

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA**

**Estudio de los cambios morfológicos del epitelio  
corneal en un modelo animal de ojo seco**

GEMMA JULIO MORÁN

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de doctorado Organogénesis y Anatomía clínica y aplicada  
(Bienio 1998 / 2000)

**Estudio de los cambios morfológicos del epitelio  
corneal en un modelo animal de ojo seco**

Memoria redactada para optar al  
grado de Doctora en Farmacia por  
la Universidad de Barcelona  
presentada por Gemma Julio  
Morán

Conforme, la Directora de la memoria

Conforme del Director de la memoria

Dra. M<sup>a</sup> Dolores Merindano Encina  
(Departamento de Óptica y Optometría)  
(Universidad Politécnica de Cataluña)

Dr. Marc Canals Imohr  
(Departamento de Anatomía y embriología  
Humana)  
(Universidad de Barcelona)

Barcelona Marzo de 2006

# INDICE

<b>Motivación personal</b>	4
<b>1. Introducción</b>	7
1.1. El epitelio corneal	8
1.2. El síndrome de ojo seco	38
<b>2. Material y métodos</b>	61
2.1. Obtención y preparación de las muestras	62
2.2. Método de observación y morfometría	65
2.3. Métodos estadísticos	91
<b>3. Resultados</b>	100
3.1. Resultados morfológicos y datos morfométricos	101
3.1.1. Córneas control	101
3.1.2. Córneas con TAP* menor de 1 hora	112
3.1.3. Córneas con TAP entre 1 y 2 horas	121
3.1.4. Córneas con TAP entre 2 y 3 horas	129
3.1.5. Córneas con TAP mayor de 3 horas	136
3.2. Resultados estadísticos	144
3.2.1. Células control	146
Estadísticos descriptivos de las variables	147
Relaciones entre variables	149
Estudio por tamaños	152
Estudio del tono celular	159
3.2.2. Células en función del TAP	165
Estadísticos descriptivos de las variables	166
Relaciones entre variables	171
Tendencia central de las variables principales	178
Estudio por tamaños y TAP	181
Predicción del TAP (Regresión logística)	192
3.2.3. Zonas en función del TAP	210
Estadísticos descriptivos de las variables	212
Relaciones entre variables	219
Tendencia central de las variables principales	224
Predicción del TAP (Regresión logística)	228
<b>4. Discusión</b>	247
4.1. El epitelio corneal control	248
4.2. El epitelio corneal sometido a diferentes TAP	264
<b>5. Conclusiones</b>	281
<b>6. Bibliografía</b>	286

\*TAP: tiempo de apertura palpebral

## **MOTIVACIÓN PERSONAL**

El síndrome del ojo seco reúne a un conjunto de patologías generadas por alteraciones en la película lagrimal que ocasionan daños en el epitelio corneoconjuntival. Es un síndrome frecuentemente entre la población y representa un 30% de las consultas oftalmológicas (Galvez et al 1998).

Esta enfermedad, de etiología muy variada (inflamatoria, por déficit neurológico, nutricional, contaminación ambiental, mala adaptación de las lentes de contacto, etc.), se manifiesta, en sus inicios, con una sintomatología leve, casi imperceptible, que progresivamente puede convertirse en una seria amenaza para la visión.

A pesar del gran número de pacientes afectados, hay amplios aspectos de la enfermedad que son desconocidos, hecho que influye negativamente en el avance terapéutico. Actualmente, no existe ningún tratamiento curativo y, en consecuencia, el síndrome de ojo seco es una enfermedad degenerativa de carácter crónico.

La terapia paliativa, más frecuentemente utilizada, son las lágrimas artificiales. En el mercado existe una gran variedad de preparados, de diferente composición y forma farmacéutica, que tratan de paliar la sintomatología asociada. Sin embargo, no existen unas directrices claras que permitan a los profesionales individualizar la elección a la hora de pautar uno u otro producto.

De este modo, es el propio paciente quien decide, en última instancia y según criterios subjetivos de comodidad, si el tratamiento pautado es eficaz y tolerable. Ello hace que esta elección sea especialmente dura para aquellas personas con síndrome de ojo seco severo, que suelen sentirse incapaces de encontrar un preparado que les proporcione el adecuado bienestar y no les produzca irritaciones posteriores.

La falta de directrices consensuadas se debe, principalmente, a la ausencia de un criterio que evalúe objetivamente el estado del epitelio corneoconjuntival,

tejido que aparece deteriorado en el ojo seco. Por ende, el análisis del efecto de los fármacos sobre el epitelio se realiza, también, de forma subjetiva.

En un intento de subsanar esta situación, poco favorable para el avance terapéutico de la patología, diversos autores han establecido y utilizado diferentes criterios morfológicos de valoración epitelial mediante técnicas de microscopía electrónica de barrido (Burstein 1980b, Berdy et al 1992, Stroobants et al 2000, Kim et al 2002, Doughty 2003, Noecker et al 2004, Schrage et al 2004, Herrygers et al 2005). Criterios, todos ellos, semicuantitativos que utilizan la observación visual como único método de evaluación. De modo que, podrían ser válidos para alguna de las características celulares de fácil análisis (por ejemplo, las uniones intercelulares) pero se muestran claramente insuficientes para otras (por ejemplo, las microproyecciones), pues no son criterios inequívocos que establezcan con precisión ciertas diferencias. (Doughty 1990a)

En consecuencia, el epitelio corneal sano se define, bajo microscopía electrónica de barrido (SEM), como un mosaico heterogéneo de células con diferente reflejo a los electrones aunque no existe consenso sobre las características de los tres tipos morfológicos, establecidos en base a dicho reflejo (células claras, intermedias y oscuras). De nuevo, la baja sensibilidad de los criterios visuales proporciona una discriminación difícil y de dudosa eficacia, como lo demuestra la gran disparidad de resultados obtenidos en los diferentes estudios (Pfister 1973, Renard et al 1983, Rigal 1993, Doughty 1996, entre otros.)

Con este trabajo pretendemos establecer unos criterios de valoración del epitelio basados en la medición de ciertas características morfológicas celulares. Medición que se ha llevado a cabo utilizando técnicas de procesamiento digital de las imágenes obtenidas con SEM.

Ello nos permitirá alcanzar dos objetivos. Por un lado, caracterizar los diferentes tipos celulares del mosaico epitelial sano y, por otro, describir el patrón evolutivo del deterioro del epitelio corneal sometido a un modelo

experimental de ojo seco. Si lo conseguimos, complementaremos los conocimientos que existen actualmente sobre dicho tejido y su comportamiento frente a una situación adversa.

Por su parte, un avance en la sistematización objetiva de la descripción del epitelio corneal ayudará a mejorar las perspectivas terapéuticas de una enfermedad que afecta a muchos pacientes y que les acompaña durante toda su vida.