

# La superficie ocular (2ª parte)

S. Sedó<sup>1</sup>  
J. Torras<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servei  
d'Oftalmologia.  
Hospital  
de Viladecans  
<sup>2</sup>Servei  
d'Oftalmologia.  
Mútua de Terrassa

## Resumen

Las alteraciones de la superficie ocular son uno de los motivos más frecuentes de consulta al oftalmólogo. La cirugía fotorrefractiva puede ser una causa de disfunción de la superficie ocular de reciente aparición. En esta revisión se analizan los mecanismos fisiopatogénicos de dicha disfunción, y los avances realizados en el tratamiento médico y quirúrgico de las enfermedades de la superficie ocular. Dentro del tratamiento médico, se destacan posibles mecanismos de acción y nuevas indicaciones del arsenal terapéutico de que dispone el oftalmólogo, y en el tratamiento quirúrgico se profundiza en técnicas que están en constante evolución como son los trasplantes de membrana amniótica y de "stem cells" limbares.

## Resum

Les alteracions de la superfície ocular són un dels motius més freqüents de consulta a l'oftalmòleg. La cirurgia fotorrefractiva pot ser una causa de disfunció de la superfície ocular de recent aparició. En aquesta revisió, s'analitzen els mecanismes fisiopatogènics d'aquesta disfunció i els avenços realitzats en el tractament mèdic i quirúrgic de les malalties de la superfície ocular. Dins del tractament mèdic, es destaquen possibles mecanismes d'acció i noves indicacions de l'arsenal terapèutic de que disposa l'oftalmòleg i en el tractament quirúrgic, es descriuen tècniques que estan en constant evolució com són els trasplantaments de membrana amniòtica i de "stem cells" limbals.

## Summary

Ocular surface alterations are frequent causes of ophthalmologist outpatient consultation. Photorefractive surgery can be an emerging cause of ocular surface dysfunction. In this review, pathogenesis of such dysfunction as well as improvements in the medical and surgical treatment of the ocular surface diseases are analysed. Mechanisms of action and new indications of the current therapeutic tools available to the ophthalmologist are outlined. Constantly evolving surgical techniques such as amniotic membrane and limbal stem cells transplantation are discussed too.

## Patología de la superficie ocular asociada a cirugía refractiva

A pesar de que la queratectomía fotorrefractiva (PRK) y la queratotomía radial (RK) se consideran técnicas predecibles y seguras para corregir la miopía moderada o baja, éstas han quedado postergadas a un

segundo término con la llegada de la queratomileusis asistida con láser excimer (LASIK) ya que supera muchas de las limitaciones de las otras técnicas. Sus ventajas son:

1. corregir mayor número de dioptrías.
2. recuperación visual casi inmediata.
3. reducción en las molestias del paciente.

Correspondencia:  
Sergi Sedó Fernández  
Servei d'Oftalmologia  
Hospital de Viladecans  
Avgda. de Gavà, 38  
08840 Viladecans

4. reducción de las nubéculas corneales (“haze”) y las regresiones dióptricas postoperatorias.
5. reducción en la necesidad de corticosteroides postoperatorios.

La técnica consiste en la realización de una queratotomía lamelar profunda (de unas 150  $\mu\text{m}$ ) mediante un microqueratomo. El colgajo resultante (“flap”) es levantado para aplicar el láser sobre el lecho estromal. A continuación el “flap” es reposicionado sin necesidad de suturarlo. Por tanto en una córnea intervenida de LASIK podemos distinguir las siguientes partes de más superficial a más profundo:

1. epitelio
2. estroma del “flap”
3. interfase
4. lecho estromal
5. endotelio

El propósito de este apartado es desarrollar los problemas de superficie ocular más frecuentemente relacionados con la técnica LASIK.

### ***Queratitis neurotrófica (presunta) o pseudo-queratitis sicca***

Después de la cirugía refractiva con LASIK y comparativamente a otras técnicas quirúrgicas, se ha observado una mayor incidencia de queratopatía punteada superficial y de síntomas de ojo seco, los cuales son más severos en aquellos pacientes con patología lacrimal previa<sup>1</sup>.

La superficie ocular, película lacrimal, glándulas lacrimales y párpados actúan como una unidad funcional con la finalidad de mantener la calidad refractiva de la córnea y de proteger al ojo frente a las agresiones externas. Esta unidad se integra fundamentalmente gracias a dos arcos neurales reflejos que comparten la misma vía aferente (estímulos superficiales conducidos por las fibras sensitivas de la rama oftálmica y maxilar del nervio trigémino o V nervio craneal) y que dan lugar a una respuesta eferente parasimpática de estimulación de la glándula lacrimal y a otra respuesta eferente motora de parpadeo, ambas vehiculizadas por el nervio facial o VII nervio craneal. La tasa de renovación lacrimal (“clearance”) da una estimación integrada de estos dos reflejos ya que valora tanto la producción lacrimal como el drenaje lacrimal condicionado por el efecto de bombeo del parpadeo<sup>2</sup>.

El LASIK altera esta integración neuroanatómica por el hecho de cortar y fotoablar las terminacio-

nes nerviosas que, procedentes del limbo, inervan el estroma y la capa basal del epitelio corneal condicionando una denervación relativa de estas partes del “flap”<sup>3</sup>. Se ha demostrado una mayor densidad de fibras nerviosas en las zonas nasales y temporales de la córnea, por lo cual este problema sería menor en los “flaps” de bisagra nasal respecto a los de bisagra superior<sup>4</sup>.

En el postoperatorio inmediato de LASIK, respecto al estado preoperatorio, se detecta una disminución de la sensibilidad tanto corneal como conjuntival, cuya recuperación coincide con la regeneración de las fibras nerviosas corneales y alcanza valores preoperatorios a los 5-6 meses de la cirugía<sup>3,5</sup>. Sin embargo, para Battat et al la sensibilidad córneoconjuntival no alcanza los niveles preoperatorios ni a los 18 meses de la cirugía<sup>6</sup>. Paradójicamente, ciertos pacientes refieren un incremento de los síntomas de irritación ocular que podría ser producido por una mayor sensibilidad de los nervios traumatizados a mediadores de la inflamación liberados en el proceso de cicatrización<sup>6</sup>.

En los casos en los que la técnica LASIK se aplica de forma bilateral, la disminución de la sensibilidad corneal disminuiría la secreción lacrimal y también el parpadeo. Por eso, la tasa de renovación lacrimal (“clearance”) se correlaciona mejor que el test de Schirmer para detectar la disfunción de la dinámica lacrimal tras LASIK, puesto que el test de Schirmer únicamente valora la producción lacrimal<sup>6</sup>. Todos estos parámetros se normalizan con el tiempo, excepto la frecuencia de parpadeo que parece lo más difícil de recuperar<sup>5</sup>.

Wilson ha comparado postoperados de LASIK que han desarrollado epitelopatía punteada superficial con los que no lo han hecho, no habiendo encontrado diferencias significativas de función lacrimal entre ambos grupos por lo que atribuye esta epitelopatía a un problema neurotrófico. Esta alteración del epitelio corneal puede producir disminución de agudeza visual con escasas molestias y tiende a desaparecer en todos los casos a los 6 meses de la cirugía, aunque un retratamiento para ajustar la corrección dióptrica podría provocar la recidiva de dicha epitelopatía. Dicho autor no aconseja retratamientos antes de los 6 meses en estos casos<sup>1</sup>. Los efectos del LASIK sobre la superficie ocular llevan a algunos autores a insistir en la importancia del tratamiento postoperatorio de los pacientes con lágrimas artificiales durante al menos un mes tras la intervención<sup>5,7</sup>.

En caso de existencia de problemas de superficie ocular previos a la cirugía, éstos se verán agravados por la disfunción de la dinámica lacrimal y la “pre-

sunta" queratopatía neurotrófica inducida por LASIK. Nuestra conducta debe consistir en detectarlos, advertir al paciente y establecer un tratamiento preoperatorio con la finalidad de conseguir una superficie ocular en las mejores condiciones en el momento de la cirugía. Un grupo de pacientes con predisposición a presentar problemas de superficie ocular son aquellos con intolerancia previa a las lentes de contacto. En estos casos, y en todos aquellos en los que sospechemos trastornos de superficie ocular, aconsejamos valorar previamente a la cirugía<sup>8</sup>:

- a. Signos de inflamación conjuntival. Como podríamos detectar, por ejemplo, en casos de alergia ocular o de intolerancia a lentes de contacto. Si la inflamación es severa estaría indicado un tratamiento antiinflamatorio preoperatorio<sup>9</sup>.
- b. Test de Schirmer I sin anestésico. En casos con un valor inferior a 10 mm se aconseja un tratamiento preoperatorio con lágrima artificial durante 1-2 semanas.
- c. Hendidura palpebral. Cuando es muy amplia implica un mayor estrés evaporativo. En estos casos, a pesar de un test de Schirmer normal, existiría un incremento de la osmolaridad de la lágrima que debería compensarse, en teoría, con lágrimas artificiales hipoosmolares<sup>10</sup>.
- d. Signos de disfunción de las glándulas de Meibomio. Cuando están presentes es aconsejable tratar estos casos con higiene palpebral, calor seco local y, en casos severos, doxiciclina por vía oral durante unas 4 semanas.
- e. Tasa de aclaramiento de fluoresceína. Cuando está disminuida es un factor de riesgo de acumulo de sustancias proinflamatorias en la superficie ocular.

### **Erosiones corneales**

Esta patología, que normalmente tiene pocas repercusiones funcionales, cuando se produce con relación a un procedimiento quirúrgico de LASIK puede tener importantes consecuencias no sólo porque retrasa la recuperación visual y alarga el período de sintomatología del paciente sino porque supone un riesgo aumentado en la aparición de complicaciones, como son<sup>11-13</sup>:

1. colocación anómala del "flap" en caso de pérdida de marcas epiteliales
2. erosión corneal recidivante
3. crecimiento epitelial en la interfase
4. astigmatismo irregular
5. queratitis lamelar difusa

Los defectos epiteliales se producen en un número mínimo de pacientes y pueden ser debidos a causas ajenas al cirujano cuando se producen por el paso del microqueratomo o debido a un tiempo quirúrgico elevado o a una manipulación traumática del "flap" y de la córnea especialmente durante la colocación / retirada del microqueratomo o del blefarostato. Se ha observado una mayor incidencia de este tipo de erosiones en la fase inicial de la curva de aprendizaje de los cirujanos. Otros factores de riesgo con los que se han relacionado son la edad del paciente, diabetes mellitus, distrofias o degeneraciones de la membrana basal epitelial y el uso excesivo de anestésicos tópicos. Dastgheib et al han estudiado retrospectivamente pacientes que presentaban distrofia de la membrana basal epitelial sometidos a la técnica de LASIK, encontrando defectos epiteliales en 13 de los 16 casos intervenidos (81%)<sup>11</sup>. La búsqueda de esta patología debe ser sistemática en la evaluación preoperatoria de los pacientes candidatos a cirugía refractiva debiéndose desaconsejar en estos casos la técnica de LASIK.

La conducta terapéutica cuando se produce una desepitelización corneal que no sea masiva, consiste en reposicionar el epitelio lo más cuidadosamente posible y evitar la introducción de restos epiteliales en la interfase estromal del "flap". Asimismo, una lente de contacto terapéutica ayudará a una epitelización más rápida con la mínima sintomatología. Debe evitarse la oclusión ya que puede favorecer el desplazamiento del "flap", especialmente si éste se edematiza<sup>14</sup>.

Cuando se produce un defecto epitelial corneal, se ponen en marcha una serie de procesos fisiológicos de reparación en el que está implicada una compleja red de factores de crecimiento y otras citoquinas cuyo conocimiento dista mucho de ser completo.

Las interacciones recíprocas entre epitelio y estroma tienen un papel fundamental en diferentes procesos de varios tejidos epiteliales como son el desarrollo embrionario, la morfogénesis postnatal y la reparación tisular. Estas interacciones pueden estar mediadas por componentes de la matriz extracelular, moléculas asociadas a la membrana celular y factores solubles entre los cuales destacan las citoquinas<sup>15</sup>. La reparación de una lesión corneal desencadena una cascada de acontecimientos modulados por citoquinas producidas por el epitelio corneal, queratocitos, glándula lacrimal (cuya producción de mRNA de los factores de crecimiento epidérmico, del hepatocito y del queratocito, aumentan horas después de la lesión epitelial) y células inflamatorias<sup>16,17</sup>.

Una lesión del epitelio corneal se cura en tres fases superpuestas: migración, proliferación y diferencia-

ción celular. En las primeras horas tras la lesión, las células basales del epitelio en el borde lesional se aplanan y migran para cubrir el defecto. La proliferación celular se da a nivel distal respecto del borde de avance de las células que migran, a unos 3-5 mm por detrás de dicho borde. Cuando el defecto epitelial se cubre, las células basales reforman los complejos de adhesión, el epitelio se engrosa y las células epiteliales superficiales se diferencian sintetizando queratina<sup>18</sup>.

Wilson propone un modelo de reparación tisular en las lesiones corneales basado en una cascada de procesos que se iniciarían con la apoptosis de los queratocitos del estroma anterior, subyacentes a la lesión epitelial, inducida por la liberación de citoquinas por parte de las células epiteliales dañadas (principalmente interleuquina-1)<sup>19</sup>. La apoptosis de estos queratocitos se sigue de la proliferación y migración de los queratocitos circundantes<sup>20</sup>. Estos queratocitos activados dan lugar a los miofibroblastos que se caracterizan por desarrollar estructuras intracelulares contráctiles que contienen la isoforma  $\alpha$  de la actina específica del músculo liso (" $\alpha$ -SM actin") y presentar la integrina  $\alpha_5\beta_1$  en su superficie celular<sup>21</sup>. Los miofibroblastos producen colágeno desorganizado, glicosaminoglicanos y citoquinas, así como metaloproteinasas y colagenasas implicadas en la respuesta estromal reparadora<sup>19</sup>. Según Wilson, en dicha respuesta se darían interacciones epitelio-estroma mediadas por citoquinas como la interleuquina-1 (IL-1) que estimularía a los queratocitos a producir citoquinas y metaloproteinasas y, también, induciría su apoptosis, e interacciones estroma-epitelio como las mediadas por los factores de crecimiento de los queratocitos (KGF) y de los hepatocitos (HGF) producidos por los queratocitos activados y que regularían la proliferación, migración y diferenciación de las células epiteliales suprayacentes<sup>22</sup>.

De entre todas las citoquinas, la principal promotora *in vitro* de la transformación de los queratocitos corneales en miofibroblastos, es el factor de crecimiento transformador  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ )<sup>21</sup>. El TGF- $\beta_1$  es el prototipo de citoquina fibrogénica, responsable de la activación y proliferación de fibroblastos con producción de fibrosis en los procesos de reparación tisular<sup>23</sup>. Fuentes potenciales de TGF- $\beta$  son las lágrimas, queratocitos y células epiteliales<sup>24</sup>. A nivel corneal, una reacción fibroblástica más agresiva se traducirá en un aumento de la opacidad estromal por mayor depósito de colágeno desorganizado y otras proteínas de la matriz extracelular<sup>25</sup>.

Nakamura *et al*, en un modelo experimental animal, detectan células estromales con características fenotípicas de los miofibroblastos y depósito de

colágeno tipo III en el estroma de las córneas en las que se había practicado una PRK y LASIK con desepitelización corneal y no en aquellas en las que se había realizado desepitelización aislada o LASIK sin lesión epitelial. Se detectan, por tanto, miofibroblastos en el estroma subepitelial sólo cuando se produce lesión epitelial y estromal conjuntas. Los autores postulan que un epitelio corneal íntegro es un factor importante para frenar la diferenciación de los miofibroblastos y la aparición de opacidad estromal en la respuesta reparadora de la córnea<sup>26</sup>.

En los casos de LASIK, el epitelio corneal central mantiene su integridad anatómica y funcional, lo cual puede explicar que sólo se detecta matriz extracelular propia de los miofibroblastos en el borde del "flap" pero no en el centro, es decir, en los únicos lugares donde el paso del microqueratomo pone en contacto epitelio dañado con el estroma subyacente. La ausencia de dicha matriz extracelular en el centro de la córnea explicaría el mantenimiento de la transparencia y la posibilidad de levantar el "flap" incluso años después de la cirugía tras vencer la resistencia que supone su parte más periférica<sup>27</sup>. En caso de producirse una desepitelización peroperatoria durante el LASIK, los marcadores propios de los miofibroblastos sí se detectan en la córnea, en estudios experimentales con conejos, lo cual apoyaría las observaciones clínicas de que las erosiones corneales en LASIK pueden curar dando lugar a opacidad con mayor o menor pérdida de agudeza visual<sup>26</sup>.

El proceso de curación de la córnea finaliza con la desaparición de los miofibroblastos de la córnea en un proceso que dura semanas o meses al mismo tiempo que se va produciendo una diferenciación-maduración del epitelio corneal<sup>19</sup>.

### **Crecimiento epitelial en la interfase**

Consiste en la presencia de opacidades en la interfase en forma de perlas o de huellas digitales normalmente con una línea fibrótica blanquecina de demarcación que corresponde a células epiteliales en crecimiento por debajo del "flap"<sup>28,29</sup>. Debe realizarse un diagnóstico diferencial con una queratitis intersticial inflamatoria, infecciosa o restos de mucosidad, sangre o elementos inorgánicos acantonados en la interfase.

Puesto que se ha demostrado en la mayoría de casos una continuidad con el epitelio superficial, parece claro que éste, cuando está suficientemente activado, puede invadir la interfase estromal (Figura 1)<sup>28</sup>. Dicho crecimiento epitelial en la interfase, teóricamente, también puede ser fruto de una siembra

epitelial por el paso del microqueratomo o del flujo retrógrado de células epiteliales al irrigar el lecho estromal tras la fotoablación<sup>30</sup>.

La mayoría de casos se detectan una o dos semanas después de la cirugía aunque pueden detectarse más tarde y su incidencia es mayor ante los siguientes factores de riesgo<sup>28,31</sup>:

1. perforaciones de colgajo ("buttonholes").
2. defectos epiteliales intraoperatorios.
3. retratamientos LASIK.
4. queratotomía radial previa.
5. traumatismo con perforación post-LASIK.

Wang y Maloney en una serie de 3.786 ojos operados de LASIK refieren en primera instancia 35 casos con endocrecimiento, mientras que de los 480 casos del mismo grupo que requirieron retratamiento, en 8 se produjo dicho crecimiento. De los 43 casos que en total (35+8) presentaron crecimiento epitelial en la interfase, en 14 casos (32%) existía el antecedente de erosión corneal peroperatoria<sup>28</sup>. Dastgheib *et al.* encontraron 8 casos de endocrecimiento de 13 casos (62%) con distrofia de la membrana basal que habían presentado defectos epiteliales tras el paso del microqueratomo<sup>11</sup>.

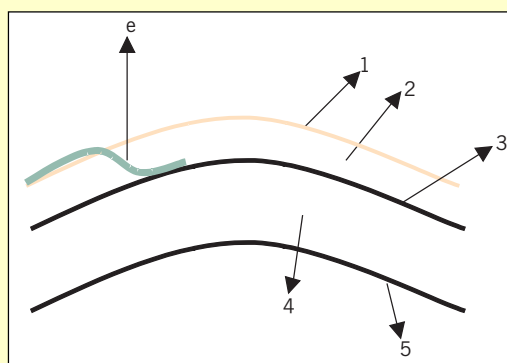
La evolución natural del epitelio en la interfase es variable, de forma que hay casos en que el crecimiento se estabiliza en la periferia del colgajo y no progresa, pero en otros, catalogados como de crecimiento epitelial agresivo o clínicamente significativo, dicho crecimiento afecta al área visual, produce lisis estromal ("melting") por aparición de actividad colagenolítica o provoca un astigmatismo irregular con pérdida de agudeza visual (Figuras 2 y 3)<sup>28,32</sup>. Machat ha clasificado el endocrecimiento epitelial según la severidad y progresión en 3 grados:

- Grado 1: endocrecimiento de 1-2 células de espesor limitado a 2mm del borde del "flap" y de carácter no progresivo. No requiere tratamiento.
- Grado 2: más grueso que el grado 1, sobrepasa al menos en 2mm el borde del "flap" y tiende a la progresión. Según el autor no requiere tratamiento urgente dentro de 2 a 3 semanas.
- Grado 3: endocrecimiento pronunciado que se evidencia clínicamente por áreas geográficas blancas, que corresponden a células epiteliales necróticas, sin línea de demarcación clara y con afectación del "flap" que presenta bordes enrollados y consistencia friable. Presenta gran tendencia a la progresión y a recidivar tras el tratamiento<sup>33</sup>.

El tratamiento debe ser enérgico cuando el crecimiento epitelial es agresivo o clínicamente significativo (grado 3 de Machat), consistiendo en un raspado del lecho estromal y de la cara estromal del colgajo, tras el levantamiento del mismo, con la finalidad de eliminar el epitelio y el tejido fibroso circundante. Se aconseja colocar una lente de contacto terapéutica para mayor adhesión del "flap" al estroma y así prevenir recidivas. Hay también autores que aplican sustancias como el alcohol etílico diluido o producen una ligera ablación con láser excimer del lecho estromal con buenos resultados<sup>30,32</sup>. En casos de recidiva del endocrecimiento parece funcionar la colocación de suturas en los lugares por donde el epitelio ha "fistulizado" además de extraer de nuevo el epitelio proliferado<sup>34</sup>.

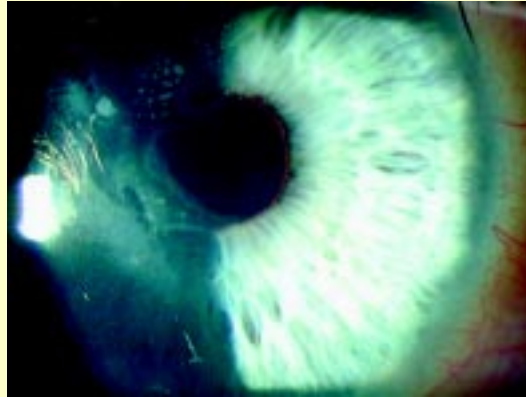
### Predictibilidad del resultado refractivo y regresión dióptrica

La predictibilidad del efecto corrector del láser excimer sobre la córnea a igualdad de energía aplicada y para una misma técnica quirúrgica depende de la variabilidad interindividual en la respuesta reparadora corneal. Por otro lado, dicha variabilidad puede depender también de la técnica quirúrgica empleada. Así, comparando la energía necesaria para tratar un mismo defecto refractivo se sabe que es superior cuando se practica una PRK con desepitelización mecánica previa, respecto a una PRK transepitelial (el epitelio es ablacionado directamente por el láser) debido a que existe una reacción reparadora superior cuando se realiza una desepitelización mecánica, respecto a cuando la lesión epitelial es fotoablativa (se ha sugerido que hay una menor

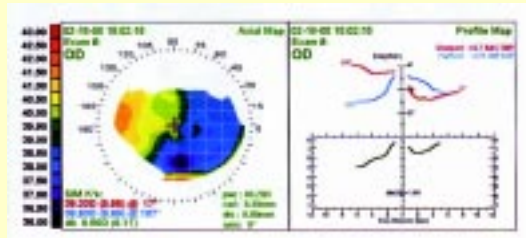


**Figura 1.** Esquema de una sección de la córnea tras tratamiento con LASIK. Se reflejan el epitelio<sup>1</sup>, el estroma del "flap"<sup>2</sup>, el espacio virtual de la interfase<sup>3</sup>, el lecho estromal residual tras la ablación<sup>4</sup> y el endotelio<sup>5</sup>. Se ha representado un endocrecimiento epitelial (e), el cual parece originarse en el epitelio corneal superficial<sup>1</sup> invadiendo la interfase<sup>3</sup> a modo de fístula

**Figura 2.**  
Endocrecimiento  
epitelial tras LASIK  
con afectación del eje  
visual



**Figura 3.**  
Topografía corneal que  
muestra astigmatismo  
irregular en un caso de  
endocrecimiento epitelial  
tras LASIK.  
Las Figuras 2 y 3  
son cortesía del  
Dr. Daniel Elies  
(Institut Oftalmològic  
de Barcelona)



liberación de citoquinas que estimularían dicha reacción reparadora) y, a su vez, ambas técnicas requieren una energía superior a la necesaria cuando se realiza un LASIK al no existir prácticamente, en esta última, lesión epitelial<sup>19</sup>.

La diversidad biológica en la respuesta reparadora es aún más crítica en el éxito de las técnicas de ablación personalizada ligadas a aberrometría y topografía ya que las modificaciones en la remodelación corneal realizadas para corregir posibles aberraciones ópticas, podrían quedar enmascaradas por dicha respuesta. Por esta razón, se han puesto en marcha iniciativas de investigación farmacológica para controlar el proceso reparativo corneal aunque es difícil controlar una fase de dicho proceso sin alterar la cadena de acontecimientos consecutivos<sup>19</sup>.

La regresión dióptrica consiste en la pérdida parcial del efecto corrector del láser excimer en la cirugía refractiva. Existe una mayor incidencia en casos de corrección de miopía alta especialmente con la técnica de PRK y normalmente va acompañada de nubécula ("haze")<sup>9</sup>. En estos casos se ha demostrado también la presencia de un engrosamiento epitelial (hiperplasia) que compensaría el efecto corrector del láser<sup>35</sup>.

Recientes estudios han demostrado que las interacciones epitelio-estroma y estroma-epitelio son fundamentales tanto para la formación del "haze" como de la hiperplasia epitelial. El "haze" está formado por una matriz extracelular rica en colágeno tipo III sintetizada por miofibroblastos que aparecen en la córnea por transformación de los queratocitos estromales situados a nivel subepitelial y no en el estroma posterior lo que sugiere una interacción entre el epitelio regenerado y los queratocitos subyacentes<sup>9,19,26</sup>. Por otro lado, el factor de crecimiento de los queratocitos (KGF) y el factor de crecimiento de los hepatocitos (HGF) liberado por los queratocitos activados favorecería la proliferación pero no la diferenciación del epitelio dando lugar a una hiperplasia epitelial<sup>19,35</sup>.

La hiperplasia epitelial medida como engrosamiento epitelial mediante ecógrafo de alta frecuencia se ha correlacionado con regresión dióptrica también en casos de LASIK, aproximadamente de 1 dioptría por cada 10 micras de engrosamiento<sup>36-38</sup>.

Para evitar este fenómeno, se aconsejan medidas preventivas para evitar lesiones epiteliales y estromales al mismo tiempo. Puesto que las citoquinas liberadas por el epitelio son las que desencadenan el proceso, debe minimizarse el riesgo de abrasión epitelial en la técnica de LASIK y también los "flaps" demasiado delgados que acercan el epitelio corneal a los queratocitos activados/miofibroblastos y a las citoquinas que producen<sup>19</sup>.

En caso de PRK, la abrasión epitelial no puede evitarse pero es preferible la aplicación directa del láser sobre la córnea sin desepitelizar respecto a la que se realiza tras desepitelizarla mecánicamente, puesto que se liberan menos citoquinas (se destruyen con el láser). Por otro lado, debería controlarse cualquier proceso inflamatorio corneconjuntival previo a la cirugía, ya que dicha inflamación podría provocar una respuesta reparadora más agresiva<sup>9,19</sup>.

Recientemente se ha introducido el láser de femtosegundos para crear "flaps" evitando los riesgos del microqueratomo en cuanto a producir desepitelizaciones y a la introducción de restos epiteliales y citoquinas en la interfase, aunque para levantar el "flap", con esta técnica, también se traumatiza, aunque sea mínimamente, dicho epitelio<sup>19</sup>.

Otra técnica de reciente descripción es la querotomileusis epitelial asistida con láser (LASEK) que consistiría en la disección del epitelio respecto al estroma subyacente después de debilitarlo con etanol diluido, recolocándolo después de la ablación con láser. Entre las ventajas de esta técnica están una disminu-

ción de los riesgos asociados al microqueratomo, un mayor margen paquimétrico corneal de corrección dióptrica respecto al que posee el LASIK y una menor incidencia de "haze" y regresiones dióptricas al conservar el epitelio respecto a la PRK<sup>39,40</sup>.

## Tratamiento médico de la disfunción de la superficie ocular

La superficie ocular es muy accesible a agentes nocivos externos pero también lo es para agentes terapéuticos que van a tener una gran biodisponibilidad en el epitelio cornealconjuntival.

La modalidad terapéutica que escojamos dependerá del tipo de disfunción de la superficie ocular de nuestro paciente, de la posible cronicidad de dicha afección y de su pronóstico visual. Especialmente en patologías crónicas, deberemos valorar la relación riesgo/beneficio del tratamiento que administremos<sup>41</sup>.

En los pacientes afectados de queratoconjuntivitis seca (KCS) intentaremos regenerar la superficie ocular y aliviar los síntomas del paciente inicialmente con lágrimas artificiales. En casos más severos puede ser necesaria la oclusión de los puntos lacrimales para aumentar el volumen del mar lacrimal de estos pacientes. Hay autores que proponen tratar los casos más severos de KCS en el síndrome de Sjögren (SS) con aplicaciones tópicas de suero autólogo para aportar componentes esenciales a la superficie ocular presentes en la lágrima natural como son factores de crecimiento o vitamina A. Estos pacientes también pueden beneficiarse de tratamientos tópicos antiinflamatorios<sup>42-44</sup>.

Una causa muy frecuente de ojo seco evaporativo es la blefaritis, cuya primera y principal indicación terapéutica es la higiene palpebral. Con la limpieza de la piel de los párpados, pestañas y borde palpebral, eliminamos (por arrastre mecánico) el exceso de sebo cutáneo, de ácidos grasos y gérmenes del margen palpebral. Si se realiza correctamente, la mayoría de pacientes refiere una mejoría en su sintomatología<sup>45,46</sup>.

Ante un agente infeccioso intentaremos identificar el germen causal y averiguar a que antimicrobianos es sensible; cuando no es posible, realizaremos tratamientos empíricos de amplio espectro<sup>47</sup>.

En la alergia ocular son tan importantes las medidas no farmacológicas, como el control de la exposición al antígeno y evitar el frotamiento ocular, como el tratamiento farmacológico. Dentro del arsenal tera-

péutico antialérgico, tenemos los corticoides, los antiinflamatorios no esteroideos, los antihistamínicos, los estabilizadores mastocitarios, la ciclosporina y la inmunoterapia desensibilizante<sup>48</sup>.

Ciertas lesiones del epitelio corneal pueden precisar una oclusión total o parcial y permanente o transitoria de la hendidura palpebral. Una alternativa a la oclusión palpebral es el uso de lentillas de contacto terapéuticas que son útiles en disminuir el dolor asociado a defectos y anomalías del epitelio corneal o en proteger dicho epitelio de agentes traumáticos como las pestañas<sup>49</sup>.

## Lágrimas artificiales

Es el tratamiento más usado en el ojo seco acuodeficiente<sup>42</sup>. En la película lacrimal normal encontramos tres componentes imprescindibles para mantener su estabilidad y propiedades funcionales que son el componente seroacuoso, mucinoso y lipídico. En la KCS, con frecuencia nos encontramos con que falla más de uno de estos elementos<sup>50,51</sup>. Así, es frecuente en estos pacientes que haya un déficit en la expresión de mucina en las células epiteliales de la superficie ocular, que en condiciones normales contribuye a la estabilidad de la película lacrimal<sup>52</sup>. Por otro lado, la composición de la secreción lacrimal es sumamente compleja y sus componentes activos se degradan rápidamente. Por todo ello, ninguna lágrima artificial puede reproducir exactamente la lágrima natural. Además, la producción de lágrima natural es virtualmente constante, mientras que las lágrimas artificiales se suministran intermitentemente<sup>53</sup>. El principal objetivo de la lágrima artificial es aumentar la humedad de la superficie ocular y su lubricación y disminuir la sintomatología del paciente afecto de ojo seco<sup>51</sup>.

Una lágrima artificial debe tener propiedades mucoadhesivas y una osmolaridad adecuada. Así, hay colirios que son ligeramente hiperosmolares, la mayoría son isoosmolares respecto a la lágrima natural y otros son hipoosmolares. Las lágrimas artificiales hipoosmolares pretenden diluir el mar lacrimal hiperosmolar del paciente con ojo seco y retornarlo a la normoosmolaridad fisiológica.

El agua representa el 98,3% de la lágrima natural. En las lágrimas artificiales alcanza entre el 97% y el 99%. En el agua se disuelven diversos electrolitos para ajustar la osmolaridad deseada de las lágrimas artificiales basadas en soluciones salinas<sup>53</sup>. Otros componentes que podemos encontrar son los mucílagos (metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, etc.), derivados del vinilo (polivinil al-

cohol, povidona, ácido poliacrílico), hialuronato sódico y lípidos (lanolinas, parafinas, vaselina).

Muchas lágrimas artificiales contienen aditivos; los que encontramos con más frecuencia son los taponnes y los conservantes. Los taponnes (bicarbonato, hidróxido sódico, fosfato/acetato, etc.) mantienen un pH adecuado de la lágrima artificial. Un pH ligeramente alcalino es más compatible con un buen funcionamiento del epitelio corneal que uno neutro o ligeramente ácido<sup>42</sup>. Entre los conservantes, destacan los compuestos de amonio cuaternario (cloruro de benzalconio, polyquad), alcoholes (clorbutanol), agentes mercuriales (timerosal) y otros. El timerosal causa poco daño epitelial pero frecuentemente produce reacciones de hipersensibilidad por lo que ha caído en desuso. El cloruro de benzalconio, en cambio, es especialmente tóxico para las células de la superficie ocular. Incluso al 0,001-0,0001% destruye las zónulas ocludentes ("tight junctions") de las células epiteliales<sup>41,53,54</sup>.

Tras la instilación tópica de fluoresceína sódica en la superficie ocular podemos objetivar cambios en la permeabilidad del epitelio corneal a dicha fluoresceína por fluorimetría. Estimamos así la función de barrera del epitelio corneal que se considera como un parámetro sensible de integridad anatómica y funcional. El epitelio corneal constituye una barrera de difusión que impide el paso de sustancias polares como el agua o iones y representa más del 50% del total de la barrera de difusión de la córnea sana. El sustrato morfológico de dicha barrera son las zónulas ocludentes que sellan los espacios intercelulares epiteliales. Así, el epitelio corneal participa en el mantenimiento de un estado de deshidratación del estroma corneal. Gobbels et al valoraron la permeabilidad del epitelio corneal de 40 pacientes con ojo seco antes y después de un tratamiento con 2 modalidades de lágrima artificial; Un grupo recibió polivinil pirrolidona (povidona) al 2% sin conservantes y otro con el conservante cloruro de benzalconio al 0,005%. Los pacientes se aplicaron el tratamiento entre 6 y 9 veces al día durante 6 semanas. Antes del tratamiento estos pacientes presentaban una permeabilidad epitelial 2,7 veces superior a un grupo de control sano. A las 6 semanas la permeabilidad epitelial de los pacientes que habían usado lágrimas sin conservante había disminuido significativamente (-37%;  $P < 0,001$ ) mientras que los que habían usado la lágrima con conservante habían aumentado su permeabilidad epitelial (+21%;  $P = 0,05\%$ ). Los autores concluyen que el uso de lágrimas artificiales en pacientes con ojo seco puede producir una mejoría objetiva de su superficie ocular, pero que dicho efecto puede verse contrarrestado por el cloruro de ben-

zalconio que pueda contener el colirio<sup>55</sup>.

Liu Z *et al.* usando técnicas de topografía corneal computerizada, muestran la predisposición de los pacientes afectados de ojo seco acuodeficiente a presentar una superficie corneal irregular, que según los autores puede contribuir a producir un déficit visual en estos pacientes, y como dicha superficie se regulariza con el uso de lágrimas artificiales<sup>56</sup>.

### Corticosteroides

Los corticosteroides tópicos son uno de los agentes farmacológicos más usados en la superficie ocular para controlar los signos y síntomas de la inflamación ocular y los procesos de reparación tisular.

Todas las células que responden a los corticosteroides contienen una proteína citoplasmática que pertenece a la superfamilia del receptor de esteroides y que se denomina GR. Tras la unión del corticoide con el GR se produce la activación del mismo. El GR activado puede producir sus efectos a través de una unión directa con el ADN o por interacciones proteína-proteína con factores de transcripción. Por este mecanismo, el efecto farmacológico del corticoide se produce a través de la modulación en la expresión de genes que codifican determinadas proteínas<sup>57</sup>.

Sus propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras los convierte en agentes terapéuticos de primer orden en el manejo de numerosas enfermedades. Los corticoides influyen en el tráfico de leucocitos circulantes e inhiben muchas funciones leucocitarias y de células inmunes accesorias. Suprimen la activación inmune de dichas células, inhiben la producción de citoquinas y otros mediadores de la inflamación y producen resistencias o interferencias en los efectos de dichas citoquinas<sup>57</sup>. Así, los corticoides suprimen tanto las manifestaciones iniciales de la inflamación (edema, deposición de fibrina, dilatación capilar, migración de leucocitos y actividad fagocítica), como las manifestaciones tardías entre las que destacan la proliferación de capilares y fibroblastos, la producción de colágeno y la cicatrización tisular<sup>58</sup>. La supresión genética de la fosfolipasa A2, ciclooxigenasa y de la sintetasa 2 del óxido nítrico por los glucocorticoides, inhibe la producción de metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y prostacilinas), del factor activador de las plaquetas y de óxido nítrico, que son moléculas clave en la respuesta inflamatoria<sup>57,59,60</sup>. Otra propiedad importante de los corticoides es la de tener un efecto inhibitorio sobre varias metaloproteinasas<sup>61</sup>.

Entre sus efectos adversos destacan la formación de

cataratas, el aumento de la tensión ocular, favorecer la proliferación de agentes infecciosos y producir inflamaciones de rebote cuando su administración se suspende bruscamente. Los corticoides también tienen la capacidad de interferir con los procesos de reparación tisular en su fase inicial inflamatoria, en la fase proliferativa y en la de remodelación tisular<sup>58</sup>.

A las 12-24 h de una lesión química de la córnea, aparece un infiltrado de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y mononucleares en la periferia corneal. Estas células acuden atraídas por productos quimiotácticos provenientes del epitelio y estroma corneal dañados. Los PMN inician su actividad fagocítica y liberan el contenido de sus gránulos que incluye potentes enzimas como la colagenasa del neutrófilo (MMP-8) y el factor activador del plasminógeno. Los PMN que llegan inicialmente pueden actuar como reclamo para sucesivas oleadas de infiltración celular inflamatoria. Tras la causticación, la producción de colágeno tipo I por los queratocitos es esencial para prevenir la ulceración corneal y su posible perforación. Dicha producción alcanza un máximo en el día 21 tras la lesión química. Los corticosteroides en dosis suficientes pueden interferir tanto la migración de los queratocitos en el área lesionada como la síntesis de colágeno y favorecer, por tanto, la perforación corneal. Pero estos efectos negativos no se hacen evidentes hasta que no se inicia el proceso de reparación corneal que suele ser aparente a partir del día 10-14. En los primeros días de evolución, en cambio, predominan los efectos beneficiosos de los corticoides previniendo el infiltrado inflamatorio y la inhibición de las enzimas colagenolíticas. A partir del día 7-10 se pueden disminuir y sustituir por esteroides progestágenos como la medroxiprogesterona que tiene un efecto mínimo sobre la reparación estromal y la síntesis de colágeno<sup>62</sup>. Philips *et al.* en un modelo animal de lesión corneal térmica comprobaron que la prednisolona tópica era efectiva en la prevención de la ulceración y perforación corneal cuando se administraba inmediatamente después de la agresión térmica pero no cuando se administraba con 6 días de retraso. Los autores postulaban que la prednisolona administrada después de la aparición del infiltrado celular inflamatorio era menos efectiva en prevenir la ulceración corneal<sup>63</sup>.

Marsh *et al.* tratan a una serie de pacientes afectados de KCS por SS con metilprednisolona tópica sin conservantes. A las 2 semanas de tratamiento constatan una mejoría en los síntomas de los pacientes y una mejora en los signos de KCS como son menor tinción corneal con fluoresceína y desaparición de la queratitis filamentosa. Los autores postulan que este efecto be-

neficioso de los corticoides tópicos se debería, en parte, a una inhibición en la producción y liberación de interleuquinas IL-1 $\alpha$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  que se hallan aumentadas en la conjuntiva de estos pacientes. Este efecto positivo de los corticoides tópicos, según los autores, apoyaría el concepto de que en la patogenia de la KCS intervienen mecanismos inflamatorios y proponen la administración de tandas cortas de corticoides tópicos para tratar las exacerbaciones clínicas de los pacientes con KCS por SS<sup>44</sup>.

Bourcier *et al.* en estudios recientes han constatado que las células epiteliales corneales y los queratocitos cultivados *in vitro*, presentan una respuesta bifásica a la administración de dexametasona en el medio de cultivo, con una estimulación de la proliferación celular con dosis bajas e inhibición de dicha proliferación si se administran dosis altas<sup>64,65</sup>.

### **Antiinflamatorios no esteroideos**

Los potenciales efectos adversos de los corticoides en el ámbito ocular, han conducido a buscar otros agentes antiinflamatorios que no presentan dichos inconvenientes. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) actúan inhibiendo la ciclooxigenasa que es la enzima que cataliza la síntesis de endoperóxidos cíclicos a partir del ácido araquidónico para formar, entre otros productos, prostaglandinas. Los efectos adversos más frecuentes de su administración tópica son la hiperemia conjuntival y síntomas de irritación ocular<sup>58</sup>.

En un estudio randomizado multicéntrico, el suprofen tópico se mostró eficaz en el tratamiento de los signos y síntomas de los pacientes afectados de conjuntivitis papilar gigante asociada al uso de lentes de contacto<sup>66</sup>.

El diclofenaco sódico produce una disminución reversible de la sensibilidad corneal en condiciones normales<sup>67</sup>. La administración tópica de diclofenaco al 0,1% reduce el dolor en pacientes que han sufrido una queratectomía refractiva por láser excimer o una erosión corneal traumática, sin retrasar la velocidad de curación epitelial<sup>68</sup>. En un estudio reciente el diclofenaco sódico se mostró eficaz en el tratamiento de la queratitis filamentosa de pacientes con KCS por SS secundario<sup>69</sup>.

### **Ciclosporina A**

La ciclosporina es un potente agente inmunosupresor de gran utilidad en el manejo de enfermedades asociadas a procesos inflamatorios de carácter

inmunológico. Produce una inhibición de la activación transcripcional de los genes de ciertas citoquinas, como la IL-2, y otros genes esenciales para la proliferación y funcionamiento de los linfocitos T. Además de este efecto principal sobre los linfocitos T, otros grupos celulares también se ven afectados por su acción farmacológica como son los linfocitos B, mastocitos y eosinófilos.

Se ha administrado de forma tópica, con buena tolerancia local y sistémica en diferentes enfermedades del polo anterior del ojo como en la alergia ocular severa, penfigoide ocular cicatricial, úlcera de Mooren, úlceras corneales estériles, queratoplastias penetrantes con riesgo de rechazo, KCS, etc<sup>70</sup>.

La ciclosporina A tópica es especialmente útil en formas de alergia ocular crónica y severa como pueda ser la queratoconjuntivitis vernal (QCV) y la queratoconjuntivitis atópica (QCA). Se ha mostrado eficaz como sustituto terapéutico de los corticoides tópicos o como coadyuvante, permitiendo disminuir la dosis de dichos corticoides y la posible aparición de sus efectos adversos.

Bleik *et al.* utilizaron ciclosporina tópica al 2% en pacientes afectados de QCV en un estudio randomizado a doble ciego y constataron una mejoría significativa en la hiperemia conjuntival, la queratopatía punteada superficial y en los puntos de Trantas, en el grupo que recibió la ciclosporina. En este estudio no se detectaron niveles de ciclosporina en sangre<sup>71</sup>. Hingorani *et al.* constatan la eficacia en la reducción de signos y síntomas en pacientes afectados de QCA severa y, usando técnicas inmunológicas, objetivan una disminución en la densidad de linfocitos T, una normalización de la tasa CD4/CD8 (que en condiciones normales es baja, y se eleva en situaciones de inflamación tisular), un descenso en la activación de los linfocitos T y una reducción en la expresión de citoquinas por los linfocitos T especialmente de la IL-2 y el interferón  $\gamma$  (INF $\gamma$ )<sup>72</sup>.

Brignole *et al.* detectan un aumento en la expresión de marcadores de la inflamación (como la expresión del antígeno HLA-DR en las células epiteliales conjuntivales) y de la apoptosis celular en la superficie ocular de pacientes afectados de KCS. Los autores constatan una disminución en la presencia de dichos marcadores tras tratar a estos pacientes con ciclosporina A tópica<sup>73</sup>. Turner *et al.* objetivan una disminución en la expresión de IL-6 en pacientes afectados de KCS tras la administración de ciclosporina tópica, dicha citoquina proinflamatoria suele encontrarse elevada en la conjuntiva de estos pacientes<sup>74</sup>. Recientemente se ha realizado un estudio randomizado multicéntrico sobre la eficacia y segu-

ridad de la administración de ciclosporina A tópica en pacientes afectados de ojo seco moderado y severo. La administración de ciclosporina a concentraciones de 0,1% y 0,05% se ha mostrado eficaz en la reducción de la queratitis punteada superficial y la tinción corneal con rosa de Bengala así como en la sintomatología ocular de estos pacientes. El tratamiento fue bien tolerado y los niveles sanguíneos detectados de ciclosporina fueron de menos de 0,16 ng/ml lo que evidencia una absorción sistémica del fármaco mínima<sup>75</sup>.

## Tetraciclinas

Las tetraciclinas forman una de las familias de antibióticos más antiguas. La primera de ellas, la clortetraciclina, fue obtenida en 1948 a partir del *Streptomyces aureofaciens* y por ello recibió el nombre de aureomicina. Son antibióticos bacteriostáticos pero a altas concentraciones pueden ser bactericidas en gérmenes susceptibles. Actúan inhibiendo la síntesis proteica bacteriana por una unión reversible con la subunidad ribosomal 30s<sup>76,77</sup>.

En oftalmología se usan, tanto por sus propiedades antimicrobianas como antiinflamatorias, en el tratamiento de la blefaritis, rosácea ocular, erosión corneal recidivante, tracoma, queratoconjuntivitis flictenular y otras<sup>78,79</sup>. La tetraciclina de administración sistémica más usada en oftalmología es la doxiciclina por su posología (la dosis recomendada suele ser de 100 mg/24h en una sola toma en tandas de semanas o meses de duración) y no ver interferida significativamente su absorción con la ingesta concomitante de alimentos<sup>78,80</sup>.

Las tetraciclinas producen un descenso significativo en la producción de enzimas extracelulares por la flora ocular como demuestra la disminución en la producción de lipasas cuando se añaden tetraciclinas al medio de cultivo de *Stafilococcus epidermidis* provenientes de pacientes afectados de blefaritis<sup>81</sup>. También interfieren en el funcionamiento de los neutrófilos inhibiendo su migración y degranulación, y suprimiendo su producción de radicales libres de oxígeno que son importantes mediadores de la inflamación<sup>82</sup>. Otro efecto de las tetraciclinas es el de inhibir las colagenasas. Se desconoce el mecanismo por el cual afectan la actividad de estas proteasas. Ciertas colagenasas, como las metaloproteinasas, dependen del Zn<sup>++</sup> y el Ca<sup>++</sup> para mantener su estructura y función. Se cree que dicha inhibición se debería a la capacidad de las tetraciclinas de unirse a iones divalentes, como el Ca<sup>++</sup>, y a una posible interacción con el Zn<sup>++</sup><sup>83,84</sup>.

El efecto adverso de aparición más frecuente tras la administración oral de tetraciclinas es el de las molestias gastrointestinales, que se pueden presentar en forma de náuseas, vómitos y diarrea<sup>85</sup>. En tratamientos largos esta es la causa más frecuente de abandono terapéutico. Estas molestias disminuyen con el uso de la doxiciclina, ingiriendo el comprimido con los alimentos en las comidas. Se recomienda ingerir dicho comprimido con abundante líquido para evitar que se adhiera a la mucosa esofágica. Con mucha menor frecuencia pueden aparecer fotosensibilidad y sobrecrecimiento micótico a nivel oral o vaginal. Por sus efectos sobre el crecimiento óseo y la coloración de los dientes, las tetraciclinas están contraindicadas en mujeres embarazadas o lactantes y en niños menores de 8 años de edad. Otros efectos adversos son de rara aparición como la hipertensión endocraneal benigna, degeneración grasa del hígado (más frecuente en embarazadas y niños), enterocolitis y otros<sup>77,80,86</sup>.

La doxiciclina oral puede ser útil para controlar la sintomatología de aquellos pacientes afectados de blefaritis con una respuesta terapéutica insuficiente a la higiene palpebral y es uno de los tratamientos sistémicos de elección en el manejo de la rosácea ocular<sup>78</sup>. El efecto terapéutico puede tardar días o semanas en apreciarse. En algunas series de pacientes con rosácea ocular tratados con doxiciclina, el efecto terapéutico máximo se produjo a los 3 meses del tratamiento<sup>85</sup>.

Varios estudios muestran la eficacia de la doxiciclina en combinación con corticosteroides tópicos en el tratamiento de las erosiones corneales recidivantes<sup>87</sup>. Toda lesión del epitelio corneal se repara gracias a procesos de síntesis y degradación de matriz extracelular y formación de complejos de adhesión celular. Algunas moléculas producidas por la córnea tras la lesión, como las metaloproteinasas de la matriz (MMP), degradan la matriz extracelular dañada antes de la reepitelización y la matriz provisional sintetizada en el proceso reparativo una vez dicha reepitelización ha concluido<sup>88</sup>. El epitelio corneal produce gelatinasa B (MMP-9) que es una enzima que participa en el proceso reparador que sigue a lesiones corneales mecánicas, térmicas o por láser, degradando la membrana basal de dicho epitelio<sup>89</sup>. La MMP-9 se ha detectado en las células basales del epitelio corneal en los bordes de úlceras corneales crónicas en humanos<sup>88</sup>. Esto sugiere que una excesiva producción o una inadecuada neutralización de estas proteasas puede tener consecuencias patológicas. Una posible explicación de los cambios patológicos observados en la erosión corneal recidivante sería la degradación de los complejos de adhesión

epiteliales por enzimas que digieran la matriz extracelular. Diversos estudios han mostrado altas concentraciones o una actividad incrementada de varios miembros de la familia de las metaloproteinasas, como la MMP-2 y la MMP-9, en pacientes con erosiones corneales recidivantes<sup>90,91</sup>. Estas enzimas tienen la capacidad de disolver la membrana basal epitelial y las fibrillas de anclaje del complejo de adhesión epitelial. Dursum *et al.* muestran la eficacia de un tratamiento combinado con doxiciclina y corticoides tópicos en el tratamiento de las erosiones corneales recidivantes y postulan que un mecanismo de acción de esta pauta terapéutica se debería a la capacidad de inhibir la actividad de ciertas MMP de ambos fármacos<sup>92</sup>.

En un modelo animal de lesión corneal química con hidróxido sódico, se constató que el 50% de las corneas lesionadas del grupo control presentaban defecto epitelial a los 14 días de evolución y sólo el 7% de las córneas de los animales tratados con 5mg/Kg/24h de doxiciclina. Además, las córneas lesionadas de los animales tratados con doxiciclina, presentaban una actividad colagenolítica menor que las del grupo control<sup>83</sup>. Por este efecto anticolagenolítico y antiinflamatorio las tetraciclinas sistémicas están indicadas en el tratamiento de las causticaciones químicas moderadas y severas de la superficie ocular<sup>62</sup>.

En un estudio *in vitro*, Sobrin *et al.* evidencian una reducción significativa en la actividad de la MMP-9 en los medios de cultivo de células epiteliales corneales humanas tratadas con doxiciclina. La MMP-9 es la principal gelatinasa producida por el epitelio corneal y se ha constatado que su concentración aumenta en la lágrima de pacientes afectados de rosácea ocular<sup>93</sup>. En otro estudio, también *in vitro*, Solomon *et al.* en un cultivo de epitelio corneal limbal humano objetivan una disminución en la expresión y bioactividad de la IL-1 $\beta$  al ser tratado dicho cultivo con doxiciclina. Los autores postulan que estos datos pueden explicar parcialmente los efectos antiinflamatorios de la doxiciclina y proponen que la doxiciclina puede ser un fármaco eficaz y de amplio espectro en el tratamiento de las enfermedades de la superficie ocular<sup>94</sup>.

## Tratamiento quirúrgico

Su objetivo es la reconstrucción de la superficie ocular cuando el tratamiento médico ha fracasado o no es suficiente. Con frecuencia, para que dicho tratamiento sea eficaz debe coadyuvarse con un tratamiento médico tópico o sistémico.

### **Cirugía oculoplástica palpebral**

Cuando la alteración funcional o mecánica del párpado es la responsable del trastorno a nivel de superficie ocular como en el caso de las triquiasis (orientación anómala de pestañas normalmente insertadas), las distiquiasis (pestañas de inserción anómala posterior a la unión mucocutánea debido a fenómenos displásicos), síndrome de flaccidez palpebral ("floppy-eyelid") o exposición por lagofthalmos, debe practicarse una depilación (mecánica, electrolisis, crioterapia, etc.), un acortamiento horizontal con o sin cantopexia o una tarsorrafia según el caso.

La tarsorrafia es también una técnica de elección en los casos de queratopatía neurotrófica severa, con marcada hipoestesia corneal y mala respuesta a tratamientos conservadores. A veces debe asociarse a otros procedimientos quirúrgicos como una queratoplastia o un trasplante de limbo para que aumenten las posibilidades de supervivencia de éstos.

### **Adhesivos tisulares**

La utilización de adhesivos sintéticos, como el cianoacrilato, está indicada en caso de perforaciones corneales para restaurar la integridad del polo anterior, a la espera de una reparación reconstructiva definitiva como puede ser una queratoplastia (lamelar o penetrante)<sup>95</sup>.

Técnicamente debe aplicarse la mínima cantidad de adhesivo para rellenar la solución de continuidad y así recubrir la perforación, colocando a continuación una lente de contacto para evitar el roce con el párpado.

Recientemente se ha introducido la utilización de adhesivos compuestos de fibrina que tendrían la ventaja respecto a los acrílicos de que al ser un producto biológico quedarían integrados en el propio estroma evitando la necesidad de retirarlo. Se puede usar en combinación con membrana amniótica para regularizar la superficie que queda sobre el adhesivo<sup>96</sup>.

### **Recubrimiento conjuntival**

Constituye un tratamiento quirúrgico clásico de numerosos procesos patológicos de la superficie ocular que se viene aplicando en oftalmología desde el siglo XIX. Se ha usado, entre otros, en defectos epiteliales y/o estromales persistentes como los asociados a enfermedades autoinmunes, úlceras neurotróficas, metahepáticas u ojo seco severo, en infecciones

persistentes, en perforaciones agudas corneales y en el tratamiento sintomático de la queratopatía bullosa. Con la aparición de nuevos antibióticos y antivirales, de inmunosupresores, de lentes de contacto terapéuticas, escudos de colágeno y el refinamiento de otras técnicas quirúrgicas, se ha convertido en una técnica usada con menor frecuencia pero que todavía tiene un espacio en el arsenal terapéutico moderno. Así, en casos con pobre potencial visual y alteración crónica de la superficie ocular, el recubrimiento conjuntival de la córnea supone una opción terapéutica más eficaz y con una estabilidad casi permanente a diferencia de lo que supone, por ejemplo, la aplicación de membrana amniótica. No obstante, esta última tiene la ventaja respecto al recubrimiento conjuntival de tener mejores resultados estéticos, evitar el riesgo de cicatrizaciones conjuntivales anómalas, simbléfaron e incluso ptosis que puede aparecer en los lugares de desplazamiento del colgajo conjuntival<sup>97</sup>.

El recubrimiento conjuntival puede ser parcial cuando su finalidad es recubrir sólo una parte de la córnea, por ejemplo en una úlcera, o total cuando se necesita cubrir la totalidad de la córnea, por ejemplo en una queratopatía bullosa. En caso de recubrimientos parciales se disecciona un colgajo conjuntival mono o bipediculado y preferiblemente libre de cápsula de Tenon que se sutura a la córnea patológica previamente desepitelizada. En caso de recubrimientos totales se disecciona la conjuntiva bulbar superior y tras peritomía de 360° se recubre toda la córnea.

La gran ventaja de este procedimiento es la estabilidad, pudiendo ser su efecto terapéutico incluso permanente, a pesar de que con el tiempo se observa un adelgazamiento progresivo del colgajo.

La mayor desventaja de recubrir la córnea con conjuntiva sería la disminución de agudeza visual, aunque Alino *et al.* refieren una mejoría de la agudeza visual en un 20% de los pacientes después de que con el tiempo se produzca un adelgazamiento del colgajo y una resolución del edema o de la infección corneal según los casos<sup>98</sup>.

El fenómeno del adelgazamiento del colgajo mejora el aspecto estético ocular, inicialmente malo dada la presencia de los vasos conjuntivales sobre la córnea, siendo otro de los inconvenientes de esta técnica.

De todas formas debe tenerse en cuenta que en todo momento se trata de un procedimiento reversible, pudiéndose practicar posteriormente otro procedimiento con finalidades óptico-refractivas como puede ser una queratoplastia.

### **Transplante de membrana amniótica humana**

La membrana amniótica es la capa interna del saco embrionario que recubre el cordón umbilical y la placenta obtenidos tras la gestación.

Está formada por una monocapa epitelial, una membrana basal rica en colágeno y una matriz estromal avascular y prácticamente acelular (presenta escasos fibroblastos). Se caracteriza por ser fina y semitransparente pero a su vez resistente (Figura 4).

Su uso inicial en oftalmología se remonta a 1940 cuando De Roth utilizó amnios fresco para una reconstrucción conjuntival<sup>99</sup>. No obstante su reintroducción se ha producido en la década de los 90 apareciendo un número creciente de indicaciones que el tiempo ha ido acotando en función del grado de éxito obtenido en cada una de ellas.

La forma conservada de la membrana amniótica (MA) humana a  $-80^{\circ}\text{C}$  sobre papel de nitrocelulosa ha demostrado ser la forma más eficaz y generalizada para el tratamiento de los trastornos de superficie ocular ya que al perder su viabilidad con la crioconservación, la monocapa epitelial tiene un riesgo prácticamente nulo de inducir rechazo a diferencia de lo que ocurriría con membrana amniótica fresca<sup>100</sup>.

Como todo injerto heterólogo, procedente de otro individuo, debe descartarse en el donante enfermedades infecciosas como las producidas por los virus de la hepatitis B y C, HIV y sífilis principalmente, dado su riesgo potencial de transmisión. Al tratarse de donantes vivos, el estudio serológico debe realizarse previamente a la extracción y también 6 meses después, para cubrir el período ventana de estas infecciones<sup>100,101</sup>.

En contacto con la superficie ocular se le atribuye los siguientes mecanismos de acción<sup>102,103</sup>:

#### a. de la Membrana basal

- facilita la migración y la adhesión de las células epiteliales sobre ella.
- Prolonga el tiempo de vida de las células madre epiteliales progenitoras ("stem-cells").
- Conserva el fenotipo de las células epiteliales.
- Libera factores de crecimiento (EGF, KGF, etc.) a partir de los restos de células epiteliales amnióticas.
- Inhibe la apoptosis de los queratocitos.

#### b. de la Matriz estromal

- atrapa las células inflamatorias que infiltran la superficie ocular como PMN, macrófagos, etc.

- inhibe la transcripción de TGF- $\beta$  y por ende la transformación de fibroblastos a miofibroblastos responsables de la síntesis de colágeno tipo III no fisiológico en la córnea humana y por tanto de fibrosis, leucomas o nubéculas.
- Libera inhibidores de proteasas.

Por todo ello sus propiedades clínicas son:

1. favorecer la epitelización manteniendo el fenotipo epitelial (corneal y/o conjuntival).
2. reducir la inflamación y por consiguiente la vascularización y la cicatrización.

La utilización quirúrgica de la membrana amniótica puede realizarse de dos maneras<sup>104,105</sup>:

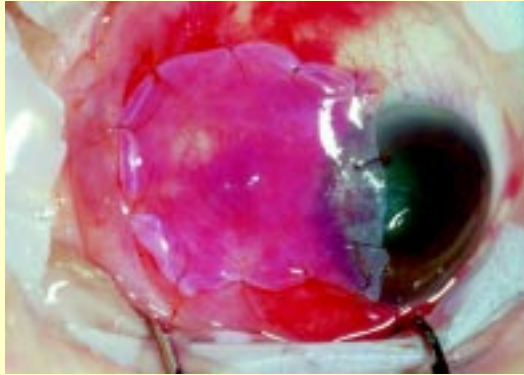
- Como Injerto propiamente dicho en el que se recorta la MA para que se adapte al defecto epitelial o úlcera estromal con la intención que se produzca una epitelización superficial de la MA. En este caso el injerto de MA queda integrado en el estroma.
- Como Parche en el que se recubre la córnea entera y amplias zonas de conjuntiva perilímbica. Se utiliza cuando los defectos epiteliales son muy grandes pero también encima de otro pequeño injerto de MA como protección. En estos casos la epitelización se produciría por debajo de la MA.

En el caso de implantarse como injerto la cara epitelial-membrana basal debe colocarse siempre hacia arriba para conseguir una buena epitelización sobre dicha membrana basal. Implantándola como parche se puede utilizar indistintamente la cara epitelial-membrana basal hacia arriba o hacia abajo ya que con ambas técnicas se han obtenido buenos resultados y ningún trabajo ha demostrado que una sea superior a la otra<sup>105,106</sup>. La cara epitelial se reconoce porque es deslizante y poco adherente a diferencia de la cara estromal que es más rugosa y pegajosa. Debe tenerse en cuenta que la MA se

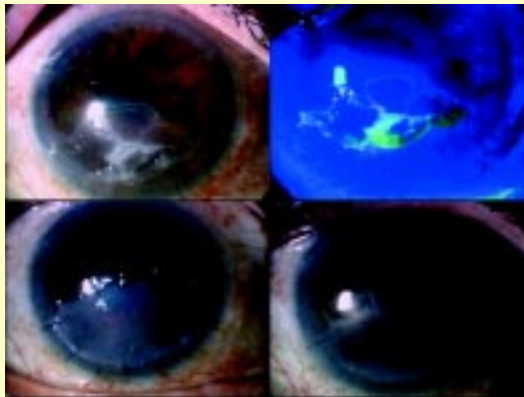


**Figura 4.**  
**Membrana amniótica humana**

**Figura 5.**  
Transplante de membrana amniótica tras extirpación de pterigium



**Figura 6.**  
Transplante de membrana amniótica en un ojo con degeneración corneal cálcica y baja AV potencial. Preoperatorio (imagen superior derecha e izquierda), al día siguiente de la cirugía (inferior izquierda) y a las tres semanas (inferior derecha)



reabsorbe en un período variable de tiempo. Cuando se utiliza como parche la reabsorción se produce aproximadamente entre 4 y 6 semanas, aunque en muchos casos la membrana acaba desprendiéndose antes de la disolución (a pesar de las suturas) por el efecto mecánico del parpadeo<sup>106</sup>. En estos casos utilizar una lente de contacto en el postoperatorio ayuda a mantener durante más tiempo el implante<sup>104,106</sup>. Cuando la MA se utiliza como injerto queda integrada en el estroma corneal donde permanece durante meses. En estos casos, la velocidad de reabsorción y los posibles mecanismos de reabsorción dependen del estado del estroma<sup>107</sup>.

Los trasplantes de membrana amniótica se han indicado a nivel corneal en defectos epiteliales persistentes, úlceras neurotróficas, queratopatía bullosa sintomática, degeneración nodular de Salzmann, queratopatía por radiación, descematoceles, deficiencias límbicas parciales, reducción del "haze" post-PRK, cirugía del pterigium, queratopatía calcárea,

etcétera (Figuras 5 y 6) (Tabla 1)<sup>108-113</sup>. Los porcentajes de éxito varían según los estudios, así por ejemplo el porcentaje de cierre de los defectos epiteliales persistentes es del 90% según Lee y Tseng y del 70% según Letko y Stechschulte<sup>104,114</sup>. En los descematoceles la MA sólo sería una solución transitoria previa a la queratoplastia<sup>105</sup>. En las queratopatías bullosas se produce un alivio sintomático temporal ya que normalmente recidiva al no solucionar la causa<sup>113</sup>.

Kruse FE *et al.* describen la técnica de transplante de multicapas de MA para recubrir defectos estromales profundos consiguiendo una resolución de dichos defectos, a las 4 semanas, en todos sus pacientes. Sólo en dos, de una serie once casos, el defecto recidivó; se trataba de dos casos de queratopatía neurotrófica<sup>115</sup>.

Se requieren ensayos clínicos controlados para demostrar en cada indicación una mayor eficacia de la MA respecto a medidas terapéuticas convencionales como la lubricación agresiva, lentes de contacto terapéuticas y la tarsorrafia. Por eso, en la actualidad, se recomienda el uso de MA cuando las otras medidas han fracasado<sup>104,105</sup>. En los casos de recubrimiento cuyo objetivo principal es el alivio sintomático, se puede lograr un resultado más permanente con los recubrimientos conjuntivales clásicos.

Las indicaciones a nivel conjuntival son los defectos conjuntivales importantes tras resecciones tumorales o de pterigion recidivante previniendo la formación de cicatrices y simblefaron (Tabla 1). Para la reconstrucción de fórnices en las enfermedades mucosinequiantes (penfigoide ocular y síndrome de Stevens- Johnson) puede resultar eficaz siempre que la conjuntiva circundante sea sana y con poca inflamación<sup>100</sup>.

Se ha comprobado el beneficio en fase aguda de las quemaduras térmicas y químicas por sus propiedades antiinflamatorias aunque debe tenerse en cuenta que si existe un déficit importante de "stem-cells", éste sólo se podrá corregir con un auto o alotransplante de células límbicas<sup>116,117</sup>.

### **Transplantes de limbo**

El epitelio corneal como todo epitelio escamoso tiene una tasa de autorenovación que tarda en completarse unos 5-7 días, y su masa celular se mantiene gracias a la capacidad proliferativa de las células progenitoras corneales ("stem-cells") situadas en el limbo esclero-corneal según se acepta actualmente<sup>2,18,118</sup>.

La disfunción o destrucción de estas “stem-cells” provocaría una incapacidad de mantener el equilibrio dinámico del epitelio corneal dando lugar bien a defectos epiteliales persistentes, bien a una invasión del epitelio conjuntival sobre la córnea (conjuntivalización) o a ambos. Este proceso patológico se define como insuficiencia de limbo y se puede clasificar según las causas que lo producen en primaria si existe una disfunción progresiva de las “stem-cells” y secundarias cuando existe una destrucción de las mismas por parte de un agente exógeno o endógeno conocido<sup>119-120</sup> (Tabla 2). Según la extensión de córnea a la que afectan se clasifican en insuficiencias límbicas parciales o totales<sup>2,121</sup>.

Cuando los tratamientos médicos conservadores con lágrimas artificiales, lentes de contacto terapéuticas y otros, no son suficientes para controlar los síntomas irritativos o los defectos epiteliales persistentes asociados a las insuficiencias de limbo, se requiere un tratamiento quirúrgico para mejorar la superficie ocular, especialmente cuando existe una baja agudeza visual por afectación del eje visual.

En casos de deficiencias de limbo parciales parece funcionar el desbridamiento mecánico del epitelio conjuntival sobre la córnea, siendo necesario repetirlo varias veces para permitir que el epitelio corneal procedente de las partes sanas de limbo cubra la totalidad de la córnea. Dua refiere con esta técnica, una permanencia estable del epitelio corneal en un período de seguimiento de 8 meses<sup>121-123</sup>.

En estos casos de déficit parcial de limbo, otros autores proponen recubrir con membrana amniótica el defecto superficial producido tras el desbridamiento de la zona conjuntivalizada de la córnea, lo cual favorecería el desplazamiento-adhesión de las células epiteliales corneales, al tener la membrana amniótica propiedades de restauración o sustitución de la membrana basal alterada en las insuficiencias de limbo<sup>124</sup>.

En los casos en los que las técnicas más conservadoras fracasan, o cuando la insuficiencia límbica es total debe recurrirse a un trasplante de células madre limbares o trasplante de limbo.

Desde que Kenyon y Tseng en 1989 publicaron el uso con éxito de autotrasplante limbar en casos de insuficiencia límbica total unilateral se han multiplicado los trabajos que aplican las técnicas de homotrasplante de células limbares. Se demostró la seguridad de la extracción parcial de limbo del ojo sano contralateral y su capacidad para reconstruir una superficie corneal dañada sin la presencia de vasos sanguíneos<sup>125</sup>. La técnica quirúrgica en casos de patología estrictamente unilateral consiste en la

---

Defectos epiteliales persistentes con o sin ulceración estromal

- Úlceras de características neurotróficas (postinfecciosas, metaherpéticas, asociadas a queratoplastia penetrante, etc.)
- Queratopatía bullosa sintomática
- Quertoconjuntivitis sicca
- Queratopatía por exposición
- Queratoconjuntivitis atópica (úlceras en escudo)
- Queratopatía en banda y calcárea
- Insuficiencia límbica parcial
  - Por radioterapia
  - Por quemadura química
  - Sd. Stevens-Johnson
  - Penfigoide ocular cicatricial
  - Enf. Injerto contra huésped

Reducir “haze” tras PRK

Reducir inflamación fase aguda de quemadura térmica o química

Reconstrucción de cicatrices conjuntivales y simblefaron

Reconstrucción de defectos conjuntivales amplios postquirúrgicos

Pterigium recidivante

---



---

**Primarias (asociadas a hipo o disfunción de las “stem-cells”)**

- aniridia
- queratitis asociada a déficits endocrinos múltiples
- inflamaciones periféricas (limbitis crónica)
- queratitis neurotrófica
- isquemia límbica
- displasia intraepitelial corneal

**Secundarias (pérdida del número de “stem-cells”)**

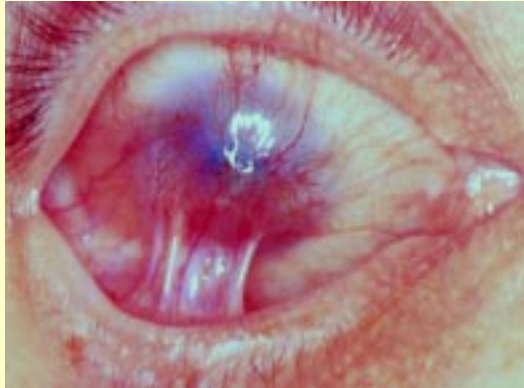
- daño químico
  - daño térmico
  - queratopatía inducida por lentes de contacto
  - crioterapia o cirugías límbicas repetidas
  - enfermedades inmunológicas (sd. Stevens-Johnson, penfigoide ocular cicatricial)
  - queratopatía post-radioterapia
  - queratopatía post-quimioterapia
- 

**Tabla 1.**  
**Situaciones clínicas en las que la membrana amniótica se ha mostrado útil<sup>108-113</sup>**

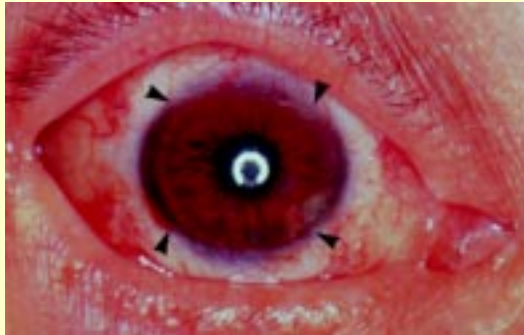
**Tabla 2.**  
**Causas de insuficiencia límbica<sup>119,120</sup>**

extracción de 2 franjas de limbo de unas 3 horas de amplitud en el sector superior e inferior del ojo adelfo de una profundidad aproximada de unos 0,2 mm desde unas incisiones arqueadas a 1-2 mm de limbo a nivel corneal hasta otra incisión arqueada a nivel escleral situada a 2-3 mm del limbo (Figuras 7 y 8)<sup>125,126</sup>. Una modificación de esta técnica consiste en englobar también unos 3-5 mm de conjuntiva bulbar a partir de su inserción limbar<sup>127</sup>. Con esta

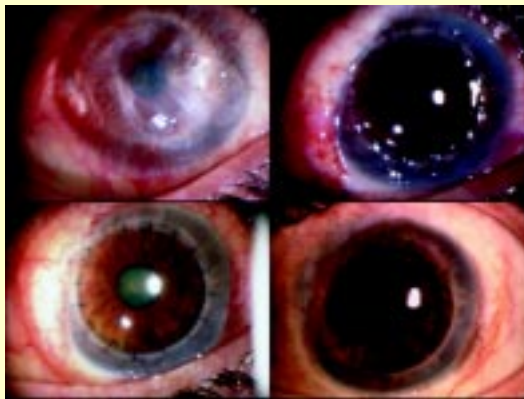
**Figura 7.**  
Lesión química de años de evolución con insuficiencia límica, pannus y simbléfaron, antes de realizar autotransplante de limbo



**Figura 8.**  
Paciente de la figura anterior tras recibir autotransplante de limbo. Se aprecian los dos injertos situados a las 6 y 12 horas (flechas) y la correcta epitelización de la córnea. Las Figuras 7 y 8 son cortesía del Dr. Martí Huguet (Hospital de Bellvitge)



**Figura 9.**  
Fracaso de la queratoplastia penetrante (QPP) realizada en ojo con causticación grave e insuficiencia de limbo de 360° en el que se practica alotransplante de limbo de 360° + QPP en el mismo tiempo quirúrgico. Preoperatorio (imagen superior izquierda), día después de la cirugía (superior derecha), a los dos meses (inferior izquierda) y al año (inferior derecha). Las figuras 6 y 9 son cortesía del Dr. Oscar Gris (Hospital de Sant Pau e Instituto de Microcirugía Ocular)



técnica se consigue una epitelización completa de la córnea a las dos semanas aproximadamente, manteniéndose estable a largo plazo (18,8 meses) en algunas series<sup>127</sup>.

Cuando el paciente rechaza el abordaje de su ojo sano o en casos de patología bilateral sólo cabe recurrir a un alotrasplante limbar procedente de do-

nante vivo o de cadáver. La técnica quirúrgica empleada con mayor frecuencia consiste en reseca del ojo donante de cadáver y luego implantar en el receptor, un anillo de 360° de tejido corneo-escleral superficial que podemos conseguir con la ayuda de dos trépanos de diámetro distinto, el menor sin sobrepasar el limbo del ojo donante y el mayor sobrepasándolo.

En todas las técnicas el ojo receptor debe prepararse mediante la resección de todo el tejido fibrovascular que recubre la córnea, el limbo y la esclera perilímica (Figura 9).

El mayor inconveniente de los aloinjertos es la necesidad de asociarla con inmunosupresión tópica y sistémica durante un tiempo indefinido dado que se trata de un tejido que por su localización debe revascularizarse y en la conjuntiva, igual que en la córnea periférica, existen células inmunológicamente activas. Algunos autores han propugnado la conveniencia de seleccionar donantes HLA-compatibles con lo cual se reduciría la necesidad de inmunosupresión<sup>128,129</sup>.

El éxito de estas técnicas, que se valora con la consecución de una superficie corneal correctamente epitelizada y mantenida durante un año por lo menos (lo cual supone viabilidad de las "stem-cells" transplantadas y no sólo de las células amplificadoras transitorias), es muy variable según los autores y depende en gran medida de la patología subyacente. Así, por ejemplo, según Tsubota *et al.* en casos de síndrome de Stevens-Johnson o penfigoide ocular el éxito no superaría el 40%, mientras que en agresiones químicas o térmicas el éxito puede llegar al 70% al año de seguimiento<sup>129</sup>. El porcentaje de éxito (superficie ocular estable) disminuiría con los años a pesar de mantenerse un tratamiento farmacológico inmunosupresor sistémico<sup>124</sup>.

Cuando el transplante de limbo debe asociarse a queratoplastia penetrante para restaurar la transparencia corneal hay autores que recomiendan practicarlas en un solo tiempo quirúrgico, mientras otros aconsejan realizar la cirugía en dos tiempos: en primer lugar realizar el transplante límico para restaurar la superficie ocular y, a los tres meses aproximadamente, el transplante corneal<sup>126,128,130</sup>. La insuficiencia límica es una de las causas de rechazo y por tanto de fracaso de las queratoplastias penetrantes ya que, el epitelio del donante acaba siendo reemplazado por el del receptor en un 100% de los casos al contener la córnea donante solamente células amplificadoras transitorias, células posmitóticas y células corneales diferenciadas por tratarse de tejido corneal central. Por tanto, si el limbo receptor

es anómalo acabará traduciéndose en problemas de epitelización a nivel del injerto donante, vascularización, infiltración de células inflamatorias y finalmente rechazo<sup>125,130</sup>.

Recientes descubrimientos genéticos y de biología molecular han agrupado distrofias corneales como la de Reis-Bückler, Thiel-Benke, granular, reticular y de Avellino en un mismo grupo etiopatogénico, al presentar la misma mutación del gen BIGH3 ubicado en el brazo largo del cromosoma 5 que condiciona depósitos de queratoepitelina, una proteína cuyo origen parece epitelial aunque acaba acumulándose en el estroma corneal. Las frecuentes recidivas a largo plazo de estas distrofias tras queratoplastia penetrante pueden actualmente atribuirse a la sustitución que sufre el epitelio donante por parte del receptor en todos los casos. La aportación de células límbicas libres de mutación mediante un trasplante de limbo podría disminuir dicha incidencia. No hay todavía datos concluyentes en este sentido<sup>130</sup>.

Para evitar los riesgos en los ojos sanos donantes en casos de autoinjerto de limbo se está iniciando la utilización de trasplantes de células limbares pluripotenciales ("stem-cells") cultivadas sobre membrana amniótica previa a la implantación en el ojo receptor. El procedimiento se inicia con la extracción de 1 mm<sup>2</sup> de epitelio límbico autólogo en el ojo donante, se deposita sobre un sustrato de membrana amniótica, se sumerge en un medio de cultivo durante 2 semanas, y finalmente permanece en condiciones aeróbicas durante 1-2 semanas más para que el epitelio se estratifique. El resultado es un epitelio estratificado de 4 o 5 capas muy parecido al epitelio corneal diferenciado y de una extensión suficiente para recubrir toda la superficie de la córnea. Normalmente se implanta en el ojo receptor sobre un sustrato de membrana amniótica<sup>131-133</sup>.

Pellegrini *et al.* lo han utilizado en dos casos de causticaciones oculares unilaterales consiguiendo un epitelio transparente y estable a los dos años de seguimiento<sup>134</sup>. Tsai *et al* también han conseguido buenos resultados con un menor tiempo de seguimiento<sup>131</sup>. Recientemente Koizumi, Inatomi *et al.* han utilizado con éxito un alotrasplante de "stem-cells" cultivadas procedente de ojo de donante cadáver en 2 pacientes (uno de ellos bilateral) afectados de síndrome de Stevens-Johnson en fase aguda siempre asociado con terapia inmunosupresora sistémica. La técnica utilizada para el cultivo es la misma que la descrita anteriormente para células autólogas y tras el trasplante los autores refieren unas córneas claras y lisas sin tinción con fluoresceína a las 48 horas, rápida disminución de la inflamación conjuntival y

unión del epitelio corneal donante con la conjuntiva receptora a los 5 días. El período de seguimiento con estabilidad de la superficie ocular supera los 6 meses<sup>133</sup>.

En la fase aguda del síndrome de Stevens-Johnson, el trasplante de un epitelio corneal cultivado se considera una buena opción terapéutica ya que al recubrirse totalmente la córnea en el acto operatorio se induciría una menor respuesta inflamatoria aumentando las posibilidades de éxito del injerto, las cuáles serían casi nulas en caso de practicar un trasplante de limbo convencional que precisa de varias semanas para epitelizar<sup>133,135,136</sup>.

El interrogante que surge en estas técnicas es saber cuántas "stem-cells" están siendo transplantadas entre las células epiteliales que han crecido en el cultivo y si existe un suficiente número de ellas para asegurar una viabilidad a largo plazo de ese epitelio corneal. Esto sólo sería posible averiguarlo si se llegara a identificar marcadores de superficie de las células madre ("stem-cells") límbicas<sup>132</sup>.

## Bibliografía

1. Wilson SE. Laser in situ keratomileusis-induced (presumed) neurotrophic epitheliopathy. *Ophthalmology* 2001;108(6):1082-7.
2. Tseng SCG, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. *Am J Ophthalmol* 1997;124:825-35.
3. Linna TU, Vesaluoma MH, Pérez-Santonja JJ, *et al.* Effect of myopic LASIK on corneal sensitivity and morphology of subbasal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;4:393-7.
4. Muller LJ, Pels L, Vrensen GF. Ultrastructural organization of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:476-88.
5. Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. Dry eye after Laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2001;132:1-7.
6. Battat L, Macri A, Dursun D, Pflugfelder SC. Effects of laser in situ keratomileusis on tear production, clearance, and the ocular surface. *Ophthalmology* 2001;108:1230-5.
7. Benítez-del-Castillo JM, del Río T, Iradier T, *et al.* Decrease in tear secretion and corneal sensitivity after in situ keratomileusis. *Cornea* 2001;20(1):30-2.
8. Gilbard JP. Dry eye, blepharitis and chronic eye irritation: divide and conquer. *J Ophthalmic Nurs Technol* 1999;18(3):109-15.

9. Yang HY, Fujishima H, Toda I, *et al.* Allergic conjunctivitis as a risk factor for regression and haze after photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmology* 1998;125:54-8.
10. Tsubota K, Nakamori K. Effects of ocular surface area and blink rate on tear dynamics. *Arch Ophthalmol* 1995;113:155-8.
11. Dastgheib KA, Clinch TE, Manche EE, *et al.* Sloughing of corneal epithelium and wound healing complications associated with laser in situ keratomileusis in patients with epithelial basement membrane dystrophy. *Am J Ophthalmol* 2000;130:297-303.
12. Ti SE, Tan DTH. Recurrent corneal erosion after laser in situ keratomileusis. *Cornea* 2001;20(2):156-8.
13. Shah MN, Misra M, Wihelmus KR, Koch DD. Diffuse lamellar keratitis associated with epithelial defects after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2000;26:1312-8.
14. Gimbel HV, Anderson Penno EE. *LASIK complications: Prevention and management*. Thorofare. SLACK Incorporated, 1999;59-90.
15. Li DQ, Tseng CG. Differential regulation of cytoquine and receptor transcript expression in human corneal and limbal fibroblasts by epidermal growth factor, transforming growth factor- $\alpha$ , platelet-derived growth factor B, and interleukin- $1\beta$ . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:2068-80.
16. Wilson SE, Liang Q, Kim WJ. Lacrimal gland HGF, KGF, and EGF mRNA levels increase after corneal epithelial wounding. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(10):2185-90.
17. Wilson SE, Mohan RR, Ambrosio R, Hong J, *et al.* The corneal wound healing response: cytoquine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res* 2001;20(5):625-37.
18. Schultz GS. Modulation of corneal wound healing. In: Krachmer JH, Maunis MJ and Holland EJ, eds. *Cornea*. St Louis: Mosby, 1997;183-98.
19. Wilson SE, Mohan RR, Hong JW, *et al.* The wound healing response after laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy: elusive control of biological variability and effect on custom laser vision correction. *Arch Ophthalmol* 2001;119(6):889-96.
20. Wilson SE, Kim WJ. Keratocyte apoptosis: implications on corneal wound healing, tissue organization, and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:220-6.
21. Jester JV, Barry-Lane PA, Cavanagh HD, *et al.* Induction of  $\alpha$ -smooth muscle actin expression and myofibroblast transformation in cultured corneal keratocytes. *Cornea* 1996;15(5):505-16.
22. Wilson SE, Liu JJ, Mohan RR. Stromal-epithelial interactions in the cornea. *Prog Retin Eye Res* 1999;18(3):293-309.
23. Li DQ, Lee SB, Tseng SCG. Differential expression and regulation of TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, TGF- $\beta$ RI, TGF- $\beta$ RII, TGF- $\beta$ RIII in cultured human corneal, limbal, and conjunctival fibroblasts. *Current Eye Res* 1999;19(2):154-61.
24. Zieske JD, Hutcheon A, Guo X, *et al.* TGF- $\beta$  receptor types I and II are differentially expressed during corneal epithelial wound repair. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1465-71.
25. Torres PF, Kijlstra A. The role of cytokines in corneal immunopathology. *Ocular Immunol Inflamm* 2001;9(1):9-24.
26. Nakamura K, Kurosaka D, Bisen-Miyajima H, Tsubota K. Intact corneal epithelium is essential for prevention of stromal haze after laser assisted in situ keratomileusis. *Br J Ophthalmol* 2001;85:209-213.
27. Kang SJ, Kim EK, Kim HB. Expression and distribution of extracellular matrices during corneal wound healing after keratomileusis in rabbits. *Ophthalmologica* 1999;213:20-4.
28. Wang MY, Maloney RK. Epithelial ingrowth after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2000;129:746-51.
29. Walker MB, Wilson SE. Incidence and prevention of epithelial growth within the interface after laser in situ keratomileusis. *Cornea* 2000;19(2):170-3.
30. Helena MC, Meisler D, Wilson S. Epithelial Growth within the lamellar interface after laser in situ keratomileusis (LASIK). *Cornea* 1997;16(3):300-5.
31. Sun CC, Chang SW, Tsai RR. Traumatic corneal perforation with epithelial ingrowth after laser in situ keratomileusis. *Arch Ophthalmol* 2001;119(6):907-9.
32. Haw WW, Manche EE. Treatment of progressive or recurrent epithelial ingrowth with ethanol following laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg* 2001;17(1):63-8.
33. Probst LE, Machat JJ. Endocrecimiento epitelial después del LASIK. En: Machat JJ, Slade SG, Probst LE, eds. *El arte del LASIK*. Thorofare. SLACK Incorporated, 1999;427-33.
34. Waring GO 3rd. Epithelial ingrowth after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2001;131(3):402-3.
35. Wilson SE. Molecular cell biology for the refractive corneal surgeon: programmed cell death and wound healing. *J Refract Surg* 1997;13(2):171-5.
36. Lohmann CP, Güell JL. Regression after LASIK for the treatment of myopia: the role of the corneal epithelium. *Semin Ophthalmol* 1998;13(2):79-82.
37. Lohmann CP, Winkler von Mohrenfels C, Reiaschl U *et al.* Screening of myopic LASIK patients with increased epithelial wound healing. *Ophthalmologie* 2001;98(5):460-5.
38. Spadea L, Fasciani R, Necozone S, Balestrazzi E. Role of the corneal epithelium in refractive changes following laser in situ keratomileusis for high myopia. *J Refract Surg* 2000;16(2):133-9.
39. Scerrati E. Laser in situ keratomileusis versus laser epithelial keratomileusis (LASIK vs LASEK). *J Refract Surg* 2001;17(2):219-21.
40. Lee JB, Seong GJ, Lee JH, *et al.* Comparison of laser epithelial Keratomileusis and photorefractive

- keratectomy for low to moderate myopia. *J Cataract Refract Surg* 2001;27(4):565-70.
41. Wilson FM. Reacciones tóxicas y alérgicas a los medicamentos oftálmicos tópicos. En: Grayson, ed. *Enfermedades de la córnea*. Madrid: Mosby 1992;632-48.
  42. Calonge M. The treatment of dry eye. *Survey Ophthalmol* 2001;45(suppl 2):S227-39.
  43. Tsubota K Goto E, Fujita H, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999;83:390-5.
  44. Marsh P, Pflugfelder SC. Topical nonpreserved methylprednisolone therapy for keratoconjunctivitis sicca in Sjögren's Syndrome. *Ophthalmology* 1999;106:811-6.
  45. Mc Culley JP, Shine WE. Changing concepts in the diagnosis and management of blepharitis. *Cornea* 2000;19(5):650-8.
  46. Smith RE, Flowers CW. Chronic blepharitis. *CLAO* 1995;21(3).
  47. Hwang DG. Bacterial conjunctivitis. In: Pepose JS, Holland GN, Wilhelmus KR, eds. *Ocular infection and immunity*. St Louis: Mosby, 1996:799-817.
  48. Smolin G. Ocular allergy. *Cornea* 1998;17(3):253-6.
  49. Smiddy WE, Hamburg TR, Kracher GP. Therapeutic contact lenses. *Ophthalmology* 1990;97:291-5.
  50. Pflugfelder S C, Solomon A, Stern M.E. The diagnosis and management of dry eye. *Cornea* 2000;19(5):644-9.
  51. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. Interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998;17(6):584-9.
  52. Pflugfelder SC, Tseng SCG, Yoshino K. Correlation of goblet cell density and mucosal epithelial membrane mucin expression with rose Bengal staining in patients with ocular irritation. *Ophthalmology* 1997;104:223-35.
  53. Murube J. Tratamiento substitutivo del ojo seco: lágrimas artificiales. En: Murube J, ed. *Ojo seco-Dry eye*. 73 Congreso de la SEO. Granada, 1997;189-206.
  54. Baudouin C. Iatrogenic disorders of the ocular surface. In: Hoang-Xuan T, Baudouin C, Creuzot-Garcher C, eds. *Inflammatory disease of the conjunctiva*. Stuttgart. Thieme, 2001;133-42.
  55. Gobbels M, Spitznas M. Corneal epithelial permeability of dry eyes before and after treatment with artificial tears. *Ophthalmology* 1992;99:873-8.
  56. Liu Z, Pflugfelder SC. Corneal surface regularity and the effect of artificial tears in aqueous tear deficiency. *Ophthalmology* 1999;106:939-43.
  57. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 1995;332:1351-62.
  58. Leibowitz HM, Frangie JP. Inflammation of the cornea and its management. In: Leibowitz, Warning, eds. *Corneal disorders*. Philadelphia: Saunders 1998; 501-42.
  59. Williams TJ, Yarwood H. Effect of glucocorticosteroids on microvascular permeability. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:539-43.
  60. Schleimer RP. Effects of glucocorticosteroids on inflammatory cells relevant to their therapeutic applications in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:559-69.
  61. Harkness KA, Adamson P, Sussman JD, Davies-Jones GA, et al. Dexametasone regulation of matrix metalloproteinase expression in CNS vascular endothelium. *Brain* 2000;123:698-709.
  62. Wagoner M. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol* 1997;41:275-313.
  63. Philips K, Arffa R, Cintron C. Effects of prednisolone and medroxyprogesterone on corneal wound healing, ulceration and neovascularization. *Arch Ophthalmol* 1983;101:640-3.
  64. Bourcier T, Borderie V, Forgez P. In vitro effects of dexamethasone on human corneal keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1061-70.
  65. Bourcier T, Forgez P, Borderie V. Regulation of human corneal epithelial cell proliferation and apoptosis by dexamethasone. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:4133-41.
  66. Wood T, Stewart RH, Bowman RW. Suprofen treatment of contact lens associated giant papillary conjunctivitis. *Ophthalmology* 1988;95:822-6.
  67. Aragona P, Tripodi G, Spinella R, et al. The effects of the topical administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs on corneal epithelium and corneal sensitivity in normal subjects. *Eye* 2000;14(Pt2):206-10.
  68. Donnenfeld ED, Selkin BA, Perry HD, et al. Controlled evaluation of a bandage contact lens and a topical nonsteroidal anti-inflammatory drug in treating traumatic corneal abrasions. *Ophthalmology* 1995;102:979-84.
  69. Avisar R, Robinson A, Appel I. Diclofenac sodium 0,1% versus sodium chloride 5% in treatment of filamentary keratitis. *Cornea* 2000;19(2):145-7.
  70. Holland EJ, Olsen TW, Ketchan JM. Topical cyclosporin A in the treatment anterior segment inflammatory disease. *Cornea* 1993;12(5):413-9.
  71. Bleick JH, Tabbara KF. Topical cyclosporine in vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 1991;98:1679-84.
  72. Hingorani M, Calder VL, Buckley RJ. The immunomodulatory effect of topical cyclosporin A in atopic keratoconjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:392-9.
  73. Brignole F, Pisella PJ, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6 month treatment with topical cyclosporin A. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:90-5.

74. Turner K, Pflugfelder SC, Ji Z, *et al.* Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. *Cornea* 2000;19(4):492-6.
75. Stevenson D, Tauber J, Brenda L. Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the treatment of moderate to severe dry disease. *Ophthalmology* 2000;107:967-74.
76. Joshi N, Miller D. Doxycycline revisited. *Arch Intern Med* 1997;157:1421-8.
77. Azanza JR, Honorato J, Mediavilla A. Tetraciclina, cloranfenicol y otros antibióticos. En: Florez J, Armijo JA, Mediavilla A, eds. *Farmacología humana*. Pamplona: Masson, 1997:1131-5.
78. Salamon SM. Tetracyclines in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 1985;29:265-75.
79. Culbertson WW, Huang A, Mandelbaum H, *et al.* Effective treatment of phlyctenular keratoconjunctivitis with oral tetracycline. *Ophthalmology* 1993;100:1358-66.
80. Martindale. Doxycycline. Parfitt, ed. Massachusetts: Pharmaceutical Press, 1999:202-3.
81. Dougherty J, Mc Culley JP, Silvary RE. The role of tetracycline in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:2970-5.
82. Gabler WL, Creamer HR. Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J Periodontol Res* 1991;26(1):52-8.
83. Perry H, Hodes LW, Seedor JA. Effect of doxycycline hyclate on corneal epithelial wound healing in the rabbit alkali-burn model. *Cornea* 1993;12(5):379-82.
84. Paemen L, Martens E, Norga K, *et al.* The gelatinase inhibitory activity of tetracyclines and chemically modified tetracycline analogues as measured by a novel microtiter assay for inhibitors. *Biochem Pharmacol* 1996;52(1):105-11.
85. Frucht-Pery J, Sagi E, Hemo I. Efficacy of doxycycline and tetracycline in ocular rosacea. *Am J Ophthalmol* 1993;116:88-92.
86. Keller H, Maurer P, Blaser J and Follath F. Miscellaneous antibiotics. In: Dukes MNG, ed. *Meyler's side effects of drugs*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992:637-42.
87. Hope-Ross MW, Chell PB, Kervick GN, *et al.* Oral tetracycline in the treatment of recurrent corneal erosions. *Eye* 1994;8(Pt4):384-8.
88. Fini ME, Parks WC, Rinehart WB, *et al.* Role of matrix metalloproteinases in failure to re-epithelize after corneal injury. *Am J Pathol* 1996;149:1287-1301.
89. Matsubara M, Zieske JD, Fini E. Mechanism of basement membrane dissolution preceding corneal ulceration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:3221-37.
90. Garrana RM, Zieske JD, Assouline M. Matrix metalloproteinases in epithelia from human recurrent corneal erosion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1266-70.
91. Alfonso AA, Sobrin L, Monroy D. Tear fluid gelatinase B activity correlates with IL-1  $\alpha$  concentration and fluorescein clearance in ocular rosacea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:2506-12.
92. Dursun D, Kim MC, Solomon A, *et al.* Treatment of recalcitrant recurrent corneal erosions with inhibitors of matrix metalloproteinase-9, doxycycline and corticosteroids. *Am J Ophthalmol* 2001;132:8-13.
93. Sobrin L, Liu Z, Monroy D, *et al.* Regulation of MMP-9 activity in human tear fluid and corneal epithelial culture supernatant. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1703-9.
94. Solomon A, Rosenblatt M, Li D, *et al.* Doxycycline inhibition of interleukin-1 in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:2544-57.
95. Honig MA, Rapuano CJ. Management of corneal perforations. En: Krachmer JH, Maunis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea*. St Louis: Mosby, 1997:1815-32.
96. Duchesne B, Tahi H, Galand A. Use of human fibrin glue and amniotic membrane transplant in corneal perforation. *Cornea* 2001;20(2):230-2.
97. Nichols B. Conjunctival flaps. En: Krachmer JH, Maunis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea*. St Louis: Mosby, 1997:1903-9.
98. Alino AM, Perry H, Kanellopoulos AJ *et al.* Conjunctival flaps. *Ophthalmology* 1998;105:1120-3.
99. Kim JC, Tseng SCO. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* 1995;14:473-84.
100. Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee S-H. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997;124:765-74.
101. Gris O, Güell JL, López-Navidad A, *et al.* Application of the amniotic membrane in ocular surface pathology. *Ann Transplant* 1999;4(3-4):82-4.
102. Shimmura S, Shimazaki J, Ohashi Y, Tsubota K. Antiinflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *Cornea* 2001;20(4):408-13.
103. Solomon A, Rosenblatt M, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC, Tseng SCG. Suppression of interleukin 1 $\alpha$  and interleukin 1 $\beta$  in human limbal epithelial cells cultured on the amniotic membrane stromal matrix. *Br J Ophthalmol* 2001;85:444-9.
104. Letko E, Stechschulte SU, Kenyon KR *et al.* Amniotic membrane inlay and overlay grafting for corneal epithelial defects and stromal ulcers. *Arch Ophthalmol* 2001;119:659-63.
105. Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol* 1999;83:399-402.
106. Gris O, del Campo Z, Wolley-Dod C, Güell JL, Bruix A, Calatayud M, Adán A. Amniotic membrane implantation as a therapeutic contact lens for the treatment of epithelial disorders. *Cornea* (aceptado para publicación).
107. Gris O, Wolley-Dod C, Güell JL, Tresserra F, Lerma E, Corcóstegui B, Adán A. Histological findings after amniotic membrane graft in the human cornea. *Ophthalmology* (en prensa).

108. Prabhasawat P, Barton K, Burkett O, Tseng SCG. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* 1997;104:974-85.
109. Anderson DF, Prabhasawat P, Alfonso E, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation after the primary surgical management of band keratopathy. *Cornea* 2001;20(4):354-61.
110. Ti SE, Tow SLC, Chee SP. Amniotic membrane transplantation in entropion surgery. *Ophthalmology* 2001;108:1209-17.
111. Sridhar MS, Sangwan VS, Bansal AK, Rao GN. Amniotic membrane transplantation in the management of shield ulcers of vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 2001;108:1218-22.
112. Peris-Martínez C, Menezo JL, Dáz-Llopis M, et al. Multilayer amniotic membrane transplantation in severe ocular graft versus host disease. *Eur J Ophthalmol* 2001;11(2):183-6.
113. Pires R, Tseng SCG, Prabhasawat P et al. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999;117:1291-7.
114. Lee S, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997;123:303-12.
115. Kruse FE, Rohrschneider K, Völcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 1999;106:1504-11.
116. Tseng SCG, Prabhasawat P, Barton K, et al. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998;116:431-41.
117. Meller D, Pires RT, Mack RJ et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology* 2000;107(5):980.
118. Kruse FE, Völcker HE. Stem cells, wound healing, growth factors and angiogenesis in the cornea. *Current Opinion in Ophthalmol* 1997;8:IV:46-54.
119. Puangsrichareon V, Tseng SCG. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 1995;102:1476-85.
120. Ellies P, Andersson DF, Topuhami A, Tseng SCG. Limbal stem cell deficiency arising from systemic chemotherapy. *Br J Ophthalmol* 2001;85(3):373-4.
121. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol* 2000;44:415-25.
122. Dua HS, Gomes JAP, Singh A. Corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol* 1994;78:401-8.
123. Dua HS. The conjunctiva in corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1407-11.
124. Anderson DF, Ellies P, Pires RTF, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2001;85:567-75.
125. Kenyon KR, Tseng SCG. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989;96:709-23.
126. Álvarez de Toledo J, Barraquer RI, Barraquer J. Transplantes de limbo: cirugía de la superficie ocular. *Oftalmología práctica* 1996;5:30-47.
127. Dua HS, Azuara-Blanco A. Autologous limbal transplantation in patients with unilateral corneal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2000;84:273-8.
128. Tsubota K, Toda I, Saito H, Shinozaki N, Shimazaki J. Reconstruction of the corneal epithelium by limbal allograft transplantation for severe ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1995;102:1486-96.
129. Tsubota K, Satake Y, Kaido M, et al. Treatment of severe ocular surface disorders with corneal stem-cells transplantation. *N Engl J Med* 1999;340:1697-703.
130. Dunaief J, Goldberg M. Corneal dystrophies of epithelial genesis. The possible therapeutic use of limbal stem cell transplantation. *Arch Ophthalmol* 2001;120:2.
131. Tsai RIF, Li LM, Chen JK. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med* 2000;343:86-93.
132. Cohen E. Use of autologous limbal epithelial cells cultured on amniotic membranes for unilateral stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 2001;119:123-4.
133. Koizumi N, Inatomi T, Suzuki T, et al. Cultivated corneal epithelial transplantation for ocular surface reconstruction in acute phase of Stevens-Johnson syndrome. *Arch Ophthalmol* 2001;119:298-300.
134. Pellegrini G, Traverso CE, Franzini AT et al. Long term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997;349: 990-3.
135. Kenyon KR, Rapoza PA. Limbal allograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1995;102(suppl):101-2.
136. Tan DTH, Ficker LA, Buckley RJ. Limbal transplantation. *Ophthalmology* 1996;103:29-36.