009; 15: 2230-2238.
282. Mahbod M, Shahhoseini S, Khabazkhoob M, Behshhtnejad AH, Bakhshandeh H, Atyabi F, Hashemi H. Amniotic Membrane Extract Preparation: What is the Best Method?. *J Ophthalmic Vis Res*. 2014; 9(3):314-9.
283. Lagnado R, King AJ, Donald F, Dua HS. A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88: 464-5.
284. López-García JS, García-Lozano I. Use of containers with sterilizing filter in autologous serum eyedrops. *Ophthalmology*. 2012; 119(11):2225-30
285. Wilczyński M. The use of autologous serum in the treatment of the ocular surface diseases. *Klin Oczna*. 2009; 111(10-12):363-8.
286. Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, Daniels JT. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol*. 2001; 85: 1188-97.
287. López García JS, Mata Díaz E, Ramírez Lillo N, Montón Giménez C, Zamora Barrios J. Suero autólogo: riesgos específicos, efectos adversos y contraindicaciones. *Sociedad Española de Oftalmología* 2011.
288. Nakamura M, Nishida T, Mishima H, Otori T. Effects of antimicrobials on corneal epithelial migration. *Curr Eye Res*. 1993; 12: 733-40.
289. Tauzin H, Robin S, Humbert P, Viennet C, Saas P, Courderot-Masuyer C, Muret P. Can leg ulcer fibroblasts phenotype be influenced by human amniotic membrane extract?. *Cell Tissue Bank*. 2014;15(2):251-5
290. Kang JW, Koo HC, Hwang SY, Kang SK, Ra JC, Lee MH, Park YH. Immunomodulatory effects of human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cells. *J Vet Ciencia*. 2012; 13 (1) :23-31
291. Dudok DV, Nagdee I, Cheung K, Liu H, Vedovelli L, Ghinelli E, Kenyon K, Parapuram S, Hutnik CM. Effects of amniotic membrane extract on primary human corneal epithelial and limbal cells. *Clin Exp Ophthalmol*. 2015; 43(5):443-8.
292. Hua H, Wei LI, Szu-YU chen, Shan Zhang, Ying-Ting Chen, Yasutaka Hayashida, Ying-Ting Zhu and Sheffer C G Tseng. Suppression of activation and induction of apoptosis in RAW264.7 Cells by

- amniotic membrane extract. *Invest Ophthalmol.* 2008; 49 (10):4468-4475.
293. Stachon T, Wu MF, Bischoff M, Huber M, Langenbucher A, Seitz B, Szentmáry N. Amniotic Membrane Suspension and Autologous Serum - Are they Important for Wound Healing? *Klin Monbl Augenheilkd.* 2017; 234(8):1015-1018.
294. Baradaran-Rafii A, Asl NS, Ebrahimi M, Jabbehdari S, Bamdad S, Roshandel D, Eslani M, Momeni M. The role of amniotic membrane extract eye drop (AMEED) in in vivo cultivation of limbal stem cells. *Ocul Surf.* 2018; 16(1):146-153.
295. Laranjeira P, Duque M, Vojtek M, Inácio MJ, Silva I, Mamede AC, Laranjo M, Pedreiro S, Carvalho MJ, Moura P, Abrantes AM, Maia CJ, Domingues P, Domingues R, Martinho A, Botelho MF, Trindade H, Paiva A. Amniotic membrane extract differentially regulates human peripheral blood T cell subsets, monocyte subpopulations and myeloid dendritic cells. *Cell Tissue Res.* 2018; 373(2):459-476.
296. Mukesh k, Go Y et al. Antimicrobial and antibiofilm effects of human amniotic/chorionic membrane extract on streptococcus pneumoniae. *Front. Microbio.* 1948
297. Wu MF, Stachon T, Langenbucher A, Seitz B, Szentmáry N. Effect of Amniotic Membrane Suspension (AMS) and Amniotic Membrane Homogenate (AMH) on Human Corneal Epithelial Cell Viability, Migration and Proliferation In Vitro. *Curr Eye Res.* 2017;42(3):351-357
298. Kordić R, Suić SP, Jandroković S, Kalauz M, Kuzman T, Skegro I, Jukić T. Application of the amniotic membrane extract (AMX) for the persistent epithelial defect (PED) of the cornea. *Coll Antropol.* 2013; 37 Suppl 1:161-4.
299. Charef S, Tulliez M, Esmilaire L, Courty J, Papy-Garcia D. Toxicological evaluation of RGTA OTR4120, a heparan sulfate mimetic. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48(7):1965-8.
300. Alemañ J, González y Fariel C. Usos de la membrana amniótica humana en oftalmología *Rev Cubana (online)* 2006
301. Tseng SCG y Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction En: Holland EJ, Mannis MJ ed *Ocular Surface Disease. Medical and surgical management.* New York Springer-Verlag 2002.
302. Arvola RPJ, Robciuc A, Holopainen JM. Matrix regeneration therapy: a case series of corneal neurotrophic ulcers. *Cornea.* 2016; 35:451-455. 21.
303. Cochener B, Muraine M. A new matrix therapy agent in the treatment of corneal ulcers resistant to conventional treatments. *Acta Ophthalmologica.* 2012; 90:0.
304. Mateo A, Abadía B, Calvo P, Minguez E, Pablo L, Del Castillo JM. Treatment of Acanthamoeba neurotrophic corneal ulcer with topical matrix therapy. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* 2015; 5:18. 18.
305. Aslanides IM, Selimis VD, Bessis NV, Georgoudis PN. A pharmacological modification of pain and epithelial healing in contemporary transepithelial all-surface laser ablation (ASLA). *Clin Ophthalmol.* 2015; 9:685-690.
306. Kymionis GD, Liakopoulos DA, Grentzelos MA, Tsoularas KI, Detorakis ET, Cochener B, Tsilimbaris MK. Effect of the regenerative agent poly (carboxymethylglucose sulfate) on corneal wound healing after corneal cross-linking for keratoconus. *Cornea.* 2015; 34: 928-931.
307. Hugny Larroque C, Derrien S, Cochener B. New matrix therapy in chronic corneal ulcers resistant to conventional therapies. *Acta Ophthalmologica.* 2013; 91:0. 24.
308. Renault D, Lazreg S, Chiambaretta F. Treatment of corneal ulcers in ocular surface inflammation. *Invest Ophthalmol.* 2014; 55:4718. 23
309. Chappelet MA, Bernheim D, Chiquet C, Aptel F. Effect of a New Matrix Therapy Agent in Persistent Epithelial Defects After Bacterial Keratitis Treated With Topical Fortified Antibiotics. *Cornea.* 2017; 36(9):1061-1068
310. Chebbi CK, Kichenin K, Amar N, Nourry H, Warnet JM, Barritault D, Baudouin C. Pilot study of a new matrix therapy agent (RGTA OTR4120) in treatment-resistant corneal ulcers and corneal dystrophy. *J Fr Ophthalmol.* 2008; 31(5):465-71.
311. Julienne R, M Haouas, Tronez MC, HE E Crouzet Z, Thuret G, Gaint P. Topical treatment with a new matrix therapy agent (RGTA,

## BIBLIOGRAFÍA

- CACICOL-20) improves epithelial wound healing after penetrating keratoplasty . European Association for Vision and Eye Research Conference September 2014. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2014.4422.x>
312. Cejkova J, Olmiere C, Cejka C, Trosan P, Holan V. The healing of alkali-injured cornea is stimulated by a novel matrix regenerating agent (RGTA, CACICOL20): a biopolymer mimicking heparan sulfates reducing proteolytic, oxidative and nitrosative damage. *Histol Histopathol.* 2014; 29(4):457-78.
313. Bonini S, Lambiase A, Rama P, Sinigaglia F, Allegretti M, Chao W, Mantelli F; REPARO Study Group. Phase I Trial of Recombinant Human Nerve Growth Factor for Neurotrophic Keratitis. *Ophthalmology.* 2018: S0161-6420(17)31993-0.
314. Freire V, Andollo N, Etxebarria J, Duran JA, Morales MC. In vitro effects of three blood derivatives on human corneal epithelial cells. *IOVS.* 2012;53(9):5571-5578
315. Gutiérrez-Moreno S., Alsina-Gibert M. , Sampietro-Colom L., Pedregosa-Fauste S., Ayala-Blanco P. Cost -Benefit Analysis of Amniotic Membrane Transplantation for Venous Ulcers of the Legs That Are Refractory to Conventional Treatment. *Actas Dermosifiliogr.* 2011;102(4):284-8.
316. Smith AF, Pitt AD, Rodriguez AE, Alio JL, Marti N, Teus M, Guillen S, Bataille L, Barnes JR. The economic and quality of life impact of seasonal allergic conjunctivitis in a Spanish setting. *Ophthalmic Epidemiol.* 2005; 12(4):233-4.





**ANEXOS**



## ANEXOS

## ANEXO I: CONSENTIMIENTO INFORMADO SMA

<b>ETIQUETA</b>	
 <b>Hospital Universitario La Paz</b> SaludMadrid	(O, INDIQUE NOMBRE Y UBICACIÓN DEL PACIENTE)
	 <b>Comunidad de Madrid</b>
Paseo de la Castellana, 261 28046 MADRID ☎ 91 727 70 00	<b>NOMBRE:</b> .....  <b>PROCEDENCIA (CAMA):</b> ..... <b>NHC :</b>  <b>FECHA :</b> ..... / ..... / ..... <b>GÉNERO :</b> .....
<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO</b>	<b>SERVICIO DE OFTALMOLOGÍA</b>
<b>IDENTIFICACIÓN: G-OFT-</b>	
<b>TRATAMIENTO CON COLIRIO DE SUSPENSIÓN DE MEMBRANA AMNIÓTICA</b>	

## ¿Qué le vamos a hacer?

## 1. Descripción del procedimiento

**En qué consiste** Consiste en la aplicación de un colirio preparado a partir de una suspensión de la membrana amniótica de la placenta humana. Debido a la composición de dichas lágrimas y la riqueza de factores nutrientes, constituyen una terapia importante por su eficacia en la patología de la superficie ocular.

**De dónde procede/Preparación:** La Membrana amniótica constituye la capa mas interna de la placenta fetal. Se extrae de la placenta de la mujer embarazada durante el parto, mediante cesárea. Tras los controles serológicos protocolizados por el banco de tejidos (control serológico –VIH, VHB, VHC y sífilis- y microbiológico estricto de la gestante donante de la placenta), se procesa y se almacena a –70°C hasta su uso. A partir de este tejido el servicio de farmacología realiza una suspensión y preparación para su utilización en forma de colirio diluído al 30%. El colirio se prepara de forma estéril y se examina microbiológicamente una vez preparado, comenzando el paciente a instilarlos cuando los resultados microbiológicos comprueban esterilidad.

**Funciones:** Facilitar el cierre de los defectos epiteliales y disminuir la inflamación de la superficie ocular. Las patologías en las que el tratamiento con colirio de suero autólogo ha demostrado eficacia son: (1) queratopatía neurotrófica (por queratitis víricas, quemaduras químicas, parálisis del V

par craneal por cirugía o radioterapia, cirugía corneal, esclerosis múltiple y DM), y (2) el defecto epitelial persistente (DEP) .

El general el tratamiento de estos problemas es complejo, y comienza por el tratamiento de la causa, si es posible y el tratamiento del déficit de lágrima según su gravedad. Se emplean lágrimas artificiales sin conservantes, pero pueden estar indicados los antiinflamatorios tópicos (corticoides, ciclosporina A (Ikervis ©Saten)), sistémicos (ácidos omega-3, tetraciclinas), y la oclusión de los puntos lagrimales, que puede ser reversible (con tapones) o definitiva (electrocoagulación o cirugía).

**Instrucciones de recogida:**

El paciente deberá acudir a La Botica de Argensola, donde el colirio es preparado y almacenado, con una interconsulta del oftalmólogo que solicita el tratamiento.

Para la buena conservación de los colirios es imprescindible que sean almacenados en la nevera del domicilio a temperatura de 2°C-8°C, protegido de la luz.

**Instrucciones de aplicabilidad:**

La instilación del colirio será de un mínimo de 4 veces al día.

**Cuánto dura:** el tratamiento puede ser de 4-6 semanas en casos de patología aguda como úlceras neurotróficas.

**¿Qué riesgos tiene?**

1. Riesgos generales:

A pesar de las medidas preventivas, no queda totalmente excluido el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas en la transferencia de productos biológicos, al igual que ocurre en los transplantes de órganos, pero es prácticamente descartable.

Otros efectos adversos posibles leves son enrojecimiento ocular y alergias.

Por supuesto, en caso de presentar cualquier efecto adverso, al paciente le será inmediatamente retirado el tratamiento y se le procurarán las medidas terapéuticas apropiadas.

El paciente podrá en cualquier momento pedir su exclusión del tratamiento, mediante escrito al efecto.

2. Riesgos personalizados:

Además de los riesgos anteriormente citados por la/s enfermedad/es que padece puede presentar otras complicaciones

3. Beneficios del procedimiento a corto y medio plazo: **El tratamiento con colirio de membrana amniótica ha demostrado el cierre precoz de úlceras corneales neurotróficas, y la mejoría de la queratitis asociadas a diferentes causas.**

#### ¿Qué otras alternativas hay?

Recientemente se están empleando otros derivados sanguíneos como el concentrado de plaquetas. Las lágrimas artificiales no han demostrado la misma eficacia aunque siguen siendo necesarias como complemento en estos pacientes.

#### ¿Nos autoriza?

Por este documento solicitamos su autorización para realizarle la intervención, y usar imágenes e información de su Historia Clínica con fines docentes o científicos, ya que está siendo atendido en un Hospital Universitario. Su anonimato será respetado.

#### Declaraciones y firmas

Antes de firmar este documento, si desea más información o tiene cualquier duda sobre su enfermedad, no dude en preguntarnos. Le atenderemos con mucho gusto. Le informamos que tiene derecho a revocar su decisión y retirar su consentimiento.

**Conforme a lo dispuesto en la LOPD (Ley de Protección de Datos) 15/1999 de 13 de diciembre se informa que sus datos serán objeto de tratamientos e incorporados a ficheros del área 5 Atención especializada con fines asistenciales, de gestión investigación científica y docencia. Solo podrán ser cedidos a organismos autorizados. Podrá ejercer el derecho a acceso, cancelación, rectificación y oposición en la Gerencia del Área.**

#### 1. Relativo al paciente:

D./D.<sup>a</sup> ..... con D.N.I.....

He sido informado/a suficientemente de la intervención que se me va a realizar, explicándome sus riesgos, complicaciones y alternativas; la he comprendido y he tenido el tiempo suficiente para valorar mi decisión.

También soy conforme que la aplicación del tratamiento forma parte de un estudio para comprobar la eficacia y seguridad del procedimiento.

Por tanto, estoy satisfecho/a con la información recibida. Por ello, doy mi consentimiento para que se me realice dicha intervención por el médico responsable y/o médico residente supervisado por facultativo especialista. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno, sin que esta decisión repercuta en mis cuidados posteriores.

ANEXOS

Sé que estoy siendo atendido en un Hospital Universitario. Autorizo SI  NO  para utilizar material gráfico o biológico resultado de la intervención; parte del material se guardará en un banco de tejidos para fines docentes y científicos, tratándose las muestras de forma confidencial y anónima, según dispone la legislación vigente.

Firma del paciente

Fecha: ..... / ..... /...

2. Relativo al médico que indica:

Dr./Dra. .... he informado al paciente y/o al tutor o familiar del objeto y naturaleza de la intervención que se le va a realizar explicándole los riesgos, complicaciones y alternativas posibles.

Firma del médico

Fecha: ..... / ..... / .....

3. Relativo a los familiares y tutores:


El paciente D./Dña. .... no tiene capacidad para decidir en este momento.

D./Dña. .... con D.N.I. ....

y en calidad de ..... he sido informado/a suficientemente de la intervención que se le va a realizar. Por ello, doy expresamente mi consentimiento. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno.

Firma del tutor o familiar

Fecha: ..... / ..... / .....

<b>ETIQUETA</b>	
	(EN CASO DE DEFECTO, INDIQUE NOMBRE Y UBICACIÓN DEL NTE)
Paseo de la Castellana, 261 28046 MADRID ☐ 91 727 70 00	<b>NOMBRE:</b> .....  <b>PROCEDENCIA (CAMA):</b> ..... <b>NHC :</b> .....  <b>FECHA :</b> ...../...../..... <b>GÉNERO :</b> .....
<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO IDENTIFICACIÓN: G-OFT-</b>	<b>SERVICIO DE OFTALMOLOGÍA</b>
<b>USO DE MEMBRANA AMNIÓTICA EN EL TRATAMIENTO DE LA SUPERFICIE OCULAR</b>	

### ¿Qué le vamos a hacer?

#### 1. Descripción del procedimiento

##### En qué consiste

La Membrana amniótica constituye la capa mas interna de la placenta fetal. Se extrae de la placenta de la mujer embarazada durante el parto, mediante cesárea. Tras los controles serológicos protocolizados por el banco de tejidos, se procesa y se almacena a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

Básicamente, la membrana amniótica consiste en una membrana que está compuesta de tres capas: epitelial, membrana basal y estroma. La membrana basal sirve de soporte para el crecimiento celular del tejido adyacente. La capa estromal tiene propiedades para el crecimiento epitelial, antimicrobianas, y antiinflamatorias. Debido a que carece de vasos sanguíneos, el riesgo de rechazo es muy bajo.

##### INDICACIONES MAS FRECUENTES:

(1) Patología Corneal: Úlceras corneales persistentes, úlceras profundas (infecciosas y no infecciosas) y perforaciones oculares de pequeño tamaño, Queratopatía bullosa, defectos epiteiales por Insuficiencia limbar. (2) Patología conjuntival: Causticaciones químicas/ térmicas, Síndrome de Stevens-Johnson. Pterigium primario/recurrente, Tumoraciones conjuntivales, Simbléfaron y fibrosis en enfermedades mucosinequiantes (penfigoide, Steven-Johnson...), Conjuntivochalasis. (3) Otros: Defectos de ampolla de filtración de cirugía glaucomatosa, Recubrimiento de defectos conjuntivales, Melting por Ojo seco grave.

**Cómo se realiza:**

Su utilización se realiza como injerto ( con el epitelio hacia arriba), para cubrir defectos conjuntivales o corneales, y como parche ( estroma hacia arriba), que facilita las propiedades antiinflamatorias. En ocasiones se disponen en forma de una o varias capas. Otras veces se combinan como injerto y como parche. La membrana amniótica se fija al ojo mediante puntos, pegamentos biológicos ( tissucol) o con lente de contacto. La Cirugía se puede realizar mediante anestesia tópica o retrobulbar, y en caso de tratar una perforación bajo anestesia general.

El tiempo de permanencia en el ojo varía dependiendo de los individuos y de la patología para la que se aplique. En ocasiones se requieren varios injertos.

- **Cuánto dura:** La cirugía dura entre 30 y 90 minutos

Sus funciones son: recubrimiento de defectos estructurales corneales, esclerales o conjuntivales, disminución de la inflamación y de la cicatrización.

**¿Qué riesgos tiene?**

1. Riesgos generales:

Son escasos en general. Destacan la pérdida precoz del injerto de membrana, por desintegración o por el efecto de rasgado. Otras menos frecuentes son la transmisión de infecciones, depósitos corneales, reacción inflamatoria, granuloma, hematoma, disminución de visión.

2. Riesgos personalizados:

Además de los riesgos anteriormente citados por la/s enfermedad/es que padece puede presentar otras complicaciones .....

3. Beneficios del procedimiento a corto y medio plazo: **Recobrar la integridad de la superficie ocular mejorando la agudeza visual y/o el dolor.**

**¿Qué otras alternativas hay?**

Recubrimientos conjuntivales

**¿Nos autoriza?**

Por este documento solicitamos su autorización para realizarle la intervención, y usar imágenes e información de su Historia Clínica con fines docentes o científicos, ya que está siendo atendido en un Hospital Universitario. Su anonimato será respetado.

**Declaraciones y firmas**

Antes de firmar este documento, si desea más información o tiene cualquier duda sobre su enfermedad, no dude en preguntarnos. Le atenderemos con mucho gusto. Le informamos que tiene derecho a revocar su decisión y retirar su consentimiento.



Conforme a lo dispuesto en la LOPD (Ley de Protección de Datos) 15/1999 de 13 de diciembre se informa que sus datos serán objeto de tratamientos e incorporados a ficheros del área 5 Atención especializada con fines asistenciales, de gestión investigación científica y docencia. Solo podrán ser cedidos a organismos autorizados. Podrá ejercer el derecho a acceso, cancelación, rectificación y oposición en la Gerencia del Área.

1. Relativo al paciente:

D./D.<sup>a</sup> ..... con D.N.I. .... .

He sido informado/a suficientemente de la intervención que se me va a realizar, explicándome sus riesgos, complicaciones y alternativas; la he comprendido y he tenido el tiempo suficiente para valorar mi decisión. Por tanto, estoy satisfecho/a con la información recibida. Por ello, doy mi consentimiento para que se me realice dicha intervención por el médico responsable y/o médico residente supervisado por facultativo especialista. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno, sin que esta decisión repercuta en mis cuidados posteriores.

Sé que estoy siendo atendido en un Hospital Universitario. Autorizo SI  NO  para utilizar material gráfico o biológico resultado de la intervención; parte del material se guardará en un banco de tejidos para fines docentes y científicos, tratándose las muestras de forma confidencial y anónima, según dispone la legislación vigente.

Firma del paciente

Fecha: ..... / ..... / .....

2. Relativo al médico que indica:

Dr./Dra. .... he informado al paciente y/o al tutor o familiar del objeto y naturaleza de la intervención que se le va a realizar explicándole los riesgos, complicaciones y alternativas posibles.

Firma del médico

Fecha: ..... / ..... / .....

3. Relativo a los familiares y tutores:

El paciente D./Dña. .... no tiene capacidad para decidir en este momento.









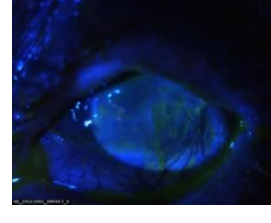






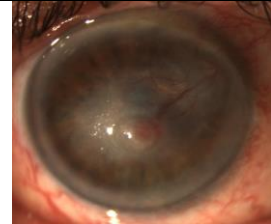

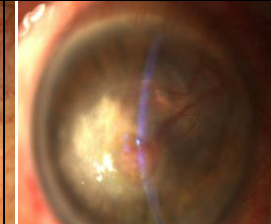
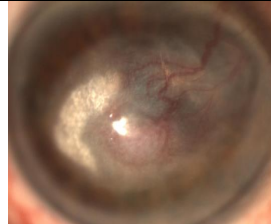
D./D.<sup>a</sup> ..... con D.N.I. .... .

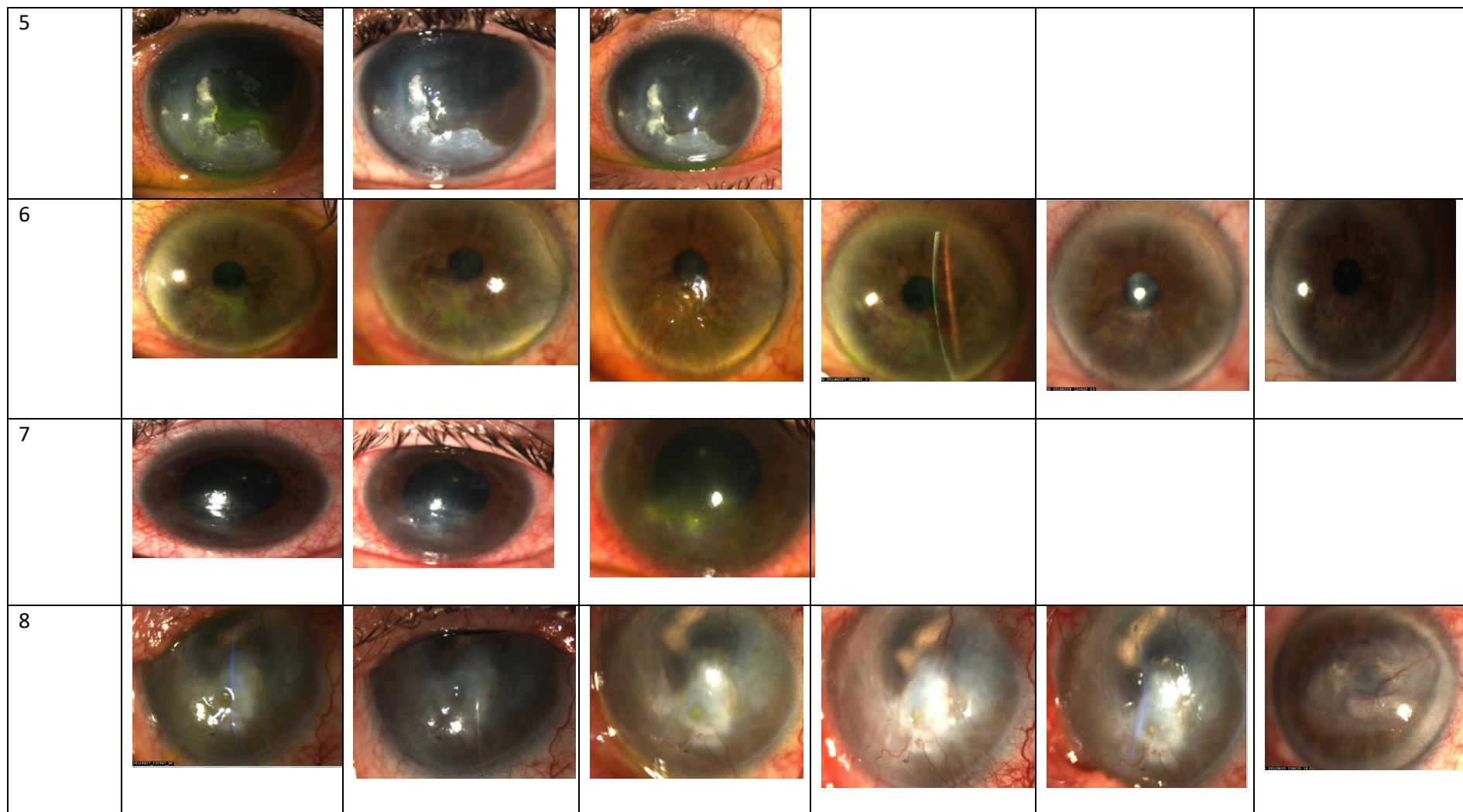
y en calidad de ..... he sido informado/a suficientemente de la intervención que se le va a realizar. Por ello, doy expresamente mi consentimiento. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno.

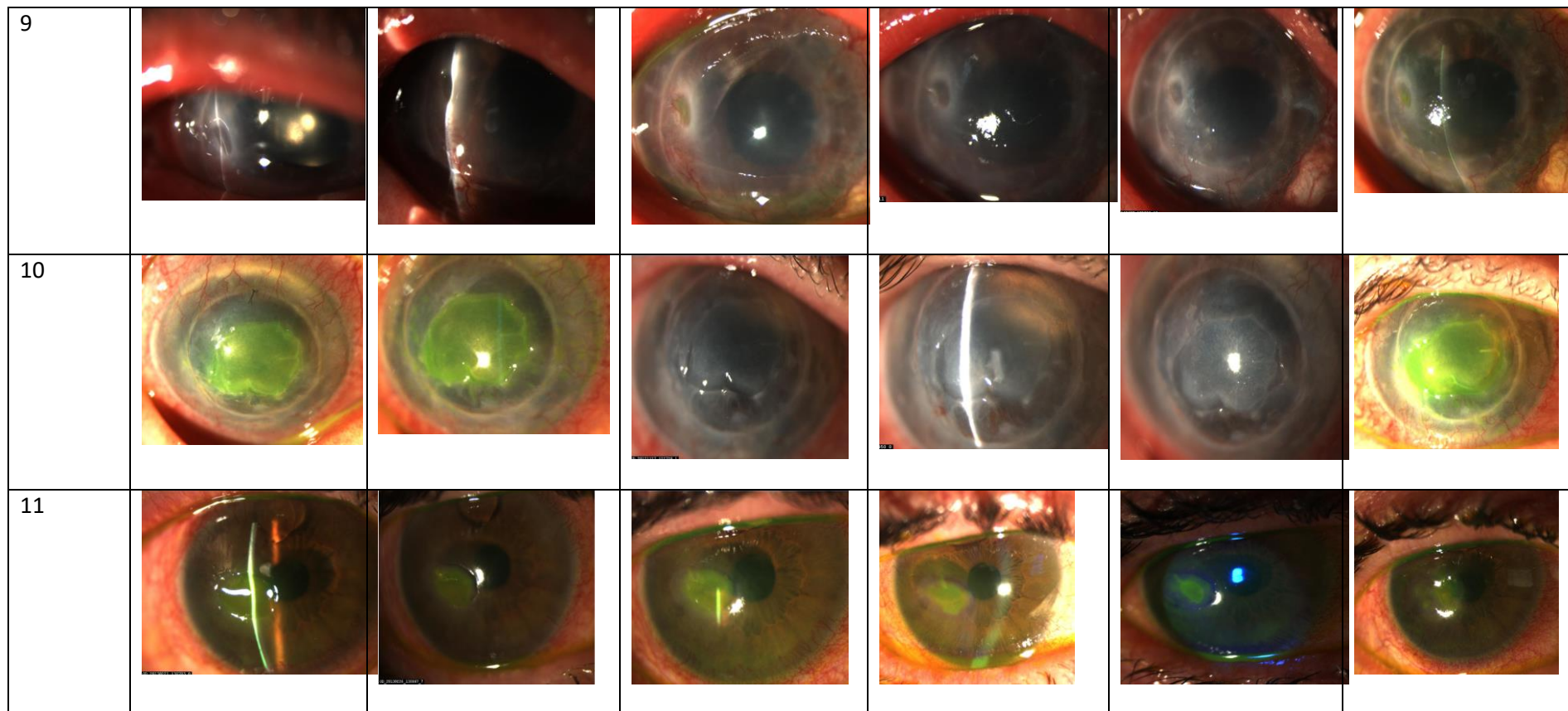
Firma del tutor o familiar

Fecha: ..... / ..... / .....

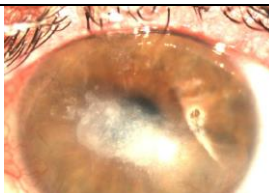
**ANEXO II: FOTOGRAFÍAS DE LOS PACIENTES A ESTUDIO DEL GRUPO SMA**


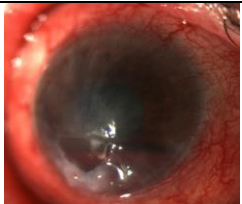
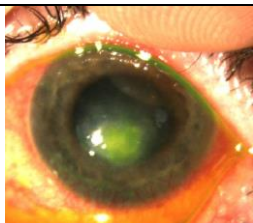
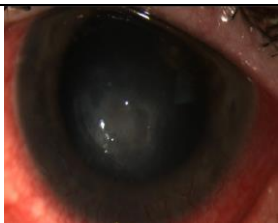
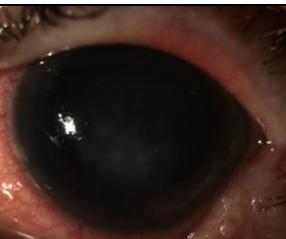


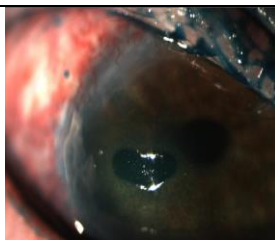
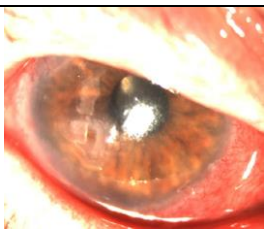
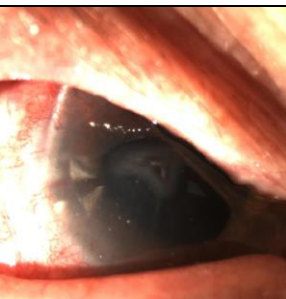
PACIENTE	INICIAL	1SEM	2SEM	3SEM	1 MES	2MESES
1						
2						
3						
4						


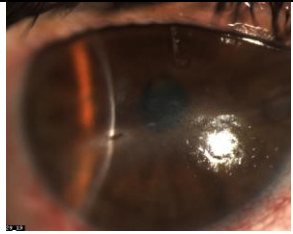


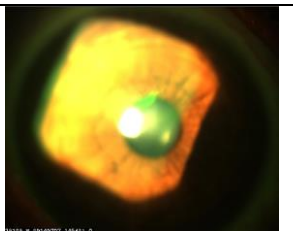
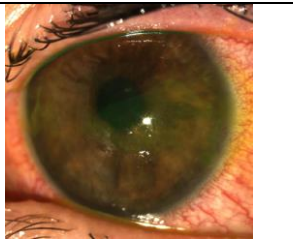
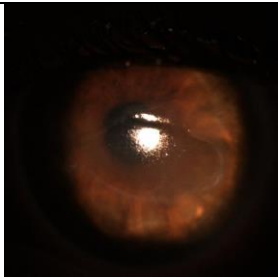
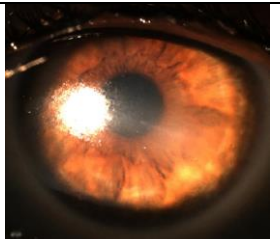
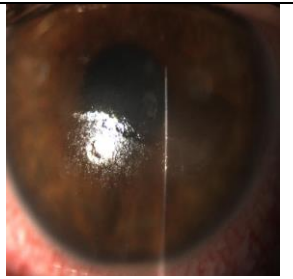
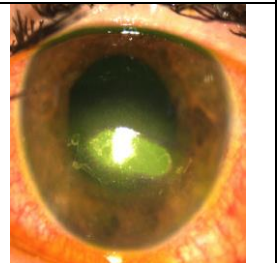


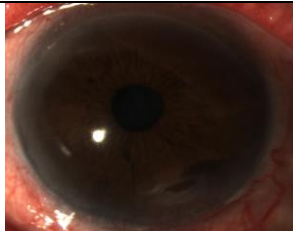
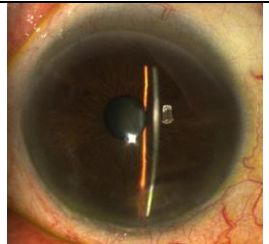
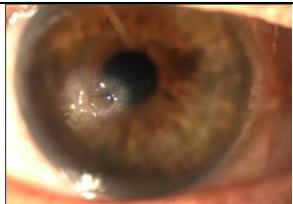
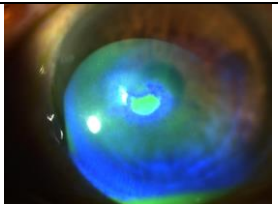
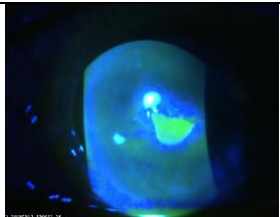
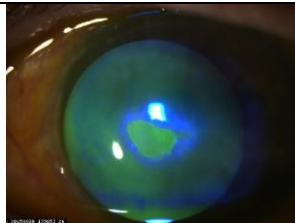
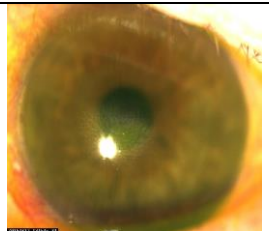
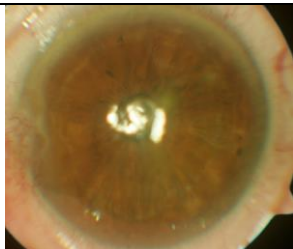

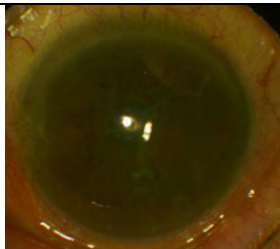



**ANEXO III: FOTOGRAFÍAS DE LOS PACIENTES A ESTUDIO DEL GRUPO RTGA (Cacicol<sup>®</sup>)**

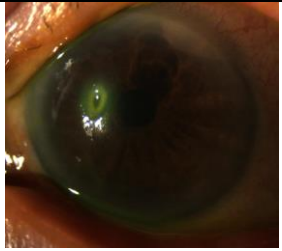
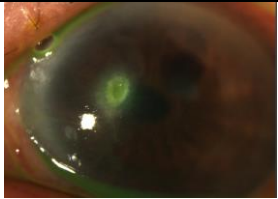

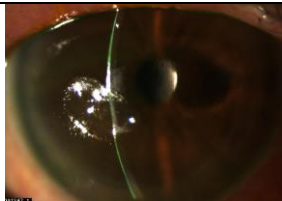
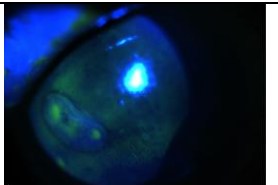
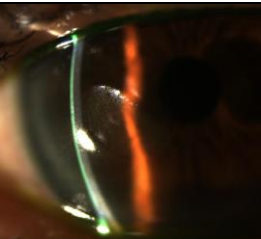
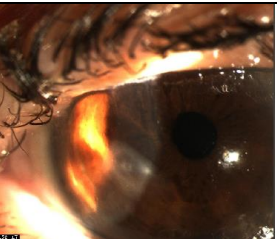

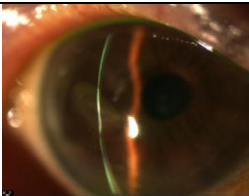
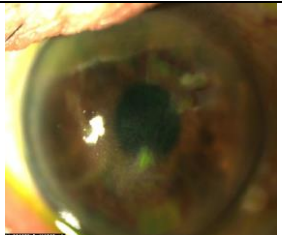
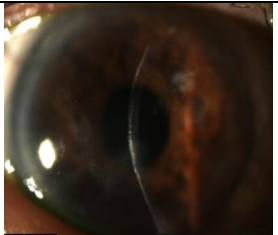
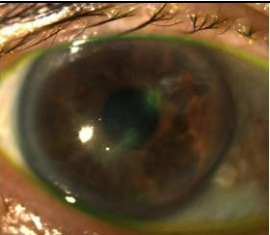
PACIENTES	INICIO	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	MES	2 MESES
1						
2						
3						

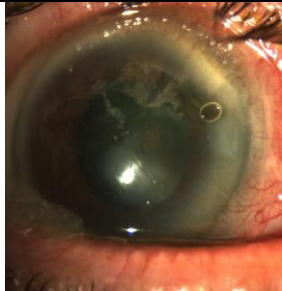
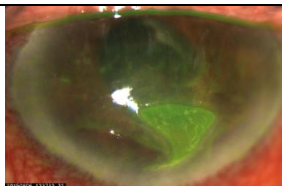
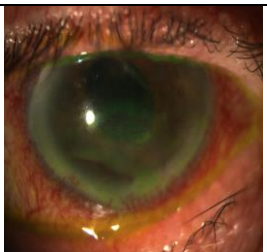
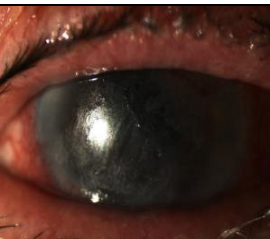
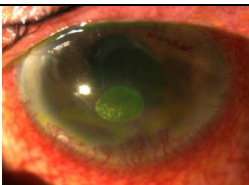

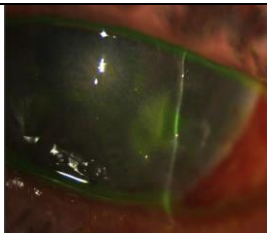

4						
5						
6						

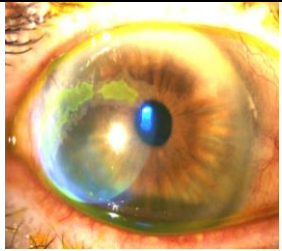
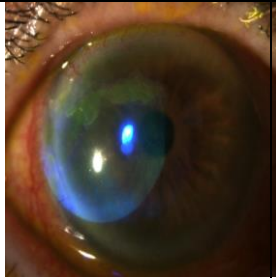
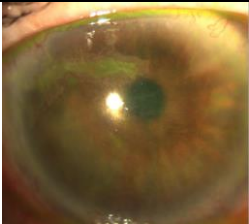

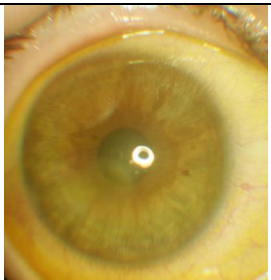

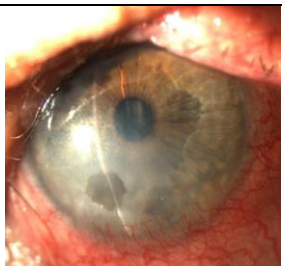

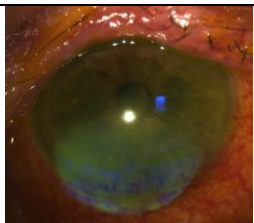
7						
8						
9						


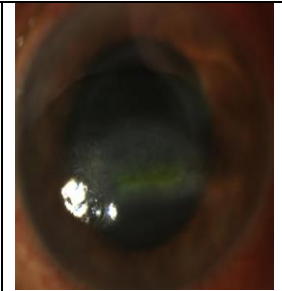
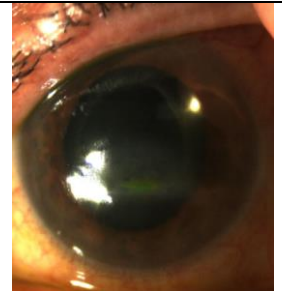
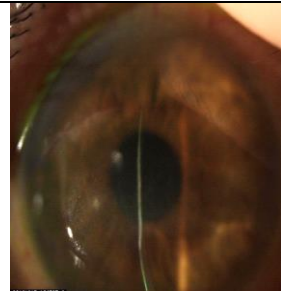

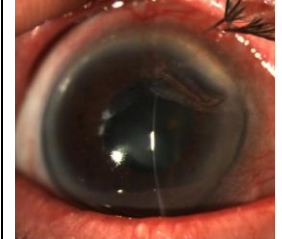
10						
11						
12						



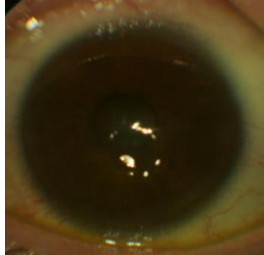
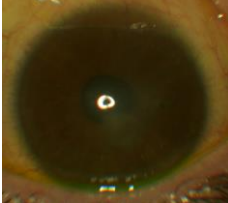
13						
14						
15						




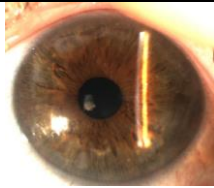




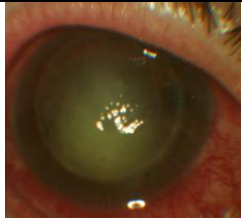
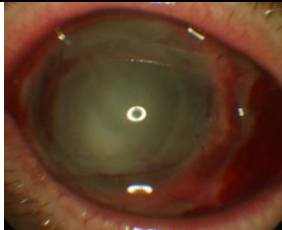

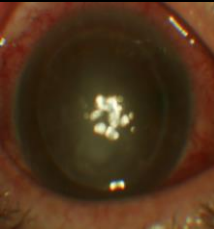
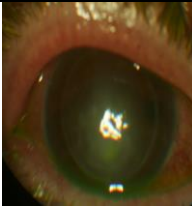

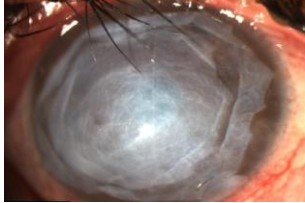
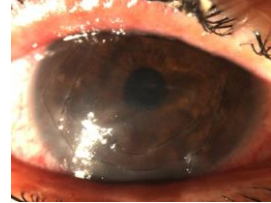
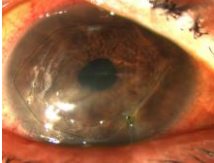
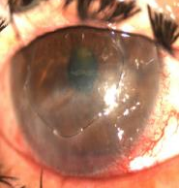
16						
17						
18						


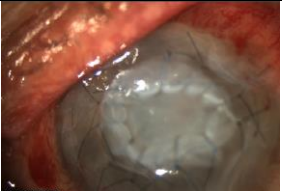

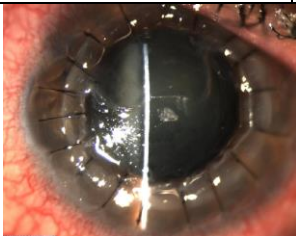
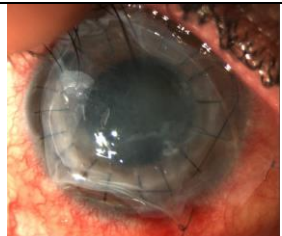

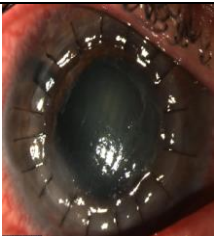



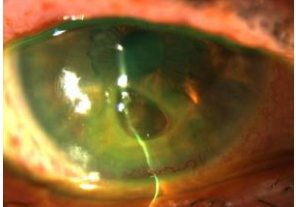
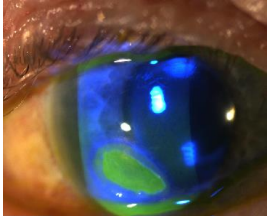

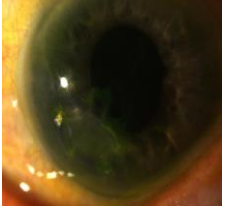
19						
20						
21						


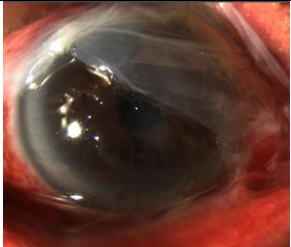






22						
23						

**ANEXO IV: FOTOGRAFÍAS DE LOS PACIENTES A ESTUDIO DEL GRUPO TRASPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA**


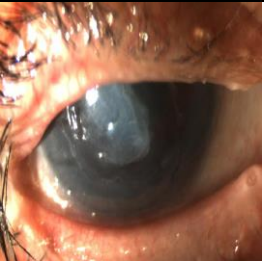

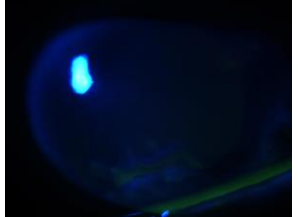
PA CIE NT ES	INICIO	1 DIA POST	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	MES	2 MESES
1							
2							

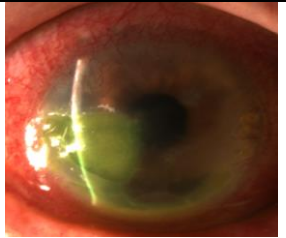
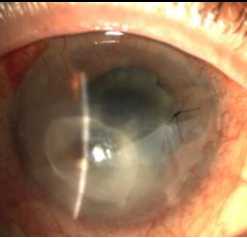

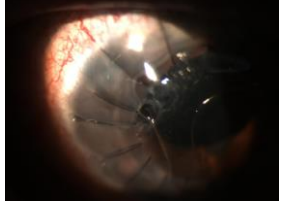
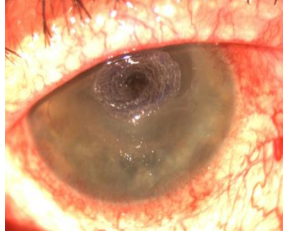
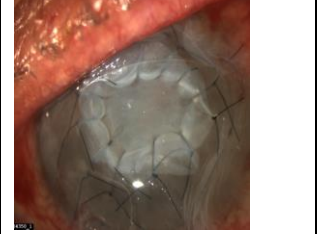
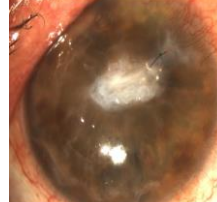
3							
4							
5							
6							



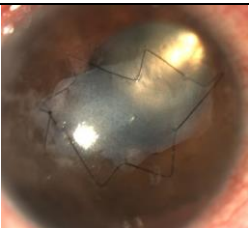
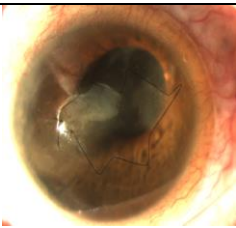
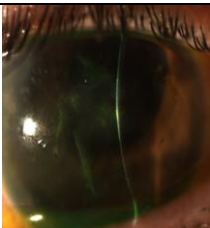
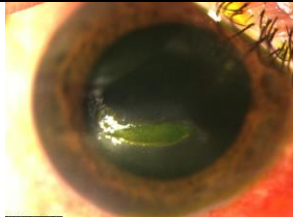
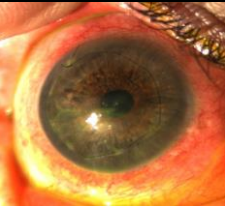
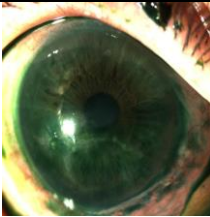

7							
8							
9							
10							

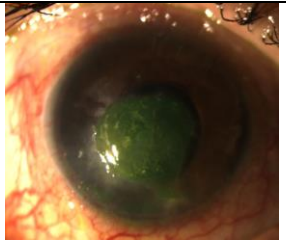
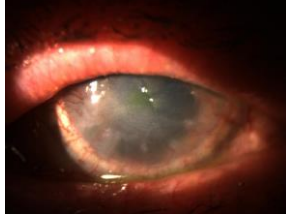
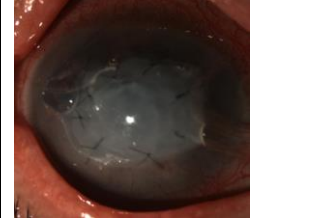
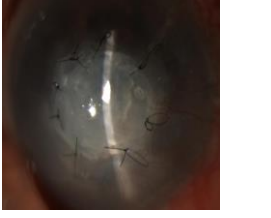
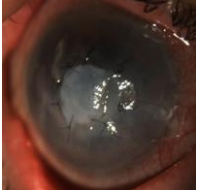


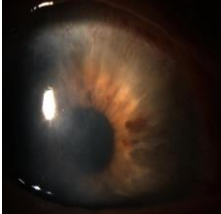
11							
12							
13							




14							
15							
16							

17							
18							
19							
20							

21							
22							
23							
24							

25							
26							
27							
28							

29							
30							
31							

## ANEXO V: ESQUEMA DEL ESTUDIO DE SUERO DE MEMBRANA AMNIÓTICA

	Basal	Tto	48horas	7 días	2 sem	3 sem	4 sem	Hasta cierre
Biomicroscopía: - Transparencia - Defecto epitelial - Neovascularización corneal	⊗	⊗		⊗	⊗	⊗	⊗	⊗
Fotografía Superficie Ocular	⊗	⊗		⊗	⊗	⊗	⊗	⊗
Sensibilidad Corneal - cuadrantes - centro	⊗	⊗		⊗	⊗	⊗	⊗	⊗
Test Schirmer	⊗							⊗
Efectos adversos: - Sistémicos - Oculares	⊗	⊗		⊗	⊗	⊗	⊗	⊗
Mejor AVL corregida	⊗	⊗		⊗	⊗	⊗	⊗	⊗
Test de satisfacción								⊗
Tolerabilidad			⊗					
Anamnesis (Causa, Tratamientos previos)	⊗							

## ANEXO VI: APROBACIÓN DEL ESTUDIO POR EL COMITÉ ÉTICO



## INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

D Jesús Frías Iniesta, Vicepresidente del Comité de Ética de la Investigación del Hospital Universitario La Paz

## CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta de los investigadores Ana Boto de los Bueis y Almudena del Hierro Zarzuelo del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario "La Paz" para que se realice el estudio titulado **“ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS EN LA EN LA PRACTICA CLÍNICA EN ÚLCERA NEUOTRÓFICA: EXTRACTO DE MEMBRANA AMNIÓTICA VERSUS REGENERADORES DE MATRIZ VERSUS INJERTO DE MEMBRANA AMNIÓTICA”**, Versión 2 de 25 julio 2017, código HULP: PI-2759

y considera que teniendo en cuenta la respuesta a las aclaraciones solicitadas:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y los medios de disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Es adecuado el procedimiento de confidencialidad y no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado por los investigadores Ana Boto de los Bueis y Almudena del Hierro Zarzuelo del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario "La Paz" como investigadores principales.

Lo que firmo en Madrid a 31 de julio de 2017

A blue ink signature is written over a circular stamp. The stamp contains the text 'COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN' and 'HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ'.

Firmado:  
D Jesús Frías Iniesta

## ANEXO VII: ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1:** Tipos y características de las fibras nerviosas.

**Tabla 2:** Características de la inervación corneal.

**Tabla 3:** Diagrama de actuación frente a una QN.

**Tabla 4:** Relación comparada de las concentraciones de los principales factores epitelotróficos.

**Tabla 5:** Factores de crecimiento dependiendo de la conservación de la MA.

**Tabla 6:** Esquema de concentración de los diferentes factores de crecimiento en el SMA, según la concentración.

**Tabla 7:** Características demográficas.

**Tabla 8:** Causas de neurotrofia.

**Tabla 9:** Agudeza visual de los pacientes.

**Tabla 10:** Distribución de los casos respecto tratamientos y uso de oclusión, metaloproteinasas o CSA.

**Tabla 11:** Características basales de las úlceras neurotróficas en los tres grupos de estudio (SMA; suero de membrana amniótica, TMA; trasplante de membrana amniótica y RTGA (Caci-col<sup>®</sup>).

**Tabla 12:** Adelgazamiento estimado según el porcentaje de pérdida de espesor corneal evaluado a partir de fotografías digitales y de la historia clínica. Estadios: No existencia de adelgazamiento (grupo 0), adelgazamiento estroma anterior (grado 1), estroma medio (grado 2), estroma posterior (grado 3) y perforación o descematocele (grado 4).

**Tabla 13:** Tamaño del defecto epitelial inicial de la QN en cada grupo de tratamiento.

**Tabla 14:** Porcentaje de cierre completo del defecto epitelial (epitelización completa), de epitelización parcial, falta de respuesta, número de días desde el inicio del tratamiento hasta la epitelización en los pacientes que alcanzan epitelización completa, porcentaje de pacientes en los que recidiva el defecto epitelial, en los que aumenta la neovascularización corneal y porcentaje de pacientes que cerrado el defecto epitelial y finalizado el tratamiento presentan un nuevo episodio de úlcera corneal.

**Tabla 15:** Adelgazamiento del estroma corneal post tratamiento.

**Tabla 16:** Porcentaje de complicación en las diversas opciones.

**Tabla 17:** Complicaciones en los tres grupos de tratamiento.

**Tabla 18:** Media de días hasta la complicación respecto al tratamiento recibido.



**Tabla 19:** Media de días de seguimiento respecto al tratamiento recibido.

**Tabla 20:** Concentraciones de los factores de crecimiento del SA en diversos artículos<sup>150, 256-258</sup>.

**Tabla 21:** Esquema de los artículos más relevantes sobre la preparación del SMA.

**Tabla 22:** Esquema de los artículos más relevantes de SMA.

**Tabla 23:** Estudios más relevantes sobre RTGA (Cacicol<sup>®</sup>).

**Tabla 24:** Concentración de los diversos factores de crecimiento en el SA, PRP y PRGF.

## ANEXO VIII: ÍNDICE DE GRÁFICOS

**Gráfica 1:** Donantes de MA en el estado español.

**Gráfica 2:** Fragmentos producidos.

**Gráfica 3:** Uso de los fragmentos MA por comunidades autónomas.

**Gráfica 4:** Distribución de los casos según edad en los diversos tratamientos.

**Gráfica 5:** Distribución de agudeza visual de los de los pacientes en escala LogMar, en los tres grupos de tratamiento: colirio de suero de membrana amniótica, trasplante de membrana amniótica y colirio regenerante de matriz, Cacicol<sup>®</sup>.

**Gráfica 6:** Distribución del defecto epitelial inicial en las tres opciones terapéuticas (suero de membrana amniótica, trasplante de membrana amniótica y colirio regenerante RGTA, Cacicol<sup>®</sup>).

**Gráfica 7:** Distribución de la neovascularización en las tres opciones terapéuticas (suero de membrana amniótica, trasplante de membrana amniótica y colirio regenerante RGTA, Cacicol<sup>®</sup>).

**Gráfica 8:** Distribución de la transparencia corneal en dos de las opciones terapéuticas (suero de membrana amniótica y colirio regenerante RGTA, Cacicol<sup>®</sup>).

**Gráfica 9:** Kaplan-Meier entre tratamiento recibido y tiempo hasta cierre de la QN expresado en días de tratamiento.

**Gráfica 10:** Velocidad de cierre de la QN del grupo SMA y RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

**Gráfica 11:** Cambios en el porcentaje de neovascularización corneal a diferentes tiempos de tratamiento, respecto a la situación basal en los grupos SMA y RGTA (Cacicol<sup>®</sup>).

**Gráfica 12:** Transparencia al cierre

**Gráfica 13:** Evolución del adelgazamiento en las distintas opciones (SMA, suero de membrana amniótica. MA, trasplante de membrana amniótica. Cacicol®: colirio regenerante de matriz RGTA).

**Gráfica 14:** Agudeza visual en la última revisión en las diferentes opciones.

**Gráfica 15:** Relación del número de capas y el tiempo de reabsorción de la MA.

**Gráfica 16:** Relación del tiempo de cierre con la existencia de antecedentes herpéticos.

**Gráfica 17:** Localización de la perforación ocular.

**Gráfica 18:** Relación de días de complicación y tratamiento recibido.

**Gráfica 19:** Relación del grado 2 y 3 de Mackie con las causas de neurotrofia.

**Gráfica 20:** Correlación entre días de evolución con días hasta el cierre de la QN.

**Gráfica 21:** Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la afectación del eje visual.

**Gráfica 22:** Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la afectación del eje visual.

**Gráfica 23:** Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la existencia de queratoplastia.

**Gráfica 24:** Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y la afectación de glaucoma.

**Gráfica 25:** Gráfica de supervivencia entre el tiempo de cierre y antecedentes de enfermedad inmunológica/reumática.

**Gráfica 26:** Relación entre el cierre del defecto y el tiempo previo.

**Gráfica 27:** Curva de supervivencia entre el tiempo de cierre y el uso de colirio de suero autólogo (CSA).

**Gráfica 28:** Curva de supervivencia entre el tiempo de cierre y el uso de metaloproteinasas inhibidoras de matriz.

**Gráfica 29:** Curva de supervivencia entre el tiempo de cierre y el uso de oclusión ocular antes de los tratamientos TMA, SMA, RGTA.

## ANEXOS

**Gráfica 30:** Relación entre reapertura del defecto epitelial y la edad del paciente.

**Gráfica 31:** Gráfica de Kaplan-Meier sobre los días hasta el cierre y la reapertura.

**Gráfica 32:** Asociación entre el tiempo de cierre y la reapertura.