



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**Universitat Autònoma  
de Barcelona**

**Estudio de secuenciación del gen miR-184 en  
pacientes con ectasias corneales primarias.**

Estudio de secuenciación del gen  
miR-184  
en pacientes con ectasias corneales  
primarias.

Tesis doctoral, 2019

Programa de Doctorado

Cirugía y Ciencias Morfológicas

Departamento: Cirugía

**Paulina López Lizárraga**





**Universitat Autònoma de Barcelona  
Facultat de Medicina  
Departament de Cirurgia  
Doctorado en Cirurgia y Ciencias Morfológicas**

**Estudio de secuenciación del  
gen miR-184 en pacientes  
con ectasias corneales primarias.**

**Paulina López Lizárraga**

Tesis Doctoal

**Barcelona , diciembre de 2019**

**Director:**

Dra. M Teresa Sellarès i Fabrés

**Director y Tutor:**

Dr. Miguel Castilla Céspedes

## **Dra. M Teresa Sellarès i Fabrès**

Doctora en Medicina y Cirugía, profesora asociada de Oftalmología del Hospital Universitario Consorci Sanitari Parc Taulí,

Certifica que:

Paulina López Lizárraga, Licenciada en Medicina y especialista en Oftalmología, ha trabajado bajo mi dirección en el transcurso del proyecto de tesis doctoral titulado:

“Estudio de secuenciación del gen miR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias”.

Habiendo supervisado personalmente el trabajo efectuado, así como su redacción y presentación.

Por tanto, considero que el trabajo reúne las condiciones necesarias para ser defendido delante del tribunal estipulado para otorgar el grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad Autónoma de Barcelona.

Barcelona , diciembre de 2019



## **Dr. Miguel Castilla Céspedes**

Doctor en Medicina y Cirugía, profesor asociado de Oftalmología del Hospital Universitari Parc de Salut Mar,

Certifica que:

Paulina López Lizárraga, Licenciada en Medicina y especialista en Oftalmología, ha trabajado bajo mi dirección en el transcurso del proyecto de tesis doctoral titulado:

“Estudio de secuenciación del gen miR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias”.

Habiendo supervisado personalmente el trabajo efectuado, así como su redacción y presentación.

Por tanto, considero que el trabajo reúne las condiciones necesarias para ser defendido delante del tribunal estipulado para otorgar el grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad Autónoma de Barcelona.

Barcelona , diciembre de 2019



*A mi madre y a mi padre, sin ustedes nada sería posible.*

*A mis profesores quienes me han acompañado  
en el apasionante mundo de la Ciencia  
y en el Arte de la cura a los pacientes.*

# Agradecimientos

A mis directores y tutores del presente trabajo, la Dra. M Teresa Sellarès i Fabrès y al Dr. Miguel Castilla Céspedes.

A los jefes de Servicio del Hospital de Palamós el Dr. Joan Castellví, el Dr. Aníbal Gallardo y el Dr. Bashir el Hayek.

A mis compañeros del Servicio de Oftalmología, la Dra. Dolores Padillo, la Dra. Anna March, la Dra. Lourdes Peña y el Dr. Cordova.

Al servicio de óptica y enfermería del Hospital de Palamos.

Al resto de mis compañeros con los cuales hemos cruzado camino con la última intención del beneficio a los pacientes.

A mi familia, mi madre, mi padre y mis hermanas, gracias por siempre estar.

# Resumen

**Título:** Análisis mutacional del gen MIR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias.

**Directores:** Dra. Ma. Teresa Tsellares Fabrés. Dr. Miguel Castilla Céspedes

**Tutor:** Dra. Ma. Teresa Tsellares Fabrés.

**Fecha de inicio de la investigación:** Febrero de 2014

**Fecha de finalización de la investigación:** Noviembre 2019

## Introducción

Las ectasias corneales representan un grupo de deformaciones corneales que cursan con adelgazamiento progresivo que no se relaciona con un proceso inflamatorio o infeccioso. Dentro de estas se encuentran por orden de mayor a menor frecuencia el queratocono, la degeneración marginal pelúcida y el queratoglobos. El queratocono ha sido la entidad más estudiada, numerosos estudios han apoyado causas multifactoriales estableciendo un componente genético. La forma de transmisión más frecuentemente reportada es de tipo autosómico dominante.

La degeneración marginal pelúcida tiene un posible componente genético con poca evidencia a través de los estudios. Los factores a favor son los reportes de pacientes que presentan dos entidades de manera conjunta (tanto queratocono como degeneración marginal pelúcida), reportes de pacientes con diagnóstico de degeneración marginal pelúcida y familiares de primer grado con la misma enfermedad (alteraciones topográficas compatibles) y la gran similitud con el queratocono, éste último con un componente genético más sólido.

Hay estudios que han intentado identificar diferentes genes causales. Los resultados no han sido muy concluyentes y los estudios de ligamiento no han podido llegar a una conclusión específica.

Recientemente, se ha determinado un posible agente causal en estas afectaciones. Una mutación localizada en el gen miR-184 se ha establecido responsable del queratocono y catarata en una familia del norte de Irlanda, y responsable de sólo queratocono en un individuo caucásico de origen australiano y en otro individuo caucásico del Reino Unido. El gen miR-184 es un microRNA abundantemente expresado en la córnea y en el epitelio cristalino, que funciona como un regulador de los niveles de proteínas de dichos tejidos, así como de la apoptosis corneal en dichas estructuras. Se ha propuesto una mutación en este gen como potencialmente responsable del desarrollo de queratocono. Numerosos autores engloban a las ectasias como diferentes grados de manifestación clínica de una misma entidad, haciendo plausible un origen común en todas ellas.

### **Pregunta de investigación**

Existen mutaciones del gen miR-184 en un grupo de pacientes con ectasias corneales primarias?

### **Justificación**

El desarrollo de las ectasias corneales representa una importante disminución en la calidad de vida de los pacientes, la posibilidad de clasificar a las mismas dentro de una misma entidad a través de un mismo origen genético en común cambiaría significativamente el planteamiento respecto a la fisiopatología de dichas entidades. Este es el primer estudio que aborda las ectasias corneales desde un punto de vista genético como parte de una misma entidad.

## **Hipótesis de la Investigación**

Mutaciones en el gen MIR 184 se asocian con la presencia de ectasias corneales primarias.

## **Objetivo general**

Identificar mutaciones del gen miR-184 en pacientes con diagnóstico de ectasia corneal primaria.

## **Objetivos específicos**

Identificar variantes del gen miR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias.

## **Objetivos secundarios**

Realizar una búsqueda exhaustiva a modo de revisión sistemática respecto a lo publicado en la literatura de las características clínicas, demográficas, fisiopatológicas y genéticas de las ectasias corneales primarias.

## **Diseño del estudio**

Estudio descriptivo observacional en el que se buscó la presencia o ausencia de la mutación en el gen miR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias.

## **Material y métodos**

El análisis de genotipificación incluyó 200 muestras de casos esporádicos o familiares de queratocono, degeneración marginal pelúcida o queratoglobo, tanto unilaterales como bilaterales, familiares o esporádicos diagnosticados por criterios clínicos y topográficos. La institución que participó en dicho estudio fue el Instituto

de Oftalmología Conde de Valenciana en la ciudad de México. Previo consentimiento informado, se tomó una muestra de 2 mL de sangre a cada paciente y se extrajo el DNA genómico. El análisis del gen miR184 se realizó mediante amplificación por PCR y secuenciación nucleotídica directa. Las secuencias obtenidas de cada paciente se compararon con la secuencia silvestre de miR-184 en Ensembl ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)). Al principio del estudio se estableció que en caso de encontrar mutaciones, se excluiría la posibilidad de que correspondiera a polimorfismos benignos mediante el análisis de 200 alelos control y estudios in silico de patogenicidad de la mutación. Para la revisión sistemática del presente trabajo, la búsqueda de estudios se realizó a través de las revisiones Cochrane, y posteriormente se buscaron las publicaciones, con el objeto de identificar la mayoría de los estudios disponibles. Se buscó en el Registro Central de Cochrane de Ensayos Controlados y Medline. De igual manera, para la búsqueda se utilizó el descriptor MeSH utilizando las palabras clave *queratocono*, *degeneración marginal pelúcida*, *queratoglobo*, *ectasias corneales primarias*, *genética del queratocono*, *genética de la degeneración marginal pelúcida*, *genética del queratoglobo* y *fisiopatología de las ectasias corneales primarias*. Los criterios de selección fueron aquellos reportes que tuvieran una buena puntuación de acuerdo a la escala QUOROM para revisiones sistemáticas, y de igual manera estudios observacionales de cohorte, transversales y reportes de meta análisis con buenas puntuaciones en la escala de STROBE y MOOSE respectivamente.

### **Tamaño de la muestra**

De acuerdo a los distintos reportes en la literatura respecto al número de pacientes estudiados, se calculó una muestra total de 200 pacientes con diagnóstico de ectasia corneal primaria.

## **Variables del estudio**

Se midió una variable cualitativa nominal dicotómica de acuerdo a la presencia o la ausencia de la mutación en el gen miR-184.

## **Análisis estadístico**

Se determinó realizar el análisis estadístico mediante la prueba de  $\chi^2$  de acuerdo a la variable predictora dicotómica respecto a la presencia o ausencia de la mutación en el gen miR-184 en pacientes con el diagnóstico de ectasia corneal primaria tanto esporádicas como familiares.

## **Resultados y Conclusiones**

Posterior a la amplificación y secuenciación de ADN de un total de 200 muestras de ADN de pacientes de los cuales 169 presentaron el diagnóstico de queratocono, 30 de degeneración marginal pelúcida y uno de queratogobo, se procedió a buscar la presencia o ausencia de mutación en el gen miR-184. No se encontró dicha mutación en ninguno de los casos.

Hay fuerte evidencia científica que orienta a las ectasias corneales primarias como diferentes grados de manifestación de un mismo origen fisiopatológico en común, y que orienta de manera predominante al queratocono como una enfermedad con un componente genético significativo el cual se expresa posterior a la exposición a un factor ambiental desencadenante, de manera principal, el rascado ocular.

El gen miR-184 al ser el micro RNA más abundantemente expresado tanto en el epitelio corneal como el cristalino, y al ser un importante regulador de la apoptosis, mecanismo cuya mala regulación se ha asociado de manera significativa al desarrollo principalmente de queratocono, su mutación representa un fuerte candidato para explicar el desarrollo de ectasias corneales primarias. Se ha observado que aproximadamente el 60% de los genes codificantes de proteína

son regulados por micro RNAs. El no haber podido demostrar en este estudio una asociación causa-efecto de manera significativa entre una mutación en el gen miR-184 y el desarrollo de ectasias corneales primarias, orienta a que la heterogeneidad genética juega un papel importante para el desarrollo de las mismas, así como también la exposición a factores ambientales desencadenantes, lo cual a su vez orienta a que dichas entidades presentan un origen multifactorial. Son numerosos los estudios que han sido elaborados con la finalidad de encontrar un gen causal principalmente del queratocono, y que han intentado explicar la fisiopatología de las ectasias corneales primarias. A pesar de que varios estudios establecen a las ectasias corneales primarias como entidades que se encuentran dentro del espectro clínico de una misma entidad, es decir, con un mismo origen fisiopatológico en común y que orientan principalmente al queratocono como una entidad con un componente genético significativo, éste es el primer estudio que intenta explicar en las mismas un mismo origen desde el punto de vista genético. El desarrollo de nuevas tecnologías de estudios genéticos permitirá entender y tratar diversas patologías desde su origen fisiopatológico con la posibilidad de brindar consejo genético, tratamientos orientados y así mejorar el pronóstico de diferentes enfermedades hereditarias o multifactoriales cuya origen hasta la fecha permanece desconocido, y a los cuales se han dedicado diversos estudios, entre ellas las ectasias corneales primarias.

# Abstract

Primary corneal ectasies represent a group of corneal deformations that are characterized by progressive corneal thinning that is not related to inflammatory or infectious processes. Keratoconus, pellucid marginal degeneration and keratoglobus are included under the definition of primary corneal ectasies, while keratoconus being the most frequent among them. Due to the fact that keratoconus is the most frequent primary corneal ectasy, it has been more studied than the others, and there have been several studies that have established its origin in multifactorial components with an important genetic role in its pathogenesis. The most frequent form of genetic transmission reported has been the autosomic dominant.

Pellucid marginal corneal degeneration might have a genetic component in its physiopathology, but there is less evidence compared to keratoconus. Reports of patients that present both keratoconus and pellucid marginal degeneration in the same eye or both eyes, or patients diagnosed with pellucid marginal degeneration who have relatives with the same diseases or irregular forms of astigmatism, as well as its similarity in some stages of its presentation with keratoconus, orient to a possible genetic component in its physiopathology.

There are different studies that have tried to identify different causative genes. The results have not been very consistent, and have not led to solid conclusions.

Recently, a mutation localized in the gene miR-184, has been established as responsible of keratoconus as well as cataract in a family living in the north of Ireland, and as well as two cases of caucasian origin, one from Australia, and the other one from the United Kingdom.

The gene miR-184 is a microRNA that is abundantly expressed in the corneal and lens epithelium, and works as a regulator of the levels of proteins and apoptosis that takes place in those tissues. A mutation in miR-184 has been proposed as potentially responsible of keratoconus. There are several studies that establish primary corneal ectasies as different grades of clinical manifestation of a same pathological entity, making it plausible to establish a same origin as its main cause.

### **Question of Interest**

Can mutations in the miR-184 gene cause the presence of primary corneal ectasies?

### **Justification**

Due to the fact that the development of primary corneal ectasies significantly compromises the quality of life of patients, the possibility of classifying them as part of the spectrum of a same entity that has a same etiological origin would significantly change the perspective about their physiopathology. This is the first study that establishes primary corneal ectasies from a genetic point of view as part of the spectrum of a same entity.

### **Hypothesis**

Mutations in the gene miR-184 are associated with the presence of primary corneal ectasies.

### **General Objectives**

To identify mutations in the miR-184 gene in patients with the diagnosis of primary corneal ectasy.

## **Specific Objectives**

To perform an exhaustive review of the literature about the clinical and demographic characteristics of primary corneal ectasies, as well as their physiopathology and genetic origin.

## **Design of the study**

This is an observational descriptive study where the presence or absence of a mutation in the gene miR-184 was determined in patients with the diagnosis of primary corneal ectasies.

## **Material and Methods**

The genotypification analysis included 200 samples of sporadic or familiar cases of keratoconus, pellucid marginal degeneration or keratoglobus, either unilateral or bilateral that were clinically and topographically diagnosed. After signed informed consent, a 2mL blood sample was taken from the patients and genomic DNA was extracted. The analysis of the gene miR-184 was made by amplification with PCR and direct DNA sequencing.

The sequences obtained of each patient were compared to the wild type sequence of miR-184 in Ensembl ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)). At the beginning of the study, it was established that in case of a positive mutation, the possibility of it being a benign polymorphism would be excluded through the analysis of 200 control alleles with *in silico* studies oriented on the pathogenicity of the mutation.

In order to perform the systematic review of this study, the searching of literature was through investigation in Cochrane and further research of papers, with the intention of identifying the highest possible amount of published literature. The

research was made in the Cochrane Controlles Registry of Trials and Medline. To perform the research the Mesh terms that were used included *keratoconus*, *pellucid marginal corneal degeneration*, *keratoglobus*, *primary corneal ectasies*, *genetics of keratoconus*, *genetics of pellucid corneal marginal degeneration*, *genetics of keratoglobus*, and *physiopathology of primary corneal ectasies*.

The criteria of selection of the valid reports were according to the QUOROM scale for systematic reviews, and according to the STROBE and MOOSE scales for the observational and transversal cohort studies, and the reports of meta analysis respectively.

### **Sample Size**

According to the different reports in the literature, the sample calculated for this study was of 200 cases of patients with the diagnosis of primary corneal ectasies.

### **Research Variables**

A qualitative nominal dicotomic variable was measure in each case according to the presence or absence of a mutation in the gene miR-184.

### **Statistical Analysis**

The statistical analysis was determined with the  $\chi^2$  test according to the dicotomic predictable variable of the presence or absence of the mutation in the miR-184 gene in patients with the diagnosis of either familiar or sporadic primary corneal ectasies.

### **Results and Conclusions**

After the DNA amplification and sequencing of a total of 200 samples of patients with primary corneal ectasies that included 169 with keratoconus, 30 with pellucid

marginal corneal degeneration and one with keratoglobus, the presence or absence of mutation in the miR-184 gene was searched. No mutation was found in any of the samples.

There is strong scientific evidence that orients primary corneal ectasies as a manifestation of different grades of a same common physiopathologic origin and that predominantly orients keratoconus as a disease with a significant genetic component that is expressed after the exposition to an environmental factor that favors its presentation and development, predominantly corneal scratching.

The fact that the gene miR-184 is the most abundantly expressed RNA in the corneal and lens epithelium and the fact that it is involved in the apoptosis regulation, the latter's disregulation previously established as a cause of keratoconus, this gene's mutation represents a strong candidate to explain the development of primary corneal ectasies. Around 60% of the protein codifying genes, are controlled by micro RNAs. No mutation in miR-184 was demonstrated in any of the cases of primary corneal ectasies in this study. The latter orients to the fact that genetic heterogeneity (mainly observed in keratoconus) plays an important role in the development of these entities, as well as a multifactorial component mainly explained by the environmental factors that favor its evolution.

Even the fact that there are several studies that establish primary corneal ectasies as part of the spectrum of the same disease, and that mainly orient keratoconus as an entity with a significant genetic component, this is the first study that tries to explain a common genetic component in them.

The development of new technologies in genetic studies will lead to a better understanding and oriented treatment in order to bring a better prognosis of different hereditary or even multifactorial diseases that its origin and physiopathology has not been yet explained and for what numerous studies have been performed.



# Indice

## 1. Introducción

1.1.	Planteamiento del problema	4
1.2.	Pregunta de investigación	4
1.3.	Justificación	5
1.4.	Trascendencia	5
1.5.	Conveniencia	6
1.6.	Implicaciones prácticas	6
1.7.	Valor teórico	6
1.8.	Utilidad metodológica	7
1.9.	Hipótesis nula	7
1.10.	Hipótesis alternativa	7
1.11.	Objetivo general	7
1.12.	Objetivos específicos	7
1.13.	Diseño del estudio	8
1.14.	Materiales y Métodos	8
1.15.	Tamaño de la muestra	10
1.16.	Variables del estudio	11

1.17.	Análisis estadístico	11
<b>2.</b>	<b>Marco Teórico</b>	
2.1.	Objetivo	12
2.2.	Revisión Bibliográfica	12
2.3.	Conclusiones	13
<b>3.</b>	<b>Declaración de Conflicto de Intereses</b>	14
<b>4.</b>	<b>Antecedentes</b>	15
4.1.	Definición y Epidemiología	16
4.2.	Fisiopatología	17
4.3.	Biomecánica	21
4.4.	Estructura y Proteómica	22
4.5.	Histología	25
4.6.	Presentación Clínica	27
4.7.	Presentación clínica del queratocono	29
4.8.	Presentación clínica de la degeneración marginal pelúcida	30
4.9.	Presentación clínica del queratoglobo	30
4.10.	Diferencias y similitudes de las ectasias corneales primarias	31
4.11.	Genética	37
4.12.	miR-184	53

## 5. Descripción del Estudio

5.1. Hipótesis de la Investigación	61
5.2. Hipótesis nula	61
5.3. Hipótesis alternativa	61
5.4. Objetivo general	61
5.5. Objetivos específicos	62
5.6. Diseño del estudio	62
5.7. Materiales y métodos	62
5.8. Criterios de inclusión	62
5.9. Criterios de exclusión	62
5.10. Metodología	63
5.11. Variables del estudio	64
5.12. Análisis estadístico	64
5.13. Aspectos éticos	65
5.14. Financiamiento de la Investigación	65
5.15. Declaración conflicto de intereses	65

## 6. Resultados

6.1. Distribución de los casos según el tipo de ectasia corneal primaria	66
6.2. Antecedente hereditario	67
6.3. Distribución por género	68
6.4. Distribución por rango de edad	69
6.5. Antecedente de uso de lentes de contacto	70
6.6. Antecedente de enfermedades alérgicas	71
6.7. Antecedente de rasado ocular	72

6.8. Antecedente de erosiones corneales	73
6.9. Antecedente de hydrops corneal	74
6.10. Enfermedades sistémicas asociadas	75
6.11. Bilateralidad en los casos con queratocono	76
6.12. Capacidad visual de los casos con queratocono	77
6.13. Grado de severidad en los casos con queratocono	78
6.14. Equivalente esférico en los casos con queratocono	79
6.15. Signos clínicos más frecuentes en los casos con queratocono	80
6.16. Localización del adelgazamiento en casos con queratocono	81
6.17. Criterios clínicos en casos con DMP	82
6.18. Bilateralidad en los casos con DMP	85
6.19. Localización del adelgazamiento DMP	85
6.20. Equivalente esférico en los casos con DMP	86
6.21. Criterios clínicos para el diagnóstico de queratoglobos	87
6.22. Amplificaciones miR-184 mediante PCR	88
6.23. Secuenciaciones de ADN	94
<b>7. Análisis Estadístico</b>	<b>195</b>
<b>8. Discusión</b>	<b>198</b>
<b>9. Conclusiones</b>	<b>209</b>
<b>9. Bibliografía</b>	<b>211</b>
<b>10. Anexos</b>	<b>230</b>
Anexo 1: Tabla de variables de los pacientes	230
Anexo 2: Carta de consentimiento informado	231



# Glosario

**ECP:** Ectasias Corneales Primarias

**DMP:** Degeneración Marginal Pelúcida

**QC:** Queratocono

**QB:** Queratoglobos

**Ks:** Queratometrías

**AHF:** Antecedentes Heredofamiliares

**LC:** Lentes de Contacto

**EE:** Equivalente Esférico

**Enf:** Enfermedad



# 1. Introducción

## 1.1 Planteamiento del Problema

El desarrollo de las ectasias corneales primarias representa una importante disminución en la calidad de vida de los pacientes y es una de las tres causas principales de trasplante de cornea en países desarrollados. La posibilidad de clasificar a las mismas dentro de una misma entidad a través de un mismo origen genético en común cambiaría significativamente la forma de abordar a estos pacientes así como también a sus familiares.jkljkjkl

Se trata de un estudio relacionado con la determinación de una mutación genética que lleva al padecimiento de ectasias corneales en el micro RNA más abundantemente expresado en tejido corneal y cristalino el cual tiene un papel regulador importante de la apoptosis y por ende de los niveles de proteínas en estos tejidos que es el miR-184.

## 1.2 Pregunta de investigación

Existen mutaciones en el gen miR-184 en un grupo de pacientes con ectasias corneales primarias?

### **1.3 Justificación**

El desarrollo de las ectasias corneales representa una importante disminución en la calidad de vida de los pacientes, la posibilidad de clasificar a las mismas dentro de una misma entidad a través de un mismo origen genético en común cambiaría significativamente el planteamiento respecto a la fisiopatología de estas entidades. Este sería el primer estudio que abordaría las ectasias corneales desde un punto de vista genético como parte de una misma entidad.

### **1.4 Trascendencia**

Las ectasias corneales primarias representan una de las causas más frecuentes de baja visual en pacientes entre la segunda y quinta década de la vida, con una consecuente disminución significativa en la calidad de vida de los pacientes y se encuentran dentro de las tres principales causas de trasplante corneal en países desarrollados. Hay numerosos estudios que las ha establecido como diferentes formas de presentación de una misma etiología en común. A su vez, en las tres se ha podido establecer un componente genético dentro de la causa de su presentación, aunque no de forma sólida debido a la complejidad de la fisiopatología de dichas entidades.

La posibilidad de poder plantear el diagnóstico de un origen genético en común, podría facilitar el entendimiento de su fisiopatología con lo cual cambiaría la orientación de su abordaje y abriría la puerta a una conducta terapéutica distinta, con la posibilidad de tratar dichas entidades desde etapas tempranas y así poder mejorar el pronóstico visual de los pacientes. A su vez, en las formas sub clínicas, un estudio genético ayudaría evitar los factores de riesgo ambientales que se han asociado a su presentación en individuos genéticamente susceptibles. De igual manera, la posibilidad de poder determinar una clara asociación causa-efecto con

un gen en específico, brinda la opción de poder tratar a dichas entidades desde su origen fisiopatológico a través de la terapia génica.

## **1.5 Conveniencia**

A pesar de que hay numerosos estudios que plantean a las ectasias corneales primarias como diferentes formas de presentación clínica de una misma entidad, no hay estudios previos consistentes respecto a un posible origen genético en común de las. Éste es el primer estudio.

## **1.6 Implicaciones prácticas**

Este estudio abre la posibilidad de obtener un mayor fundamento para abordaje y tratamiento de las ectasias corneales primarias así como la facilidad de poder brindar mayor información respecto a su padecimiento tanto al paciente como a sus familiares.

## **1.7 Valor teórico**

Este estudio sería el primero en demostrar un posible origen de las ectasias corneales primarias estableciéndolas como distintas manifestaciones clínicas en diferentes grados dentro de una misma entidad en común sin embargo desde un punto de vista fisiopatológico ya que han sido numerosos los estudios que han sugerido la plausibilidad de este argumento. De igual manera, brindaría la posibilidad de poder determinar que las formas sub clínicas de las ectasias corneales primarias se encuentran dentro de la misma clasificación, con la posibilidad de brindar un tratamiento orientado desde etapas tempranas, así como el evitar factores de riesgo ambientales.

## **1.8 Utilidad metodológica**

La posibilidad de demostrar una mutación como parte de la fisiopatología de las ectasias corneales primarias, abre la posibilidad de cambiar el abordaje de los pacientes tanto en las formas clínicas como en sub clínicas mejorando de forma significativa el pronóstico visual y la calidad de vida tanto de los pacientes como de sus familiares.

## **1.9 Hipótesis nula**

No existe una asociación entre mutaciones en el gen miR-184 y la presencia de ectasias corneales primarias tanto esporádicas como familiares.

## **1.10 Hipótesis alternativa**

Existe una asociación entre mutaciones en el gen MIR-184 y la presencia de ectasias corneales primarias tanto esporádicas como familiares.

## **1.11 Objetivo general**

Identificar mutaciones del gen miR-184 en muestras de pacientes con ectasias corneales primarias tanto esporádicas como familiares.

## **1.12 Objetivos específicos**

- Identificar variantes del gen mIR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias.
  
- Determinar las características demográficas de los pacientes con ectasias corneales primarias específicamente:
  - Distribución por edad
  - Distribución por género

- Presencia o ausencia de antecedentes familiares
- Capacidad visual
- Refracción y equivalente esférico
- Signos clínicos
- Localización del adelgazamiento corneal

-Realizar una revisión exhaustiva de la literatura a modo de revisión sistemática respecto a los diferentes estudios reportados en la literatura de las ectasias corneales primarias en cuanto a distribución demográfica, características clínicas, fisiopatología y genética.

-Correlacionar las características demográficas, clínicas de los casos del presente estudio con los diferentes reportes publicado en la literatura.

### **1.13 Diseño del estudio**

Estudio descriptivo observacional en el que se busca la presencia o ausencia de la mutación en el gen miR-184 en pacientes con diagnóstico de ectasias corneales primarias esporádicas o familiares.

### **1.14 Materiales y métodos**

El análisis de genotipificación incluyó 200 muestras de sangre previo consentimiento informado de casos esporádicos o familiares con diagnóstico clínico y topográfico de ectasia corneal primaria. La institución que participó en dicho estudio fue el Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana en la ciudad de México. Previo consentimiento informado se tomó una muestra de 2 mL de

sangre a cada paciente de la cual se extrajo el DNA genómico. El análisis del gen miR-184 se realizó mediante amplificación por PCR y secuenciación nucleotídica directa. Las secuencias obtenidas de cada paciente se compararon con la secuencia silvestre de miR-184 en Ensembl ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)).

Se planteó la posibilidad de que en caso de detectar la presencia de mutaciones en el gen miR-184, se excluiría que correspondieran a polimorfismos benignos mediante el análisis de 200 alelos control y estudios in silico de patogenicidad de la mutación.

Para la realización de la revisión sistemática respecto a lo reportado en la literatura se revisaron las distintas publicaciones de ensayos clínicos controlados, también se escogieron estudios de cohortes históricas y series de casos.

Para la identificación y selección de estudios, se buscó tanto en los registros públicos de ensayos así como en los registros de los resultados de los ensayos. Se realizó la búsqueda en el Registro Central Cochrane de Ensayos Controlados (CENTRAL) así como también en MEDLINE, PubMed, EMBASE, LILACS, ARTEMISA, Scielo, comunicaciones de expertos y literatura gris. Se buscaron los diferentes estudios de los últimos 15 años.

No se hizo distinción respecto a los diferentes tipos de poblaciones así como tampoco se hizo distinción en cuanto al género. Se buscaron los estudios publicados en inglés. El grupo de edad a estudiar fueron pacientes con diagnóstico de ectasia corneal primaria de los 12 a los 50 años.

Las palabras clave según los términos MESH fueron “ectasias corneales primarias, queratocono, degeneración marginal pelúcida queratoblogo, genética de las ectasias corneales primarias, genética del queratocono, genética de la degeneración marginal pelúcida, genética del queratoglobo”.

## 1.15 Tamaño de la muestra

De acuerdo a los distintos reportes de número de pacientes usados en la literatura se calculó una muestra total de 200 pacientes con diagnóstico de ectasia corneal primaria tanto familiar como esporádica (Tabla 1).

**Tabla 1 . Número de casos con ECP de acuerdo a los diferentes reportes de ECP** <sup>63, 67, 81, 175, 176</sup>

Autor y año	Ojos	Tipo de ECP
Kranitz 2014	25	Queratocono
Chen 2016	16	Queratocono
Coskunseven 2009	38	Queratocono
Khattak 2015	50	Queratocono
Seyedian 2015	52	Queratocono
Lamy 2013	68	Queratocono
Tellouck 2016	109	Queratocono
Smiddy 1988	165	Queratocono
Suzuki 2017	57	Queratocono
Kim and Joo 2008	56	Queratocono
Asgari 2017	40	Queratocono
Choi 2012	94	Queratocono
Ramdas 2014	42	Queratocono
Fujimoto 2016	189	Queratocono
Yazar 2013	267	Queratocono
Kang 2010	129	Queratocono
Gokul 2017	43	Queratocono
Hamilton 2016	36	Queratocono
Ahn 2012	211	Queratocono
Naderan 2017	44	Queratocono
Salman 2013	22	Queratocono
Sahin 2008	79	Queratocono
Pinero 2011	114	Queratocono
Akmaz 2016	80	Queratocono
Kranitz 2012	40	Queratocono
Rechichi 2013	28	Queratocono
Sray 2002	218	Queratocono
Vinciguerra 2009	28	Queratocono
Viswanathan 2013	25	Queratocono

O' Brart 2011	24	Queratocono
Tuft 1994	5242	Queratocono
Wagner 2007	2418	Queratocono
Kymes 2008	2418	Queratocono
Wittig Silva 2014	48	Queratocono
Bilgin 2009	1004	Queratocono
Bubnova	104	Queratocono
Renesto	21	Queratocono
Lang	29	Queratocono
Wonneberger	80	Queratocono
Gupta	51	Queratocono
Or	40	Queratocono
Lee, 2015	40	Degeneración marginal pelúcida
Sridhar 2004	116	Degeneración marginal pelúcida
Shimazaki 2006	579	Degeneración marginal pelúcida
Kubaloglu 2010	16	Degeneración marginal pelúcida
Varsha 2015	50	Queratoglobos

### 1.16 Variables del estudio

Se midió una variable cualitativa nominal dicotómica de acuerdo a la presencia o ausencia de la mutación en el gen miR -184.

### 1.17 Análisis estadístico

De acuerdo a la variable predictora dicotómica respecto a la presencia o ausencia de la mutación en el gen miR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias tanto esporádicas como familiares, la prueba estadística para hacer su análisis estadístico fue la  $\chi^2$ .

## 2. Marco Teórico

### 2.1 Objetivo

Describir las ectasias corneales primarias de tanto de manera conjunta como individual, es decir al queratocono, degeneración marginal pelúcida y queratoglobos en cuanto a sus características demográficas, presentación clínica, fisiopatología, y genética.

### 2.2 Revisión Bibliográfica

Para la realización de la revisión sistemática respecto a lo reportado en la literatura se revisaron las distintas publicaciones de ensayos clínicos controlados, también se escogieron estudios de cohortes históricas y series de casos.

Para la identificación y selección de estudios, se buscó tanto en los registros públicos de ensayos así como en los registros de los resultados de los ensayos. Se realizó la búsqueda en el Registro Central Cochrane de Ensayos Controlados (CENTRAL) así como también en MEDLINE, PubMed, Scielo, comunicaciones de expertos y literatura gris. Se buscaron los diferentes estudios de los últimos 15 años. No se hizo distinción respecto a los diferentes tipos de poblaciones así como tampoco se hizo distinción en cuanto al género, ni si las ectasias corneales primarias (ECP) se presentaban de manera familiar, o esporádica. Se buscaron los estudios publicados en inglés. El grupo de edad a estudiar fueron pacientes con diagnóstico de ECP de los 12 a los 55 años. Las palabras clave según los

términos MESH fueron “ectasias corneales primarias, queratocono, degeneración marginal pelúcida queratoblogo, genética de las ectasias corneales primarias, genética del queratocono, genética de la degeneración marginal pelúcida, genética del queratoglobo”.

Para la selección de los estudios se procuró evitar al máximo la subjetividad y se procuró realizar la selección de ensayos clínicos aleatorizados y revisiones sistemáticas ya que estos presentan la mejor evidencia científica, aunque no se encuentran exentos de sesgos. Se utilizaron diferentes escalas de calidad, principalmente QUOROM y COSORT para valorar la literatura científica obtenida.

## **2.3 Conclusiones**

Las ectasias corneales primarias representan un grupo de entidades caracterizadas por adelgazamiento corneal progresivo de origen multifactorial, que se han establecido como parte del espectro fenotípico de una misma entidad en común. Se ha establecido un componente genético como parte del origen de las mismas, sin embargo debido a la complejidad de las vías bioquímicas que llevan a su presentación, a la heterogeneidad genética y a la variabilidad en la expresión genética de las mismas, hasta la fecha a pesar de los extensos estudios realizados, no se ha podido determinar una clara asociación causa-efecto como causa de su presentación. Hacen falta estudios genéticos de última generación para poder determinar el origen de su componente genético y así poder cambiar la orientación de su diagnóstico y tratamiento, con lo cual mejorará la calidad de vida de los pacientes se encuentran dentro de los grupos más frecuentes sometidos a trasplante de cornea con una limitación en la capacidad visual significativa en países desarrollados.

## **3. Declaración de Conflicto de Intereses**

Los investigadores del presente estudio no presentamos conflictos de intereses relacionados con compromisos personales de los mismos, así como tampoco relacionados con la financiación del proyecto o de cualquier otra índole.

### 3. Antecedentes

Las ectasias corneales primarias (ECP) se han reconocido y estudiado ampliamente desde hace más de 150 años<sup>1</sup>.

Dentro de éstas se encuentran el queratocono, la degeneración marginal pelúcida (DMP) y el queratoglobo. El queratocono (Online Mendelian Inheritance in Man OMIM 148300) es la ECP más frecuente<sup>2</sup> y la causa principal de trasplante corneal en países desarrollados<sup>3</sup>.

A pesar del impacto visual y social que las ECP presentan<sup>4,5</sup>, los mecanismos bioquímicos y fisiopatológicos que las originan aún son muy poco comprendidos<sup>6</sup> y aún no está claro si éstas son variantes del queratocono o diferentes condiciones dentro del espectro de las ECP<sup>7,8</sup> o incluso diferentes entidades no relacionadas.

La presentación más frecuente de estas entidades es la forma esporádica. Sin embargo hay evidencia significativa para el queratocono, y menor para la DMP y el queratoglobo que sostiene que dichas entidades podrían tener un origen tanto genético como ambiental; a la fecha son muy pocos los genes que se han podido identificar<sup>9</sup>.

Aún no es bien sabida la proporción de contribución de cada uno de estos factores (genético y ambiental) para su presentación, muy probablemente es variable.

De igual manera, no está claro si un adelgazamiento corneal generalizado sin ectasia o un astigmatismo irregular, son factores de riesgo para su desarrollo o si

esto corresponde a una expresión parcial de las mismas o a otros fenómenos que no se encuentran relacionados con los procesos de una ectasia corneal primaria.

Diferentes estrategias han sido encaminadas con el fin de entender el origen, fisiopatología y diagnóstico de estas complejas enfermedades con la esperanza de desarrollar terapias sofisticadas para su tratamiento.

#### **4.1 Definición y Epidemiología**

Las ectasias corneales primarias (ECP) se definen como una patología de adelgazamiento corneal progresivo en ausencia de inflamación con presentación bilateral y asimétrica.<sup>10</sup>

Dentro de éstas se encuentran el queratocono, la degeneración marginal pelúcida y el queratoglobo, siendo la más frecuente de éstas el queratocono.

La incidencia aproximada del queratocono es de 1 en 2000 habitantes en la población general<sup>11-13</sup> Estudios recientes han reportado que la prevalencia del queratocono es altamente variable, en Israel se ha reportado de 2340 por 100 000 habitantes<sup>14</sup>, en Rusia de 0.2 a 0.4 por 100 000 habitantes<sup>15</sup>, y se ha visto que en el Reino Unido la prevalencia del queratocono es 4.4-7.5 veces mayor en pacientes de origen asiático que en aquellos de origen caucásico<sup>16</sup>.

Dicha variabilidad en la prevalencia reportada muy probablemente se debe a las diferencias en los criterios de diagnóstico, a la edad de los grupos estudiados pero también puede ser un reflejo de las diferencias en la variabilidad genética en dichas poblaciones (Tabla 2).

La prevalencia global del queratocono se ha estimado entre 50 y 230 por 100,000 habitantes en la población general, con ambos géneros afectados por igual<sup>17</sup>.

Es importante mencionar que hay estudios en donde se ha observado que la prevalencia del queratocono en familiares de primer grado de casos índice se ha estimado que es de 33.4%, es decir, notablemente más alta que en la población en general<sup>18</sup>.

Las nuevas herramientas para el diagnóstico del queratocono cada vez presentan mayor sensibilidad por lo que esto muy probablemente llevará a un aumento tanto de su incidencia como de su prevalencia.

**Tabla 2. Incidencias reportadas en diferentes poblaciones**

<b>Autor</b>	<b>Localización</b>	<b>Edad</b>	<b>Tamaño de la Muestra</b>	<b>Prevalencia en 100 000</b>
Hof Stetter	Indianapolis, USA	1 – 79	13395	500
Tanabe	Muroran, Japón	10 – 60	2601	9
Jonas	Maharashtra, India	>29	4667	2300
Millodot	Jerusalem, Israel	18-54	981	2340
Ljubic	Macedonia	-	2254	6.8
Ziaei et. al.	Yazd, Iran	16 – 35	536	22.33
Hashemi	Mashed, Iran	22 – 29	1079	2.4%

Santiago	Francia	18 – 22	670	1190
Xu et al.	Beijing, China	50 – 93	3166	27
Hashemi et al.	Tehran	20 – 34	1073	26
Godefrooij DA	Holanda	10 – 40	4 millones	13.3
Mohammed Othman	Egipto	21 – 36	2116	170

Es importante tomar en cuenta que el queratocono es una enfermedad que se presenta a nivel mundial y la prevalencia es diferente entre diferentes grupos étnicos dentro de una misma área geográfica. Esto se ha visto fundamentado por numerosos estudios epidemiológicos que muestran que la etnicidad y los factores ambientales muy probablemente tienen un papel en la etiología de dicha enfermedad.

Hasta hace unos años se asumía que el queratocono afectada poblaciones de diferente raza por igual, sin embargo en diferentes estudios se ha visto que hay diferente incidencia de acuerdo a la etnicidad.

Por ejemplo, en Líbano se ha observado un alta prevalencia de 3.3%, en zonas rurales de la India de 2.3%, con una menor prevalencia en el norte de Dinamarca, Finlandia y Rusia.

La degeneración marginal pelúcida (DMP) es una entidad muy poco frecuente y su exacta incidencia y prevalencia no son conocidas. Sin embargo, se piensa que es posible que su incidencia se encuentre infraestimada, ya que dicha enfermedad frecuentemente se diagnostica como queratocono<sup>19</sup>.

De igual forma, al ser el queratoglobo una entidad mucho menos frecuente que la DMP, no hay reportes de su incidencia así como tampoco de su prevalencia.

## **4.2 Fisiopatología**

Las estrategias de investigación para determinar la patogénesis de estas entidades incluyen la histoquímica, biomecánica, enzimología, proteómica y la genética molecular. Estos estudios han aumentado nuestro conocimiento de dichas patologías sin embargo el entendimiento exacto de su origen y progresión aún sigue siendo limitado. Al ser la DMP y el queratoglobo mucho menos frecuentes de manera comparativa con el queratocono, dichas entidades se han estudiado en menor grado, por lo que en este apartado se describe principalmente la fisiopatología del queratocono.

Las alteraciones en la biomecánica corneal se han considerado como el primer evento que desencadena su desarrollo, con posterior adelgazamiento corneal, protrusión, aberraciones oculares y pérdida de agudeza visual de alto contraste<sup>10</sup>. Diferentes mecanismos de inflamación corneal podrían estar asociados con su fisiopatología, específicamente aquellos relacionados con las metaloproteinasas y otras enzimas reguladoras de la apoptosis corneal.

Se ha establecido que una predisposición genética en coexistencia con un segundo insulto ambiental podría llevar su desarrollo<sup>20</sup>. Los factores ambientales actualmente reconocidos tanto para el queratocono como para la DMP y el queratoglobo son el uso de lentes de contacto, el rascado ocular crónico, la queratoconjuntivitis vernal<sup>8</sup> y la exposición a la radiación ultravioleta. Las interacciones más comúnmente reportadas entre factores ambientales y genéticos en diferentes estudios han sido la exposición a la luz ultravioleta y el rascado ocular.

Muy probablemente es variable el grado de contribución tanto genética como ambiental<sup>9</sup>.

Se ha observado que la exposición a la luz ultravioleta como una de las principales causas del desarrollo de queratocono debido al daño oxidativo, y esto puede explicar la alta prevalencia en sitios geográficos de clima cálido y con gran exposición solar.

Después del inicio de la enfermedad, se presentan varios efectos del medio ambiente que posteriormente llevan a inflamación, degeneración y erosión, los cuales irán modificando el tejido corneal. Se ha estudiado cada paso de este proceso referente a la patogénesis, pero tal y como sucede con muchas enfermedades complejas es muy difícil distinguir entre asociación y causa-efecto<sup>21</sup>.

Aunado a lo anterior, se ha observado que un mecanismo lo suficientemente traumático a nivel corneal, o un insulto lo suficientemente fuerte que de igual manera lleve a una descompensación biomecánica corneal, también podría llevar a su presentación<sup>22</sup>. Es importante puntualizar que esto último se ha observado en común para el desarrollo tanto del queratocono, como de la DMP y el queratoglobos. Esto podría explicar el desarrollo de ectasias corneales post cirugía refractiva<sup>23-25</sup>.

Un factor de sesgo importante ha sido que en la mayoría de los estudios se han estudiado pacientes con enfermedad relativamente avanzada donde es difícil distinguir entre mecanismos primarios de la enfermedad y efectos degenerativos. Existe la posibilidad de que la apariencia clínica de las ECP incluyan fenocopias que deriven de efectos ambientales o genéticos. Puede ser que las ECP sean la vía común final de muchos procesos patológicos diferentes.

### 4.3 Biomecánica

Tal como se ha mencionado previamente, numerosos estudios han establecido que el primer cambio para el desarrollo de una ECP, es un cambio en la biomecánica corneal<sup>16</sup>.

El estroma corneal se encuentra predominantemente formado por agua y colágeno tipo I. En condiciones normales, las fibras de colágena se encuentran paralelas la una con la otra en la lámina las cuales se encuentran a su vez paralelas a la superficie de la cornea<sup>26</sup>.

El tejido corneal en el queratocono es menos rígido que el tejido normal<sup>27</sup>.

De forma adicional, las fibras de colágeno en la cornea normalmente se alinean en dirección ortogonal, es decir superior-inferior y nasal-temporal<sup>28,30</sup>. Este arreglo se ha encontrado marcadamente alterado en la región apical de corneas con queratocono avanzado. También se ha observado evidencia de la redistribución de la láminas de colágeno lejos del ápice del cono con una remarcada variabilidad en los patrones de distribución de la colágena entre casos individuales<sup>31,32</sup>.

El adelgazamiento estromal es un hallazgo característico del queratocono y se ha visto que se encuentra ocasionado por una reducción en el número de láminas de colágena dentro de la región afectada<sup>33</sup> y no por compactación de las fibras de colágena dentro de cada lámina individual<sup>34</sup>.

Es incierto el mecanismo exacto que lleva a dicho adelgazamiento estromal, hay quienes lo han atribuido a la degradación por las enzimas proteolíticas<sup>35,36</sup>, o a una disminución en los niveles de inhibidores de la proteasa<sup>37</sup>.

De igual manera se ha propuesto que la colágena no se pierde sino que simplemente se redistribuye dentro de la cornea mediante separación entre las láminas<sup>38</sup>.

Este mecanismo se encuentra basado en la observación de una reducción en la adhesión /entrelazamiento interlaminar<sup>39</sup>, el entrelazamiento laminar en el ápice de las corneas con queratocono y una reducción en el número de las inserciones lamelares a la membrana de Bowmann<sup>40,4</sup>. Estudios de difracción de rayos X proveen una de las evidencias más contundentes que apoyan esta teoría.

Sin embargo, en las capas profundas del estroma corneal suele haber un arreglo normal de las fibras de colágena.

Basados en estos hallazgos, Meek y coautores propusieron que la pérdida de la integridad estructural en el queratocono es ocasionada por la presencia de queratocitos y proteínas de matriz anormales así como por un aumento en la proteólisis, lo cual lleva a un desarreglo de las láminas de colágena en su longitud, y un desarreglo de su fijación en el limbo con una apertura de sus bifurcaciones laminares<sup>19,42</sup>. Esta teoría está basada en los resultados observados en la cornea posterior a ser sometida a cross linking en donde se evidenció un aumento en la unión de las fibras de colágeno y un aumento en la resistencia del estroma a la lisis enzimática con una mayor cohesión entre las fibras de colágeno y la matriz no colagenosa<sup>43</sup>.

Aún está por determinar la base molecular de la anomalía en la interacción en la matriz de colágena.

#### **4.4 Estructura y Proteómica**

Una de las primeras teorías que se ha establecido para explicar la liberación de enzimas proteolíticas y la consecuente degradación de colágena y adelgazamiento estromal, ha sido que éstas son liberadas como consecuencia de un insulto primario que posteriormente lleva a una anomalía epitelial<sup>44</sup>.

La afección de las células epiteliales en el proceso de la enfermedad está evidenciada por la observación de irregularidades estructurales y degeneración en el epitelio corneal que se ha visto progresan con la enfermedad<sup>45</sup>. Sin embargo, hay evidencia de cambios estructurales mayores en otras capas corneales tales como rupturas en la membrana de Bowmann<sup>44,46</sup>.

Los cambios menores en el pleomorfismo celular del endotelio corneal son principalmente debido a la hipoxia inducida por el uso de lentes de contacto o el estrés mecánico<sup>47</sup>.

Hay evidencia conflictiva respecto a las anomalías bioquímicas en el queratocono incluyendo un aumento, disminución o niveles normales de proteoglicanos<sup>48-50</sup>.

Se ha observado que el proteoglicano queratán sulfato se encuentra estructuralmente alterado en corneas de pacientes con queratocono<sup>42</sup>. La mayoría de los estudios coinciden que en el queratocono hay un menor contenido de colágena estromal, sin embargo establecen que no hay cambios significativos en la distribución de los diferentes tipos de colágena, ni en el patrón de cross linking así como tampoco en el arreglo molecular de ésta en el estroma corneal<sup>51-55</sup>.

A excepción de la colágena tipo III, la cual se ha observado con una alteración en la distribución de sus fibras en zonas erosionadas de tejido con queratocono<sup>56</sup>.

Hay varios estudios que han investigado el proteoma del tejido corneal con queratocono y han examinado las rupturas corneales, con lo cual han podido identificar la expresión diferencial de proteínas de manera comparativa con controles. En estos estudios se ha confirmado que en comparación con el tejido de corneas normales, hay una sobrerregulación de decorina y queratocano<sup>57-58</sup>.

La expresión de un rango de proteínas incluyendo citocinas y enzimas se encuentra alterada en el queratocono comparado con controles normales, sugiriendo el involucro de la apoptosis y erosión en el proceso de la enfermedad.

Sin embargo, no se sabe si dichas vías se encuentran modificadas como un fenómeno primario o secundario<sup>16</sup>. Hay estudios que confirman una mala regulación de la apoptosis como el mecanismo patológico para la presentación de queratocono<sup>59,60</sup>.

La examinación de la película lagrimal ha indicado que hay más de 1500 proteínas en la película lagrimal<sup>61</sup> y que la inflamación juega un papel importante en la patogénesis del queratocono<sup>62</sup>.

Estudios de proteómica de las capas epiteliales y estromales corneales de pacientes con queratocono han demostrado que el remodelamiento estructural y el estrés metabólico ocurre tanto en el epitelio como en el estroma corneal<sup>63</sup>.

Se ha evidenciado la supresión de varios proteoglicanos de matriz extracelular y de proteínas involucradas en la proliferación, crecimiento y migración en el epitelio y estroma corneales con un evidente estrés oxidativo<sup>64,65</sup>.

Aún no se ha logrado llegar a una conclusión respecto al mecanismo de presentación fisiopatológico de las ECP, sin embargo los estudios realizados al respecto proporcionan información adicional de la patología de éstas y orientan respecto a la identificación de blancos potenciales para su tratamiento.

## 4.5 Histología

La triada clásica histopatológica del queratocono corresponde a depósitos de hierro en la membrana basal del epitelio corneal, rupturas en la membrana de Bowmann, y un adelgazamiento del estroma corneal.

Tal como previamente se ha descrito, dependiendo del estadio de la enfermedad, cada capa y tejido de la cornea se puede ver afectado en el proceso patológico.

El epitelio puede presentar degeneración de sus células basales, rupturas acompañadas de crecimiento epitelial hacia la membrana de Bowmann y acumulación de partículas de ferritina dentro y entre las células epiteliales más prominentemente en la membrana basal epitelial.

En el estroma corneal, las fibras de colágena se hacen más compactas y hay una pérdida del arreglo de las fibras hacia el estroma anterior, disminución en el número de las láminas de colágena, fibroblastos de características normales y otros en vías de degeneración y material fino granular y microfibrilar asociado con los queratocitos<sup>6</sup>.

La membrana de Descemet rara vez se encuentra afectada a excepción de los casos en donde se presenta hydrops. El endotelio corneal generalmente es normal<sup>66</sup>.

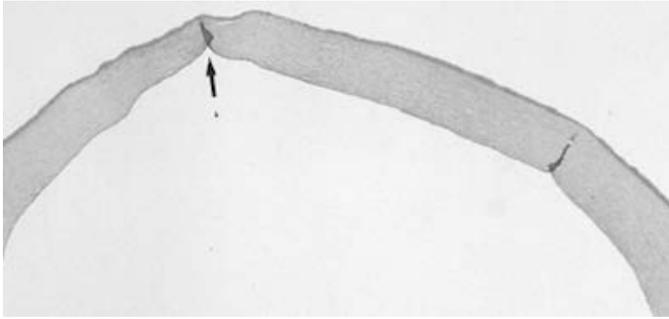
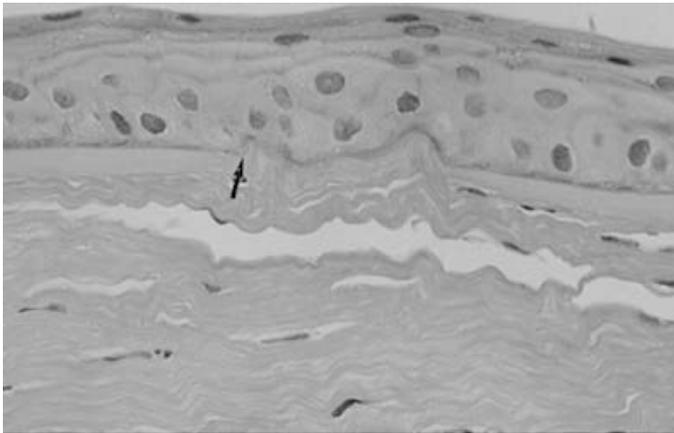


Imagen extraída del artículo de revisión "Keratoconus" de Yaron S. Rabinowitz. Survey of Ophthalmology.1998; 42: 297-320.

adelgazamiento estromal con artefactos de adelgazamiento comúnmente observados en corneas delgadas.



Rupturas en la membrana de Bowman (flecha).



Imagen inferior: Depósitos de hierro en el epitelio basal (flecha).

## 4.6 Presentación Clínica

Las ECP son enfermedades corneales que se presentan de forma bilateral, progresiva, asimétrica, que varían en severidad desde las clínicamente indetectables o subclínicas, hasta las formas más avanzadas. Antecedentes como el fregamiento ocular, la historia familiar y una menor edad de presentación podrían resultar en una mayor progresión de las mismas<sup>17</sup>.

De acuerdo a la etapa en la que se encuentren, es decir desde las formas subclínicas hasta las más severas, las ECP cursan con un astigmatismo regular inicial y en etapas más avanzadas pueden llegar a evolucionar hasta un astigmatismo irregular que en casos severos puede llegar a ser muy incapacitante<sup>1</sup>.

Las tres entidades tienen una edad de presentación diferente. El queratocono generalmente comienza en la pubertad y progresa hasta la cuarta década de la vida<sup>6</sup>. Sin embargo, las nuevas modalidades de diagnóstico han demostrado que puede comenzar a edades más tempranas (antes de la adolescencia) y progresar hasta la quinta o incluso la sexta década de la vida<sup>7</sup>. La mayoría de los reportes coinciden en que la DMP se diagnostica en la tercera o cuarta décadas sin embargo en la serie de casos más grande de esta entidad con 116 ojos de 58 pacientes de la India, Sridhar y coautores observaron en esta entidad un rango de edad que iba desde los 8 hasta los 66 años, con una media de  $34 \pm 14.8$  años<sup>67</sup>. En cuanto al queratoglobos, el estudio más grande realizado por Rathi y coautores establece que de un total de 48 pacientes (95 ojos), la edad media de diagnóstico fue de  $22 \pm 15$  años con un rango de edad que fue desde los 4 hasta los 62 años con 21 pacientes (42 ojos) menores de los 16 años de edad<sup>68</sup>.

Hay reportes en donde no se ha observado una predominancia de género ni en el queratocono así como tampoco en la DMP, sin embargo en uno de los estudios más grandes del United Kingdom National Health Service que es un centro de referencia de pacientes con queratocono, se observó una relación hombre:mujer de 3:1<sup>69</sup>. Hay otros estudios en donde se observa una mayor prevalencia en el género femenino<sup>1</sup>. McGhee y coautores encontraron en su serie de casos de pacientes con DMP que 45 fueron del género masculino (77.6%) y 13 del género femenino (22.4%)<sup>67</sup>. Rathi y coautores observaron que de los 48 pacientes que estudiaron con queratoglobos, los del género masculino doblaron a los del género femenino<sup>68</sup>.

Se ha observado una similitud en la asociación con enfermedades sistémicas en estas tres entidades, principalmente con enfermedades hereditarias del tejido conectivo. Las asociaciones más frecuentemente observadas son el síndrome de Marfan, el síndrome de Ehlers-Danlos, la osteogenesis imperfecta, la amaurosis congénita de Leber y el prolapso de la válvula mitral<sup>71-74</sup>. Hay autores que han determinado que las asociaciones tanto con el síndrome de Down así como con la amaurosis congénita de Leber se deben al trauma mecánico crónico secundario al frecuente rascado ocular que ocurre en ambas entidades<sup>69</sup>.

Es particularmente significativa la asociación del queratocono con el prolapso de la válvula mitral (PVM)<sup>70</sup>. Se ha observado que hasta en un 44% de los pacientes con queratocono puede haber algún grado de PVM, Ref56 y dicha asociación puede aumentar hasta un 58% en los pacientes con queratocono severo<sup>75</sup>.

Respecto a las asociaciones oftalmológicas de estas entidades, la más frecuentemente observada en las tres es la queratoconjuntivitis vernal, la cual se ha observado mucho más frecuente en el queratocono<sup>1</sup>. En un estudio de 530 casos de pacientes con queratoconjuntivitis vernal, Khan y coautores encontraron una incidencia de un 7% de pacientes con queratocono<sup>76</sup>. En una serie de 61 pacientes con queratoconjuntivitis vernal y ectasias corneales, Cameron y

coautores encontraron 53 pacientes con queratocono y 5 pacientes con DMP<sup>77</sup>. En la serie de casos más grande de pacientes estudiados con queratoglobos, Rathi y coautores encontraron que de los 48 que fueron incluidos en el estudio, hubo un caso asociado con queratoconjuntivitis vernal<sup>68</sup>.

#### **4.7 Presentación clínica del queratocono**

De manera característica, el queratocono está descrito como una entidad que cursa con un adelgazamiento corneal bilateral simétrico que puede ser central o paracentral con un encurvamiento y protrusión corneal progresivos y miopía que resultan en un aumento en el astigmatismo el cual en las etapas iniciales es regular con síntomas leves tales como halos o glare y en etapas más tardías evoluciona hacia formas más severas con un astigmatismo irregular y síntomas más evidentes tales como aberraciones y erosiones corneales, baja visual incapacitante e incluso hydrops corneal o ceguera afectando de forma significativa la vida laboral activa de los pacientes<sup>71-73</sup>. Por lo tanto, los signos del queratocono dependen de la severidad de la enfermedad. De manera clásica en la enfermedad moderada a avanzada se pueden encontrar cualquiera de los siguientes signos de forma aislada o conjunta: adelgazamiento corneal estromal, más frecuentemente inferior o inferotemporal, protrusión cónica, conocida como signo de Munson, una línea de hierro parcial o completamente rodeando al cono al cual se le ha denominado anillo de Fleischer, líneas delgadas verticales en el estroma profundo y en la membrana de Descemet que se encuentran de forma paralela al eje del cono conocidas como estrías de Vogt, y erosiones epiteliales o sub epiteliales. Otros signos acompañantes pueden ser nubulosidad epitelial, erosiones estromales anteriores, nervios corneales prominentes, aumento en la intensidad del reflejo corneal endotelial y líneas subepiteliales fibrilares<sup>6</sup>.

## **4.8 Presentación clínica de la degeneración marginal pelúcida**

La DMP se ha descrito de manera característica como una banda inferior de adelgazamiento a una distancia de 1 a 2 mm del limbo que generalmente va del meridiano de las V al meridiano de las VII. En la gran mayoría de los casos dicha banda inferior de adelgazamiento se ha localizado en la cornea inferior, sin embargo también se ha descrito en la cornea superior<sup>23</sup>. La cornea que se encuentra por encima de dicha banda de adelgazamiento es de grosor normal y presenta una protrusión anterior más marcada con un aplanamiento del meridiano vertical resultando en un astigmatismo en contra de la regla y en casos más avanzados en un alto astigmatismo irregular. La cornea localizada por debajo de la banda de adelgazamiento presenta un aumento en su curvatura, lo anterior contrastando con el queratocono en el cual en los casos más avanzados el sitio de la protrusión corneal corresponde a la misma zona de máximo adelgazamiento corneal<sup>7</sup>.

## **4.9 Presentación clínica del queratoglobo**

El tipo de adelgazamiento que se observa en el queratoglobo es generalizado, de limbo a limbo resultando en una protrusión también global de la cornea<sup>68</sup>. El queratoglobo se ha asociado al glaucoma congénito<sup>78</sup>, megalocornea<sup>79</sup> o a una forma extrema del queratocono<sup>80</sup>. En el queratoglobo el diámetro corneal es generalmente normal o discretamente aumentado. La cornea es generalmente clara a excepción de que exista el antecedente de un hydrops corneal. No existe ni anillo de Fleischer ni estriaciones de Vogt tal como está descrito en el queratocono. La presión intraocular es normal. La protrusión corneal lleva al desarrollo de una miopía significativa así como de un astigmatismo irregular significativo. La evolución del queratoglobo no es regular, puede ser estacionario, lentamente progresivo o evolucionar hasta el hydrops corneal<sup>81</sup>.

#### **4.10 Diferencias y similitudes de las ectasias corneales primarias**

Las tres ECP presentan como complicación más grave el hydrops corneal, entidad caracterizada por una ruptura localizada en la membrana de Descemet la cual evoluciona hasta un edema corneal agudo. Se ha observado que es más frecuente en el queratocono que en el queratoglobo o la DMP<sup>82,83</sup>. Cameron y coautores reportaron que en 21 pacientes con queratocono, 19 presentaron hydrops corneal<sup>25</sup>.

En contraste, en los pacientes con queratoglobo, es mucho más frecuente la perforación ocular, especialmente en los pacientes con queratoglobo congénito en donde existe la asociación entre un adelgazamiento corneal difuso y un tejido conectivo patológico. Cameron y Biglan observaron perforación corneal en 7 de 11 pacientes y 7 de 10 pacientes respectivamente en el contexto de Ehlers-Danlos tipo VI asociado a queratoglobo. Dichas perforaciones ocurrieron principalmente en la infancia de manera espontánea o ante un mínimo traumatismo ocular y tienen un pronóstico visual muy limitado<sup>25,84</sup>.

En el caso del queratoglobo adquirido, el riesgo de ruptura ocular es prácticamente nulo<sup>25</sup>.

A pesar de las diferencias previamente descritas, se ha visto que las tres entidades pueden llegar a presentar características clínicas que se pueden traslapar. Por ejemplo, hay diferentes patrones de adelgazamiento corneal descritos en el queratocono, es decir, diferentes tipos de fenotipo tales como el adelgazamiento corneal predominantemente axial (cono en el ápice), y el adelgazamiento inferior que también se han descrito en la DMP, así como el adelgazamiento generalizado que también se observa en el queratoglobo<sup>16</sup>.

En la mayoría de la literatura se establece que lo que principalmente distingue al queratocono de la degeneración marginal pelúcida y el queratoglobo es el patrón y la localización del adelgazamiento corneal, sin embargo han habido numerosos

estudios en donde se ha observado que hay ojos de pacientes en donde coexisten tanto la DMP como el queratocono en un mismo ojo, o la DMP en un ojo y el queratocono en el otro, u ojos con DMP que asemejan un queratocono o incluso en donde es difícil distinguir si se trata de una entidad o la otra <sup>10,17,23</sup>.

Kayazawa y coautores realizaron la primer publicación en donde se reporta la concomitancia del queratocono y la DMP en el mismo ojo. En esta serie de casos de 20 pacientes, 17 presentaron de manera concomitante queratocono y DMP en el mismo ojo<sup>85</sup>. En otro estudio realizado por Kayazawa y coautores, el estudio más grande que se ha publicado al respecto, se examinaron 1625 pacientes japoneses con queratocono y 20 pacientes con DMP. Tanto el diagnóstico de queratocono como el de DMP se realizaron de forma clínica. Se observó que de los 20 pacientes con DMP, 17 (85%) también presentaron clínica compatible con queratocono en la porción central de la cornea. Uno de los pacientes con DMP bilateral tuvo un hijo con queratocono bilateral y otro paciente presentó DMP de manera coexistente con queratocono en el ojo izquierdo y sólo queratocono en el ojo derecho. Debido a que la mayoría de los pacientes que se estudiaron en esta serie presentaban clínica compatible con queratocono en la porción central de la cornea, se podría asumir que la DMP con o sin queratocono es una variante del queratocono o una manifestación diferente de la misma entidad que tiene como origen el mismo factor etiológico<sup>86</sup>.

Zucchini<sup>87</sup> François et. al.<sup>88</sup>, y Pouliquen et. al.<sup>89</sup> realizaron estudios corneales histopatológicos a partir de los cuales sugirieron que la DMP muy probablemente es una variante del queratocono. Esto también fue establecido por Rodrigues et al <sup>90</sup> quienes utilizaron la microscopia electrónica y ensayos con colágena.

De igual manera, tal como previamente se ha establecido, se ha descrito al queratoglobo como un caso extremo del queratocono y existen reportes en donde se ha asociado la DMP con el queraoglobo<sup>86</sup>. De la serie más grande de 116 ojos estudiados de 58 pacientes con DMP por Sridhar y coautores, 12 pacientes

(10.3%) presentaron asociación con queratocono y 15 (12.9%) con queratoglobos<sup>67</sup>. Karabatsas y Cook reportaron la asociación de queratoglobos en un ojo con evidencia topográfica de DMP en el ojo contralateral<sup>91</sup>. La historia natural de la DMP podría llevar al desarrollo de un queratoglobos por medio de una extensión circunferencial del canal corneal periférico que se forma entre la cornea normal, la banda de adelgazamiento y la cornea superior a dicha banda de adelgazamiento que es de grosor normal<sup>67</sup>.

En contraposición a lo anterior, Belini estableció que debido a que la expresión tanto fenotípica como genotípica de estas entidades tiende a ser muy variable, el queratocono se debería de considerar como una patología diferente de las otras ECP y que las diferentes modalidades disponibles hoy en día para medir las diferencias entre el queratocono y la DMP son inadecuadas y aún se debe trabajar en la genética y bioquímica de éstas con el fin de facilitar la distinción entre las mismas<sup>7</sup> (Tabla 3).

A diferencia de la DMP en donde los pacientes en la mayoría de los casos no cursa con baja visual, en los pacientes con queratocono dicha baja visual es mucho más acusada y generalmente empieza desde etapas tempranas de la vida. En muchos casos los pacientes con DMP son diagnosticados de manera incidental cuando acude a realizar estudios topográficos debido a que desean cirugía refractiva. Sólo en casos más avanzados los cuales generalmente son entre la cuarta y quinta década de la vida es que la DMP puede ocasionar baja visual. A través de la clínica se puede hacer distinción entre el queratocono y la DMP, debido a que en muchos casos poder diferenciarlas de manera topográfica sobre todo en etapas más avanzadas de ambas entidades puede llegar a ser mucho más complicado. De manera característica, dentro de la clínica del queratocono se presentan las estriaciones de Vogt, el anillo de Fleischer, el signo de Munson, y las sombras en tijera o mirillas irregulares a través de la retinoscopia, lo anterior reportado como ausente en los pacientes con DMP.

En cuanto a la evolución, generalmente hay un desarrollo mucho más rápido de la enfermedad en los pacientes con queratocono, siendo la evolución mucho más lenta en los pacientes con DMP.

Los sitios de adelgazamiento corneal más frecuente en los pacientes con queratocono son el adelgazamiento central y la protrusión paracentral con adelgazamiento central. En la DMP, el sitio más frecuente es inferior, sin embargo hay reportes de casos en donde también se ha presentado de manera superior.

En cuanto a incidencia, tal como se encuentra reportado previamente, es mucho más frecuente el queratocono que la DMP.

**Tabla 3. Principales características entre el queratocono y la DMP**

<b>Característica</b>	<b>Queratocono</b>	<b>DMP</b>
Disminución en la capacidad visual	Aún en etapas tempranas	Sólo en casos más avanzados
Estriaciones de Vogt	Presente en casos moderados y avanzados	Ausente
Anillo de Fleischer	Presente en casos moderados y avanzados	Ausente
Signo de Munson	Presente en casos moderados y avanzados	Ausente

Sombras en tijera mediante retinoscopia	Presente desde etapas iniciales	Ausente
Evolución	Rápida	Lenta
Forma más frecuente de presentación	Central o protrusión paracentral con adelgazamiento central	En su mayoría inferior
Incidencia	Común	Poco habitual

En cuanto a las diferencias y similitudes entre la DMP y el queratoglobo, tal como se describe previamente, el queratoglobo es una ectasia corneal bilateral que se caracteriza por una protrusión corneal de manera globular y que se asocia a adelgazamiento difuso de limbo a limbo.

El adelgazamiento en el caso del queratoglobo es en la mayoría de los casos máximo en la periferia llegando a ser hasta de 1/5 del grosor corneal normal, incluso llegando a afectar la esclera.

Al igual que en el queratocono y en la DMP, el queratoglobo es una condición no inflamatoria por lo cual los pacientes en etapas avanzadas se presentan con una cornea clara, tal como sucede en la DMP. En las tres entidades hay ausencia de vascularización, o depósitos lipídicos y en etapas iniciales no hay opacificación corneal. En las tres entidades se puede observar hydrops corneal, sinendo mucho más común en el queratocono y queratoglobo que en la DMP.

Tanto el queratoglobo como la DMP progresan de una manera mucho más lenta que el queratocono. En el queratoglobo se ve afectada la cornea en toda su superficie, a diferencia del queratocono y la degeneración marginal pelúcida, en donde la cornea afectada puede ser inferior o paracentral o incluso superior. Tanto la DMP como el queratoglobo son mucho menos frecuentes que el queratoglobo (Tabla 4 ).

Dentro de los diagnósticos diferenciales de la DMP se encuentran la degeneración marginal de Terrien y la úlcera de Mooren. Sin embargo, en la degeneración marginal de Terrien, la cornea presenta depósitos lipídicos y vascularización y se puede llegar a presentar con cuadros agudos de inflamación asociados con dolor. A diferencia de la DMP, en la úlcera de Mooren hay cuadros inflamatorios con dolor, y al igual que en la degeneración marginal de Terrien, la cornea presenta vascularización.

**Tabla 4. Principales hallazgos clínicos entre DMP y el queratoglobo**

Hallazgo	Queratoglobo	DMP
Reducción en la capacidad visual	Sólo en casos moderados o avanzados	Sólo en casos moderados o avanzados
Vascularización	Ausente	Ausente
Opacificación	Ausente	Ausente
Depósitos lipídicos	Ausente	Ausente
Incidencia de hydrops corneal	Común	Raro
Evolución	Progresiva de forma lenta	Progresiva de forma lenta

Presentación más frecuente	Afecta la cornea en su totalidad	Afecta cornea inferior
Incidencia	Poco habitual	Poco habitual

En caso de que se trate de entidades diferentes, aún se deben mejorar sus criterios de clasificación. En la topografía corneal, en muchas ocasiones se hace el diagnóstico de DMP cuando en realidad los criterios topográficos caben más dentro de la definición de un queratocono<sup>10</sup>.

Tanto el queratocono, como la DMP y el queratoglobos son considerados como entidades que forman parte de un espectro de alteraciones no inflamatorias que cursan con ectasia y adelgazamiento, aún queda por definir si se trata de entidades distintas o comunes como parte del espectro o variabilidad fenotípica de una misma enfermedad.

#### **4.11 Genética**

Hay bastante evidencia que orienta hacia un origen hereditario de las ECP, principalmente en el caso del queratocono. Sin embargo antes de llevar a cabo estudios moleculares de alto costo con el fin de investigar la herencia y genética de una enfermedad, en este caso de las ECP, primero hay diversas áreas que se deben clarificar a través de un análisis formal.

Primero se debe de establecer una definición de la enfermedad, después se debe determinar la influencia de enfermedades sistémicas asociadas, lo cual tendrá especial relevancia si éstas tienen un componente hereditario.

El componente genético como factor causal de las ECP ha sido estudiado con mayor profundidad en el queratocono al ser éste la ECP más frecuente. Sin

embargo, aunque en la DMP y en el queratoglobos es menor la evidencia que apoya hacia un origen genético, tanto éstas como el queratocono se han asociado con enfermedades genéticas del tejido conectivo tales como el síndrome de Ehlers Danlos<sup>92,93</sup>, el síndrome de Marfan, o el pseudoxanthoma elasticum<sup>12,95</sup>. De igual forma, otro de los aspectos que apoya un probable origen hereditario es el hecho de que se ha descrito que familiares de primer grado de pacientes con ECP, presentan alteraciones topográficas, esto especialmente en el queratocono y la DMP.

Se ha visto que en algunos casos el queratocono puede estar completamente asociados con factores ambientales claramente reconocidos tales como el uso de lentes de contacto, el fregamiento ocular, la atopia y aquellos relacionados con un aumento en el daño oxidativo tales como la exposición a la luz ultravioleta<sup>96-97</sup>.

Tiene especial interés investigar el grado de contribución de dichos factores ambientales en el desarrollo de la enfermedad así como el efecto en la cornea que el trauma mecánico produce como efecto de la exposición a los mismos.

Por otro lado hay estudios que están a favor del papel de la consanguinidad como factor de riesgo para presentar queratocono y queratoglobos. Esto puede tener especial relevancia para comunidades practicando matrimonios consanguíneos tales como Arabia Saudita<sup>98-99</sup>. Sin embargo se ha visto que la mayoría de los pacientes con queratocono ocurren como resultado de una predisposición genética expresada a raíz de la exposición a factores ambientales<sup>100</sup>.

Después de que los factores previos se hayan esclarecido, es necesario estudiar la relación de la expresividad de acuerdo con la edad y la heterogeneidad potencial.

Lo anterior ya se ha discutido más a fondo en el apartado de la presentación clínica de las ECP, en la cual se ha establecido que hay reportes en donde no se

observa una predominancia de género en las ECP así como otros estudios que reportan una significativa predominancia en pacientes del género masculino<sup>101</sup>. Georgiou y Millodot y coautores encontraron que el queratocono es 2.6 y 5 veces más frecuente en hombres respectivamente, sin embargo existen estudios que reportan mayor prevalencia en mujeres<sup>102</sup>.

En cuanto a la heterogeneidad genética potencial de las ECP, se ha observado que no tienen un mismo origen genético en común, por lo tanto no se ha podido determinar una asociación causa-efecto en específico para un solo gen.

Tal como previamente se ha mencionado, primero se postula un patrón hereditario en particular para la enfermedad, después se recolectan datos de acuerdo a la presencia o ausencia de la enfermedad en las familias con miembros afectados. Dichos datos son usados para evaluar si la expresión de la enfermedad es consistente con el modo de herencia propuesto.

El patrón hereditario presentado con mayor frecuencia en el queratocono es el autosómico dominante. La mayoría de los investigadores proponen una penetrancia incompleta de los factores predisponentes tanto genéticos como ambientales, con una variabilidad de la expresión fenotípica<sup>94</sup>. Sin embargo no se sabe el porcentaje de aquellos que heredan una predisposición a la enfermedad.

También existe evidencia sustancial de un componente genético en el queratocono en asociación con la etnicidad, por ejemplo, en el Reino Unido se ha visto que es 4 veces más frecuente en asiáticos provenientes del subcontinente indiano que en los caucásicos de esa misma región<sup>103</sup>.

En el queratocono se han observado patrones de agregación familiar<sup>105</sup>. En múltiples reportes de gemelos con queratocono se ha visto que existe una gran concordancia fenotípica entre gemelos monocigotos reafirmando que los factores genéticos muy probablemente tienen un papel significativo en el fenotipo de la

enfermedad<sup>105</sup>. Se ha visto que tanto los familiares de primer grado de pacientes con queratocono como aquellos de pacientes con DMP, tienen un aumento en el riesgo de desarrollar una ECP, así como un mayor riesgo de presentar anomalías en la topografía corneal<sup>106-107</sup>. En estos familiares, en la topografía corneal se ha podido detectar una variabilidad en la expresión fenotípica y éstos familiares tienen una mayor probabilidad de presentar astigmatismo u otras anomalías corneales en comparación con aquellos que tienen corneas no afectadas<sup>108,109</sup>. El Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study mostró que de los 1209 pacientes estudiados con queratocono, hasta un 14% tenía un antecedente familiar de la enfermedad<sup>110</sup>. Hay otros estudios en donde se ha estimado que la prevalencia del queratocono en familiares de primer grado de casos índice es de un 33.4%, es decir notablemente más alta que en la población en general<sup>47</sup>.

Santo y colaboradores realizaron un estudio de pacientes con DMP en donde demostraron que en familiares asintomáticos de primer grado existe evidencia topográfica compatible con ECP.

Saeed y colaboradores plantearon la posibilidad de que tanto el queratocono como la degeneración marginal pelúcida compartieran un origen patológico en común, y plantearon un posible componente hereditario en la DMP. A los familiares de primer grado de los pacientes con DMP se les realizó topografía mediante Pentacam con el posterior estudio de monitorización de Belin Ambrosio para ectasias corneales. En este estudio se demostró que familiares de pacientes con DMP tienen alteraciones topográficas sugerentes de ectasia y que plantea la posibilidad de realizar estudios de secuenciación de ADN en pacientes con DMP<sup>173</sup>.

A excepción de algunos pocos reportes que describen una mayor incidencia de errores refractivos y topográficos sugenrentes de formas subclínicas de ECP en

familiares de pacientes con DMP, no se ha conseguido encontrar un indicador específico que establezca una asociación familiar<sup>112</sup>.

Respecto al queratoglobo, sobre todo el que se presenta de manera congénita, se ha asociado a enfermedades hereditarias del tejido conectivo caracterizadas principalmente por presentar consanguineidad, hiperlaxitud de los ligamentos, anomalías del esqueleto, disgenesias dentales, hipoacusia, fragilidad ocular y un modo de transmisión autosómico recesivo, sobre todo en el contexto de asociación con el síndrome de Ehlers-Danlos tipo VI en el cual as su vez se observan escleras azules<sup>81</sup>.

Los estudios de análisis de segregación corresponden a un método de estadística utilizado para evaluar el modo o patrón de herencia de una enfermedad. Lo anterior con el fin de abrir nuevas vías para investigar el origen molecular y genético de las ECP mediante análisis de ligamiento, marcadores aleatorios utilizando marcadores polimórficos de microsatélite o mediante estudios de genes candidato en las familias correctas para así poder identificar un locus genético o múltiples loci.

Gracias a los análisis de segregación se pueden construir pedigrees familiares acusados con patrones familiares de la enfermedad.

En caso de valorar varios genes involucrados en el fenotipo de la enfermedad, se debe determinar la contribución relativa de cada uno de los genes en el desarrollo de la misma, el modo de herencia, la presencia o ausencia de heterogeneidad genética (una o más enfermedades con un fenotipo similar) y la localización cromosómica del gen. Aún no se ha logrado establecer dicha información en el caso de las ECP (Tablas 5 y 6).

Los criterios cualitativos utilizados en el queratocono para establecer su diagnóstico en los análisis de segregación son el adelgazamiento corneal, la

presencia de estrías de Vogt, el anillo de Fleischer, y la presencia de sombras en tijera a través de la retinoscopia. Aún no se han determinado los criterios cuantitativos que se podrían utilizar como puntos de cohorte para determinar el estado de afectación corneal, por lo que se han recomendado programas digitales mediante análisis de segregación, ya que de estos se puede obtener mayor información de los datos. Para poder desarrollar estos puntos de cohorte, es necesaria una definición clara, cuantificable y reproducible del queratocono o de las ECP según sea el caso, en sus estadios iniciales mediante estudios de imagen tales como la videoqueratoscopia, sobre todo ante la ausencia de signos clínicos. En el caso del queratocono, la videoqueratoscopia ha sido capaz de proveer mínimos criterios topográficos para determinar el estado de afección y así brindar la oportunidad de poder determinar verdaderos modos de herencia y posteriormente construir pedigrees de familias para posteriores análisis moleculares genéticos<sup>6</sup>.

Los estudios de ligamiento representan una herramienta muy poderosa para mapear en los genes loci susceptibles. Se han utilizado a nivel de estudios de asociación de genoma completo en los pacientes con queratocono, indicando que existe un alto grado de heterogeneidad genética en esta enfermedad<sup>113</sup>. Hasta la fecha, se han descrito 17 loci potenciales para el queratocono<sup>114</sup>. Sin embargo, sólo 3 de estos loci se han replicado de manera independiente: 5q21<sup>115,116</sup>, 5q32 y 14q11<sup>115,117</sup>. A través de este abordaje en estudios extendidos mediante análisis de segregación de familias pedigree se identificaron dos genes potenciales asociados con el queratocono: miR184 y DOCK9.

El gen miR-184 se encuentra abundantemente expresado tanto en la cornea como en el epitelio del cristalino. La mutación en la región germinal de miR-184 es muy probable que afecte la función de este gen<sup>113</sup>. Por otro lado la identificación de una variante potencialmente patogénica en el gen DOCK9 se observó que segregó en una familia grande de origen Ecuatoriano con un patrón autosómico dominante.

Aún así, no se ha logrado determinar un gen causal mediante estudios de ligamiento. Hay varias razones para explicar esta falta de identificación, el uso de estrategias convencionales de ligamiento para entender enfermedades complejas se basa en asumir que la condición está causada por una variante con un gran efecto y esto puede ocasionar una sobre interpretación de la agregación familiar de la enfermedad en muchas instancias. La aplicación del análisis de ligamiento también se encuentra limitada debido a la posibilidad de fenocopias, lo cual puede llevar a una reducción de la penetrancia en cualquier familia pedigree.

La inclusión en estos estudios de individuos con astigmatismo simple, corneas delgadas sin ectasia y queratocono frustro también es controversial. Aunado a lo anterior, a pesar de que se ha establecido que la presentación del queratocono es en la segunda década de la vida, con menor frecuencia se ha observado que dicha enfermedad puede iniciar más allá de los 50 años de edad provocando que sea difícil la clasificación de los individuos como “no afectados”<sup>119</sup>. Las familias grandes deberían de tener un ligamiento robusto y en muchos de los estudios realizados a la fecha no se han identificado regiones de ligamiento significativas con puntajes Lod significativos<sup>115</sup>. Finalmente, diferentes loci y genes podrían estar implicados en familias de diferentes etnias sesgando la replicación de los loci.

**Tabla 5. Algunos de los genes reportados en el queratocono utilizando diferentes abordajes genómicos<sup>172</sup>**

Genes	Método	Población
VSX1	Gen candidato	Europea
TGFB1	Gen candidato	Europea
COL4A3/COL4AF	Gen candidato	Europea

FLG	Gen candidato	Europea
ZEB1	Gen candidato	Europea
IL1A	Gen candidato	Coreana / China
IL1B	Gen candidato	Coreana / Japonesa
MIR184	Ligamiento	Europea / Australiana
DOCK9	Ligamiento	Ecuatoriana
CAST	Ligamiento/Gen candidato	Americana
SOD1	Gen candidato	Americana
HGF	GWAS	Australiana / Americana
RAB3GAP1	GWAS	Australiana/Americana
LOX	Ligamiento / GWAS	Americana

MPDZ-NFIB	GWAS / Gen candidato	Europea/Asiática/Australiana
BANP-ZNF469	GWAS / Gen candidato	Europea/Asiática/Australiana
COL5A1	Ligamiento /GWAS	Americana
KRT72	Expresión génica	Europea
TIMP1,TIMP3,CFL1 y BMP4	Expresión génica	Coreana

La complejidad de este abordaje orienta a que habrá mayor progreso usando los avances recientes en tecnología de secuenciación de nueva generación. La relación tiempo-coste-efectividad para secuenciar todos los genes en un locus definido o la región ligada completa para variantes genéticas es ahora una posibilidad realista y sin lugar a dudas facilitará el progreso para identificar variantes genéticas que segreguen con la enfermedad en familias extensas.

Mediante análisis de ligamiento en combinación con secuenciación de siguiente generación se identificó una mutación heterocigota en el gen mlR-184 en dos familias con catarata congénita dominante asociada con el fenotipo corneal que en algunos casos fue consistente con queratocono<sup>113</sup>.

En los estudios de gen candidato, los genes propuestos se han considerado predominantemente con base en su función biológica (Tabla 1).

En el caso específico del queratocono, entre otros, se han propuesto los genes de colágeno como genes candidato debido a los resultados obtenidos de estudios en donde se ha investigado con gran escrutinio el rol del colágeno y los mediadores involucrados en su regulación.

**Tabla 6. Genes candidato con mutaciones identificadas en pacientes con queratocono<sup>1</sup>**

Genes	Fisiopatología
VSX1	Desarrollo craneofacial y ocular
SOD1	Una de las mayores enzimas antioxidantes citoplasmáticas.
TGFB1	Citocina que interactúa con una proteína de matriz extracelular que desempeña un papel importante en el daño y reparación de tejidos.
MIR184	Principal microRNA expresado en la cornea y el cristalino y en la región 3' no traducida de dos genes blanco, el inositol polifosfato fosfastasa tipo 1, y la integrina beta 4.
COL4A3 / COL4A4	Colágena corneal de estructura, función y/o desarrollo embrionario.
FLG	Relacionado con la apoptosis corneal. Factor de riesgo genético para dermatitis atópica.

Los diferentes tipos de colágeno forman parte de una familia de multigenes con más de 28 miembros, y se sabe que dichos genes están esparcidos en al menos 12 cromosomas. Como familia de proteínas, son los más abundantes en el cuerpo humano, siendo la colágena tipo I la más abundante, la cual se encuentra distribuida de forma oblicua y es la mayor proteína que se encuentra en hueso, piel, ligamento, esclera, cornea, vasos sanguíneos, y órganos huecos. Las mutaciones que afectan la estructura o el procesamiento de las cadenas de colágena tipo I generalmente se expresan como enfermedades generalizadas del tejido conectivo. Sin embargo el tejido específico en donde se observa el mayor efecto puede variar, y esto es lo que determina el fenotipo. Las fibras de colágena tipo III, V, y VI se distribuyen en prácticamente todos los tejidos, y con excepción de éstas, la mayoría de los otros tipos de colágeno son específicos para un tejido u órgano. De esta forma, debido a diferencias en su estructura, expresión y distribución, las fibras de colágena desempeñan distintas funciones. Las fibras de colágena tipo I, III, IV, V, VI, VII y VIII se encuentran distribuidas en diferentes capas de la cornea.

Hay factores que orientan a que al menos algunas formas de queratocono tienen origen en anormalidades en los genes relacionados con el tejido conectivo tales como la alta asociación del queratocono avanzado con el prolapso de la válvula mitral y con la osteogenesis imperfecta.

Se ha encontrado la localización cromosómica de los genes que codifican estos tipos de colágena lo cual ha convertido a estos genes en excelentes candidatos como posible causa del queratocono. Su inclusión o exclusión nos puede aportar información muy valiosa. Las corneas de los pacientes con queratocono contienen una reducción en la cantidad total de proteínas de colágeno <sup>120</sup> así como alteraciones en la matriz extracelular y membrana basal caracterizadas principalmente por una disminución en las colágenas tipo I y III<sup>121</sup>.

Al ser sugerido que el queratocono podría estar provocado por enzimas degradativas, se postuló que la IL-1 podría tener un papel en el desarrollo de la

enfermedad, por lo que se estudiaron como genes candidato, mediante estudios de ligamiento familiar, DNAs complementarios de los inhibidores de las proteasas y componentes del sistema de IL-1<sup>6</sup>. Se ha sugerido que la interleucina 1 beta (IL1B), como promotor de polimorfismos y la interleucina 1 alpha (IL1A) como polimorfismo intrónico (rs2071376), juegan un papel en la susceptibilidad al queratocono debido a diferencias significativas observadas en la frecuencia alélica en población china Han, coreana<sup>122</sup> y japonesa<sup>123</sup> entre grupos de pacientes con queratocono y controles. Sin embargo el mismo polimorfismo no mostró evidencia de asociación en población turca<sup>124</sup>.

Estudios preliminares mediante un abordaje genético molecular descartaron varios genes de colágeno, la mayor evidencia apuntó al gen COL5A1 que codifica para el colágeno tipo V. Sin embargo en un análisis más profundo de las variantes en familias con queratocono así como en casos de queratocono esporádico se observó que mientras unos pacientes son portadores de alelos menores con estas variantes presentando un adelgazamiento corneal, hay otros pacientes que no los presentan, mostrando la compleja relación entre la variación genética en COL5A1, el adelgazamiento corneal y el desarrollo de queratocono<sup>125</sup>.

Debido a que se ha observado que en los pacientes con síndrome de Down la prevalencia de queratocono es extremadamente alta (0.5-15%, de 10 a 300 veces mayor que la tasa observada en la población normal)<sup>126</sup>, se pensó en una asociación de éste con el cromosoma 21<sup>127</sup>. A pesar de esto, la investigación extensiva del cromosoma 21 sólo logró identificar un gen candidato, el gen de la isoenzima superóxido dismutasa 1 (SOD1)<sup>128</sup>. Hay otros autores que han establecido que la asociación del síndrome de Down con el queratocono ha sido meramente a causa de la asociación con un insulto ambiental, específicamente el fregamiento ocular crónico<sup>129,130</sup>.

Otra de las razones por las cuales se consideró estudiar el gen SOD1 como un gen candidato potencial, fue que los estudios demostraban que el estrés oxidativo

tiene un papel importante en la patogénesis del queratocono. Sugiriendo que mutaciones en SOD1, que codifica para una enzima citoplásmica antioxidante que metaboliza radicales de superóxido, podría estar involucrada en el desarrollo de la enfermedad<sup>131</sup>. Al estudiar el gen SOD1, se identificó una delección intrónica que segregó con el queratocono en dos pequeñas familias de origen asiático.<sup>132</sup> Sin embargo los hallazgos no han sido identificados en cohortes adicionales. Aún queda por determinar si variantes de este gen se encuentran asociadas o no con el queratocono. En el último reporte de la literatura se ha observado que hasta la fecha dichas mutaciones en este gen son responsables de menos del 1% de los casos con queratocono<sup>113</sup>.

Otro gen candidato que se ha estudiado en pacientes con queratocono es el factor de transcripción del sistema visual homeobox 1 codificado por VSX1. Se propuso como gen candidato debido a que mutaciones en este gen se han identificado en algunas pocas familias con distrofia corneal polimorfa posterior asociada con queratocono<sup>133</sup>. Además a esto, se ha observado que los pacientes con esta distrofia corneal tienen un encurvamiento localizado en la cornea anterior similar al de los pacientes con queratocono<sup>134</sup>. Mutaciones en el gen VSX1 también han sido descritas en anomalías craneo faciales, en pacientes con ausencia del techo de la silla turca, y con desarrollo anómalo del endotelio corneal<sup>135</sup>.

En el 2005, Bisceglia et al evaluaron el papel del gen VSX1 en una serie de 80 pacientes de origen Italiano afectados por queratocono y encontraron tres cambios sin sentido previamente descritos así como una mutación novel. En este estudio los autores concluyeron que el gen VSX1 tiene un papel importante en una proporción significativa de pacientes afectados por queratocono heredado de manera autosómico dominante con una expresividad variable y una penetrancia incompleta<sup>136</sup>.

Sin embargo, estos resultados no han sido consistentes en otras poblaciones. Tang et al, estudiaron otras tres alteraciones, L159M, R166W y H224R, en el gen VSX1 en 77 casos pareados con 71 controles sin poder confirmar las

asociaciones previamente establecidas<sup>137</sup>. De igual manera, otra alteración previamente identificada como mutación, D144E, fue excluida como causa directa de la enfermedad por Liskova y coautores<sup>96</sup>. Posteriormente Saeed-Rad, Bisceglia, Aldave y Liskova estudiaron más de 1500 pacientes con queratocono buscando una mutación en VSX1, e identificaron mutaciones potencialmente patológicas en menos del 2% de los casos<sup>139</sup>.

La ausencia de mutaciones patogénicas en el gen VSX1 en un gran número de sujetos no relacionados orienta a la posibilidad de que posiblemente hay otros factores genéticos involucrados en el desarrollo de esta enfermedad, que este gen probablemente no tiene un papel significativo en la patología del queratocono y que el involucro del gen VSX1 en el queratocono, si acaso es que existe, podría estar confinado a un pequeño número de pedigrées

En contraposición a lo anterior, hay otros estudios que soportan el papel patogénico de VSX1 en pacientes con queratocono<sup>140-142</sup>.

En conclusión, respecto al gen VSX1, todos los estudios publicados a la fecha indican que su papel en la patogénesis del queratocono aún no está muy claro, y si es que existe, sigue siendo controversial.

Otros genes candidato estudiados en cohortes de pacientes con queratocono han sido el TIMP3<sup>143</sup>, el TGFBI<sup>144,145</sup>, ZEB1<sup>146</sup> FLG<sup>147</sup> y otros varios genes de colágena. A pesar de estos esfuerzos, sólo se han podido identificar variantes patogénicas de estos genes potenciales en sólo un número muy pequeño de pacientes con queratocono, sin la posibilidad de obtener resultados potenciales.

En otro estudio realizado con el fin de investigar el papel de los 4 genes (VSX1, SOD1, COL4A3 y COL4A4A) en 113 pacientes de Eslovenia con queratocono familiar y esporádico, se realizó primero extracción y después amplificación de ADN mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) para posteriormente proceder a la secuenciación de estos genes. En dicho estudio no se encontraron

mutaciones causales. Sin embargo se identificaron dos polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) que previamente se habían reportado en el gen *VSX1* : A128A y 627+23G>A , así como un SNP en el gen *COL4A3*: D326Y, y otros dos SNP en el gen *COL4A4*: M1237V y F1644F. Dichos SNPs se había reportado que tienen una asociación significativa con el queratocono<sup>96</sup>. Sin embargo la ausencia en este mismo estudio de mutaciones patogénicas en los genes *VSX1*, *SOD1*, *COL4A3* y *COL4A4* en los 76 pacientes con queratocono esporádico, indica que existen otros factores genéticos que se encuentran involucrados en el desarrollo de esta enfermedad. El hecho de que exista una correlación significativa con unos pocos polimorfismos orienta a la presencia de una posible asociación entre algunos polimorfismos en específico y el queratocono<sup>96</sup>.

Una de las hipótesis para considerar a los genes *COL4A3* y *COL4A4* como posibles causantes de queratocono, podría ser debido a cambios en la estructura, función y/o desarrollo de la colágena durante el desarrollo embrionario. Sin embargo al no existir estudios suficientes en donde se haya podido demostrar una clara relación causa-efecto, ha establecido su papel en el desarrollo del queratocono como debatible.

Se ha asumido que seis loci son responsables de la presentación del queratocono, los cuales se han encontrado en las localizaciones 2p, 3p, 5q, 15q, 16q y -20q. Sin embargo a la fecha no se han identificado mutaciones en ninguno de los genes localizados en estos loci<sup>148</sup>.

Otra de las hipótesis como causa del queratocono, establece un daño en el DNA mitocondrial (DNAmt). Para determinar si las corneas con queratocono tienen mayor daño en el DNAmt que las corneas normales, se estudiaron 33 corneas de controles normales y 34 corneas de pacientes con queratocono. Se demostró que las corneas con queratocono exhiben un mayor daño en el DNAmt que las normales, sugiriendo que tanto el estrés oxidativo como la alteración en la integridad del DNAmt podrían estar relacionados el uno con el otro y podrían tener importancia en la patogénesis del queratocono<sup>149</sup>.

Por último, los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) representan una herramienta poderosa para identificar variantes en común de bajo efecto relativo como factor de riesgo para enfermedades complejas. Se han realizado varios GWAS en pacientes con queratocono pero con un número relativamente bajo de pacientes.

Se realizó un estudio que incluyó tres cohortes de pacientes de Australia, USA y el Norte de Irlanda. En dicho estudio se implicó una variación genética en el locus del factor de crecimiento hepatocítico HGF con susceptibilidad al queratocono, sin embargo no alcanzó un nivel de significancia de genoma completo<sup>150</sup>.

Tomando en cuenta la variabilidad del grosor corneal central que existe en la población general, se han estudiado otros genes basándose en la premisa de que un menor grosor corneal central aumenta el riesgo de desarrollar o se asocia con el queratocono. De acuerdo a lo anterior, mediante GWAS se identificó una variante exónica novel, WNT10A (rs121908120), la cual se observó que aumenta el riesgo de presentar queratocono al disminuir el grosor corneal central<sup>151</sup>. Dicha variante se encuentra localizada en el gen que se localiza a una distancia de 437 kilobases del gen USP37, éste último previamente asociado con el grosor corneal central y dicha variante es completamente responsable de emitir una señal a USP37. Se observó que dicha variante WNT10A, aumentó 2 veces el riesgo de padecer queratocono. El gen WNT10A (wingless-type MMTV, miembro de la familia de los genes de los sitios de integración 10A) pertenece a la familia de los genes WNT. Esta familia está formada por genes relacionados con la estructura que codifican para moléculas de señalización que han sido implicadas en procesos del desarrollo incluyendo la regulación del destino y patrón celular durante el desarrollo corneal<sup>152</sup>.

El abordaje molecular genético con marcadores de DNA para estudiar familias con queratocono, así como también con DMP y queratoglobo tiene un gran potencial. Las ECP representan enfermedades complejas que no siempre siguen un patrón

hereditario mendeliano simple. Los factores de riesgo genéticos para presentar las ECP son difíciles de determinar debido a la naturaleza compleja de estas patologías.

#### **4.12 miR-184**

Los mecanismos fisiopatológicos propuestos para explicar la etiología de las ectasias corneales primarias y de éstas específicamente la del queratocono, al ser ésta la ECP más frecuente, son numerosos. La evidencia apunta al hecho de que una mala regulación de la apoptosis es uno de los factores que llevan a su presentación.

A su vez, dentro de los mecanismos que explican a nivel corneal una mala regulación de la apoptosis se encuentran mutaciones en el gen miR-184, el cual forma parte de la familia de los microRNAs<sup>153</sup>.

Los microRNAs (miRNAs) son importantes reguladores de la expresión genética en la mayoría de los procesos biológicos en eucariotas, y se encuentran conformadas por secuencias cortas de RNA no codificante de cadena sencilla, con una longitud de 19 a 25 nucleótidos. Dichas bandas actúan guiando el complejo de silenciación inducido por RNA (RISC: RNA induced silencing complex), a secuencias parcialmente complementarias de cientos de genes blanco del RNAm, principalmente en la región no traducida del extremo 3' (3'UTR), con el fin de provocar la degradación del RNAm al que se unen, y así inducir una posterior supresión de la traducción y la consecuente supresión de la expresión genética<sup>154</sup>. Como parte de un complejo de silenciación inducido por RNA, cada miRNA podría tener como blanco el RNAm de cientos de genes. La abundancia de proteínas en diferentes órganos se encuentra regulada por la expresión específica de los miRNAs en los tejidos<sup>155</sup>.

La secuencia germinal se encuentra formada por los nucleótidos que se encuentran en la posición 2 a 8 en el extremo 5' del miRNA maduro, y dichos

nucleótidos son los residuos más importantes para la determinación de los sitios blanco del RNAm. La transcripción de miRNAs en el núcleo resulta en transcritos cortos de una longitud de aproximadamente 70 nucleótidos, y largos, éstos últimos conocidos como transcritos primarios de miRNA (pre-miRNA), los cuales son procesados y anclados a la enzima RnasalIII Drosha. Los transcritos cortos previamente mencionados conforman precursores de regiones bucle germinales de miRNA.

Cuando son formados, los pre-miRNAs son exportados al citoplasma por la proteína exportina-5 que a su vez es dependiente de la proteína RanGTP y una vez en el citoplasma, son posteriormente anclados por otra enzima, la enzima RNAasa III Dicer, para producir un dúplex de miRNA de una longitud de 19 a 25 nucleótidos.

Sólo una cadena, el miRNA maduro, es incorporada en el complejo de silenciamiento inducido por miRNA (miRISC) mientras que la otra cadena conocida como miRNA-star (miRNA\*), es degradada. Dentro del complejo miRISC, los miRNAs posteriormente se unen a sus RNAm blanco con el fin de regular la expresión de genes<sup>156</sup>.

Las estructuras de los precursores de miRNA son cruciales para el reconocimiento y anclaje por las proteínas Drosha y Dicer durante el procesamiento del miRNA<sup>157</sup>.

Se estima que aproximadamente el 60% de los genes codificantes de proteína son regulados por miRNAs. Los cambios estructurales inducidos por mutaciones en los miRNAs muy probablemente interfieren con el procesamiento de éstos, alterando su expresión o modificando sus procesos y vías cadena abajo. Un miRNA puede tener de blanco cientos de RNAm cadena abajo, mientras que un RNAm puede ser blanco de múltiples miRNAs<sup>156</sup>. Mediante diversos algoritmos in silico, se pueden predecir los RNAm blanco de los miRNAs, pero esto requiere caracterización funcional.

El primer ejemplo de mutaciones puntuales encontradas en un miRNA involucrado en enfermedad humana fue publicado en el 2009 por Mencia y coautores quienes identificaron dos mutaciones en la región germinal de MIR96 en dos familias españolas afectadas por una pérdida de la audición no sindrómica progresiva<sup>158</sup>.

En el ojo, miR-184 (codificado por MIR184 [MIM 613146] )se encuentra expresado en las células basales y suprabasales del epitelio corneal central así como también en el epitelio del cristalino; es el micro-RNA más abundantemente expresado en dichos tejidos y por lo tanto se sabe que miR-184 regula los niveles de proteína en estos tejidos<sup>159,160</sup>.

Recientemente, se demostró in vitro que miR-184 regula la diferenciación de las células madre pluripotenciales hacia células similares a las del epitelio corneal. El knock down de miR-184 ocasiona una disminución en el gen PAX6 (Paired Box Gene 6 [MIM\*607108]) el cual es uno de los principales reguladores de la diferenciación celular y la expresión de la queratina 3 (K3 [MIM\*148043]) durante el desarrollo ocular<sup>161</sup>. La expresión de hasta 1000 genes podría encontrarse regulada por miR-184, ya sea de manera independiente o en competencia con otros miRNAs.

Yu y coautores identificaron que miR-184 compite con miR-205<sup>162</sup>.

miR-205 es un miRNA epitelial ampliamente funcional que se encuentra codificado por MIR205 [MIM 613147]. Una acción observada de miR-184 es la inhibición competitiva del acoplamiento de miR-205 al RNAm del gen inositol polifosfato fosfatasa-like 1 (INPPL1, también conocido como SHIP2 [MIM 600829]). Mediante este mecanismo, miR-184 previene el knock down por miR-205 y recupera la producción del INPPL-1. Finalmente esto sostiene los niveles de ATP fosforilado así como un aumento en los niveles de BCL-2 (BAD) el cual es un promotor asociado que es regulador de la apoptosis<sup>162</sup>.

Mutaciones en miR-184 ocasionan su propia falla en competir con miR-205 por la superposición en sitios blanco en la región 3'UTRs del INPPL1 y también de la integrina beta 4, (ITGB4 [MIM 147557]<sup>153</sup>.

Inicialmente se pensaba que la competencia conocida entre miR-184 y miR-205 sólo era por la región 3' UTR de INPPL1, pero a partir de este conocimiento se facilitó otro estudio relativamente directo de la función de miR-184 (r.57c>u). INPPL1 se encuentra expresado de manera constitutiva por células HeLa, sin embargo ni miR-184 ni Mir-205 se encuentran expresados. En este estudio se utilizó un programa computarizado de predicción de gen blanco con el fin de investigar otras instancias en donde miR-184 y miR-205 pudieran tener blancos que tuvieran superposición en la región 3'UTR y gracias a esto se pudo determinar que la integrina beta 4 representa otro blanco (ITGB4 [MIM 147557]<sup>163</sup>.

Aún se desconoce la causa de que miR-184 sea menos efectivo que miR-205 en el knock-down de INPPL-1 e ITGB4.

En la cornea, ITGB4 forma parte del heterodimero  $\alpha6\beta4$  , el cual es el principal componente de los hemidesmosomas del epitelio corneal basal.

Posterior a una herida corneal, los hemidesmosomas en la capa epitelial basal se degradan con el fin de permitir la migración epitelial celular y posteriormente se vuelven a formar<sup>163</sup>.

La expresión específica de tejido de miR-184 es de gran importancia en los efectos fenotípicos que su mutación ocasiona. Dentro de la cornea, la expresión de miR-184 se encuentra restringida a las células epiteliales centrales basales y suprabasales, y por debajo de estas ocurre el adelgazamiento estromal en pacientes con queratocono. En el cristalino, el epitelio se encuentra anterior y de forma paralela a la cornea, y tiene menor capacidad proliferativa de forma central<sup>164</sup>. Se ha visto que el epitelio anterior del cristalino también tiene capacidad para expresar miR-184<sup>159</sup>.

La expresión de miR-184 aumenta en un sitio de herida corneal y vuelve a la normalidad después de la curación<sup>165</sup>.

La disregulación de la expresión de ITGB4 en la cornea central (el sitio de expresión de miR-184) podría tener consecuencias significativas debido a que los queratocitos estromales que se encuentran por debajo del sitio de la herida presentan una rápida apoptosis como mecanismo de defensa<sup>153</sup>.

Mediante análisis de ligamiento en combinación con secuenciación de siguiente generación Lechner y coautores reportaron una mutación heterocigota [miR-184(+57C>T)] en la región germinal de MIR184 en una familia con queratocono severo y catarata polar anterior así como miopía<sup>154</sup>. De manera subsecuente, una segunda mutación idéntica en MIR184 fue reportada en una familia con síndrome de EDICT, el cual se caracteriza por distrofia corneal endotelial con adelgazamiento corneal estromal no ectásico y encurvamiento en la topografía corneal<sup>166,167</sup>, hipoplasia iridiana y catarata congénita, el cual es transmitido de manera autosómica dominante<sup>168,169</sup>. Sin embargo el fenotipo corneal de este síndrome no es clínica ni histológicamente característico del queratocono ni del resto de las ECP<sup>166,167</sup>.

A través de secuenciación profunda de una región de ligamiento, Hughes y coautores encontraron una mutación en la región germinal de MIR184 como responsable de queratocono severo familiar combinado con el inicio temprano de catarata polar anterior en una familia del norte de Irlanda en la cual 18 de 38 individuos de tres generaciones se encontraban afectados de forma autosómica dominante. Previamente, se mapeo el locus de la enfermedad en esta familia en una región de 5.5 Mb en el cromosoma 15q22-q25 y a su vez se excluyeron muchos genes candidato mediante secuenciación convencional<sup>170</sup>.

En otro estudio, con el fin de establecer si mutaciones en MIR184 se encuentran asociadas con el desarrollo de queratocono, Hughes y coautores, secuenciaron el gen MIR184 en una gran cohorte de 780 pacientes con queratocono de etnicidad mixta, del Reino Unido, la India, y Australia. Los datos en este estudio expandieron el espectro fenotípico actual para las mutaciones en MIR184, las cuales tienen un rango desde queratocono, queratocono asociado con catarata<sup>163</sup>, hasta disgenesia del segmento anterior<sup>169</sup>.

En este estudio detectaron dos mutaciones noveles heterocigotas en MIR184 en dos pacientes con queratocono, ambos de origen caucásico, uno de Australia y el otro del Reino Unido con las siguientes mutaciones respectivamente: miR-184 (+3 A>G) y miR-184 (+8C>A). Ambos pacientes tenían evidencia característica de queratocono mediante la exploración en lámpara de hendidura y topografía corneal, indicando el papel de MIR184 en la patogénesis del queratocono aislado.

El paciente del Reino Unido con la mutación miR-184 +8C>A fue un paciente masculino de 43 años con queratocono esporádico, sin otras anomalías oftalmológicas asociadas. El paciente de origen Australiano que presentó la mutación miR-184 +3 A>G fue un paciente masculino de 55 años, con clínica bilateral de queratocono y una catarata granular cortical. Se encontró que este paciente tenía un hermano con queratocono bilateral y a su vez una catarata cortical granular muy sutil así como la misma mutación miR-184 +3 A>G. La examinación de los padres del paciente de origen Australiano no presentó evidencia clínica compatible con queratocono, sin embargo se encontró que el padre era portador de la misma mutación (+3 A>G). Tanto el padre como la madre presentaron adelgazamiento corneal y a su vez la madre presentó nervios corneales prominentes y una catarata granular similar a la observada en los hermanos. El padre presentó haze corneal central y una línea de hierro de Hudson-Stahli. La catarata observada en la madre así como en sus dos hijos no se relacionó con la mutación. De acuerdo a lo anterior, los autores de este estudio plantearon la hipótesis de que la madre a pesar de no presentar la mutación MIR184, muy probablemente es portadora de otro factores de riesgo genéticos no

definidos para queratocono que le fueron heredados por su ascendencia. Estos factores de manera conjunta con la mutación en MIR184 llevaron a una forma clínica muy característica de queratocono tanto en el paciente blanco como en su hermano.

Debido a que la penetrancia de la mutación en miR-184 (+3 A>G) no fue completa, y debido a que no fueron capaces de verificar segregación de la mutación en miR 184(+8C>A), se utilizó un modelo computacional y ensayos funcionales para confirmar la patogenia de las mutaciones identificadas. Dicho análisis computacional predijo cambios estructurales que alteraban la estructura secundaria de la región germinal bucle del pre-miR-184 comparado con el WT-miR-184<sup>154</sup>.

Este modelo de enfermedad de umbral poligénico se ha propuesto en varias ocasiones en enfermedades complejas y se ha explorado extensivamente en relación con otras patologías de origen multifactorial tales como la esquizofrenia<sup>171</sup>.

El clonaje y transfección de los transcritos mutantes de MIR184 en células HEK293T, resultó en una disminución en los niveles de expresión del miR-184 maduro comparado con los transcritos wild type de miR-184 afectados, indicando una alteración en el procesamiento de miRNA.

La mutación miR-184(+8C>A) identificada en el paciente del Reino Unido resultó en una pérdida completa de la expresión de miR-184.

La mutación miR-184(+3 A>G) se predijo que reduciría la probabilidad de apareamiento de los nucleótidos en la posición 3' de la estructura germinal bucle del miRNA en el sitio de unión entre el RNA cadena simple y el de doble cadena. Esta región es esencial para el reconocimiento y anclaje por Drosha<sup>157</sup>, y dicha mutación podría resultar en la disminución en los niveles de expresión de miR-184.

Para ambas mutaciones se observó una disminución en la expresión de miR-184, sin embargo el impacto fue menor para la mutación miR-184 +3 A>G que para la mutación miR-184 +8C>A, lo cual va acorde con la penetrancia incompleta que caracteriza al queratocono.

El padre del paciente con la mutación miR-184 +3 A>G era portador, por lo tanto no manifestó clínica compatible con queratocono dentro de las definiciones comúnmente utilizadas así como tampoco presentó clínica compatible con queratocono frustrado. El hermano de este paciente blanco también presentó clínica compatible con queratocono así como la mutación. Tanto el padre como la madre presentaron hallazgos sutiles que se encuentran englobados dentro de la descripción del queratocono (adelgazamiento corneal, haze corneal, nervios corneales prominentes).

Tal como se ha escrito previamente, la estructura del precursor de miRNA es crucial para el anclaje de Drosha y reconocimiento de la exportina-5, así como para el reconocimiento de Dicer y su especificidad de anclaje. Las mutaciones identificadas que modifican las regiones de estructura germinal bucle de miR-184, podrían interferir tanto con la eficiencia del procesamiento como con el sitio de anclaje por Drosha. Los cambios en el sitio de anclaje podrían alterar los extremos del precursor de miR-184 y de manera consecuente afectar el reconocimiento de la exportina-5 o el procesamiento de Dicer, resultando en una alteración de los niveles de expresión del microRNA maduro. Una modificación en el sitio de anclaje Dicer podría producir una secuencia diferente del miRNA con una región germinal alterada<sup>157</sup>.

Lo anterior demuestra que la variación en los miRNAs puede ocasionar enfermedad la cual es específica al tejido en el que el miRNA se expresa. Este conocimiento podría abrir nuevas líneas de investigación y esto a su vez brindaría nuevas alternativas de tratamiento. El uso terapéutico de miRNA en enfermedades oculares representa un prospecto real y de gran interés

# 5. Descripción del estudio

## 5.1 Hipótesis

### Hipótesis de la Investigación

Mutaciones en el gen MIR 184 se asocian con la presencia de ectasias corneales primarias.

### 5.2 Hipótesis nula

No existe una asociación entre mutaciones en el gen MIR-184 y la presencia de ectasias corneales primarias.

### 5.3 Hipótesis alternativa

Existe una asociación entre mutaciones en el gen MIR-184 y la presencia de ectasias corneales primarias.

### 5.4 Objetivo general

Identificar mutaciones del gen mIR-184 o anomalías en su expresión en muestras de pacientes con ectasias corneales primarias.

## **5.5 Objetivos específicos**

Identificar variantes del gen mIR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias.

## **5.6 Diseño del estudio**

Estudio descriptivo observacional en el que se busca la presencia o ausencia de la mutación en el gen MIR-184 en pacientes con diagnóstico de ectasias corneales esporádicas o familiares.

## **5.7 Material y métodos**

El análisis de genotipificación incluyó 200 muestras de casos esporádicos o familiares con ectasias corneales primarias que fueron diagnosticados tanto por criterios clínicos como topográficos.

## **5.8 Criterios de inclusión**

Se incluyeron pacientes con criterios clínicos o topográficos compatibles con diagnóstico de ectasias corneales primarias tales como queratocono, degeneración marginal pelúcida o queratoglobo, así como también formas subclínicas de queratocono, cuya manifestación fuera tanto esporádica como familiar.

## **5.9 Criterios de exclusión**

Se excluyeron a todos aquellos pacientes cuyo adelgazamiento corneal no fuera secundario a una entidad englobada dentro del grupo de las ectasias corneales primarias.

Se excluyeron a los pacientes que aunque hayan sido previamente diagnosticados con una ectasia corneal primaria, hayan sido sometidos a un procedimiento quirúrgico corneal.

## 5.10 Metodología

Previo consentimiento informado se tomó una muestra de 2 mL de sangre a cada paciente y se extrajo el DNA genómico. El análisis del gen MIR-184 se realizó mediante amplificación por PCR y secuenciación nucleotídica directa.

Para la realización de la amplificación por PCR, se efectuó de cada uno de los exones y de las uniones exón/intrón del gen MIR-184 a partir del DNA de los sujetos afectados, utilizando pares de oligonucleótidos derivados de la secuencia normal de cada exón. Cada reacción de amplificación de PCR tuvo un volumen final de 15 microlitros que contenía: buffer para PCR 1X, de 50-100 ng de DNA genómico, 0.2 mM de cada uno de los cuatro dNTP's, 2.5 unidades de enzima TaqPolimerasa, 1mM del oligonucleótido correspondiente (sentido y antisentido), MgCl<sub>2</sub> entre 1 y 3 mM y agua bidestilada c.b.p. 25 microlitros. Se utilizó un programa de temperaturas que incluyó 1 ciclo de 15 minutos a 95°C para la desnaturalización inicial, 35 ciclos con 1 minuto de desnaturalización a 95°C, 1 minuto de alineamiento a temperaturas específicas para cada par de oligonucleótidos y 1 minuto a 72°C para la extensión. Por último, se realizaron 1 ciclo a 72°C por 10 minutos para la extensión final. Los productos obtenidos de la amplificación se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% con tinción de bromuro de etidio para identificar las bandas específicas con el producto amplificado, utilizando como referencia un marcador estándar de peso molecular de 100 pares de base. Se reconocieron las bandas de interés y se escindieron del gel para la purificación del producto de DNA amplificado utilizando el método de purificación por columna (Qiagen).

Para la secuenciación nucleotídica exón por exón se realizaron nuevas reacciones de PCR para la secuenciación nucleotídica de cada uno de los exones de miR-184 incluyendo las uniones exón/intrón. Cada reacción de 10 microlitros contenía 2 microlitros de BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) que contenía los cuatro dideoxynucleótidos trifosfatados (ddNTPs) marcados por fluorescencia, deoxynucleótidos trifosfatados (dNTPs) no marcados, Tris-HCl (Ph 9.0),  $MgCl_2$  y la enzima ampliTaQ polimerasa; se agregó además 1 microlitro del oligonucleótido correspondiente a una concentración de 10 micromolar, 10-20 ngs del DNA de cada producto de PCR como templado y agua bidestilada para un volumen final de 20 microlitros. Para esta reacción de PCR se utilizó un programa de 25 ciclos que incluyeron 30 segundos a 97°C para la desnaturalización, 15 segundos a 50°C para el alineamiento y 4 minutos a 60°C para la extensión.

Los productos de esta segunda amplificación de PCR se purificaron por medio de columnas Centri-Sep (Applied Biosystems) para eliminar el exceso de oligonucleótido y de ddNTPs fluorescentes. Cada muestra se re suspendió en 20 microlitros de formamida y posteriormente se desnaturalizaron a 95°C por 5 minutos. Los productos se analizaron por electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI Prism 310 (Applied Biosystems) y las secuencias de DNA obtenidas en sujetos enfermos se compararon con las secuencias silvestres del gen MIR-184 (ensembl genome browser) para identificar posibles mutaciones.

### **5.11 Variables del estudio**

Se planteó la medición una variable cualitativa nominal dicotómica de acuerdo a:  
-la presencia o ausencia de la mutación en el gen MIR -184

## **5.12 Análisis estadístico**

De acuerdo a la variable predictora dicotómica respecto a la presencia o ausencia de la mutación en el gen MIR-184 en pacientes con ectasias corneales tanto esporádicas como familiares la prueba estadística para hacer su análisis a realizar fue la  $\chi^2$ .

## **5.13 Aspectos éticos**

Dicho estudio, fue valorado y aprobado por el comité de ética del Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana de acuerdo con los principios de respeto a las personas, de beneficencia y de justicia.

## **5.14 Financiamiento de la investigación**

El presente protocolo va fue financiado a través del patronato del Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana sin la recepción de pagos de terceros partidos, así como tampoco existirán financieras con partidos externos a la institución mencionada.

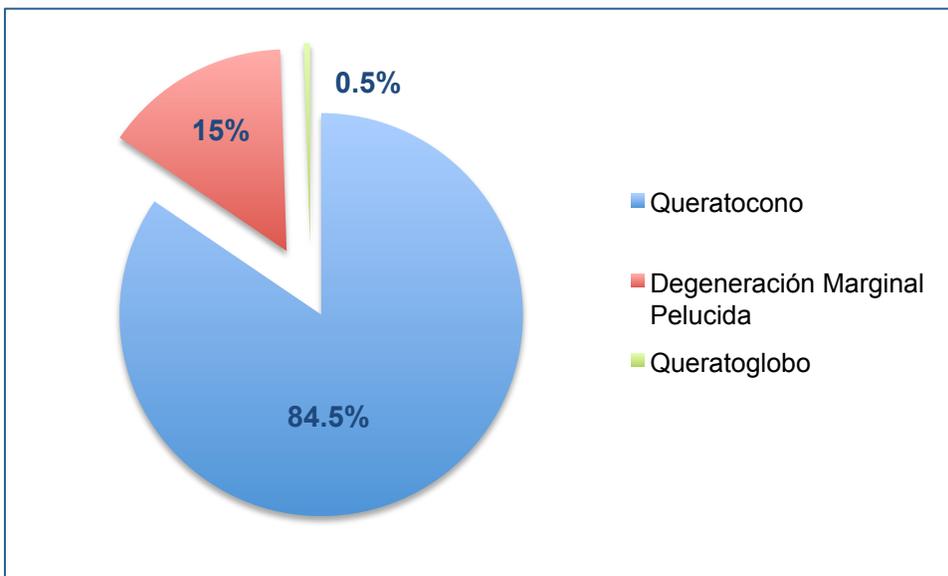
## **5.15 Declaración de conflicto de intereses de los investigadores**

De acuerdo con el formato de conflicto de intereses establecido por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE), los investigadores de este estudio no presentan conflictos de intereses relacionados con compromisos personales de los mismos, así como tampoco relacionados con la financiación del proyecto o de cualquier otra índole.

## 6. Resultados

### 6.1 Distribución de los casos según el tipo de ectasia corneal primaria

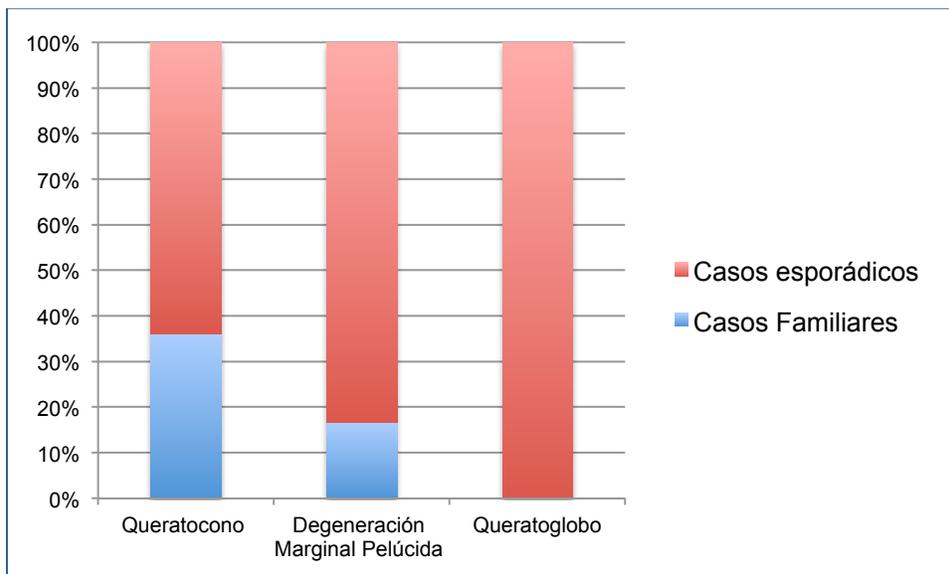
Se obtuvieron un total de 200 muestras de ADN de casos con diagnóstico de ectasia corneal primaria. Del total de 200 casos, 169 presentaron el diagnóstico de queratocono, 20 de degeneración marginal pelúcida y uno de queratoglobo (Figura 1).



**Figura 1. Distribución de los casos según el tipo de ectasia corneal primaria que presentaron**

## 6.2 Antecedente hereditario

De los pacientes con queratocono, 61 (36%) fueron casos familiares con un patrón de herencia autosómico dominante, y 108 (64%) fueron casos esporádicos. De los pacientes con DMP, 5 (20%) fueron casos familiares y 25 (80%) fueron casos esporádicos. La paciente con queratoglobo se trató de un caso esporádico. (Figura 2).



**Figura 2. Forma de presentación en porcentajes**

### 6.3 Distribución por género

De la totalidad de los 169 casos con queratocono, 106 (63%) fueron de género masculino y 63 (37%) de género femenino. De los casos con degeneración marginal pelúcida, 21 (70%) fueron de género masculino y 9 (30%) de género femenino. El paciente diagnosticado con queratoglobo fue del género femenino (100%) (Figura 3).

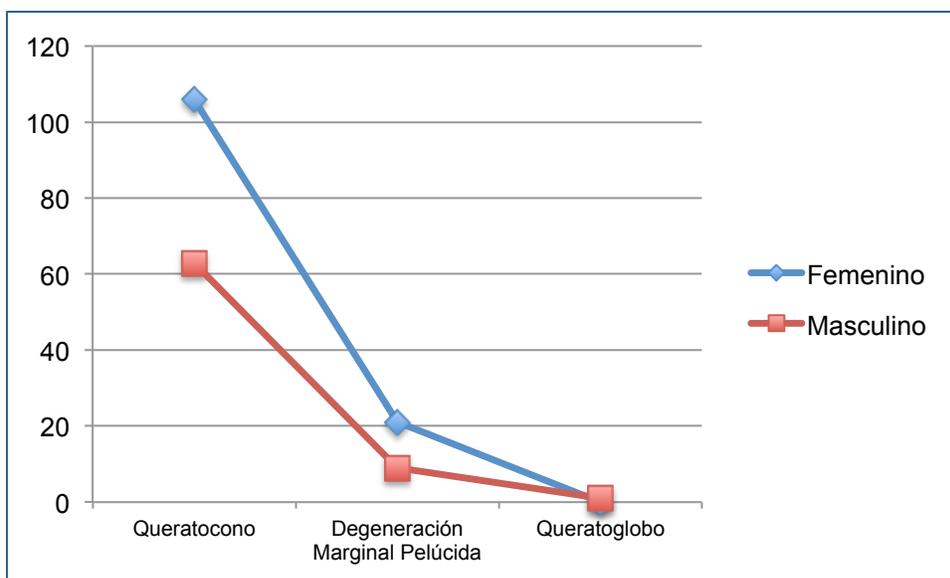
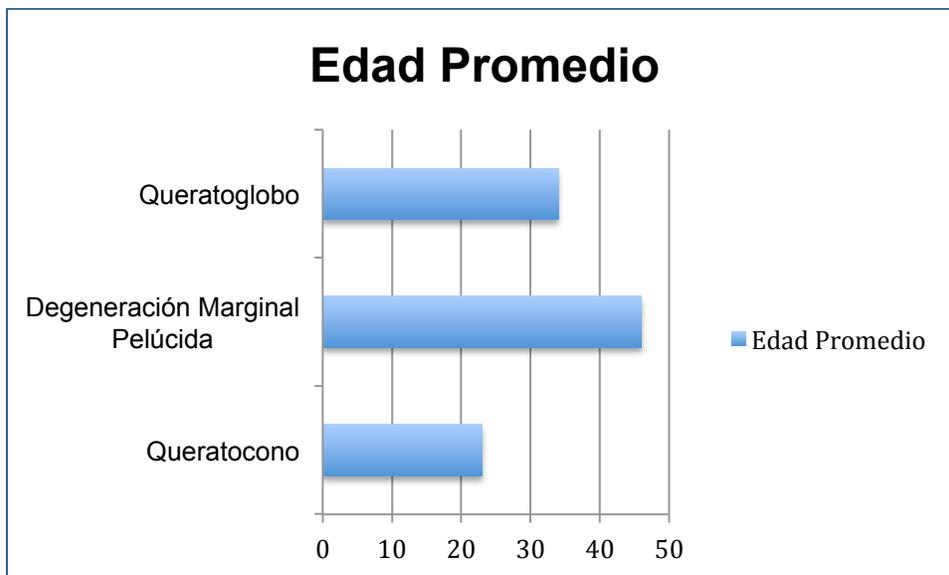


Figura 3. Distribución por género

## 6.4 Distribución por rango de edad

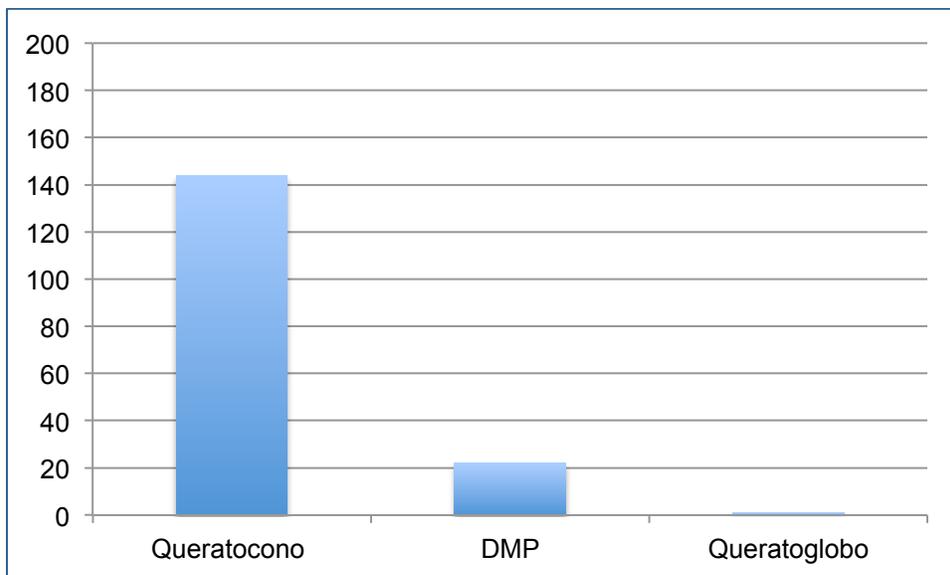
El rango de edad de los pacientes con queratocono fue entre los 14 y los 29 años, con una media de 23 años. Para la degeneración marginal pelúcida el rango de edad fue de los 39 a los 48 años con una media de 46 años. La edad de la paciente con queratoglobo fue de 34 años (Figura 4).



**Figura 4. Edad promedio de presentación**

## 6.5 Antecedente de uso de lentes de contacto

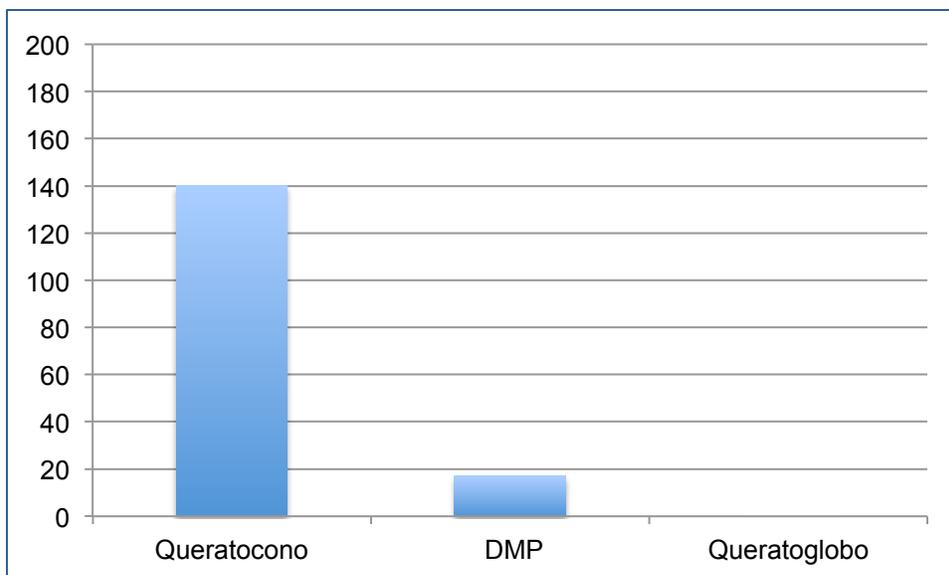
De los pacientes con queratocono, 135 (80%) presentó el antecedente de uso de lentes de contacto, mientras en los pacientes con DMP fue en 22 (72%) casos. El paciente con queratoglobo no tenía antecedente de uso de lentes de contacto y acudió a la consulta por molestias en el ojo contralateral. Se quejaba principalmente de distorsión visual (Figura 5).



**Figura 5.**  
**Pacientes con**  
**antecedente de uso de**  
**lentes de contacto**

## 6.6 Antecedente de enfermedades alérgicas

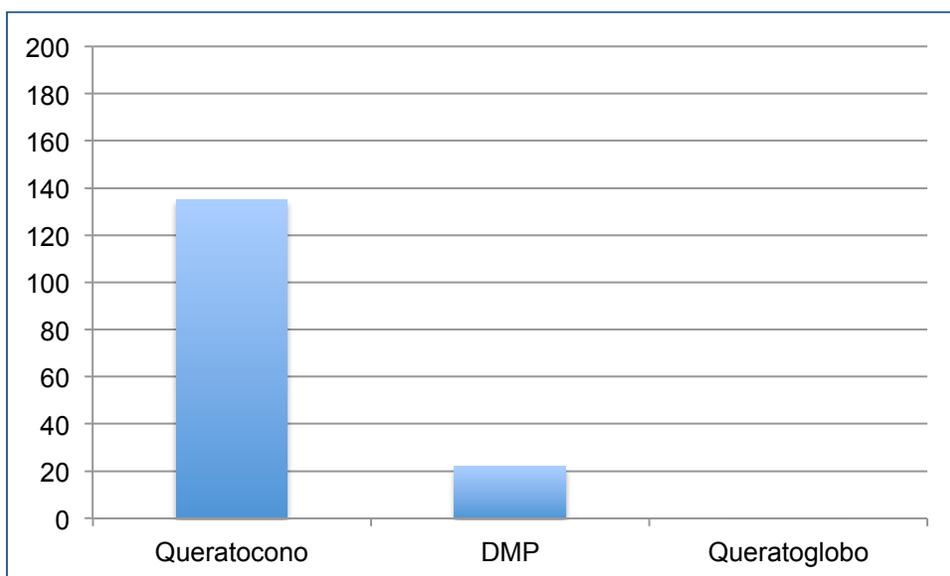
En cuanto a antecedentes de enfermedades alérgicas, éste se observó en 140 (83%) de los casos con queratocono presentó el antecedente de dermatitis atópica, rinitis y/o conjuntivitis alérgica, mientras que esto se observó en 17 (57%) pacientes con DMP. El paciente con queratoglobo no presentó antecedentes alérgicos (Figura 6).



**Figura 6.**  
**Antecedente de enfermedades alérgicas**

## 6.7 Antecedente de rascado ocular

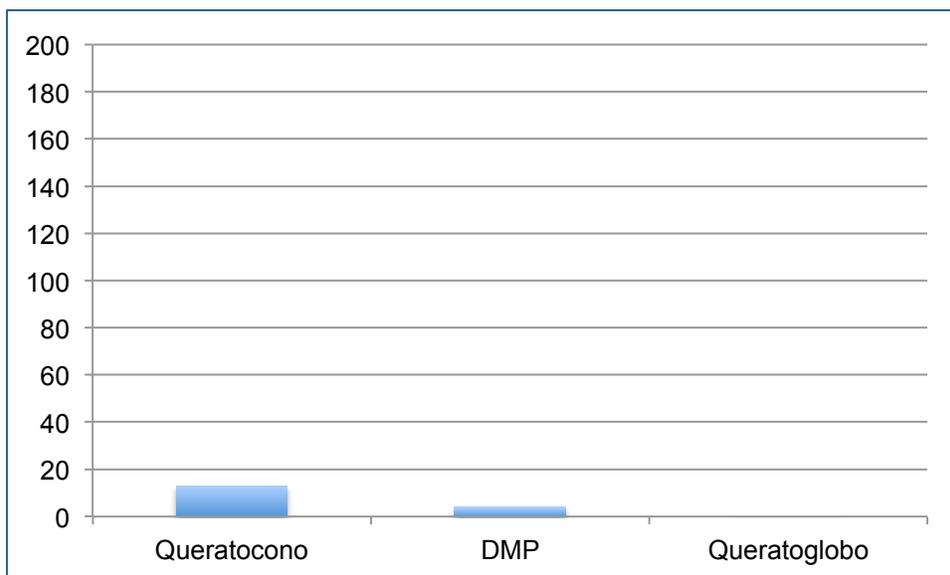
En cuanto al antecedente de rascado ocular, lo presentaron 144 (85%) pacientes con queratocono, así como 22 (73%) pacientes con DMP, y también lo presentó el paciente con queratoglobo (100%) (Figura 7).



**Figura 7.**  
Antecedente de rascado ocular en los pacientes con ectasia corneal primaria

## 6.8 Antecedente de erosiones corneales

Del total de casos con diagnóstico de ECP, 13 casos con queratocono presentó el antecedente de erosiones corneales, 4 de los casos con DMP, y el caso con queratoglobo no presentó dicho antecedente (Figura 8).



**Figura 8.**  
Casos con antecedente de erosiones corneales

## 6.9 Antecedente de hydrops corneal

Del total de casos con diagnóstico de ECP, 5 casos con queratocono presentó el antecedente de hydrops corneal, 2 de los casos con DMP, y de igual manera lo presentó el caso con diagnóstico de queratoglobos (Tabla 7).

**Tabla 7. Antecedente de hydrops corneal**

Tipo de ectasia corneal primaria	Número de casos con antecedente de hydrops corneal
Queratocono	5
Degeneración marginal pelúcida	2
Queratoglobos	1

## 6.10 Enfermedades Sistémicas Asociadas

Dentro de las enfermedades asociadas, se encontraron en 4 casos de los pacientes con queratocono el antecedente de síndrome de Down, y en todos ellos el antecedente de hydrops corneal, en 3 pacientes con queratocono, se encontró el antecedente de síndrome de Marfan y un paciente con degeneración marginal pelúcida presentó el antecedente de síndrome de Ehlers Danlos (Tabla 8).

**Tabla 8. Enfermedades sistémicas asociadas en los casos con antecedente de ectasia corneal primaria**

Tipo de ectasia corneal primaria	Enfermedad asociada	Número de casos
Queratocono	Síndrome de Down	4
Degeneración marginal pelúcida	Síndrome de Marfan	3
Queratoglobo	Síndrome de Ehlers Danlos	1

## 6.11 Bilateralidad en los casos con queratocono

De los pacientes con queratocono, 139 pacientes (82%) se presentaron de manera bilateral y 30 (18%) de forma unilateral (Figura 9).



**Figura 9. Forma de presentación en los pacientes con queratocono de acuerdo a lateralidad**

## 6.12 Capacidad visual de los pacientes con queratocono

De la serie de casos con queratocono, 3 pacientes presentaron una capacidad visual mejor corregida dentro de un rango de 20/20 a 20/25, 37 pacientes presentaron una capacidad visual mejor corregida entre un rango de 20/30 a 20/40, 108 pacientes presentaron una capacidad visual mejor corregida dentro de un rango de 20/50 a 20/60 y 21 pacientes presentaron una capacidad visual mejor corregida menor a 20/60 (Figura 10).

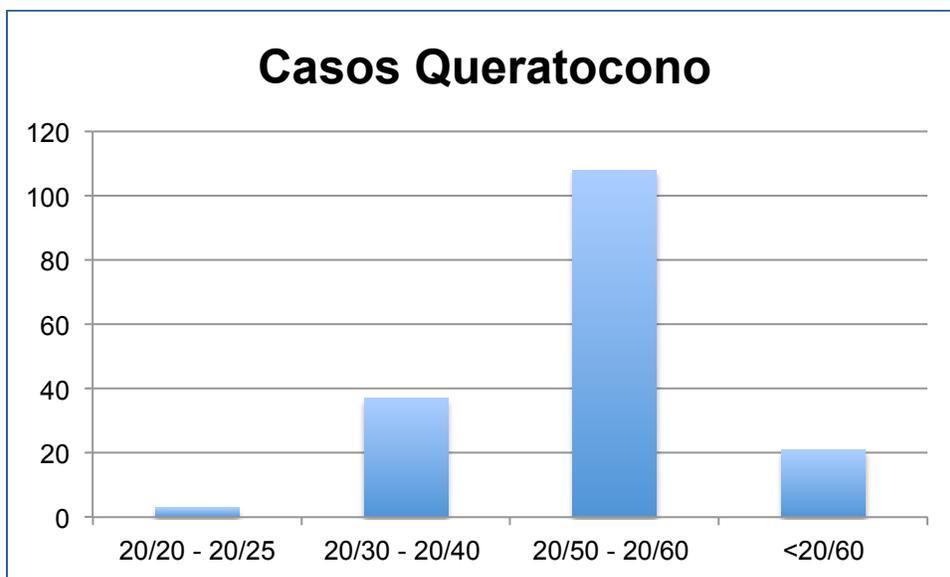
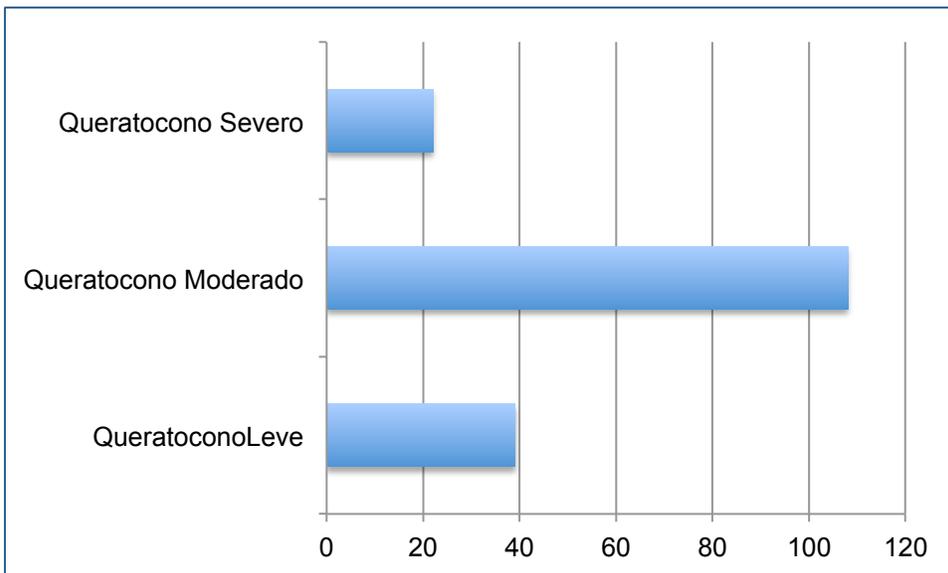


Figura 10. Capacidad visual mejor corregida de los casos con queratocono.

### 6.13 Grado de severidad en los casos con queratocono

Se utilizaron los índices de Rabinowitz-McDonnell para realizar el diagnóstico topográfico de queratocono, con un valor de queratometría simulado (SimK)  $\geq 47.2$  dioptrías, el valor de asimetría en potencia dióptrica inferior-superior (índice I-S)  $\geq 1.4$  dioptrías, una diferencia queratométrica mayor a una dioptría entre ambos ojos, con una best fit sphere  $> 55$  dioptrías, el punto de mayor adelgazamiento corneal  $< 470$  micras con una diferencia mayor a 100 micras entre el punto de mayor adelgazamiento corneal y 7 mm hacia la periferia y una diferencia de valor K medio entre ambos ojos superior a 1 dioptría. De acuerdo a lo anterior se clasificaron a los pacientes dependiendo del grado de severidad en leve en 37 pacientes (22%), moderado en 110 pacientes (65%) y severo en 22 pacientes (13%) (Figura 11).



**Figura 11. Clasificación de los pacientes con queratocono de acuerdo al grado de severidad**

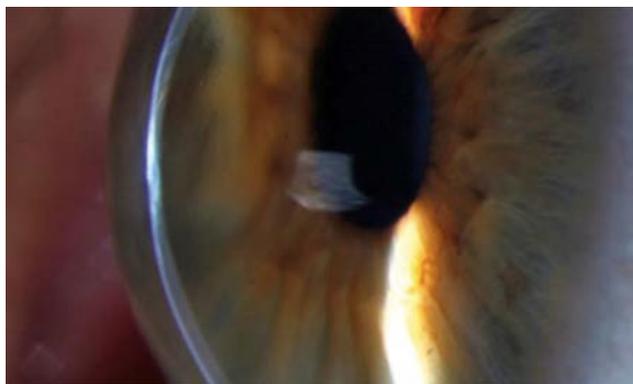
## 6.14 Equivalente esférico en los pacientes con queratocono

El rango de equivalente esférico para los pacientes con queratocono leve fue de  $-0.75 \pm 2.25$  dioptrías, en los pacientes con queratocono moderado el rango de equivalente esférico fue de  $-5.15 \pm 4.18$  dioptrías y en los pacientes con queratocono severo, el rango de equivalente esférico fue de  $-6.76 \pm 5.78$  dioptrías (Tabla 9).

La media de capacidad visual mejor corregida de los pacientes con DMP fue de 20/30.

**Tabla 9. Equivalente esférico en los pacientes con queratocono de acuerdo al grado de severidad.**

Grado de Queratocono	Equivalente Esférico
Leve	$-0.75 \pm 2.25$ dioptrías
Moderado	$-5.15 \pm 4.18$ dioptrías
Severo	$-6.76 \pm 5.78$ dioptrías



**Figura 12**  
Paciente masculino  
de 27 años con  
queratocono  
severo

## 6.15 Signos clínicos más frecuentes en los casos con queratocono

Dentro de las características clínicas, el signo que se observó con mayor frecuencia tanto en los pacientes con queratocono leve como en aquellos con queratocono moderado fueron las estriaciones de Vogt 20% y 48%, respectivamente. En los pacientes con queratocono leve el signo que menos frecuentemente se observó fue el de Munson (2%) y después las erosiones corneales (3%), mientras que en los pacientes con queratocono moderado el signo de Munson se observó hasta en un 21% de los casos y las erosiones corneales se presentaron hasta en un 15%. El signo que se observó con mayor frecuencia en los pacientes con queratocono severo fue el de Munson en 98% de los casos, después las estriaciones de Vogt en 83% de los casos y en 34% de los casos erosiones corneales (Tabla 10).

**Tabla 10. Frecuencia en porcentaje de los principales signos de Queratocono de acuerdo a su severidad**

Grado de Queratocono	Signo de Munson	Estriaciones de Vogt	Erosiones Corneales
Leve (45D)	2%	20%	3%
Moderado (45 a 52D)	21%	48%	15%
Severo (>52D)	100%	83%	34%

## 6.16 Localización del adelgazamiento en los casos con queratocono

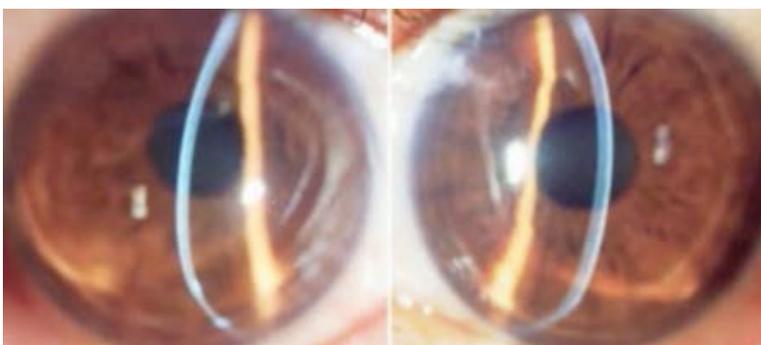
La localización del adelgazamiento corneal en los pacientes con queratocono fue predominantemente paracentral inferior, se observó hasta en un 73.38% (124 casos) y el resto de los pacientes presentaron una localización de adelgazamiento central, es decir en un 26.62% de los pacientes (45 casos) (Tabla 11).

**Tabla 11. Localización del adelgazamiento corneal en los pacientes con Queratocono**

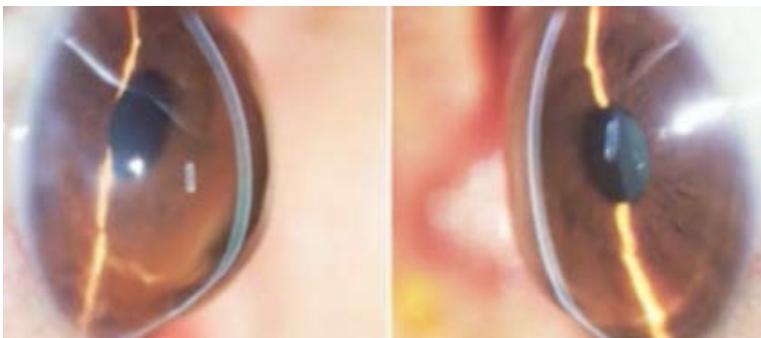
Localización del Adelgazamiento Corneal	Número de Pacientes
Paracentral inferior	73.38% (124 pacientes)
Central	26.62% (45 pacientes)

## 6.17 Criterios clínicos para el diagnóstico de degeneración marginal pelúcida

Los criterios clínicos para diagnosticar degeneración marginal pelúcida fueron el hallazgo de una banda periférica arqueada de adelgazamiento corneal a 1 -2 mm del limbo, es decir separada del limbo esclero corneal por una corneal normal, en los meridianos de 4 a 8, con la zona de máxima protrusión corneal localizada superior a dicha banda, y un astigmatismo elevado en contra de la regla (Figuras 13 y 14).



**Figura 13. Paciente masculino de 47 años de edad con degeneración marginal pelúcida y alto astigmatismo en contra de la regla.**



**Figura 14. Paciente masculino de 41 años con degeneración marginal pelúcida y alto astigmatismo en contra de la regla**



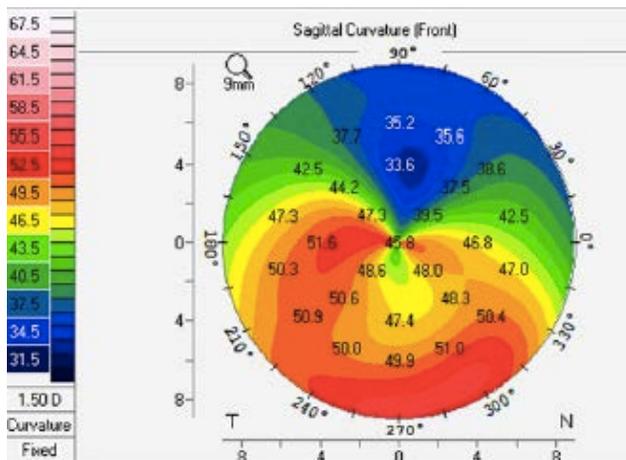
**Figura 16.**Estadios iniciales de degeneración marginal pelúcida en paciente masculino de 39 años con astigmatismo de 5.00x90°



**Figura 17.**  
Paciente femenino de 44 años con degeneración marginal pelúcida e hydrops agudo

Para el diagnóstico topográfico de la degeneración marginal pelúcida se buscó en el mapa de curvatura un aplanamiento del meridiano vertical con un encurvamiento corneal inferior de manera periférica al sitio de la lesión y un astigmatismo elevado en contra de la regla en patrón de “croissant” o “pinza de cangrejo” en el mapa de curvatura anterior.

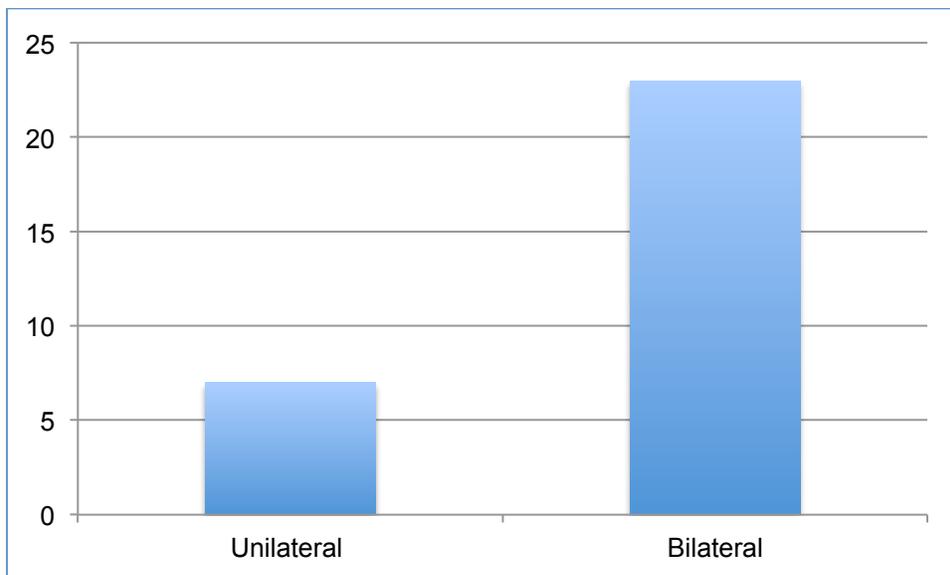
Todos los pacientes incluidos en este estudio con el diagnóstico de DMP presentaron la característica topográfica clásica de “pinza de cangrejo” (Figura 9).



**Figura 9.**  
Topografía en pinza de cangrejo de paciente masculino de 42 años con degeneración marginal pelúcida.

### 6.18 Bilateralidad en los pacientes con degeneración maginal pelúcida

De los pacientes con DMP, 7 (23%) la presentaron de forma unilateral y 23 (77%) de forma bilateral (Figura 18).



**Figura 18**  
Forma de presentación de los pacientes con degeneración marginal pelúcida de acuerdo a la lateralidad

### 6.19 Localización del adelgazamiento corneal en los pacientes con degeneración marginal pelúcida

De los pacientes con degeneración marginal pelúcida, los 30 presentaron localización inferior.

## 6.20 Equivalente esférico en los pacientes con degeneración marginal pelúcida

En cuanto al equivalente esférico en los pacientes con DMP, la mayoría presentó grados de moderados a severos de miopía, con 8 pacientes con un equivalente esférico de -3 a -6 dioptrías, 18 pacientes con un equivalente esférico entre -6 y -12 dioptrías, y 4 pacientes con un equivalente esférico mayor a -12 dioptrías (Tabla 12).

**Tabla 12. Equivalente esférico (D) en los pacientes con DMP**

Equivalente esférico	Número de pacientes
-3.00 a -6.00 D	8
-6.00 a -12.00 D	18
> - 12.00 D	4

## 6.21 Criterios clínicos para el diagnóstico de queratoglobo

Los criterios clínicos para queratoglobo fueron el presentar una configuración corneal globular bilateral a partir del limbo con un adelgazamiento difuso y generalizado corneal, especialmente en la periferia media, la presencia de astigmatismo y una importante afectación visual.

Para el diagnóstico de queratoglobo únicamente se utilizaron criterios clínicos y no topográficos.

El paciente con queratoglobo presentó adelgazamiento corneal de forma generalizada, y queratocono en el ojo contralateral (Figura 19).

**Figura 19. Paciente femenino de 34 años con queratocono en el ojo derecho y queratoglobo en el ojo izquierdo.**



## 6.22 Amplificaciones del gen miR-184 mediante PCR

Se obtuvieron un total de 200 muestras de ADN de casos con diagnóstico de ectasias corneales primarias, de la totalidad de las muestras se pudo realizar amplificación de ADN para miR-184 (Figuras 20 a 30) y posterior secuenciación de ADN con el fin de buscar la presencia o ausencia de mutación en el gen miR-184

Del total de las 200 amplificaciones de ADN que se obtuvieron, se realizaron 200 secuenciaciones de las mismas.

Posterior a la amplificación y secuenciación de ADN, se procedió a buscar la presencia o ausencia de mutación en el gen miR-184, no se encontró dicha mutación en ninguno de los casos.

Figura 20. Amplificación mediante PCR. Casos 1 a 14, queratocono

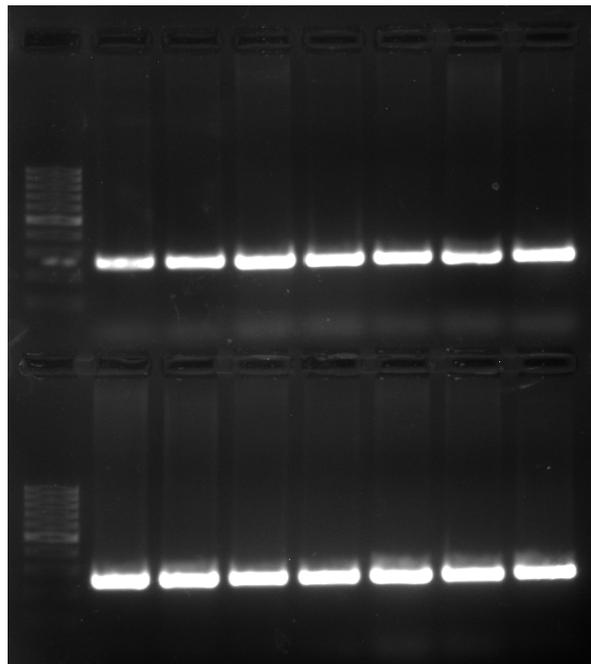


Figura 21. Amplificación mediante PCR. Casos 15 a 26, queratocono

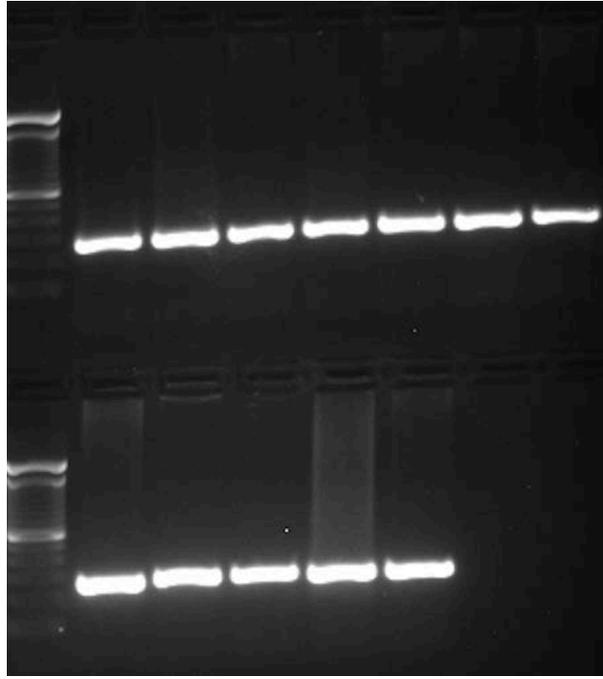


Figura 22 .Amplificaciones mediante PCR. Casos 27 a 64. Queratocono.

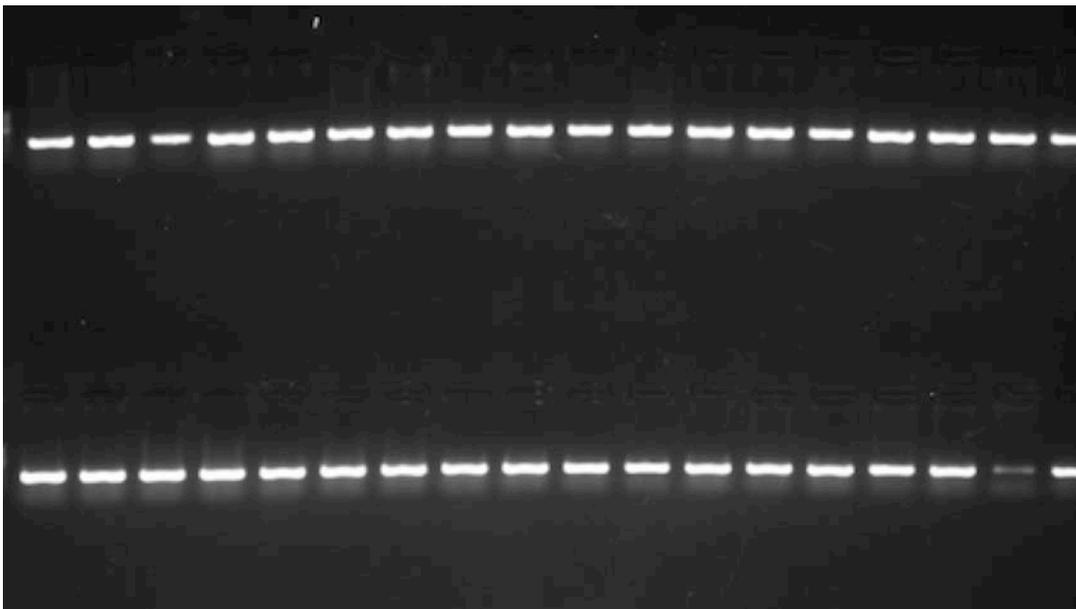


Figura 23. Amplificación mediante PCR. Casos 65 a 78, queratocono

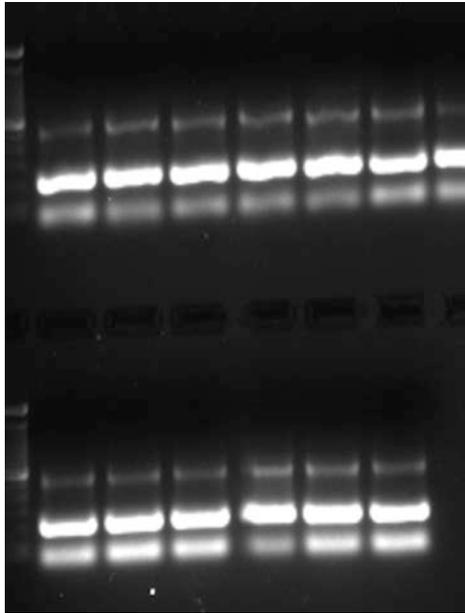


Figura 24. Amplificación mediante PCR. Casos 79 a 91, queratocono

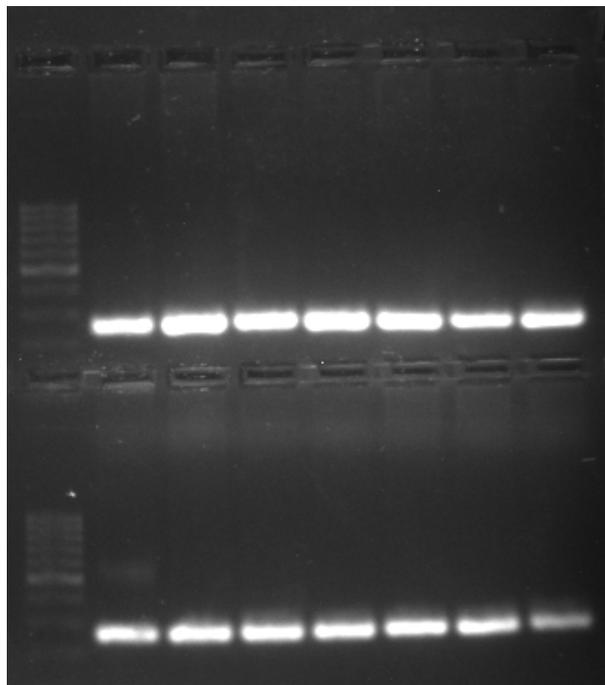


Figura 25. Amplificación mediante PCR. Casos 92 a 129, queratocono

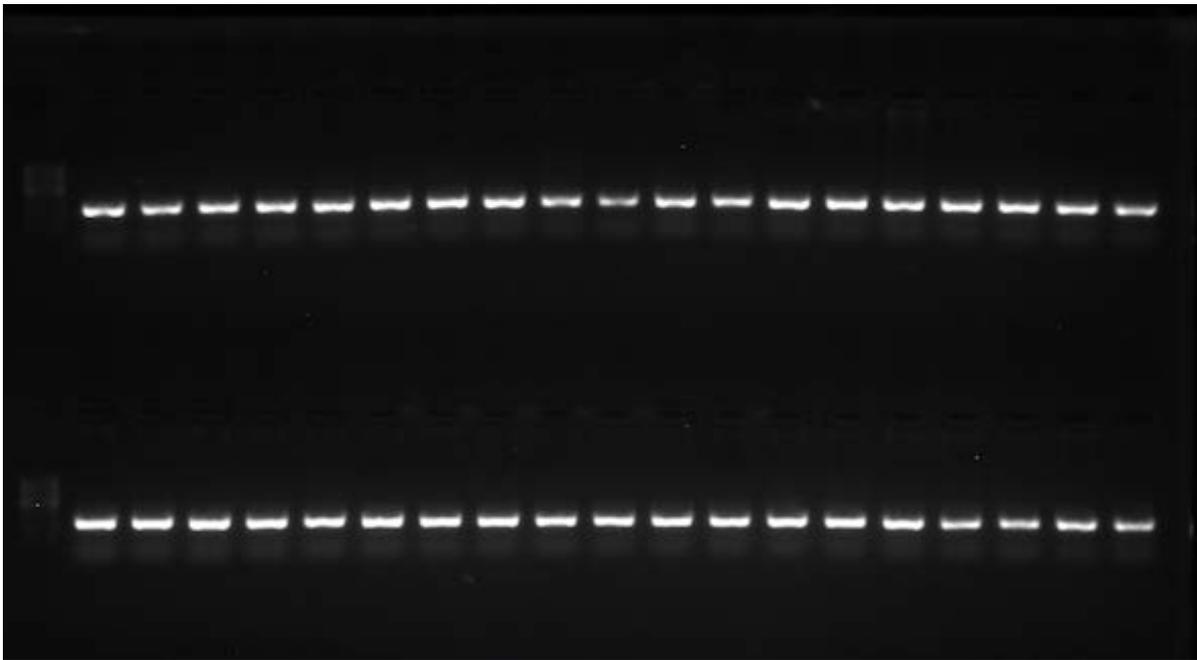


Figura 26. Amplificación mediante PCR. Casos 130 a 141, queratocono

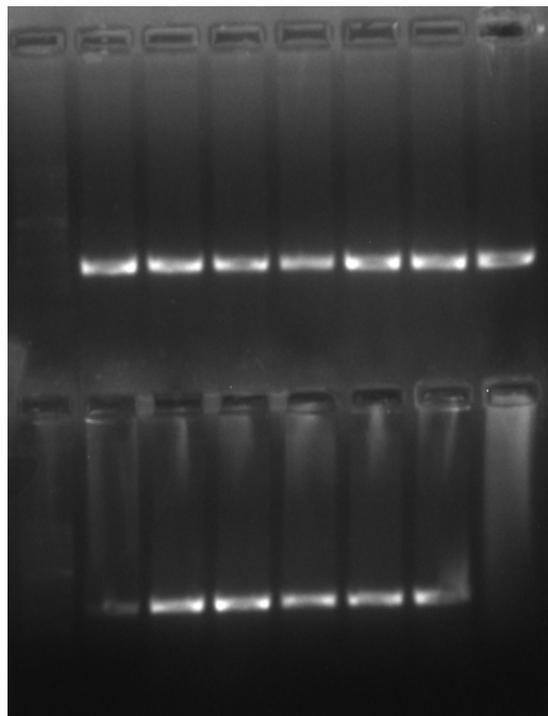


Figura 27. Amplificación mediante PCR. Casos 142 a 155, queratocono

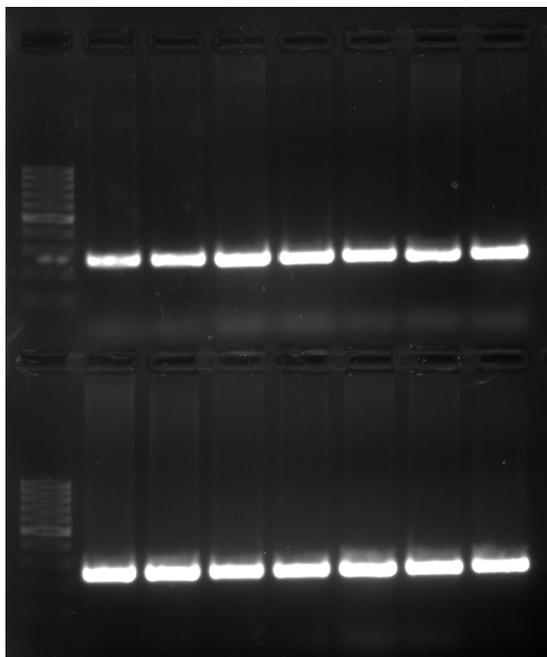


Figura 28. Amplificación mediante PCR. Casos 156 a 169, queratocono

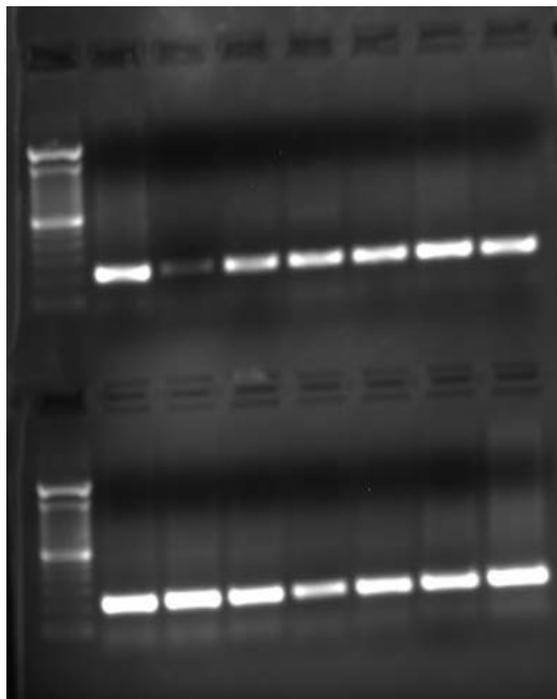


Figura 29. Amplificación mediante PCR. Casos 170 a 176, queratocono

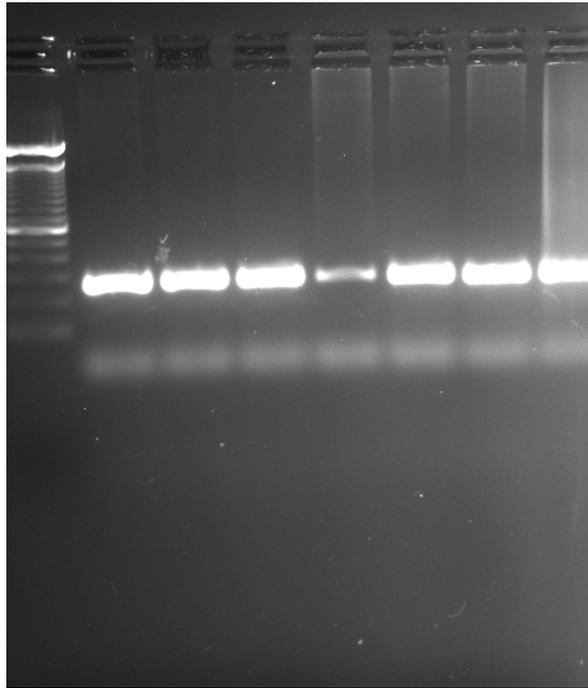
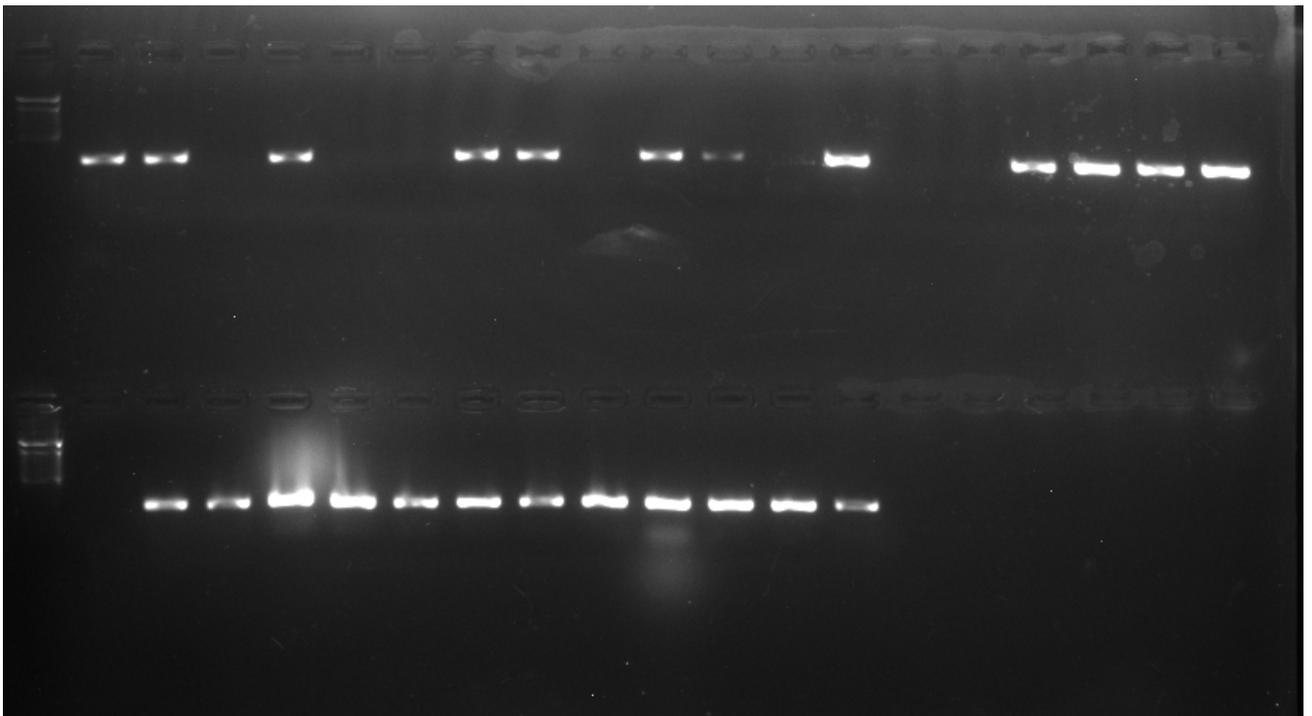


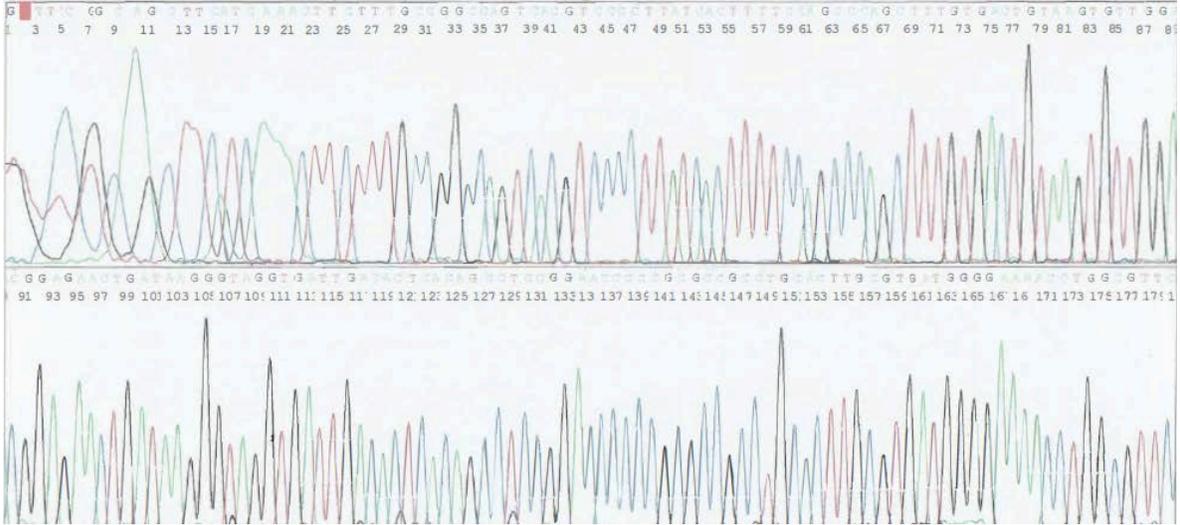
Figura 30. Amplificación mediante PCR. Casos 177 a 200, queratocono



**6.23 Secuenciaciones de ADN  
del gen miR-184  
del total de los 200 pacientes  
con diagnóstico de ectasia  
corneal primaria**

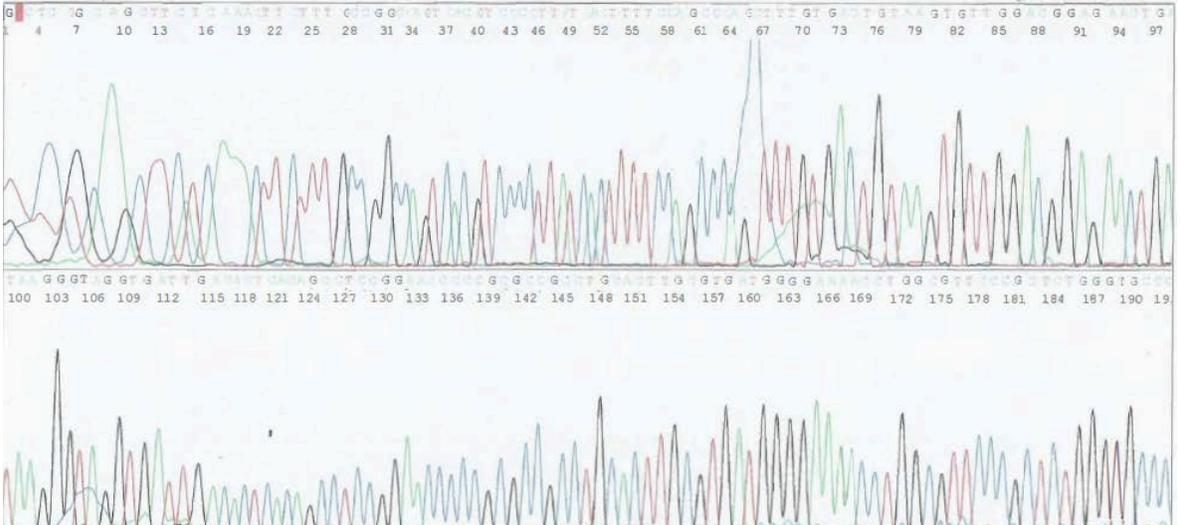
S/N G:74 A:33 T:28 C:30  
KB.bcp  
KB 1.4.0 Cap:4

MIR184\_F\_987  
KB\_3130\_POP7\_BDTV3.mob  
Pts 2389 to 13860 Pk1 Loc:2364  
Version 5.3 HiSQV Bases: 209



S/N G:75 A:33 T:42 C:32  
KB.bcp  
KB 1.4.0 Cap:1

MIR184\_F\_1041  
KB\_3130\_POP7\_BDTV3.mob  
Pts 2346 to 13860 Pk1 Loc:2321  
Version 5.3 HiSQV Bases: 176









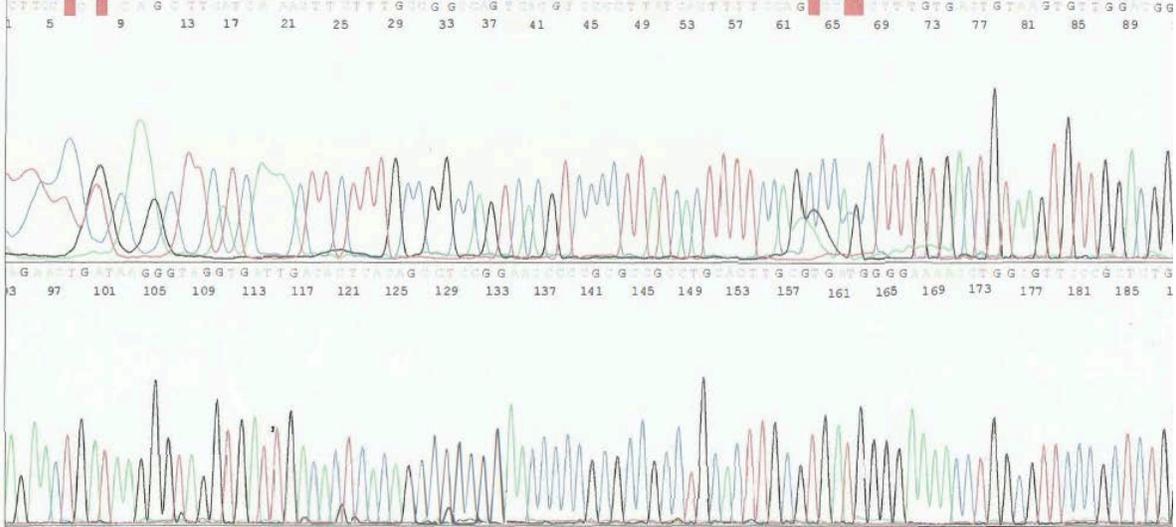






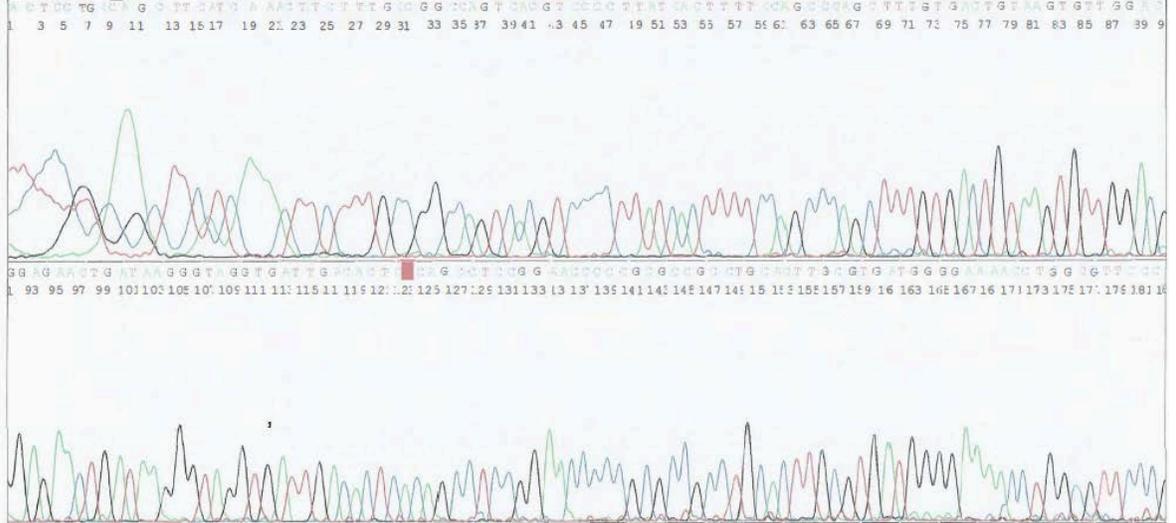
S/N G:162 A:100 T:125 C:119  
KB.bcp  
KB 1.4.0 Cap:3

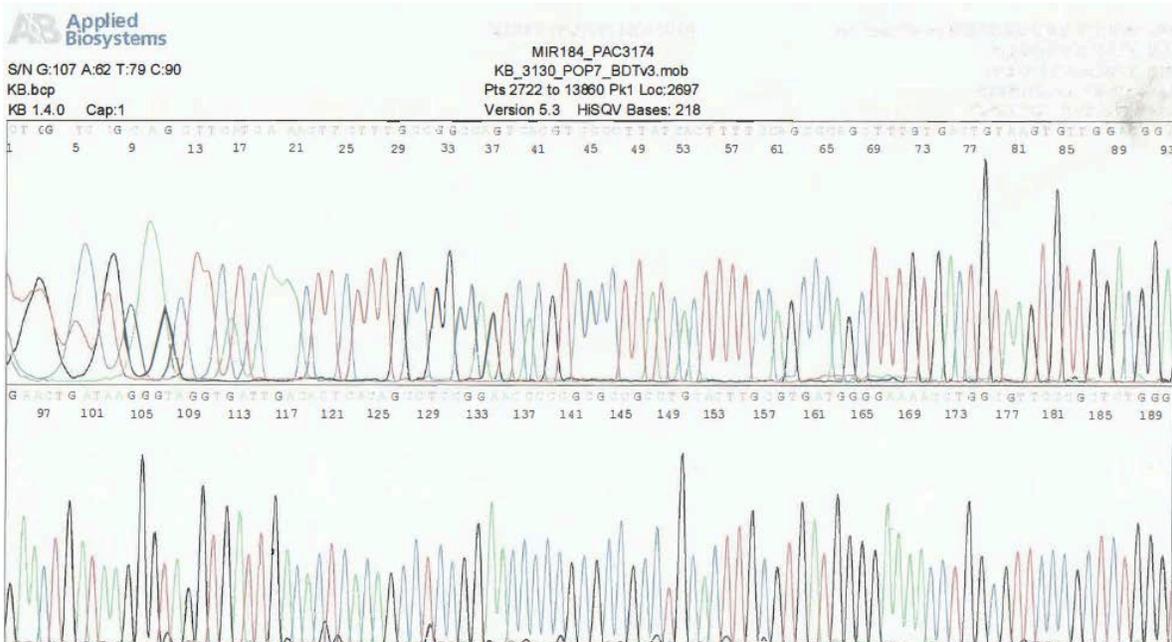
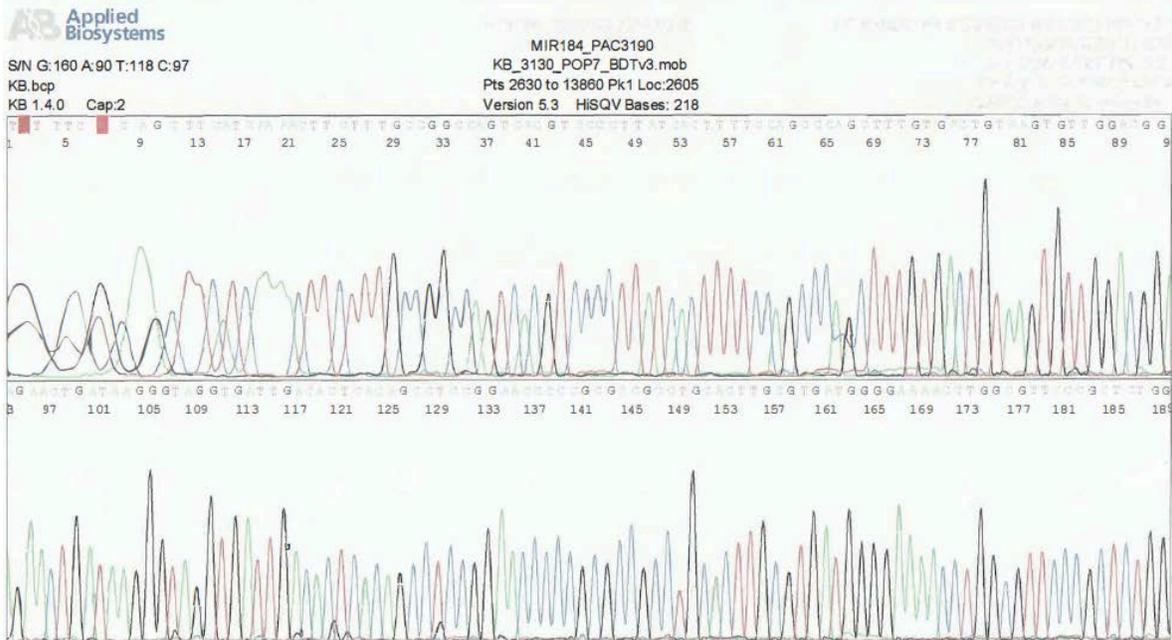
MIR184\_PAC3191  
KB\_3130\_POP7\_BDTv3.mob  
Pts 2633 to 13860 Pk1 Loc:2608  
Version 5.3 HISQV Bases: 219

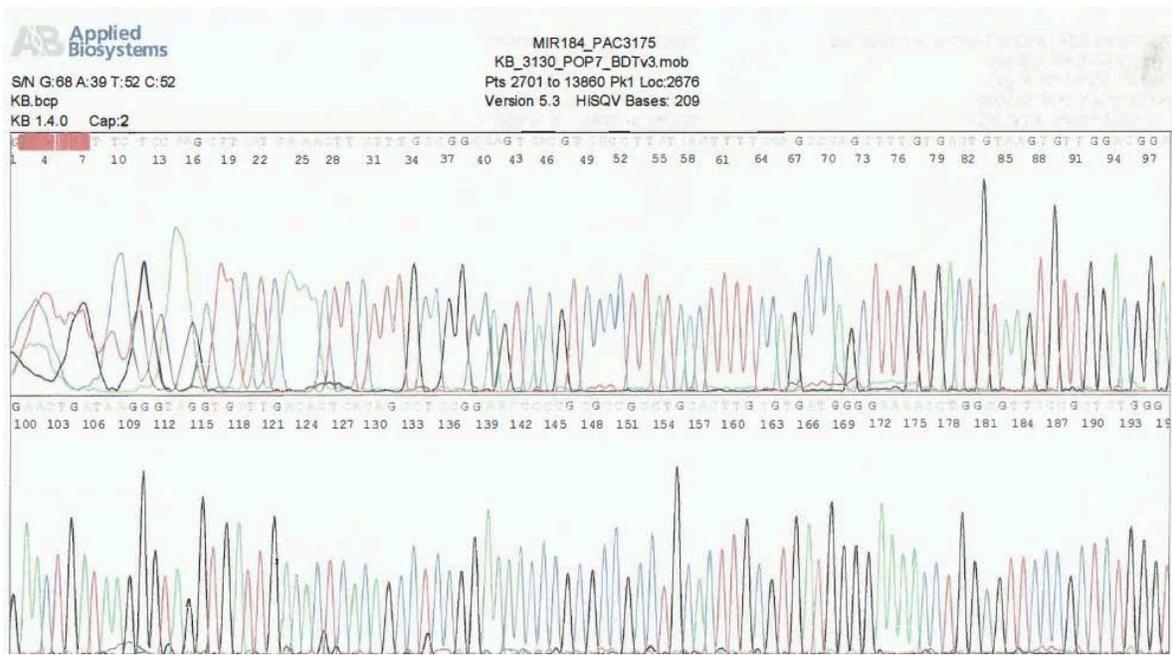
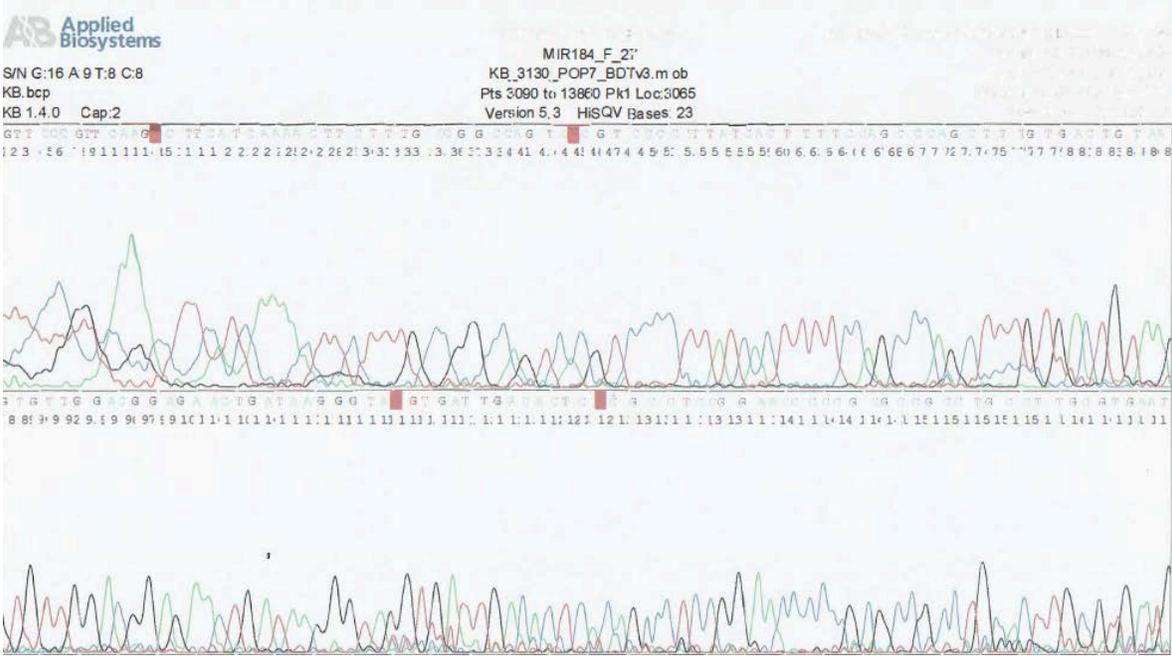


S/N G:27 A:16 T:12 C:12  
KB.bcp  
KB 1.4.0 Cap:4

MIR184\_F\_31  
KB\_3130\_POP7\_BDTv3.mob  
Pts 3060 to 13860 Pk1 Loc:3035  
Version 5.3 HISQV Bases: 107

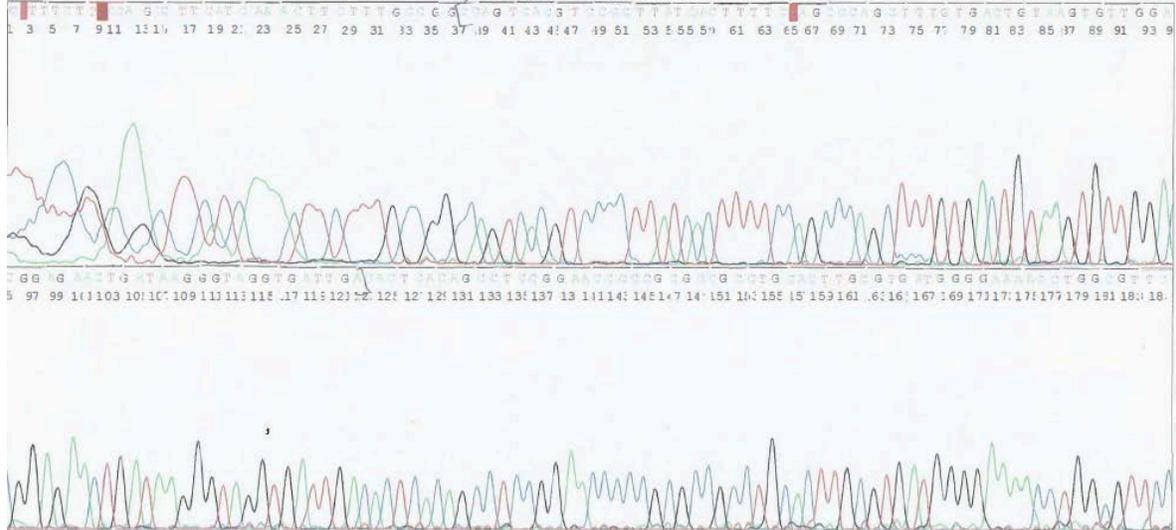
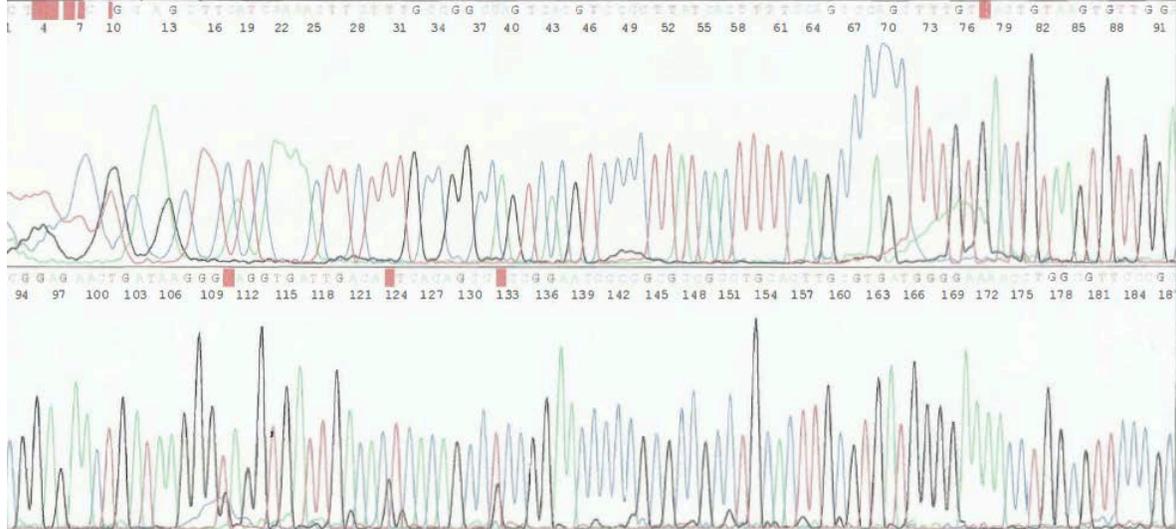








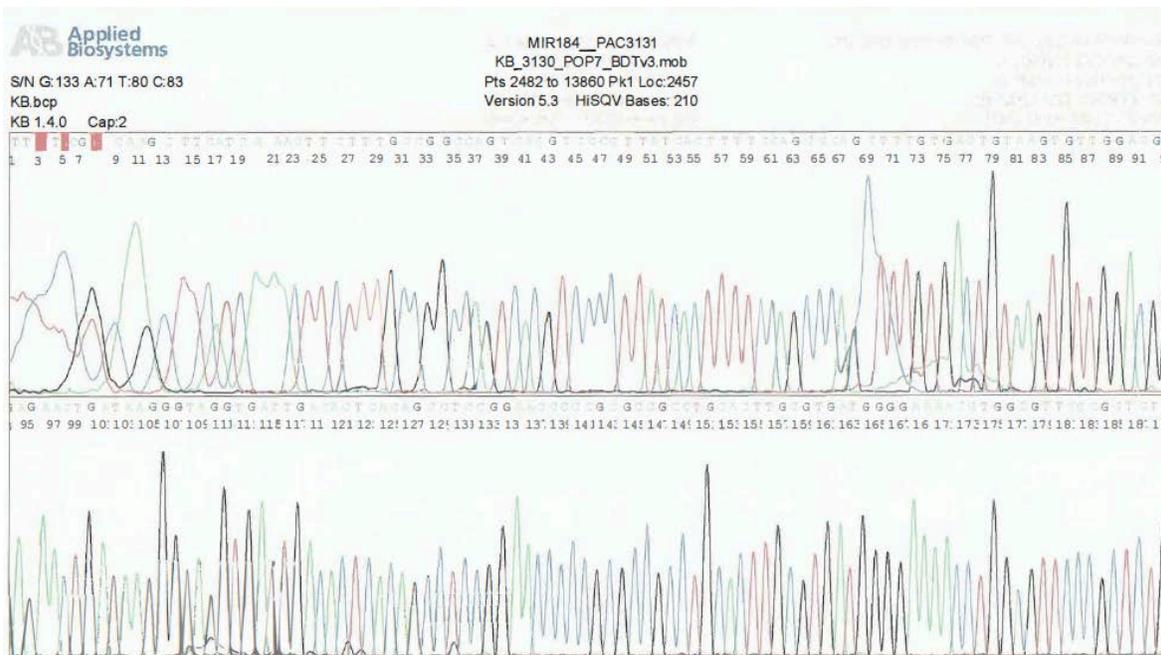
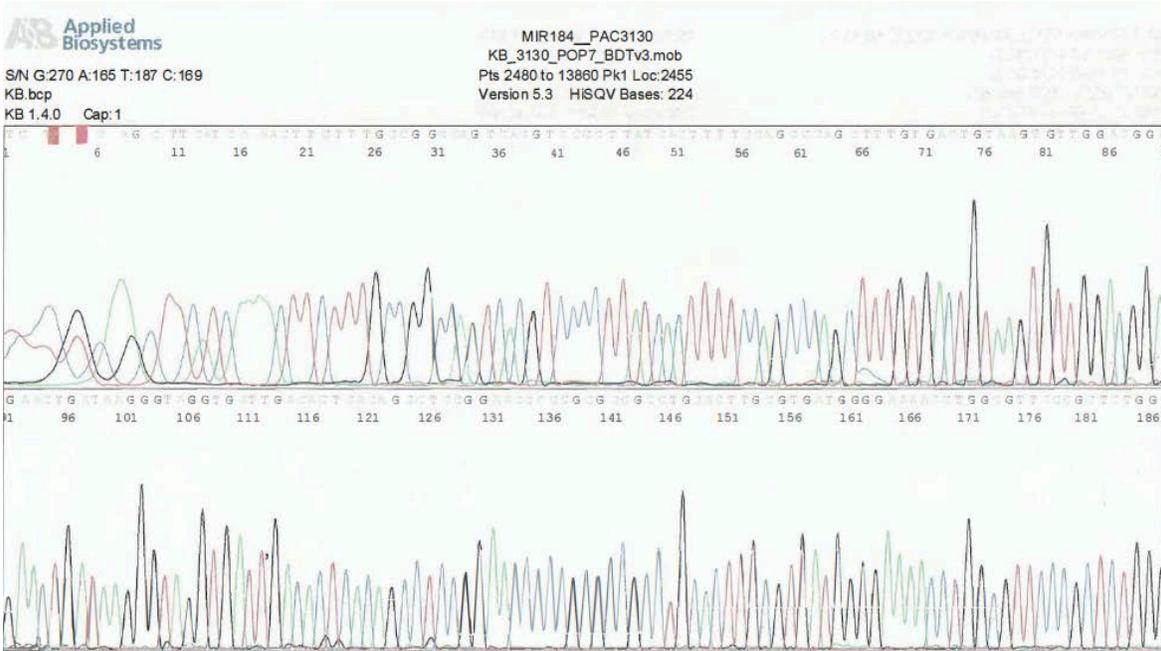


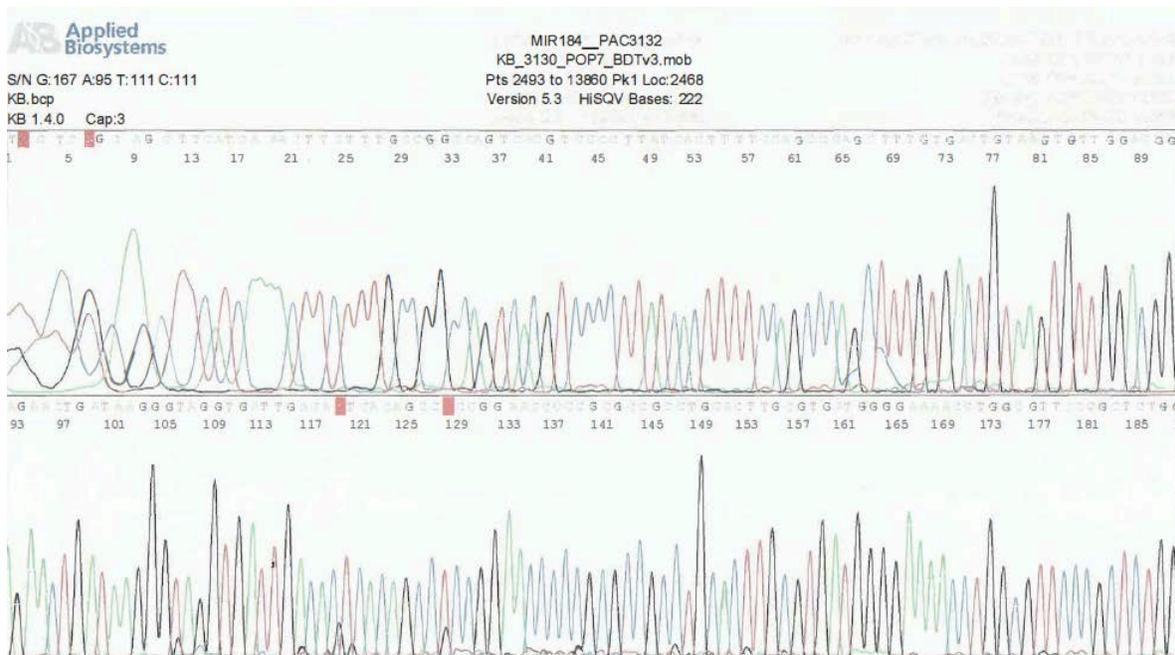
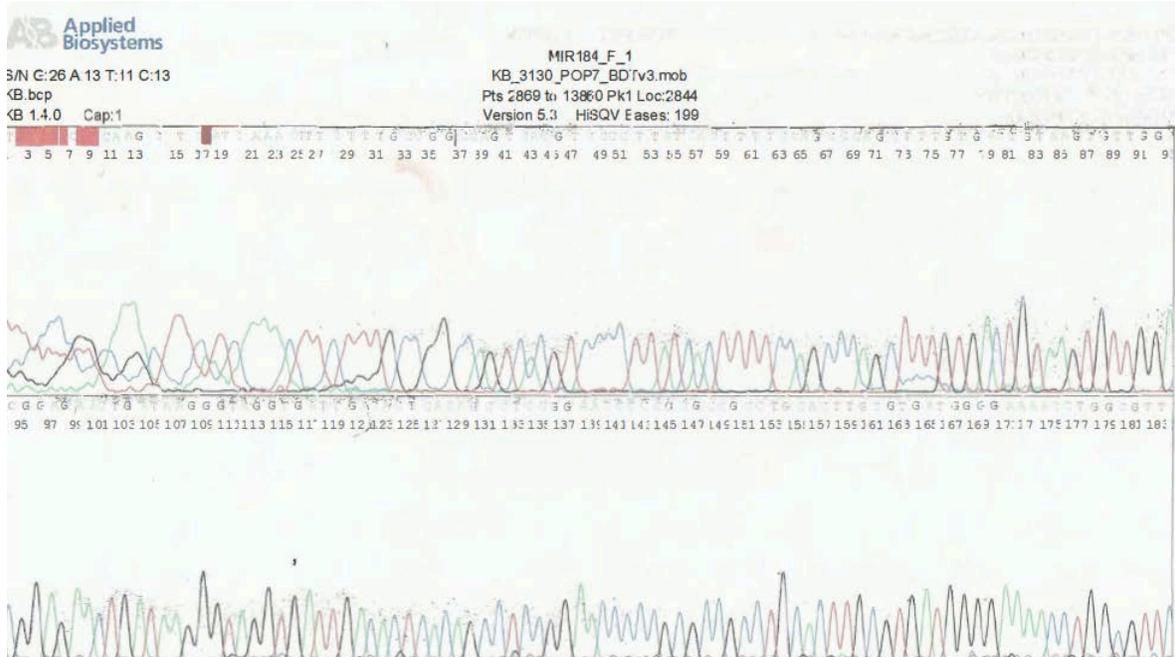








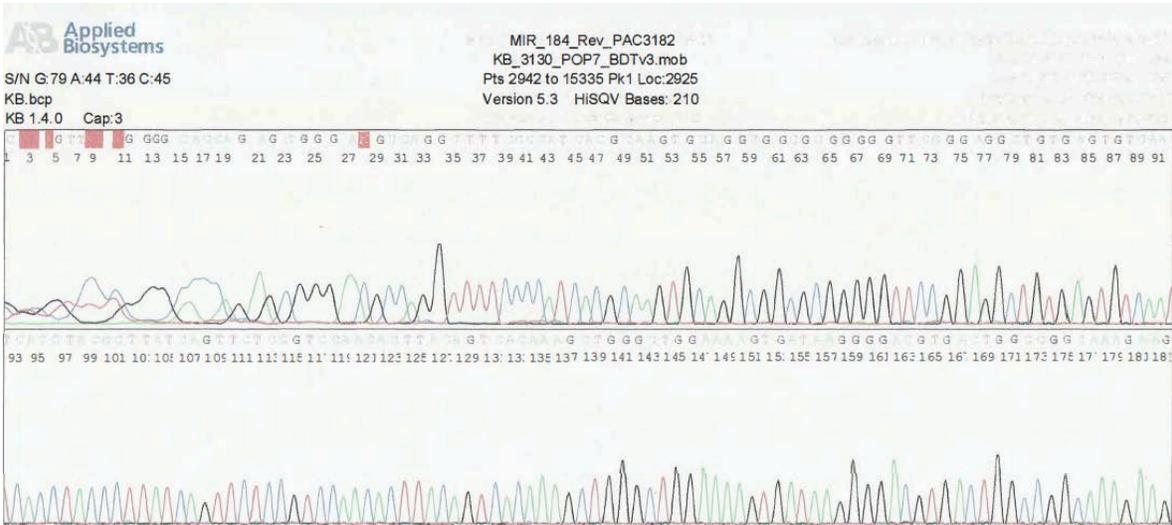
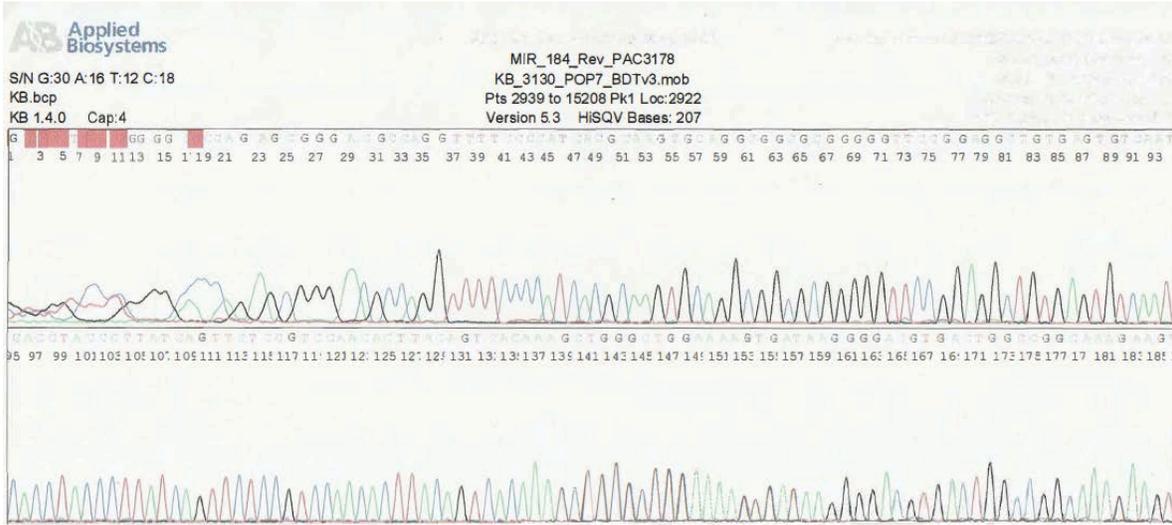




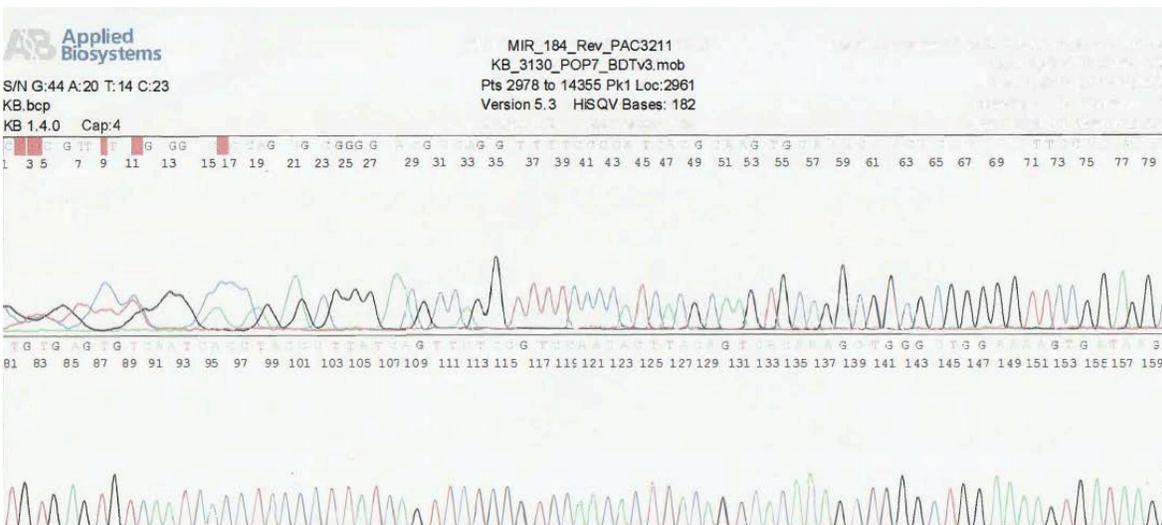
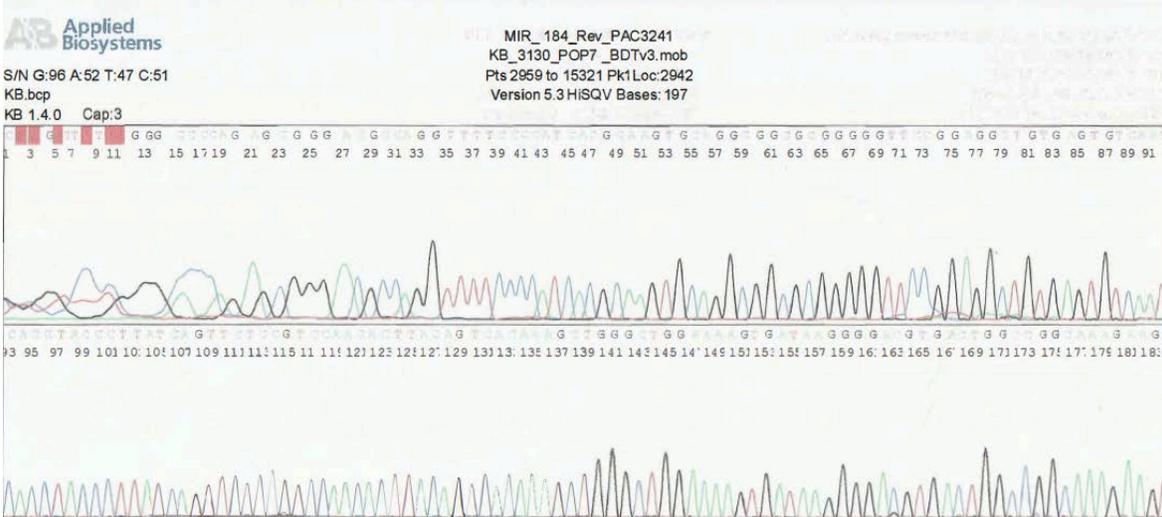






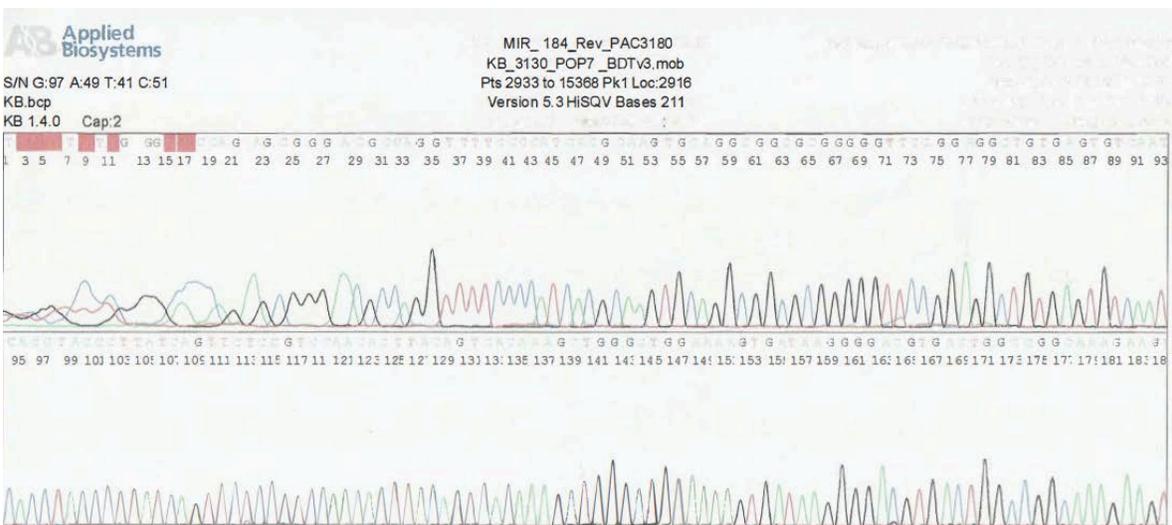
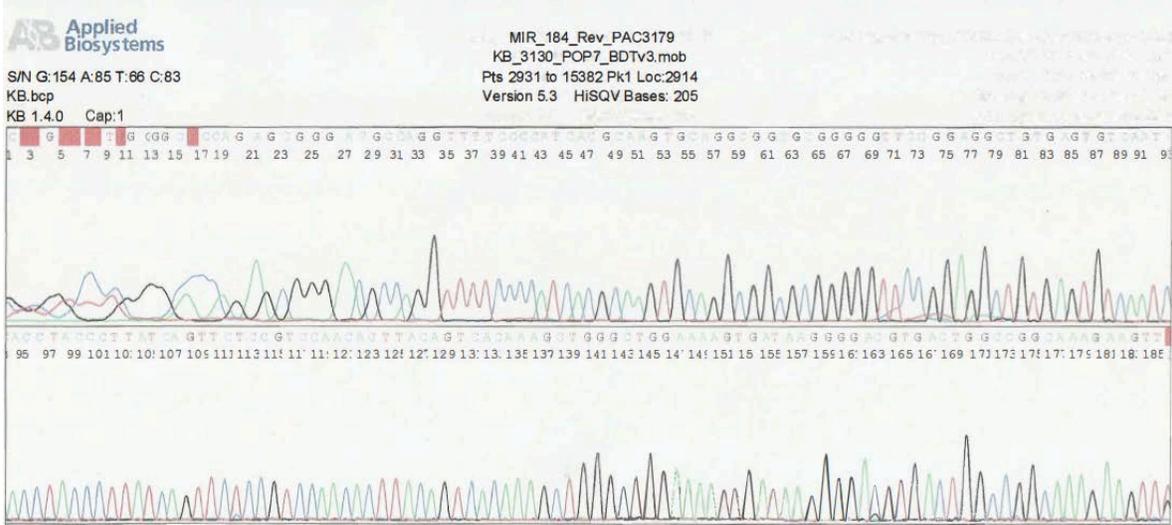








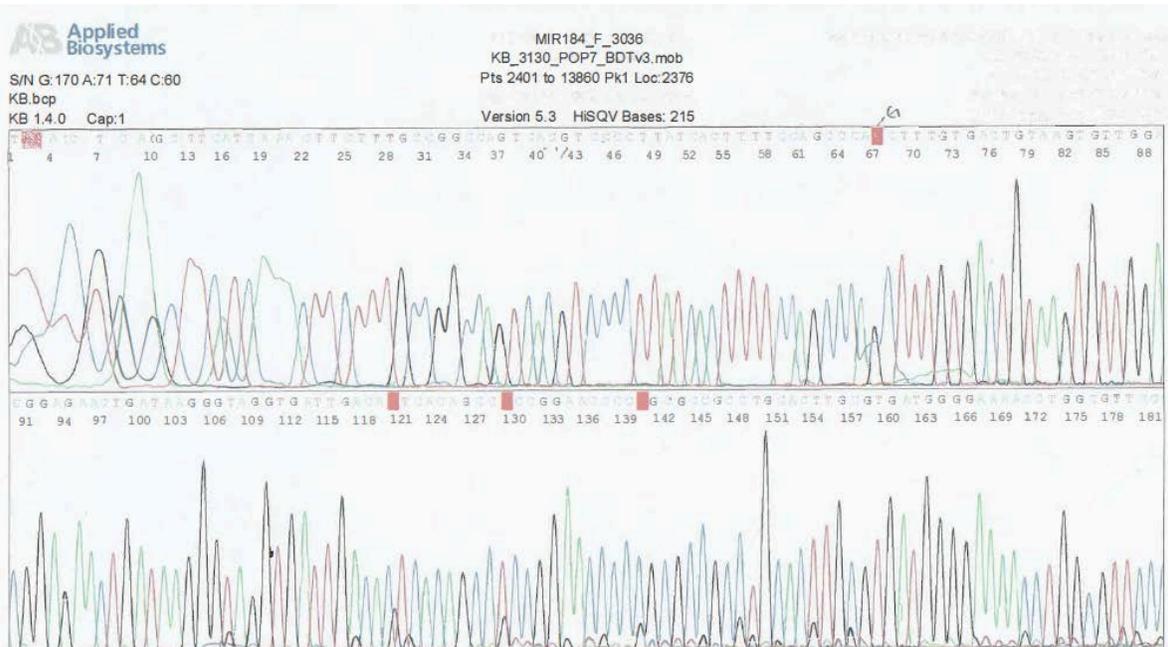
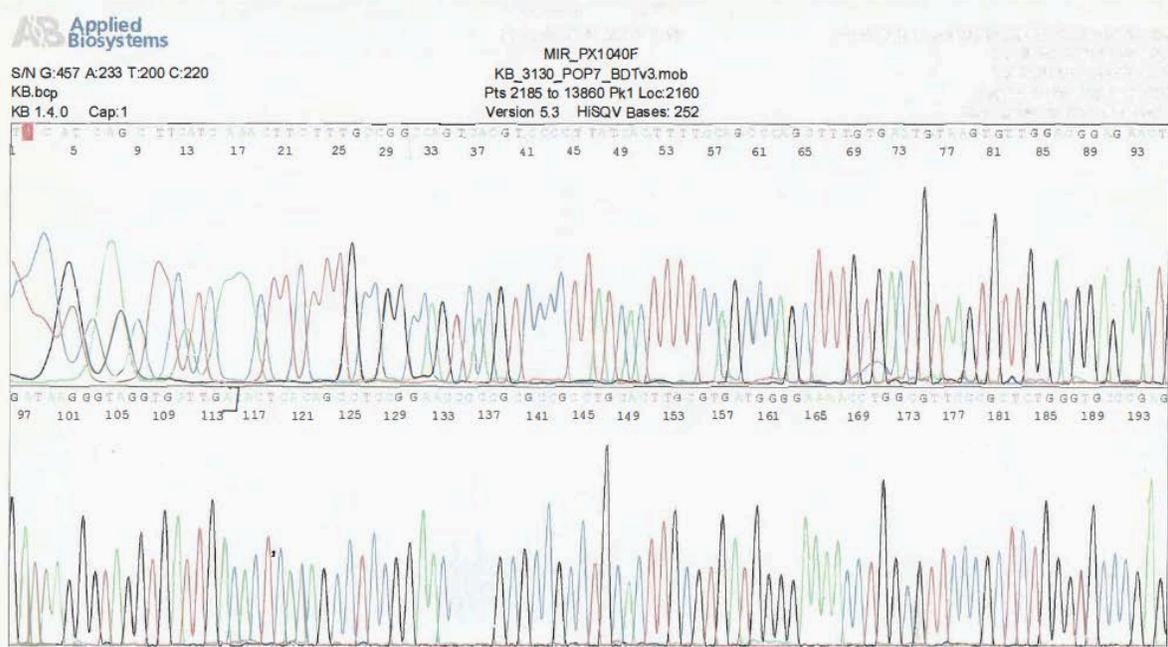


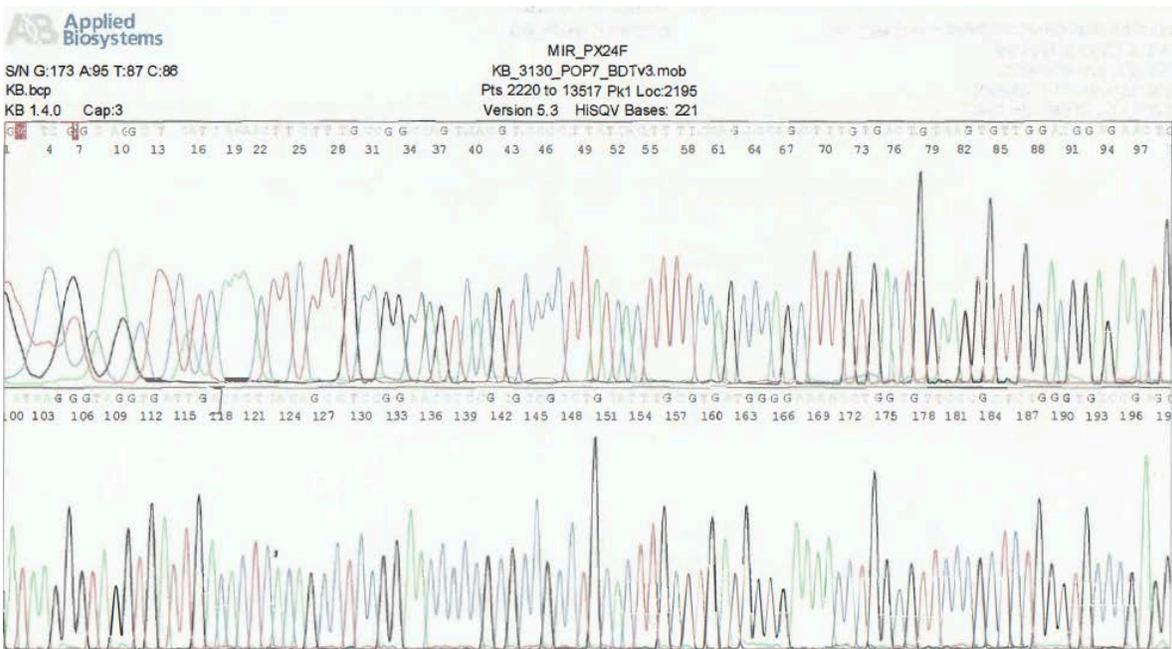
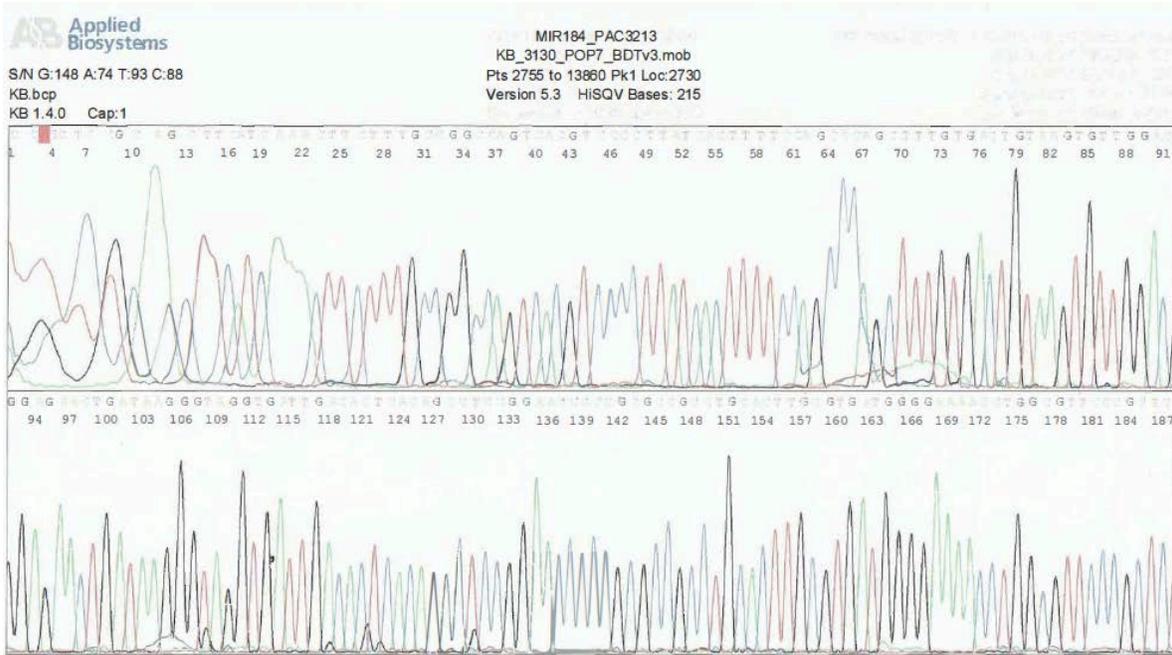








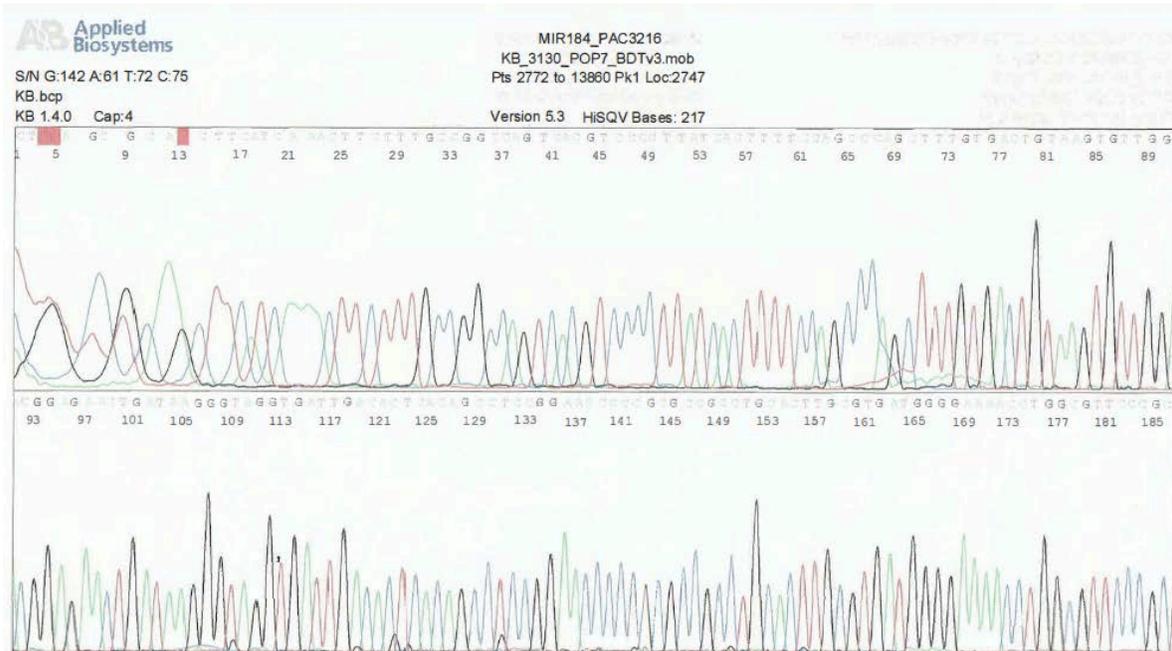
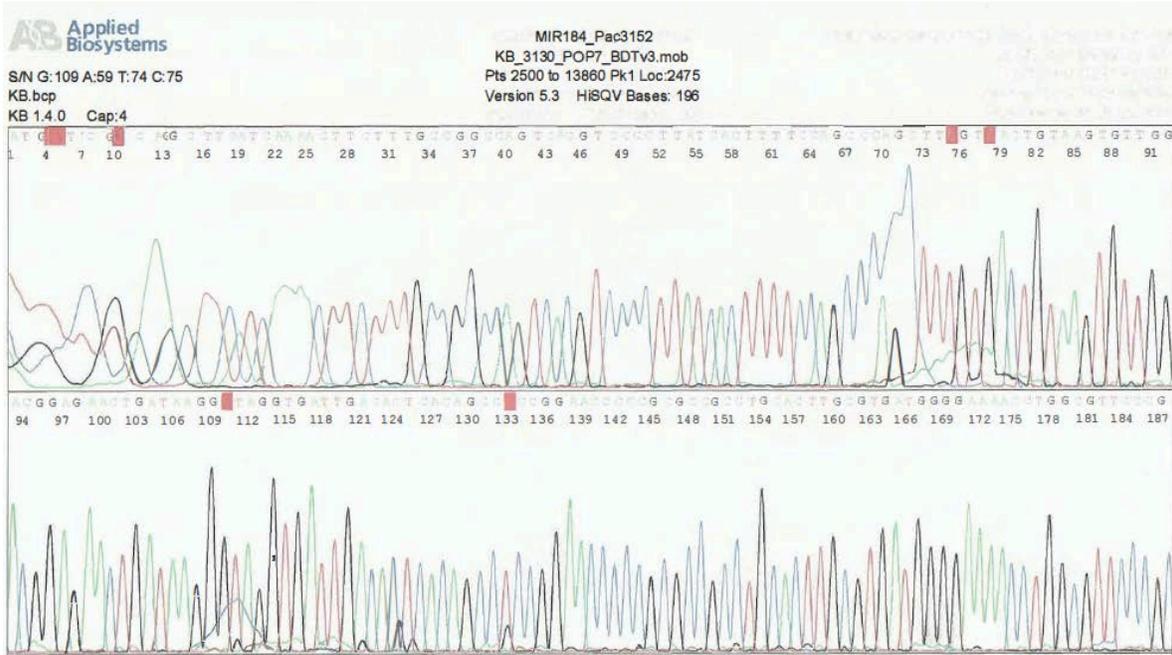












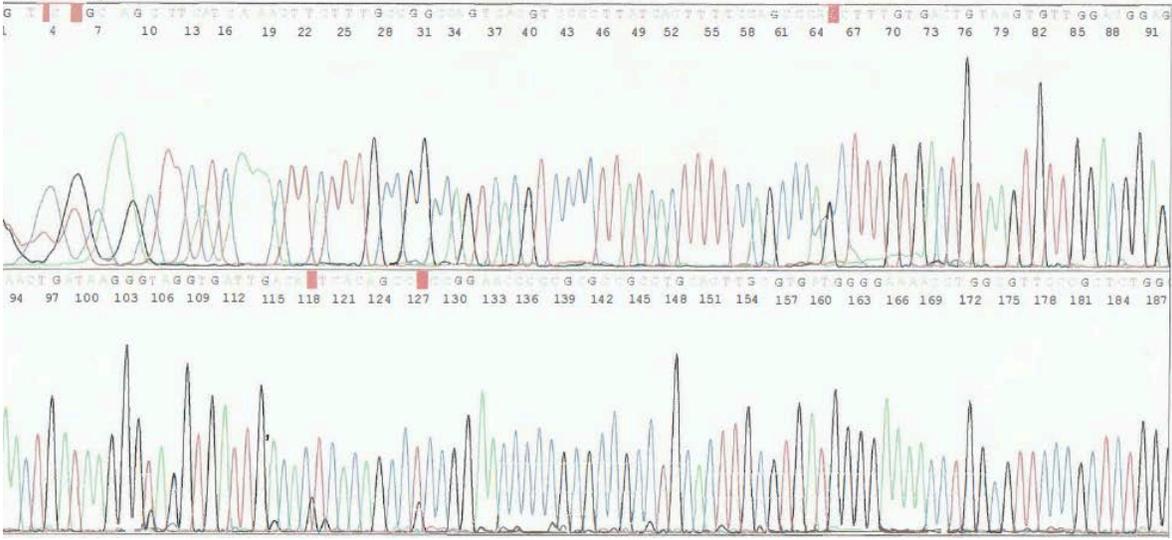






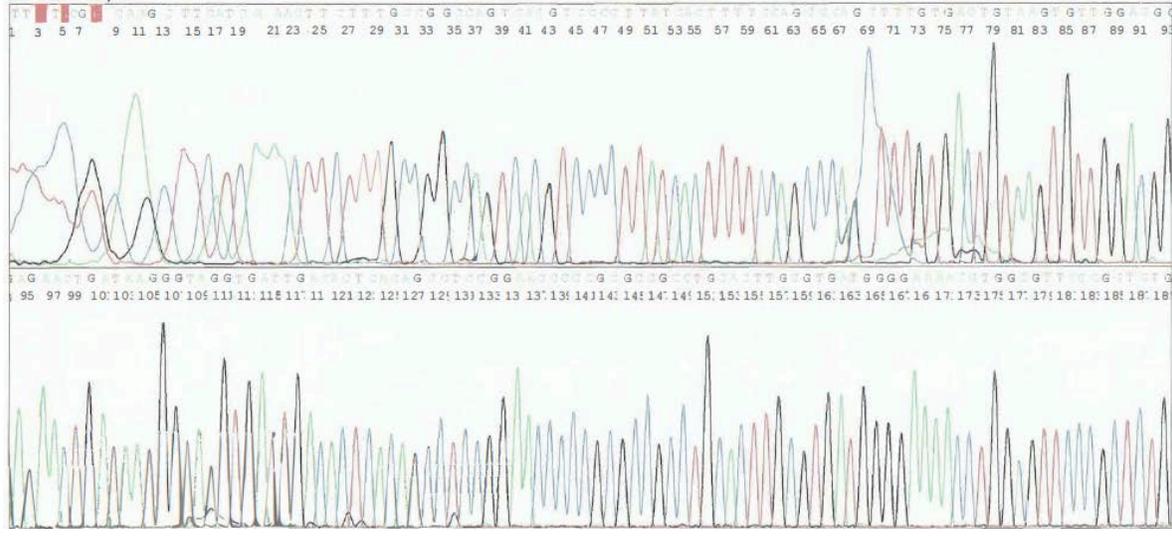
S/N G:119 A:58 T:82 C:79  
KB.bcp  
KB 1.4.0 Cap:1

MIR184\_PAC3189  
KB\_3130\_POP7\_BDTV3.mob  
Pts 2633 to 13860 Pk1 Loc:2608  
Version 5.3 HiSQV Bases: 212



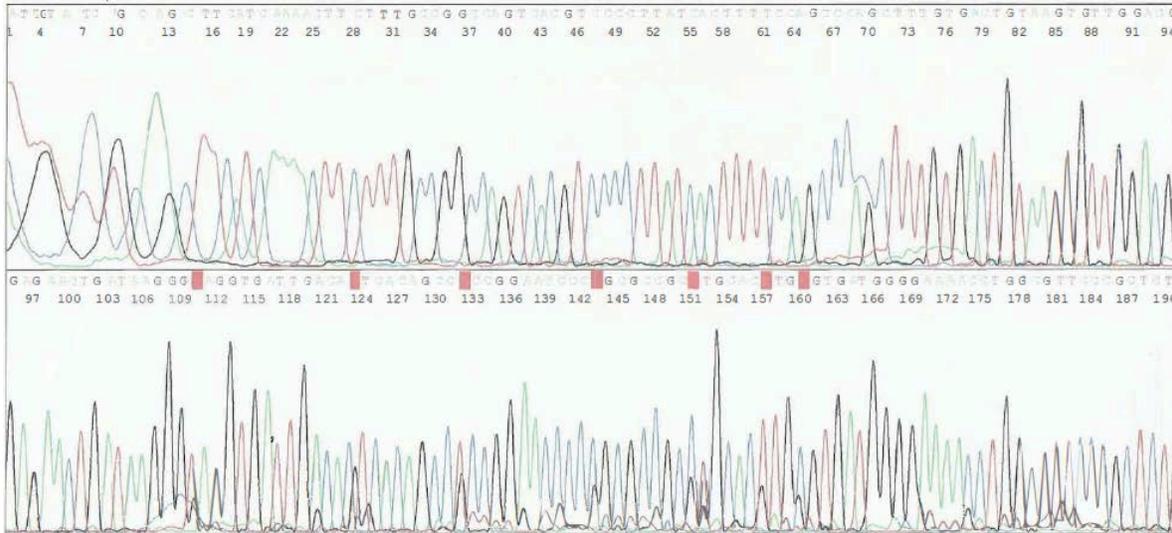
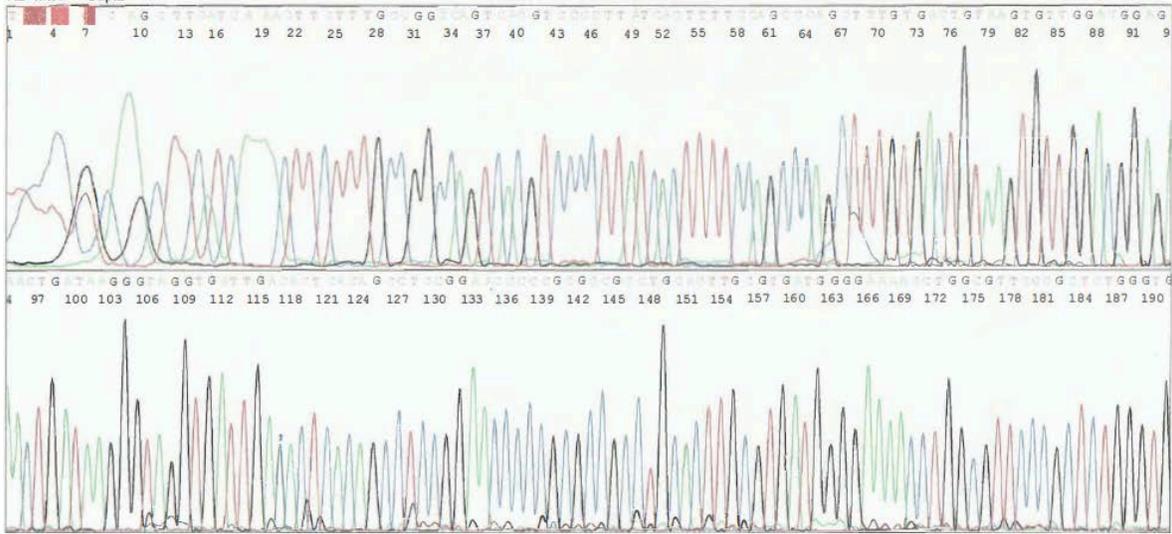
S/N G:133 A:71 T:80 C:83  
KB.bcp  
KB 1.4.0 Cap:2

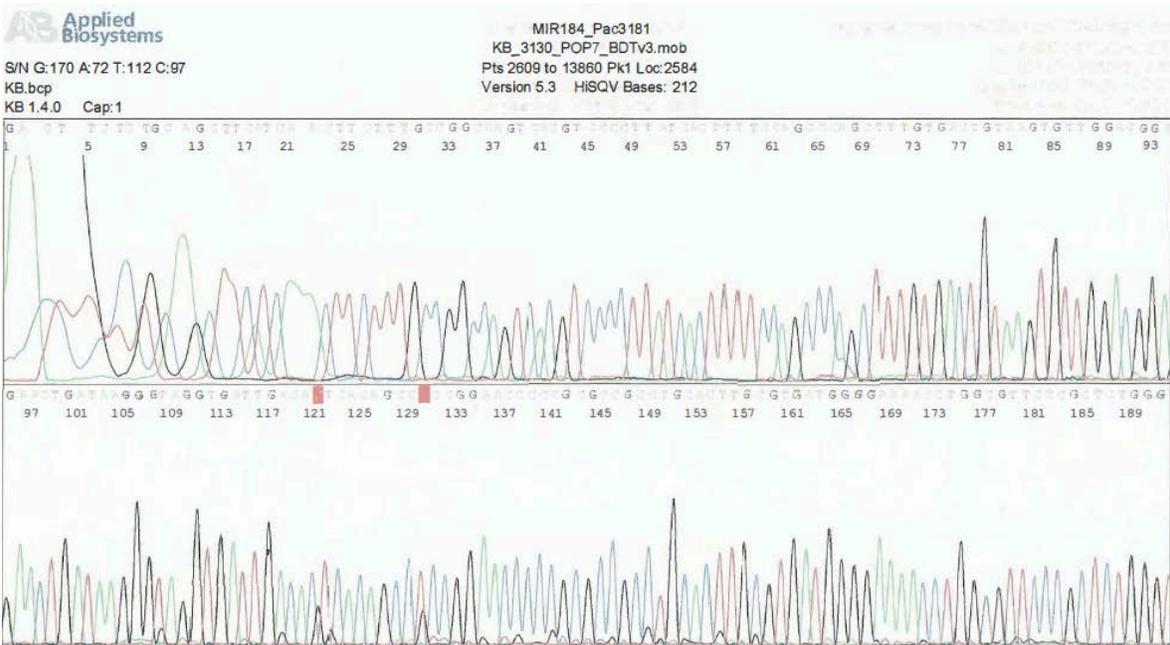
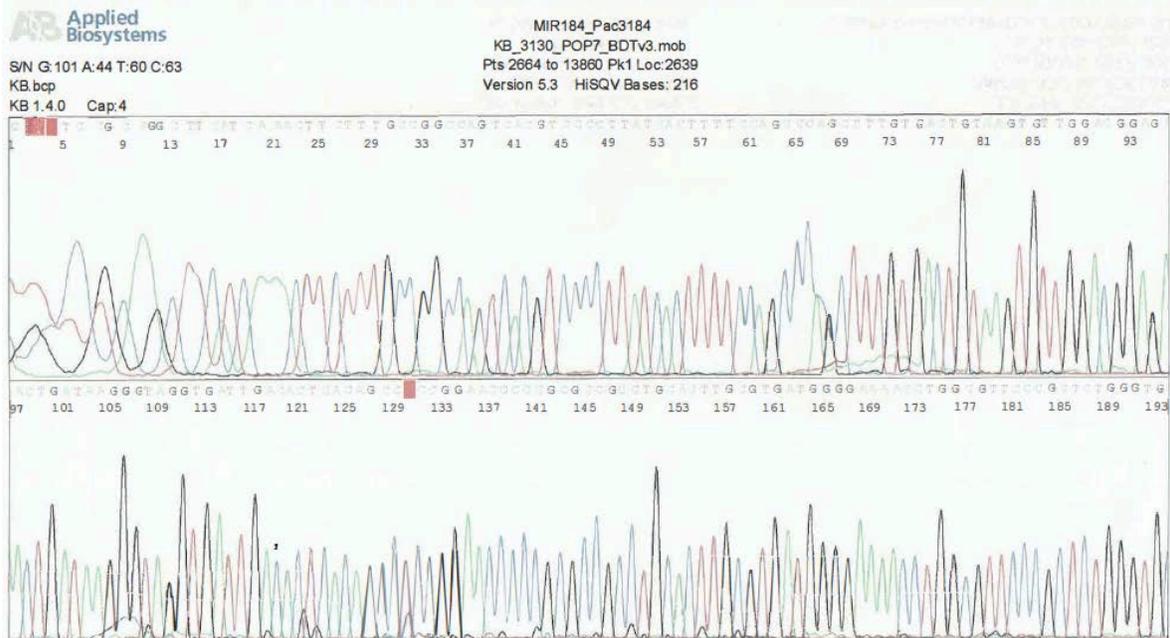
MIR184\_PAC3131  
KB\_3130\_POP7\_BDTV3.mob  
Pts 2482 to 13860 Pk1 Loc:2457  
Version 5.3 HiSQV Bases: 210







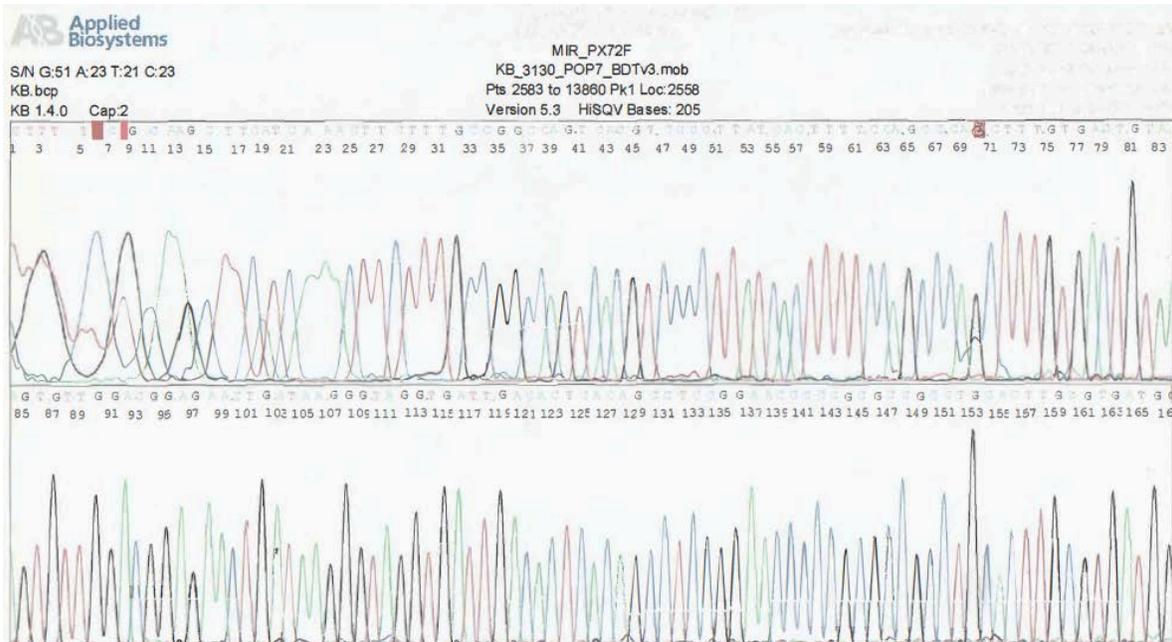
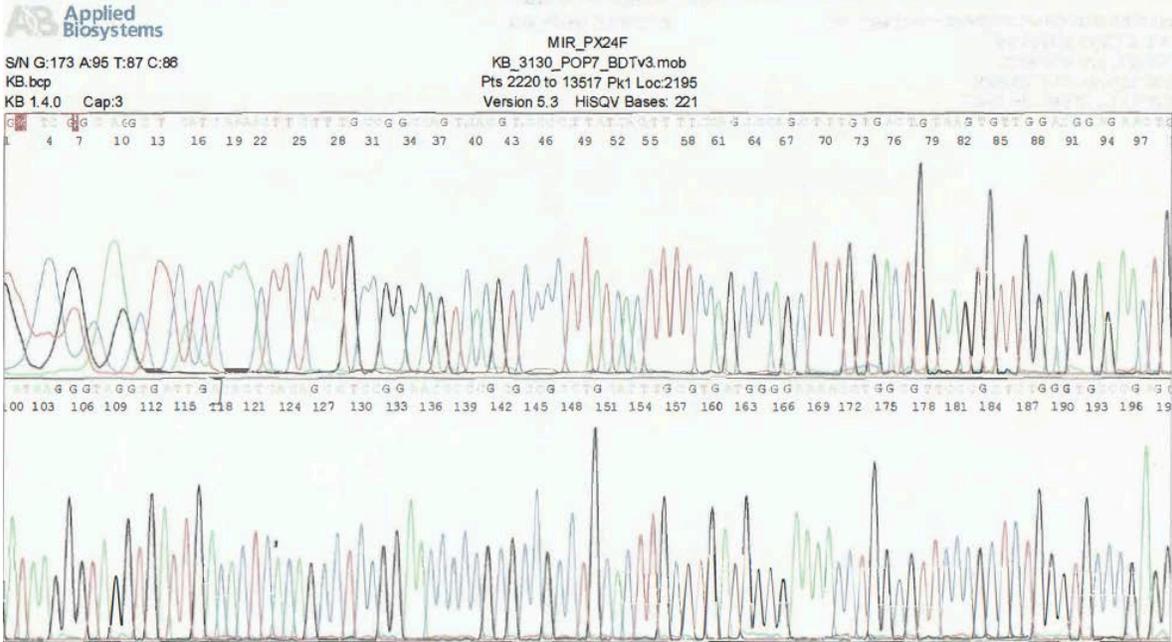


















## 7. Análisis Estadístico

Con la finalidad de buscar la existencia de asociación entre dos variables cualitativas, es decir entre la presencia de una ectasia corneal primaria y la presencia de una mutación en el gen miR-184, se realizó la prueba de  $\chi^2$ .

En este caso las variables usadas fueron las variables cualitativas predictoras dicotómicas respecto a la presencia o ausencia de la mutación en el gen miR-184 asociadas o no a la presencia de una ECP. A su vez, la variable de ECP se dividió en tres categorías siendo éstas, queratocono, DMP y queratoglobo y la variable de mutación en el gen miR-184 se dividió de acuerdo a la variable nominal dicotómica respecto a la presencia o ausencia de la mutación.

**Tabla 13. Frecuencias observadas de mutación en el gen miR-184 en pacientes con ectasia corneal primaria**

Tipo de ECP	Presencia de mutación miR-184	Ausencia de mutación miR-184	Total
Queratocono	0	169	169
DMP	0	30	30
Queratoglobo	0	1	1
Total	0	200	200

En los resultados de la primer tabla 13, podemos observar que en 200 (100%) casos no hubo mutación en el gen miR-184 y en 0 (0%) casos hubo la presencia de la mutación en el gen miR-184, independientemente del tipo de ECP.

De acuerdo a la suposición realizada mediante en el test de  $\chi^2$  en donde se establece que no existe asociación entre las dos variables estudiadas, se procedió a calcular lo esperado (Tabla14)

**Tabla 14. Frecuencias esperadas de mutación en el gen miR-184 en pacientes con ectasia corneal primaria**

Tipo de ECP	Presencia de mutación miR-184	Ausencia de mutación miR-184	Total
Queratocono	0	169	169
DMP	0	30	30
Queratoglobo	0	1	1
Total	0	200	200

Posteriormente se procedió a comparar la diferencia entre lo observado vs. lo esperado (Tabla 15)

**Tabla 15. Frecuencias esperadas de mutación en el gen miR-184 en pacientes con ectasia corneal primaria**

Tipo de ECP	Presencia de mutación miR-184	Ausencia de mutación miR-184	Total
Queratocono	0	0	0
DMP	0	0	0
Queratoglobos	0	0	0
Total	0	0	0

Tal como observamos en esta tabla,, de acuerdo a la prueba de  $\chi^2$  con un resultado de 0, podemos determinar que no hubo diferencia entre lo observado y lo esperado, con lo cual podemos determinar que en este estudio no se pudo determinar la presencia de una asociación de mutación en el gen miR-184 y el desarrollo de una ectasia corneal primaria.

## 8. Discusión

A pesar del impacto visual y social del queratocono y en menor grado del resto de las ectasias corneales primarias, los procesos bioquímicos subyacentes y patológicos que llevan al desarrollo de dichas entidades aún permanecen poco entendidos.

El hecho de que en las ECP hayan reportadas diferentes incidencias y prevalencias, muy probablemente se ve explicado por diferentes criterios de diagnóstico utilizados por los diferentes profesionales incluyendo la forma de clasificación aplicada en los estadios subclínicos. De igual manera, los factores ambientales locales provocan diferentes grados de exposición entre las poblaciones y es importante tener en cuenta que al haberse estudiado poblaciones de diferente origen, en cada una de estas se ha observado una probable diferente predisposición genética.

En la mayoría de los diferentes estudios en la literatura, se encuentra reportado que tanto en el caso del queratocono como en el de la DMP la predominancia de género es el masculino, por lo tanto, los resultados del presente estudio son concordantes con la mayoría de los reportes disponibles<sup>175</sup> (**Tabla 16**). Aún así no, hay evidencia clara en donde se pueda determinar que la fisiopatología del queratocono se ve afectada por el género del paciente. También es importante considerar que existen estudios en donde se ha buscado determinar la

predominancia de género, y se ha observado que existen estudios en donde predomina la presentación de queratocono en el género femenino, tal como en los realizados por Amsler et al en 1961 (65%), Laqua en 1971 (57%), Hammerstein en 1972 (66%) y Jonas en el 2009 (53%)<sup>174</sup>.

De lo contrario, hay otros estudios en donde se reporta una predominancia en el género masculino, por ejemplo, Pouliquen en 1981 (57%), Street en 1991 (62%), Pobelle-Frasson en 2002 (62%), Owen en el 2003 (59%) y Fatima (53%) y Ertan (62%) en el 2009, mientras que hay otros estudios en donde no se observó una predominancia de género<sup>174</sup>.

**Tabla 16. Predominancia de queratocono en género masculino en diferentes estudios y de manera comparativa con los resultados obtenidos en el presente estudio**

Autor	País	Número de casos	Porcentaje casos masculinos
Chen	China	16	60%
Coskunseven	Turquía	38	63%
Khattak	Arabia Saudita	50	61%
Tellouck	Francia	109	65%
Smiddy	Estados Unidos	165	58%
Suzuki	Japón	57	63%
Seyedian	Irán	52	31%
Yazar	Turquía	267	42%
Salman	Egipto	220	82%
Vinciguerra	Italia	28	71%
O Brart	Reino Unido	24	79%
López	México	169	63%

En cuanto a los resultados demográficos obtenidos en el presente estudio, los resultados se observan concordantes de acuerdo a lo observado en la literatura ya que se ha descrito que las ECP se presentan en la mayoría de los casos de forma bilateral, aunque asimétrica (Tabla 17).

**Tabla 17. Bilateralidad de las ECP de acuerdo a lo reportado en la literatura de forma contrastada con el presente estudio**

Tipo de ectasia corneal	Autores	Porcentaje de casos que reportan presentación bilateral
Queratocono	Wagner et. al.	97%
Queratocono	McAlister et. al.	71%
DMP	Shimazaki et. al.	67%
DMP	Sridhar et. al.	63%

Aunque la mayoría de los estudios reportan que el queratocono tiene un modo de herencia autosómico dominante con variabilidad en la expresión fenotípica, el porcentaje exacto de casos con un componente hereditario permanece desconocido.

Hay evidencia sustancial de un componente genético en asociación con la etnicidad. Por ejemplo, se ha observado que el queratocono es 4 veces más frecuente en asiáticos provenientes del subcontinente indio que en población caucásica en la misma región del Reino Unido.

Mediante estudios de gemelos monocigotos, estudios de ligamiento familiar y estudios de asociación genética, se ha observado una fuerte evidencia que indica la existencia de una base genética como origen principalmente en el queratocono y en menor grado en el resto de las ECP. Sin embargo, a pesar de los extensivos estudios en las últimas décadas para determinar la etiología genética, lo anterior aún permanece incierto, a la fecha se han identificado muy pocos genes.

Aún así, el conocimiento respecto a la fisiopatología de dichas entidades ha continuado aumentando de manera significativa. Se han utilizado diferentes mecanismos para investigar y definir el fenotipo, mecanismos y causas principalmente del queratocono, al ser la ECP más frecuente. Las observaciones de los cambios corneales que ocurren en estas entidades frecuentemente no distinguen entre los cambios primarios y los efectos inflamatorios secundarios o degenerativos que se presentan en las mismas.

A pesar de que se han identificado muchas diferencias que distinguen las corneas con queratocono de las normales, no ha sido posible rastrear dichos cambios hacia causas primarias, o identificar los factores que disparan la cascada de eventos que llevan hacia el cuadro clínico del queratocono. Los estudios de asociaciones genéticas y de biología molecular subyacente, así como el papel que los factores ambientales y enfermedades asociadas tienen en su desarrollo han contribuido a entender mejor su fisiopatología. Dentro de los diferentes estudios moleculares y genéticos realizados, se han identificado una gran variedad de loci y variantes genéticas cuya mutación generan una susceptibilidad al queratocono. La actual falta de contribuciones con alto efecto por parte de estos loci, así como de las cadenas de nucleótido simple y sus variantes genéticas, sugieren una etiología compleja o la convergencia de múltiples vías como origen de la enfermedad. El desarrollo tanto del queratocono como del resto de las ectasias corneales primarias podría encontrarse explicado por la exposición a factores ambientales desencadenantes en individuos genéticamente susceptibles.

El diagnóstico del queratocono y del resto de las ECP y la posibilidad de determinar la variabilidad de la expresión fenotípica que dichas entidades presentan dentro del probable espectro de una misma enfermedad con un mismo origen en común, ha mejorado de manera significativa en cuanto a la definición gracias a los análisis tomográficos. Sin embargo de acuerdo a la variabilidad de la expresión fenotípica que las ECP presentan, el poder de determinar la presencia de una mutación como factor de riesgo para su presentación, nos permitiría realizar un diagnóstico pre clínico, brindar un consejo genético para futuras generaciones, así como la oportunidad de evitar y controlar o tratar los factores de riesgo ambientales asociados que pueden llevar a su desarrollo tales como la cirugía refractiva con ablación corneal, la queratoconjuntivitis vernal o el uso de lentes de contacto.

Debido a que numerosos estudios han establecido la posibilidad de que las ECP formen parte del espectro de una misma entidad clínica, no debería de sorprender el hecho de que las tres puedan llegar a presentar espectros clínicos que se traslapen o las mismas asociaciones patológicas.

Por ejemplo, está bien descrita la asociación de la queratoconjuntivitis vernal principalmente con el queratocono pero también aunque en menor grado con la DMP y el queratoglobo. De igual manera, las tres ECP forman parte del espectro de enfermedades corneales no inflamatorias que cursan con adelgazamiento corneal progresivo por lo tanto la historia natural de la DMP podría llevar al desarrollo de un queratoglobo por un mero mecanismo de extensión circumferencial.

Aunado a lo anterior, se han reportado previamente casos de un tipo de ECP en un ojo y otro tipo de ECP en el ojo contralateral e incluso dos tipos de ECP en un mismo ojo, lo cual también apoya la hipótesis de un mismo origen fisiopatológico en común. Kayazawa y coautores encontraron en una serie de casos, que 17 de 20 presentaron la existencia de queratocono de manera concomitante con DMP

en el mismo ojo, Karabatsas y Cook reportaron la asociación de queratoglobo en un ojo con evidencia topográfica de DMP en el ojo contralateral.

En la serie de casos más grande de pacientes con DMP, Sridhar y coautores encontraron una asociación entre la DMP y el queratocono del 10% y entre la DMP y el queratoglobo del 13%. A su vez, el hydrops corneal es la complicación corneal más frecuente en las tres ECP. Dicha complicación refleja una respuesta corneal a un adelgazamiento corneal progresivo, tal como sucede en la evolución natural de las mismas.

Sin embargo, la variabilidad en la expresión fenotípica que dichas entidades presentan y el hecho de que las tres entidades puedan presentar rasgos muy similares respecto a la presentación clínica, en ocasiones puede dificultar su diagnóstico diferencial, por ejemplo, a pesar de que la DMP es una de las causas más frecuentes de adelgazamiento corneal, es muy frecuente que se diagnostique a la DMP como queratocono, lo anterior agregado al hecho de que la DMP es una entidad que se presenta predominantemente inferior, pero también se han reportado casos de DMP superior, lo cual en ocasiones podría complicar su diagnóstico diferencial con el queratocono, o en los casos más avanzados de DMP, podría ser difícil diferenciarla del queratoglobo.

De acuerdo a lo anterior, la DMP debería de encontrarse dentro de los diagnósticos diferenciales tanto de una ectasia corneal superior como de un adelgazamiento corneal generalizado.

En este estudio no se encontraron localizaciones atípicas de la DMP.

A diferencia del queratocono, son pocos los estudios que sugieren un patrón hereditario asociado para la DMP y aún menos para el queratocono. Santo y coautores describieron evidencia topográfica de alteraciones ectáticas corneales en miembros de familia asintomáticos de casos con formas de presentación clásicas de DMP. A excepción de reportes en donde se describe una mayor incidencia de errores refractivos en familiares de pacientes con DMP, no han

existido otros indicadores contundentes que orienten hacia alguna asociación familiar.

A pesar de que el tratamiento quirúrgico de las ECP ha avanzado de manera significativa hacia formas menos invasivas, aún siguen siendo numerosas las complicaciones asociadas al uso de lentes de contacto, queratoplastias, anillos intraestromales, por lo que la identificación de una mutación como factor causal brinda la posibilidad de una futura terapia génica.

El desarrollo de nuevas tecnologías de estudios genéticos incluyendo estudios de arreglos de nucleótidos de base simple de alta densidad, estudios de exoma completo o la utilización de secuenciaciones completas genoma/exoma, así como los GWAS, avanzarán de forma significativa en la investigación genética de las ECP, permitiendo la identificación de variantes genéticas causales con una forma de presentación tanto familiar como esporádica a un ritmo mucho más acelerado y así brindar la posibilidad del desarrollo de un mejor diagnóstico en etapas más tempranas y a su vez el establecer mejores blancos terapéuticos. Hasta entonces, la patogénesis molecular del queratocono y del resto de las ECP permanece heterogénea.

Los análisis de expresión genética son otra herramienta de gran valía de manera adicional a otros abordajes para la identificación de genes candidato y así poder elucidar la patogénesis de dichas entidades.

De igual manera, la identificación del hallazgo cuantitativo de los loci como factores hereditarios, podría proveer una alternativa en el abordaje para la selección y análisis de genes candidato en el queratocono.

Un factor de confusión son las formas subclínicas de las ECP y esto podría complicar la identificación de defectos genéticos en común.

Debido a esto, es muy importante en futuros estudios incluir pacientes bien definidos de forma clínica y adecuadamente clasificados con el fin de disminuir las diferencias fenotípicas.

A pesar de numerosos esfuerzos, se han identificado variantes potencialmente patogénicas sólo en un pequeño número de pacientes con queratocono y aún queda por determinar la mayoría de los genes causales y sus mutaciones. Dentro de los genes candidato como factor causal del queratocono, los genes SOD1, ZEB1, TGFB1, FLG, así como los genes de interleucinas y de colágeno, podrían tener un papel en la patogénesis del queratocono y necesitan estudios a futuro con mayor profundidad.

De forma similar, se han identificado otros genes candidato incluyendo HGF, RAB2GAP1, LOX, MPDZ, NFIB, BANP y ZNF469, los cuales podrían ser factores de riesgo importantes para presentar queratocono y requieren estudios de replicación en otras poblaciones.

Tal como se establece previamente, los micro RNAs son nucleótidos de cadena sencilla no codificante de RNAm con una longitud aproximada de 19 a 25 pares de bases los cuales son importantes reguladores de la expresión genética de los organismos eucariotes.

El papel de los microRNAs en las enfermedades humanas está abriendo un campo de investigación respecto a posibles tratamientos utilizando a los mismos como blancos terapéuticos. Se estima que aproximadamente el 60% de los genes codificantes de proteínas en humanos son regulados por miRNAs. Hay reportes que demuestran una mutación en miR-184 en pacientes con queratocono. En diferentes estudios se ha observado que la variación en los microRNAs puede ocasionar enfermedad específica al tejido en donde cada microRNA se expresa. Este conocimiento podría abrir nuevas líneas de investigación con la finalidad de obtener un uso terapéutico de microRNAs en enfermedades oculares.

Hay varios factores que apuntan a una mutación en miR-184 como un potente candidato para explicar el probable componente genético del origen del queratocono y probablemente del resto de las ECP. miR-184 es el micro RNA que más abundantemente se expresa tanto en la cornea como en el cristalino y a su vez y se sabe que se encuentra implicado en la regulación de los niveles de proteínas en dichos tejidos. De igual manera, miR-184 se encuentra implicado en la regulación de la apoptosis corneal y hay varios estudios que apuntan hacia una mala regulación de ésta como factor causal para el desarrollo del queratocono; también se ha demostrado que miR-184 se encuentra involucrado en la regulación de PAX-6, el cual es uno de los principales responsables del desarrollo ocular, lo cual, convierte a miR-184 en un importante regulador de los mecanismos tanto de apoptosis como del desarrollo ocular. Lo anterior orienta al hecho de que la identificación de los genes blanco de miRNA-184 y sus vías regulatorias podría explicar el espectro fenotípico observado en los pacientes con ECPs pero de manera más importante asistirá en la identificación de nuevos genes cuya mutación cree una susceptibilidad a la presentación de queratocono o del resto de las ECP.

A su vez, tal como se establece previamente, la expresión de hasta 1000 genes podría estar regulada por miR-184, de manera independiente o en competencia con otros miRNAs, lo cual podría llevar a efectos complejos en los niveles de un alto número de proteínas. Hay evidencia biológica de que tanto INPPL-1 como ITGB4 se encuentran involucrados en la patogénesis del queratocono, sin embargo los efectos nocivos de mutaciones en miR-184 podrían estar regulados por proteínas diferentes a INPPL-1 y ITGB4.

El entendimiento actual del origen fisiopatológico de las ectasias corneales primarias sugiere una etiología compleja que involucra tantos factores genéticos como ambientales. Se necesita más investigación para realizar conexiones

biológicas entre los genes ya identificados como factor de riesgo para presentar queratocono y nuevos genes.

Hay numerosos grupos de investigación que están diseñado y desarrollando estudios en pacientes con queratocono familiar y esporádico con el fin de llevar a cabo dicha labor. Estos estudios incluyen la genotipificación de grandes cohortes de pacientes étnicamente homogéneos y bien caracterizados y grandes grupos de controles pareados por etnicidad utilizando los chips genómicos más comprensibles que contienen hasta 2.5 millones de SNPs (nucleótidos de base simple) independientes.

La competencia entre miR-184 y miR205 ilustra la complejidad de la acción de los microRNAs.

El hecho de no haber encontrado mutaciones asociadas en el gen miR-184 en ninguno de los casos de este estudio, sugiere que las ECP presentan una alta heterogeneidad genética. Por lo tanto en dichas entidades es difícil el poder determinar su presentación y desarrollo como consecuencia del efecto mayor de un solo gen como principal factor causal. De igual manera, sugiere que el origen etiológico de dichas entidades es muy probablemente multifactorial, con un componente tanto hereditario con una alta variabilidad genética y gran variabilidad en la expresión fenotípica, y un componente ambiental que contribuye en mayor o menor grado al desarrollo de la enfermedad. Aún no se sabe el grado de contribución que cada uno de estos factores tiene en el desarrollo de las mismas, quizá dichas entidades patológicas se disparan en individuos genéticamente susceptibles al exponerse a los factores ambientales desencadenantes. Por lo tanto, los resultados de este estudio confirman la dificultad que existe en las ECP para poder determinar una clara asociación causa-efecto con un único gen como factor causal y sugieren la necesidad de estudiar otros genes candidato como probables factores causales para la presentación y desarrollo de las ECP.

Dentro de las principales limitaciones de este estudio se encuentran el no haber incluido más casos familiares.

Debido a que el queratocono es una de las principales causas de trasplante corneal y frecuentemente se manifiesta con baja de visión y de manera consecuente disminuye de forma significativa la calidad de vida de los pacientes desde edades tempranas, el poder diagnosticar y frenar su progresión desde su origen fisiopatológico brinda la posibilidad de encontrar un tratamiento definitivo, y esto a su vez abre el campo terapéutico para el resto de las ECP, en caso de que se logre demostrar en las mismas un origen etiológico en común.

Conforme la tecnología progresa y los estudios de cribaje genético son más simples y con una buena relación de coste-efectividad, habrá mayor facilidad para entender la etiología de las enfermedades y probablemente también de las ECP, así como la posibilidad de realizar cribajes en familiares y de manera consecuente evitar de manera proactiva el desarrollo de dichas patologías.

Las ectasias corneales primarias representan enfermedades complejas muy probablemente asociadas a múltiples genes y varios mecanismos que contribuyen al desarrollo de las mismas.

El desarrollo de tecnología genómica nos permitirá entender mejor el origen tanto de enfermedades Mendelianas como aquellas que son más complejas. Dentro de éstas, estudios de exoma completo o de secuenciación genómica nos permitirán la identificación de mutaciones causales en pacientes y familiares con ectasias corneales primarias. Los resultados obtenidos a través de estudios de ligamiento familiar serán de gran utilidad en la interpretación en los datos obtenidos de secuenciaciones de exoma completo.

Otra forma de abordaje es a través de los estudios de asociación de genoma completo, los cuales ya se han realizado pacientes con queratocono. Los resultados con estos estudios han sido muy prometedores. Debido a que dichos

estudios necesitan miles de casos y controles, por lo que será necesaria la participación de diferentes centros.

## 9.0 Conclusiones

Las ectasias corneales primarias representan enfermedades complejas, que se presentan de forma bilateral asimétrica y son causa de una morbilidad visual muy significativa. Están consideradas dentro del espectro de enfermedades complejas multifactoriales sin poder determinar una causa genética en específico a pesar de que son numerosos los estudios que establecen un componente genético como parte de su fisiopatología.

De igual manera basados en el hecho de que a veces hay pacientes que pueden presentar dos tipos de ECP ya sea en el mismo ojo o de manera bilateral, o en el hecho de que en etapas avanzadas es difícil realizar una clara diferenciación e las mismas, y también a que a veces incluso pueden llegar a compartir las mismas características a nivel topográfico, hay diversos autores que las ha establecido como parte del espectro fenotípico de una sola enfermedad.

La heterogeneidad genética con gran variabilidad en la expresión fenotípica de las enfermedades explica la causa por la cual no se ha podido identificar un sólo gen como factor causal, y también el hecho de que los diferentes estudios incluyan a diferentes poblaciones de origen étnico y racial.

El hecho de que existan formas subclínicas de las ECP, favorece que haya una importante variabilidad en la literatura respecto a la incidencia y prevalencia de las mismas.

Dentro de las debilidades de este estudio se encuentra el hecho de que se haya realizado sólo en población mexicana, la cual debido a sus antecedentes geográficos e históricos presenta una diversidad genética muy significativa.

El hecho de que en este estudio se haya confirmado la hipótesis alternativa, brinda orientación a diferentes estudios genéticos tales como estudios de expresión de miR-184 en tejido corneal tanto en casos como controles, abre la puerta a la realización del mismo en poblaciones de diferente origen racial y étnico, así como a estudiar otras posibles causas genéticas.

De igual manera, es razonable asumir que las ectasias corneales primarias, y principalmente el queratocno al ser la más frecuentemente estudiada, son probablemente causadas por diferentes mutaciones separadas y no por una sola mutación.

## 10. Bibliografía

1. Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. Survey of Ophthalmology.1984;28 (4): 293-322.
2. Kennedy RH, Bourne WM, Dyer JA. A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. American Journal of Ophthalmology.1986; 101: 267-273.
3. Rahman I, Carley F, Hillarby C, Brahma A, Tullo AB. Penetrating keratoplasty: indications, outcomes, and complications. Eye (London). 2009; 23: 1288-1294.
4. Rebenitsch RL, Kymes SM, Walline JJ, Gordon MO. The lifetime economic burden of keratoconus : A decision analysis using a Markov model. American Journal of Ophthalmology. 2011; 151: 768-773.
5. Davis LJ, Schetman KB, Wilson BS, Rosentiel CE, Libassi DP, et al. Longitudinal changes in visual acuity in keratoconus. Investigative Ophthalmology and Visual Sciences.2006;47:489-500.
6. Rabinowitz YS. Keratoconus. Survey of Ophthalmology. 1998; 42: 297-319.
7. Belin MW, Khachikian SS: Keratoconus: It's hard to define but...American Journal of Ophthalmology. 2007; 43(3):500-503.
8. Maeda N, Klyce SD, Tano Y. Detection and Classification of Mild Irregular Astigmatism in Patients with Good Visual Acuity. Survey of Ophthalmology. 1998;43(1):53-58

9. Eichler EE., Flint J, Gibson G, Kong A, Leal SM, Moore JH et al. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nature Review of Genetics*. 2010; 11(6):446-450.
10. Ambrósio R, Belin MW, Perez VL, Abad JC, Gomes AP. Definitions and concepts on keratoconus and ectatic corneal diseases: Panamerican Delphi Consensus-A pilot for the global consensus on ectasias. *International Journal of Keratoconus and Ectatic Corneal Diseases*. 2014; 3(3):99-106.
11. Godefrooij DA, Ardine de Wit G, Uiterwaal CS, Imhof SM, Wisse R. Age-specific incidence and prevalence of keratoconus: a nationwide registration study. *American Journal of Ophthalmology*. 2016; doi.org/10.1016/j.ajo.2016.12.015
12. Rabinowitz YS, The genetics of keratoconus. *Ophthalmology Clinics of North America*. 2003; 16:607-620.
13. Edwards M, McGhee CN, Dean S, The Genetics of Keratoconus. *Clinical Experimental Ophthalmology*. 2001; 29:345-51.
14. Millodot M, Shneor E, Albou S, Atlani E, Gordon-Shaag A. Prevalence and associated factors of keratoconus in Jerusalem: a cross sectional study. *Ophthalmic Epidemiology*. 2011; 18(2):91-97.
15. Gorskova EN, Sevostianov EN, Epidemiology of keratoconus in the Urals. *Vestnik Oftalmologii* 1998; 114 (4):38-40.
16. Davidson AE, Hayes S, Hardcastle AJ, Tuft SJ. The pathogenesis of keratoconus. *Eye*. 2014; 28: 189-195.
17. Al-Rajhi A, Ambrus A, Lastra R, Lum F, Mizuiri D. Corneal ectasia preferred practice pattern. *American Academy of Ophthalmology*. 2018; 171-215.
18. Wang Y, Hassan H, George S, Frazer DG, Willoughby CE, Liskova P. Keratoconus in 18 pairs of twins. *Acta Ophthalmologica*. 2012; 90 (6);e482-e486.
19. Ambrósio R Jr, Randleman JB. Screening for ectasia at risk: what are we screening for and how should we screen for it?. *Journal of Refractive Surgery*. 2013; 29(4):230-232.

20. Eichler EE, Flint J, Gibson G, Kong A, Leal SM, Moore JH, *et al.* Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nature Review of Genetics*. 2010; 11 (6):446-450.
21. Hill AB. The environment and disease: Association or causation? *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1965; 58:295-300.
22. Bialasiewicz A, Edward DP. Corneal ectasias: study cohorts and epidemiology. *Middle East African Journal of Ophthalmology*. 2013; (20):3-4.
23. Belin MW, Asota IM, Ambrosio R, Khachikian S. What's in a name: keratoconus, pellucid marginal degeneration and related thinning disorders. *American Journal of Ophthalmology*. 2011; 152 (2): 157-162.
24. Rasheed K, Rabinowitz YS. Surgical treatment of advanced pellucid marginal degeneration. *Ophthalmology*. 2000; 107 (10):1836-1840.
25. Cameron JA. Keratoglobus. *Cornea*. 1993; 12:124-30.
26. Karseras A, Ruben M, Aetiology of Keratoconus. *British Journal of Ophthalmology*. 60:522-525.
27. Edmund C. Corneal elasticity and ocular rigidity in normal and keratoconic eyes. *Acta Ophthalmologica*. 1988; 66 (2): 134-140.
28. Tuft SJ, Fitzke FW, Buckley RJ. Myopia following penetrating keratoplasty for keratoconus. *British Journal of Ophthalmology*. 1992; 76 (11): 642-645.
29. Abahussin M, Hayes S, Knox CN, Kamma-Lorger C, Khan Y, Marshall J, *et al.* 3D collagen orientation study in human cornea using X-ray diffraction and femtosecond laser technology. *Investigative Ophthalmology of Visual Sciences*. 2009; 50(11):5159-5164.
30. Meek K, Blamires T, Elliot G, Gyi TJ, Nave C. The organisation of collagen fibrils in the human corneal stroma: a synchrotron X-ray diffraction study. *Current Eye Research*. 1987; 6(7):841-846.
31. Hayes S, Boote C, Tuft S, Quantock A, Meek K. A study of corneal thickness, shape and collagen organisation in keratoconus using videokeratography and X-ray scattering techniques. *Experimental Eye Research*. 2007; 84(3):423-434.

32. Meek KM, Tuft SJ, Huang Y, Gill PS, Hayes S, Newton R.H, et al. Changes in collagen orientation and distribution in keratoconus corneas. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2005; 46 (6):1948-1956.
33. Patey A, Savoldelli M, Pouliquen Y. Keratoconus and normal cornea: a comparative study of collagenous fibers of the corneal stroma by image analysis. *Cornea*. 1984;3:119-124.
34. Fullwood NJ, Tuft SJ, Malik NS, Meek KM, Ridgway AE, Harrison RJ. Synchrotron X-ray diffraction studies of keratoconus corneal stroma. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 1992; 33(5):1734-1741.
35. Kenney M, Chwa M, Opbroek AJ, Brown DJ. Increased gelatinolytic activity in keratoconus cultures. A correlation to an altered matrix metalloproteinase-2/tissue inhibitor of metalloproteinase ratio. *Cornea*. 1994; 13(2):114-124.
36. Sherwin T, Brookes NH, Loh IP, Poole CA, Clover GM. Cellular incursion into Bowman's membrane in the peripheral cone of the keratoconic cornea. *Experimental Eye Research* 2002; 74(4):473-482.
37. Zhou LL, Sawaguchi S, Twining SS, Sugar J, Feder RS, Yue BY. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 1998; 39: 1117-1124.
38. Polack FM. Contributions of electron microscopy to the study of corneal pathology. *Survey of Ophthalmology*. 1976; 20:375-414.
39. Bron AJ. Keratoconus. *Cornea*. 1988;7(3):163-169.
40. Morshige N, Wahlert A, Kenney M, Brown D, Kawamoto K, Chikama T, et al. Second harmonic imaging microscopy of normal and keratoconus cornea. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2007; 48(3):1087-1094.
41. Radner W, Zehetmayer M, Skorpik C, Mallinger R. Altered organization of collagen in the apex of keratoconus corneas. *Ophthalmic Research*. 1998;30(5):327-332.

42. Funderburgh JL, Panjwani N, Conrad GW, Baum J. Altered keratan sulphate epitopes in keratoconus. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 1989; 30 (10):2278-2281.
43. Hayes S, Kamma-Lorger C, Boote C, Young R, Quantock A, Rost A. et al. The effect of riboflavin/UVA collagen cross-linking therapy on the structure and hydrodynamic behaviour of the ungulate and rabbit corneal stroma. *PLoS One*. 2013;8(1):e52860.
44. Teng C.C. Electron microscopy study of the pathology of keratoconus: part 1. *American Journal of Ophthalmology*. 1963;55:18-47.
45. Tsubota K, Mashima Y, Murata H, Sato N, Ogata T. Corneal epithelium in keratoconus. *Cornea*. 1995;14(1):77-83.
46. Sawaguchi S, Fukuchi T, Abe H, Kaiya T, Sugar J, Yue B.J. Three dimensional electron microscopic study of keratoconus. *Archives of Ophthalmology*. 1998;116:62-98.
47. Sturbaum CW, Peiffer Jr RL. Pathology of corneal endothelium in keratoconus. *Ophthalmologica*. 1993;206(4):192-208.
48. Critchfield J, Caladra A, Nesburn A, Kenney M. Biomechanical studies of normal and keratoconus cornea. *Experimental Eye Research*. 1988; 46:953-963.
49. Buddecke E, Wollensak J. Acid mucopolysaccharide and glycoprotein in the human cornea in relation to age and keratoconus. *Albrecht von Graefes Archives Clinical Experimental Ophthalmology*. 1966;172:105-120.
50. Sawaguchi S, Twining SS, Yue BY, Chang SH, Zhou X, Loushin G, et al. Alpha-2-Macroglobulin levels in normal and keratoconus corneas. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 1994;35:4008-4014.
51. Newsome DA, Foidart JM, Hassell Jr, Krachmer JH, Rodrigues M, Katz SI. Detection of specific collagen types in normal and keratoconus corneas. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 1981; 20: 730-750.
52. Joseph R, Srivastava O, Pfister R. Differential epithelial and stromal protein profiles in keratoconus and normal human corneas. *Experimental Eye Research*. 2011; 92:282-298.

53. Zimmermann DR, Fischer RW, Winterhalter KH, Witmer R, Vaughan L. Comparative studies of collagens in normal and keratoconus corneas. *Experimental Eye Research*. 1988;46(3):431-442.
54. Newsome DA, Foidart JM, Hassell JR, Krachmer JH, Rodrigues M, Katz S.I. Detection of specific collagen types in normal and keratoconus corneas. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 1981; 20:738-750.
55. Oxlund H, Simonsen AH. Biomechanical studies of normal and keratoconus corneas. *Acta Ophthalmologica*. 1985;63(6):666-669.
56. Nakayasu K, Tanaka M, Konomi H, Hayashi S. Distribution of types I, II, III, IV, and V collagen in normal and keratoconus corneas. *Ophthalmic Research*. 1986;18:1-10.
57. Funderburgh JL, Hevelone ND, Roth MR, Funderburgh ML, Rodrigues M, Nirankari VS, et al. Decorin and biglycan of normal and pathological human corneas. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 1998;39(10):1957-1964.
58. Wentz-Hunter K, Cheng EL, Ueda J, Sugar J, Yue BYGT. Keratocan expression is increased in the stroma of keratoconus corneas. *Molecular Medicine*. 2001; 7(7):470-477.
59. Kim WJ, Rabinowitz YS, Meisler DM, and Wilson SE. Keratocyte apoptosis associated with keratoconus. *Experimental Eye Research*. 1999;(69):475-481.
60. Wilson SE, Chaurasia SS, and Medeiros FW. Apoptosis in the initiation, modulation and termination of the corneal wound healing response. *Experimental Eye Research*. 2007; (85):305-311.
61. Zhou L, Zhao SZ, Koh SK, Chen L, Vaz C, Tanavde V, et al. In-depth analysis in the human tear proteome. *Journal of Proteomics*. 2012;75(13):3877-3885.
62. Lema I, Sobrino T, Duran JA, Brea D, Diex-Feijoo E. Subclinical keratoconus and inflammatory molecules from tears. *British Journal of Ophthalmology*. 2009; 93(6):820-824.

63. Jun AS, Cope L, Speck C, Feng X, Lee S, Meng H. et al. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS One*. 2011;6(1):e16437.
64. Joseph R, Srivastana OP, Pfister RR. Differential epithelial and stromal protein profiles in keratoconus and normal human corneas. *Experimental Eye Research*. 2011;92(4):282-298.
65. Chaerkady R, Shao H, Scott SG, Pandey A, Jun AS, Chakravarti S. The keratoconus corneal proteome: loss of epithelial integrity and stromal degeneration. *Journal of Proteomics*. 2013;87:122-131.
66. Stone DL, Kenyon KR, Stark WJ. Ultrastructure of keratoconus with healed hydrops. *American Journal of Ophthalmology*. 1976;82:450-458.
67. Sridhar MS, Mahesh S, Bansal AK, Nutheti R, Rao N, et al. Pellucid Marginal Corneal Degeneration. *Ophthalmology* . 2004;111(6): 1102-1107.
68. Verrey F. Kératoglobule aigu. *Ophthalmologica*. 1947;114:284-8.
69. McGhee, C. 2008 Sir Norman McAlister Gregg Lecture: 150 years of practical observations on the conical cornea-what we learned? *Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2009; 37: 160-176.
70. Akcay EK, Akcay M, Uysal BS, et al. Impaired corneal biomechanical properties and the prevalence of keratoconus in mitral valve prolapse. *Journal of Ophthalmology*. 2014; Article ID 402193
71. Lawless M, Coster DJ, Phillips AJ, Loane M, Keratoconus: diagnosis and management. *Australian and New Zealand Ophthalmology*. 1989; 17:33-60.
72. Lass JH, Lembach RG, Park SB et al. Clinical management of keratoconus, a multicenter analysis. *Ophthalmology*. 1990; 97:433-45.
73. Weed KH, McGhee CN. Referral patterns, treatment, management and visual outcomes in keratoconus. *Eye*. 1998; 12: 663-8.
74. Grünauer-Kloevekorn C, Duncker ,GI. Keratoconus: epidemiology, risk factors and diagnosis. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2006; 223: 493-502.
75. Sharif KW, Casey TA, Coltart J. Prevalence of mitral valve prolapse in keratoconus patients. *Journal Royal Society of Medicine*. 1992; 85: 446-8.

76. Khan MD, Kundi N, Saeed N, et al. Incidence of keratoconus in spring catarrh. *British Journal of Ophthalmology*. 1988; 72: 41-3.
77. Cameron JA, Al-Rajhi AA, Badr IA. Corneal ectasia in vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 1989;96: 1615-23.
78. Elschnig A, Erkrankungen der Hornhaut. In: Axengeld T: *Lehrbuch und Atlas der Augenheilkunde*. 7th. ed. Jena Verlag von Gustav Fischer, 1923; 398.
79. Duke-Elder S. Normal and abnormal development. *Congenital deformities in system of ophthalmology*. St. Louis. CA. Mosby. 1963; 508.
80. Thomas CE, Springfield C, Thomasm C. *The Cornea*. 1955;247
81. Baillif S, Garweg JG, Granfe J, Burillon C, Kodjikian. Kératoglobus: revue de la littérature. *Journal Français d' Ophthalmologie*. 2005; 28 (10)1145-1149.
82. Cavara V. Keratoglobus and keratoconus: a contribution to nosological interpretation of keratoglobus. *Brittish Journal of Ophthalmology*. 1950; 34: 621-6.
83. Gupta VP, Jain RK, Angra SK. Acute hydrops in keratoglobus with vernal keratoconjunctivitis. *Indian Journal of Ophthalmology*. 1985; 33:121-123.
84. Biglan AW, Brown SI, Johnson BL. Keratoglobus and blue sclera. *American Journal of Ophthalmology*. 1977;83:225-233.
85. Kayazawa F, Nishimura K, Kodama Y, et. al. Keratoconus with pellucid marginal corneal degeneration. *Archives of Ophthalmology*. 1984; 102: 895-6.
86. Kayazawa F, Nishimura K, Kodama Y, Tsuji T, Itoi M. Keratoconus with pellucid marginal corneal degeneration. *Archives of Ophthalmology*. 1984; 102: 895-896.
87. Zucchini G: Su di caso di degerazione marginale della cornea-varietà inferiore pellucida-stodie clínico ed istologico. *Annals of Ophthalmology*. 1962;88-47-56.
88. François J, Hassens M, Stockmans L. Dégénérescence marginale pellucide de la cornée. *Ophthalmologica*. 1972; 155:337-356.

89. Pouliquen Y, Chauvand E, Lacombe E. et al: Dégénérescence pellucide marginale de la cornée ou keratocone marginal. *Journal Français d'Ophthalmologie*. 1980; 3:109-114.
90. Rodrigues MM, Newsome DA, Krachmer JH et al: Pellucid marginal corneal degeneration: a clinicopathologic study of two cases. *Experimental Eye Research*. 1981; 33:277-288.
91. Karabatsas CH, Cook SD. Topographic analysis in pellucid marginal corneal degeneration and keratoglobus. *Eye*. 1996; 10: 451-5.
92. Robertson I. Keratoconus and the Ehlers-Danlos syndrome: a new aspect of keratoconus. *Medical Journal of Australia*. 1975; 1(18):571-573.
93. Woodward EG, Morris MT. Joint hypermotility in keratoconus. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 1990; 10(4):360-362.
94. Edwards M, McGhee CN, The Genetics of Keratoconus. *Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2001;29:345-51.
95. Stabuc-Silih M, Strazisar M, Ravnik Glavac M, Hawlina M, Glavac D. Genetics and clinical characteristics of keratoconus. *Acta Dermatoven*. 2010; 19 (2), 3-10.
96. Li X, Yang H, Rabinowitz YS. Longitudinal study of keratoconus progression. *Experimental Eye Research*. 2007; 85 (4), 502-507.
97. Assiri AA, Yousuf BI, Quantock AJ, Murphy PJ. Incidence and severity of keratoconus in Asir province, Saudi Arabia. *British Journal of Ophthalmology*. 2005; 89(11) 1403-1406.
98. Georgiou T, Funnell CL, Cassels-Brown A, O' Connor R. Influence of ethnic origin in the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asians and white patients. *Eye*. 2004;18 (4) 379-383.
99. Gordon-Shaag A, Millodot M, Essa M, Garth M, Ghara M, Shneor E. Is consanguinity a risk factor for keratoconus? *Optometry and Vision Science*. 2013; 90(5): 448-454.
100. Davidson AE, Hayes S, Hardcastle AJ, Tuft SJ. The pathogenesis of keratoconus. *Eye*. 2014; 28(2):189-195.

101. Li X, Rabinowitz YS, Rasheed K, Yang H. Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients. *Ophthalmology*. 2004; 111(3): 440-446.
102. Millodot M, Shneor E, Albou S, Atlani E, Gordon-Shaag. Prevalence and associated factors of keratoconus in Jerusalem: a cross-sectional study. *Ophthalmic epidemiology*. 2011;18(2):91-97.
103. Gordon-Shaag A, Millodot M, Shneor Einat, Liu Y. The Genetic and Environmental Factors for Keratoconus. *BioMed Research International*.2015; Id 795738: 1-19.
104. Szczotka-Flynn L, Slaughter M, McMahon T, Barr J, Edrington T, Fink B, et al. Disease severity and family history in keratoconus. *British Journal of Ophthalmology*. 2008; 92(8):1108-1111.
105. Tuft SJ, Hassa H, George S, Frazer DG, Willoughby CE, Liskova P. Keratoconus in 18 pairs of twins. *Acta Ophthalmologica*. 2012; 90(6):e482-e486.
106. Franceschetti A: Keratoconus, in King JH, McTigue JW, (eds): *The Cornea World Congress*. Washington, Butterworths, 196; 152-168.
107. François J: Affliction of the conea , in François J. (ed): *Heredity in Ophthalmology*, St. Louis. CV Mosb. 1961; 297-298.
108. Tuft SJ, Moodaley LC, Gregory WM, Davison CR, Buckley RJ. Prognostic factors for the progression of keratoconus. *Ophthalmology*. 1994; 101(3): 439-447.
109. Ertan A, Muftuglu. Keratoconus clinical findings according to different age and gender groups. *Cornea*. 2008; 27(10):1109-1113.
110. Frasca G, Belmonte M: Neurocutaneous angiomatosis and keratoconus. *Bull Soc Ophthalmol*. 1982; 203, 117-121.
111. Wang Y, Rabinowitz YS, Rotter JI, Yang H. Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination. *American Journal of Medical Genetics*. 2000; 93(5):403-409.
112. Santo R, Samir B, Newton K-J. Corneal topography in asymptomatic family members of a patient with pellucid marginal degeneration. *American Journal of Ophthalmology*. 1999; 127(2): 205-207.

113. Bykhovskaya Y, Margines B, Yaron S, Rabinowitz. Genetics in Keratoconus: where are we? *Eye and vision*. 2016; 16(3), 1-10.
114. Wheeler J, Hauser MA, Afshari NA, Allingham RR, Liu Y. The genetics of keratoconus : a review. *Reproductive System Sexual Disorders*. 2012; S6: 001. doi: 10.4172/2161-038X.S6-001.
115. Bisceglia L, De Bonis P, Pizzicoli C, Fischetti L, Laborante A, Di Perna M, et al. Linkage analysis in keratoconus: replication of locus 5q21.2 and identification of other suggestive loci. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2009; 50(3):1081-1086.
116. Tang YG, Rabinowitz YS, Taylor KD, Li X, Hu M, Picornell Y, et al. Genomewide linkage scan in a multigeneration Caucasian pedigree identifies a novel locus for keratoconus on chromosome 5q14.3-q21.1. *Genetics in Medicine*. 2005; 7(6):397-405.
117. Li X, YS Rabinowitz, Tang YG, Picornell Y, Taylor KD, Hu M, et al. Two-stage genome-wide linkage scan in keratoconus sib pair families. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2006;47(9): 3791-3795.
118. Czugala M, Karolak JA, Nowak DM, Polakowski P, Pitarque J, Molinari A, et al. Novel mutation and three other sequence variants segregating with phenotype at keratoconus 13q32 susceptibility locus. *European Human Genetics*. 2012; 20(4):389-397.
119. Tenkman LR, Price MO, Price Jr., FW. Keratoconus onset after age 50. *Journal of Refractive Surgery*. 2012; 28(6):436-438.
120. Critchfield JW, Calandra AJ, Nesburn AB, Kenney MC. Keratoconus: I. Biochemical studies. *Experimental Eye Research*. 1988; 46:953-963.
121. Kenney MC, Nesburn AB, Burgeson RE, Butkowski RJ, Ljubimov AV. Abnormalities of the extracellular matrix in keratoconus corneas. *Cornea*. 1997; 16:345-51.
122. Kim SH, Mok JW, Zhang X, Liu M, Zhu X, et al. Association of -31 T>C and -511 C>T polymorphisms in the interleukin 1 beta (IL1B) promoter in Korean keratoconus patients. *Molecular Vision*. 2008; 14:2109-16.

123. Mikami T, Meguro A, Teshigawara T, Takeuchi M, Uemoto R, Kawagoe T, et. al. Interleukin 1 beta promoter polymorphism is associated with keratoconus in a Japanese population. *Molecular Vision*. 2013; 19:845-51.
124. Palamar M, Onay H, Ozdemir TR, Arslan E, Egrilmez S, Ozkinay F, et.al. Relationship between IL1beta-511C>T and ILRN VNTR polymorphisms and keratoconus. *Cornea*.2014; 33(2):145-7.
125. Li X, Bykhovskaya Y, Canedo AL, Haritunians T, Siscovick D, Aldave AJ et al. Genetic Association of COL5A1 variants in keratoconus patients suggests a complex connection between corneal thinning and keratoconus. *Investive Ophthalmology and Visusal Sciences*. 2013; 54(13):2696-704.
126. Gokhale NS. Epidemiology of keratoconus. *Indian Ophthalmology*. 2013; 61(8):382-383.
127. Nowak DM, Gajecka M. The genetics of keratoconus. *Middle East African Journal of Ophthalmology*. 2011; 18(1):2-6.
128. Nitin U, Shari R, Brown D, Holguin B, Small K, Nesburn A, et al. *SOD1*: A candidate gene for keratoconus. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2006; 47(8):3345-3351.
129. Shapiro BL. Down Syndrome and associated congenital malformations. *Journal of Neural Transmission Supplementaria*. 2003;67:207-214.
130. Cullen JF, Butler HG. Mongolism (Down's Syndrome) and keratoconus. *British Journal of Ophthalmology*. 1963; 47: 321-330.
131. Wojcik KA, Kaminska A, Blasiak J, Szaflik J, Szaflik JP. Oxidative stress in the pathogenesis of keratoconus and Fuch's endothelial corneal dystrophy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14(9):19294-19308.
132. Teng CC. Electron microscope study of the pathology of keratoconus: part 1. *American Journal of Ophthalmology*. 1963; 55:18-47.
133. Héon E, Greenberg A, Kopp KK, Rootman D, Vincent AL, Billingsley G, Priston M, Dorval KM, Chow RL, et. al. *VSX1*: a gene for posterior polymorphous dystrophy and keratoconus. *Human Molecular Genetics*. 2002; 11:1029-36.

134. Aldave AJ, Ann LB, Frausto RF, Nguyen CK, Raber IM. Classification of posterior polymorphous corneal dystrophy as a corneal ectatic disorder following confirmation of associated significant corneal steepening. *JAMA Ophthalmology*. 2013; 131(12): 1583-1590.
135. Mintz-Hittner HA, Semina EV, Frishman LJ, Prager TC, Murray JC. VSX1 (RINX) mutation with craniofacial anomalies, empty sella, corneal endothelial changes, and abnormal retinal and auditory bipolar cells. *Ophthalmology*. 2004;111:828-36.
136. Bisceglia L, Ciaschetti M, De Bonis P, Campo PA, Pizzicoli C, Scala C, et al., VSX1 mutational analysis in a series of Italian patients affected by keratoconus: detection of a novel mutation. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2005;46:39-45.
137. Tang YG, Picornell Y, Su X, Li X, Yang H, Rabinowitz YS. Three VSX1 gene mutations, L159M, R166W, and H244R, are not associated with keratoconus. *Cornea*. 2008; 27:189-92.
138. Aldave AJ, Yellore VS, Salem AK, Yoo GL, Rayner SA, Yang H, et al. No VSX1 gene mutations associated with keratoconus. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2006; 47(7):2820-2822.
139. Liskova P, Ebenezer ND, Hysi PG, Gwilliam R, El Ashry MF, Moodaley LC, et al., Molecular Analysis of the VSX1 gene in familial keratoconus. *Molecular Vision*. 2007; 13:1887-1891.
140. Eran P, Almogit A, David Z, Wolf HR, Hana G, Yaniv B, Elon P, Isaac A. The D155E substitution in the VSX1 gene: a non pathogenic variant or a disease causing mutation? *Ophthalmic Genetics*. 2008; 29:53-59
141. Mok JW, Baek SJ, Joo CK. VSX1 gene variants are associated with keratoconus in unrelated Korean patients. *Journal of Human Genetics*. 2008; 53:842-9.
142. Dash DP, George S, O' Prey D, Burns D, Nabili S, Donnelly U, Hughes AE, Silvestri G, Jackson J, Frazer D, et. al. Mutational screening of VSX1 in keratoconus patients from the European population. *Eye (London)*. 2010; 24:1085-92.

143. De Bonis P, Laborante A, Pizzicoli C, Stallone R, Barbano R, Longo C, et al. Mutational screening of VSX1, SPARC, SOD1, LOX and TIMP3 in keratoconus. *Molecular Vision*. 2011; 17:2482-2494.
144. Guan T, Liu C, Ma Z, Ding S. The point mutation and polymorphism in keratoconus candidate gene TGFBI in Chinese population. *Gene*. 2012; 503(1):137-143.
145. Klintworth GK. Corneal dystrophies. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2009; 4:7.
146. Lechner J, Dash DP, Muszynska D, Hosseini M, Segev F, George S, et al. Mutational spectrum of the ZEB1 gene in corneal dystrophies supports a genotype-phenotype correlation. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2013;54(5): 3215-3223.
147. Drotcourt C, Touboul D, Ged C, Ezzedine K, Cario-Andre M, de Verneuil H, et al. A prospective study of filaggrin null mutations in keratoconus patients with or without atopic disorders. *Dermatology*. 2011;222(4):336-341.
148. Gajecka M, Radhakrishna U, Winters D, Nath SK, Rydzanicz M, Ratnamala U, Ewing U, Molinari A, et al. Localization of a gene for keratoconus to a 5.6-Mb interval on 13q32. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2009;50:1531-9.
149. Atilano SR, Coskun P, Chwa M, Jordan N, Reddy V, Le , et al. Accumulation of mitochondrial DNA damage in keratoconus corneas. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2006;47:2820-2.
150. Burdon KP, Macgregor S, Bykhovskaya Y, Javadiyan S, Li X, Laurie KJ, et al. Association of polymorphisms in the hepatocyte growth factor gene promoter with keratoconus. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2011;52(11):8514-8519.
151. Cuellar-Partida G, Springelkamp H, Lucas SE, Yazar S, Hewitt AW, et al. WNT10A exonic variant increases the risk of keratoconus by decreasing corneal thickness. *Human Molecular Genetics*. 2015;24(17):5060-8.

152. Nakatsu MN, Ding Z, Ng MY, Truong TT, Yu F, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling regulates proliferation of human cornea epithelial stem/progenitor cells. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2011;52(7):4734-41.
153. Hughes AE, Bradley D, Campbell M, Lechner J, Dash Durga, Simpson A, Willoughby C. Mutation Altering the miR-184 Seed Region Causes Familial Keratoconus with Cataract. *The American Journal of Human Genetics*. 2011;89: 628-633.
154. Lechner J, VBae H, Guduric-Fuchs J, Rice A, Govindarajan G, Siddiqui S, Farraj L, et.al. Mutational Analysis of MIR184 in Sporadic Keratoconus and Myopia. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2013; 54(8): 5266-5272.
155. Meola N, Gennarino V, Banifi S. microRNAs and genetic diseases. *Pathogenetics*. 2009: 2-7.
156. Bartel DP, MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2009; 136:215-233.
157. Starega-Roslan J, Koscianska E, Kozlowski P, Kryzosiak WJ. The role of the precursor structure in the biogenesis of microRNA. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2011; 68:2859-2871.
158. Mencia A, Modamio-Hoybjor S, Redshaw N, et al. Mutations in the seed region of human miR-96 are responsible for nonsyndromic progressive hearing loss. *Nature Genetics*. 2009;41:609-613.
159. Ryan DG, Oliveira-Fernandes M, Lavker RM. MicroRNAs of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue specificity. *Molecular Vision*. 12: 1175-1184.
160. Karali M, Peluso I, Gennarino VA, Bilio M, Verde R, Lago G, et al. miRNeYE: A microRNA expression atlas of the mouse eye. *BMC Genomics* .2010; 11: 715.
161. Shalom-Feuerstein R, Serror L, de La Forest Divonne S, et al. Pluripotent stem cell model reveals essential roles for miR-450b-5p and miR-184 in embryonic corneal lineage specification. *Stem Cell*. 2012;30:898-909.

162. Yu J, Ryan DG, Getsios S, Oliveira-Fernandes, Fatima M, Lavkner RM. MicroRNA-184 antagonizes micro-RNA-205 to maintain SHIP2 levels in epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008; 105: 19300-19305.
163. Nishida T, Saik S. Cornea and Sclera: Anatomy and Physiology. In *Cornea*, J.H. Krachmer, ed. (St. Louis, Mo: Mosby/Elsevier), p.17
164. Dai E, Boulton M. Basic Science of the lens. In *Ophthalmology*, M. Yanoff and JS Duker, eds. (Edinburgh: Mosby/Elsevier), p.381.
165. Barad O, Meiri E, Avniel A, Aharonov R, Barzilai A, Bentwich I, Einav U, et al. MicroRNA expression detected by oligonucleotide microarrays: System establishment and expression profiling in human tissues. *Genome Research*. 14, 2486-2494.
166. Iliff BW, Riazuddin SA, Gottsch JD. Documenting the corneal phenotype associated with the MIR184 c.57C>T mutation. *American Journal of Human Genetics*. 2012; 90:934.
167. Akpek EK, Jun AS, Goodman DF, Green WR, Gottsch JD. Clinical and ultrastructural features of a novel hereditary anterior segment dysgenesis. *Ophthalmology*. 2002; 109:513-519.
168. Jun AS, Broman KW, Do DV, Akpek EK, Stark WJ, Gottsch JD. Endothelial dystrophy, iris hypoplasia, congenital cataract, and stromal thinning (EDICT) syndrome maps to chromosomal 15q22.1-q25.3. *American Journal of Ophthalmology*. 2002; 134: 172-176.
169. Iliff BW, Riazuddin SA, Gottsch JD. A single-base substitution in the seed region of miR-184 causes EDICT syndrome. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2012; 53: 348-353.
170. Hughes AE, Dash DP, Jackson AJ, Frazer DG, and Silvestri G. Familial keratoconus with cataract: Linkage to the long arm of chromosome 15 and exclusion of candidate genes. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 2003; 44, 5063-5066.

171. Paek MJ, Kang UG. How many genes are involved in schizophrenia? A simple simulation. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2012; 38:302-309.
172. Mas Tur V, MacGregor C, BM, Jayaswal R, O' Brart D, Maycock N. A review of Keratoconus: Diagnosis, pathophysiology, and genetics. *Survey of Ophthalmology*. 2017; 62: 770-783.
173. Saeed H. Bouchard C. Familial Corneal Patterns in Pellucid Marginal Degeneration (PMD): Uncovering a Possible Etiology. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2013; 54: 327-335.
174. Adel B. *Keratoconus New Insights*. Jaypee. 2012; 3-11.
175. Omer K. Epidemiology of Keratoconus Worldwide. *Open Ophthalmology Journal*. 2018; 289-299
176. Shimazaki J, Maeda N, Hieda O, Ohashi Y, Murakami A, Nishida K, et al. National Survey of Pellucid Marginal Corneal Degeneration. *Japanese Journal of Ophthalmology*. 2016; 60: 341-348.

# Anexo 1

## Variables de los pacientes estudiados

# exp.	ECP	Edad	AHF	Género	Uso LC	Enf. Alérgica	Rasca do Ocular	Bilateral	Capacidad visual	Grado de severidad	E.E.	Ks	Localización adelgazamiento corneal	Erosiones corneales	Hydrops	Enfs. Sistémicas
2308	QC	14	No	Femenino	No	No	Si	Si	20/30	Leve	-1,00	44.24	Paracentral inf.	No	No	No
2968	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/50	Moderado	-5.17	51.78	Paracentral inf.	No	No	No
2677	QC	22	No	Femenino	No	No	Si	Si	20/40	Leve	-3.12	44.18	Paracentral inf.	No	No	No
3133	QC	18	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/60	Moderado	-5.42	49.72	Central	No	No	No
2921	QC	29	No	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-4.76	48.87	Paracentral inf.	No	No	No
2292	QC	25	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/100	Severo	-8.84	52.75	Paracentral inf.	No	No	No
2482	QC	22	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/40	Leve	-3.00	43.87	Paracentral inf.	No	No	No
2967	QC	21	No	Masculino	No	No	Si	No	20/60	Moderado	-7.75	46.24	Central	No	No	No
2604	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.24	45.12	Paracentral inf.	No	No	No
2484	QC	27	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	30/30	Leve	-1.75	44.42	Paracentral inf.	No	No	No
2728	QC	29	No	Femenino	Si	Si	No	Si	20/50	Moderado	-4.82	51.18	Central	No	No	No
2672	QC	16	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.24	50.76	Paracentral inf.	No	No	No
2714	QC	23	No	Femenino	No	No	Si	No	20/40	Leve	-3.14	43.27	Central	No	No	No
2675	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.14	47.78	Paracentral inf.	No	No	Marfan
2669	QC	29	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.24	47.52	Paracentral inf.	No	No	No
2717	QC	22	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/30	Leve	-2.75	44.79	Paracentral inf.	No	No	No
2363	QC	23	No	Masculino	No	No	No	Si	20/50	Moderado	-8.72	46.87	Paracentral inf.	No	No	No
2401	QC	18	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.17	51.42	Paracentral inf.	No	No	No
2367	QC	17	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.14	50.89	Paracentral inf.	No	No	No
2390	QC	23	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/80	Severo	-10.0	50.25	Paracentral inf.	No	No	No
2391	QC	25	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.75	49.15	Paracentral inf.	No	No	No
2391	QC	24	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-4.18	48.27	Paracentral inf.	No	No	No
2334	QC	18	No	Masculino	No	No	Si	Si	20/60	Moderado	-5.42	46.41	Paracentral inf.	No	No	No
2320	QC	21	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-2.25	43.12	Paracentral inf.	No	No	No
2336	QC	24	No	Femenino	Si	Si	Si	No	20/50	Moderado	-6.24	45.17	Paracentral inf.	No	No	No
2276	QC	21	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/50	Moderado	-8.76	49.52	Paracentral inf.	No	No	No
2416	QC	23	No	Femenino	No	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.76	51.89	Paracentral inf.	No	No	No
2294	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.14	50.81	Paracentral inf.	No	No	No
2179	QC	26	No	Femenino	Si	No	Si	Si	20/200	Severo	-10.14	53.75	Paracentral inf.	No	No	No
2487	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-5.18	52.78	Paracentral inf.	No	No	No
2489	QC	21	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-2.25	43.78	Central	No	No	No
2381	QC	16	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-4.78	51.22	Paracentral inf.	No	No	No
2185	QC	23	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.18	51.23	Central	No	No	No
2521	QC	21	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/40	Leve	-3.00	44.42	Paracentral inf.	No	No	No
2379	QC	21	No	Femenino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-8.54	49.72	Paracentral inf.	No	No	No
2364	QC	22	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/50	Moderado	-5.67	48.12	Paracentral inf.	No	No	No
2603	QC	20	No	Femenino	No	No	Si	Si	20/100	Severo	-9.76	52.64	Central	Si	No	No
2553	QC	26	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-4.43	51.12	Paracentral inf.	No	No	No
2500	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.23	50.86	Paracentral inf.	No	No	No
2620	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.23	50.86	Paracentral inf.	No	No	No

2375	QC	23	No	Femenino	Si	Si	Si	No	20/40	Leve	-3.00	44.78	Paracentral inf.	Si	No	No
2664	QC	17	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.42	45.55	Central	No	No	No
2561	QC	18	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.76	47.32	Paracentral inf.	No	No	No
2756	QC	21	No	Masculino	No	No	Si	No	20/60	Moderado	-8.26	48.12	Paracentral inf.	No	No	No
2538	QC	23	No	Femenino	Si	No	Si	Si	20/400	Severo	-9.25	54.63	Central	Si	No	No
2609	QC	25	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-6.72	51.29	Paracentral inf.	No	No	No
2625	QC	24	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-1.00	43.76	Paracentral inf.	No	No	No
2556	QC	22	No	Femenino	Si	No	Si	Si	20/60	Moderado	-7.54	50.62	Central	No	No	No
2551	QC	23	No	Masculino	Si	Si	No	No	20/60	Moderado	-6.47	52.00	Paracentral inf.	No	No	No
2772	QC	21	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.14	50.67	Paracentral inf.	No	No	No
2755	QC	24	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.34	51.43	Paracentral inf.	No	No	No
2753	QC	18	No	Masculino	No	Si	Si	Si	5/200	Severo	-11.00	56.25	Paracentral inf.	Si	Si	Sindrome Down
2766	QC	17	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.43	46.72	Paracentral inf.	No	No	No
2765	QC	16	No	Masculino	Si	No	Si	Si	20/50	Moderado	-4.42	45.98	Central	No	No	No
2778	QC	25	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/30	Leve	-2.00	43.29	Paracentral inf.	No	No	Marfan
2765	QC	21	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.32	47.72	Paracentral inf.	No	No	No
2712	QC	23	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	30/30	Leve	-1.00	44.89	Paracentral inf.	No	No	No
2742	QC	23	No	Femenino	No	No	Si	Si	20/50	Moderado	-6.79	45.67	Central	No	No	No
2721	QC	22	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/200	Severo	-12.14	53.27	Paracentral inf.	Si	No	No
2793	QC	21	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.83	46.97	Paracentral inf.	No	No	No
2765	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.89	46.32	Paracentral inf.	No	No	No
2815	QC	25	No	Femenino	Si	Si	No	Si	20/50	Moderado	-6.76	48.32	Paracentral inf.	No	No	No
2745	QC	26	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-4.15	48.54	Paracentral inf.	No	No	No
2797	QC	18	Si	Masculino	Si	No	No	No	20/60	Moderado	-7.28	45.32	Paracentral inf.	No	No	No
2869	QC	21	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/100	Severo	-9.50	52.75	Paracentral inf.	Si	No	No
2593	QC	23	No	Femenino	No	No	Si	Si	20/60	Moderado	-8.42	49.65	Central	No	No	No
2179	QC	27	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-7.11	46.43	Paracentral inf.	No	No	No
2481	QC	17	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	30/40	Leve	-2.25	44.92	Paracentral inf.	Si	No	No
2590	QC	24	No	Femenino	Si	Si	Si	No	20/60	Moderado	-8.10	49.72	Central	No	No	No
2485	QC	21	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/40	Leve	-3.00	43.86	Paracentral inf.	No	No	No
2565	QC	29	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.19	41.32	Paracentral inf.	No	No	No
2482	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.27	49.27	Central	No	No	No
2504	QC	18	No	Masculino	Si	Si	No	No	20/40	Leve	-2.00	42.98	Paracentral inf.	Si	No	No
2175	QC	25	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.21	47.54	Paracentral inf.	No	No	No
2220	QC	23	Si	Masculino	No	No	Si	Si	20/400	Severo	-12.25	54.24	Paracentral inf.	No	Si	Sindrome Down
2489	QC	22	Si	Femenino	Si	No	Si	Si	20/60	Moderado	-6.12	49.54	Central	Si	No	No
2583	QC	25	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-4.74	48.65	Paracentral inf.	No	No	No
2493	QC	27	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/40	Leve	-2.75	44.79	Paracentral inf.	No	No	No
2488	QC	28	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.17	47.62	Paracentral inf.	No	No	No
2511	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-7.78	46.71	Central	No	No	No
2184	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.12	49.34	Paracentral inf.	No	No	No
2184	QC	25	Si	Femenino	Si	No	Si	Si	20/60	Moderado	-8.37	51.62	Paracentral inf.	No	No	No
2239	QC	21	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/80	Severo	-10.12	53.25	Central	No	No	No
2565	QC	22	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.36	50.97	Paracentral inf.	Si	No	No
2487	QC	25	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-1.00	44.65	Paracentral inf.	No	No	No
2561	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-8.65	51.65	Paracentral inf.	No	No	No
2178	QC	28	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.78	49.76	Paracentral inf.	No	No	No
2481	QC	21	Si	Masculino	Si	No	Si	Si	20/60	Moderado	-6.54	51.87	Central	No	No	No
2373	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	Si	No	20/100	Severo	-10.75	54.87	Paracentral inf.	Si	No	No
2757	QC	23	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.34	50.62	Paracentral inf.	No	No	No
2737	QC	22	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/50	Moderado	-4.89	51.76	Paracentral inf.	No	No	No
2727	QC	21	No	Masculino	Si	No	Si	Si	20/40	Leve	-2.25	44.87	Paracentral inf.	No	No	No
2724	QC	26	No	Femenino	Si	Si	Si	No	20/50	Moderado	-5.36	48.83	Central	No	No	No
2351	QC	22	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-6.54	49.92	Paracentral inf.	Si	No	No
2319	QC	18	Si	Femenino	No	No	Si	No	3/200	Severo	-11.75	56.62	Paracentral inf.	Si	Si	Sindrome Down
2731	QC	26	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.75	45.12	Central	No	No	No

2722	QC	20	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/40	Leve	-3.00	43.29	Paracentral inf.	No	No	No
2337	QC	27	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.74	46.72	Paracentral inf.	No	No	No
2389	QC	23	No	Masculino	Si	No	No	Si	20/60	Moderado	-8.43	48.97	Paracentral inf.	No	No	No
2346	QC	26	Si	Masculino	No	Si	Si	Si	20/40	Leve	-2.25	44.17	Central	No	No	No
2775	QC	24	No	Masculino	Si	No	Si	Si	20/50	Moderado	-7.72	49.72	Paracentral inf.	No	No	No
2321	QC	21	No	Femenino	Si	Si	Si	No	20/70	Severo	-9.75	55.75	Central	No	No	No
2324	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.45	47.62	Paracentral inf.	No	No	Marfan
2714	QC	23	No	Femenino	Si	No	No	Si	20/60	Moderado	-7.32	50.42	Central	No	No	No
2969	QC	21	No	Femenino	No	Si	Si	Si	0/30	Leve	-2.00	43.76	Paracentral inf.	No	No	No
2738	QC	27	Si	Masculino	Si	Si	Si	No	20/50	Moderado	-5.87	49.86	Central	No	No	No
2731	QC	21	No	Femenino	Si	No	Si	Si	20/60	Moderado	-6.12	45.32	Central	No	No	No
2316	QC	19	Si	Masculino	No	Si	Si	Si	20/100	Severo	-9.50	54.46	Paracentral inf.	No	No	No
2696	QC	17	No	Femenino	Si	No	Si	Si	20/30	Leve	-1.25	43.14	Paracentral inf.	No	No	No
2699	QC	23	Si	Masculino	Si	No	Si	Si	20/60	Moderado	-8.16	51.67	Paracentral inf.	No	No	No
3141	QC	22	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-9.27	51.89	Central	No	No	No
2983	QC	19	No	Femenino	No	No	No	No	20/200	Severo	-10.75	52.67	Paracentral inf.	No	No	No
2633	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.54	47.72	Paracentral inf.	No	No	No
3060	QC	18	Si	Femenino	Si	No	Si	Si	20/60	Moderado	-7.72	49.52	Paracentral inf.	No	No	No
2630	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-1.75	44.18	Central	No	No	No
2722	QC	21	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/50	Moderado	-6.18	47.43	Central	No	No	No
3090	QC	20	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/400	Severo	-11.75	52.15	Paracentral inf.	No	No	No
2701	QC	23	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.42	45.67	Central	No	No	No
3088	QC	23	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-1.14	43.27	Paracentral inf.	No	No	No
3132	QC	18	Si	Masculino	No	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.43	47.32	Paracentral inf.	No	No	No
3105	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/400	Severo	-12.75	57.63	Central	No	Si	Sindrome Down
2915	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.71	46.89	Paracentral inf.	No	No	No
2641	QC	21	No	Femenino	Si	Si	No	No	20/50	Moderado	-5.77	45.12	Paracentral inf.	No	No	No
2979	QC	25	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.72	49.76	Central	No	No	No
2686	QC	21	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/80	Severo	-10.0	54.47	Central	No	No	No
2773	QC	20	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/40	Leve	-3.00	44.27	Paracentral inf.	No	No	No
2633	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/60	Moderado	-7.75	50.24	Paracentral inf.	No	No	No
2623	QC	22	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/200	Severo	-9.25	55.25	Paracentral inf.	No	No	No
2623	QC	21	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-4.29	51.76	Paracentral inf.	No	No	No
2662	QC	25	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.17	51.97	Central	No	No	No
2633	QC	18	No	Masculino	No	Si	Si	Si	1/200	Severo	-10.50	56.43	Central	No	Si	Sindrome Down
2480	QC	19	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.72	46.32	Paracentral inf.	No	No	No
2869	QC	24	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.42	47.42	Paracentral inf.	No	No	No
2493	QC	18	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-2.25	43.12	Central	No	No	No
2481	QC	22	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.78	46.89	Paracentral inf.	No	No	No
2527	QC	15	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/70	Severo	-9.25	52.18	Paracentral inf.	No	No	No
2573	QC	29	No	Femenino	No	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.93	47.43	Central	No	No	No
2598	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/30	Leve	-1.75	43.87	Paracentral inf.	No	No	No
2915	QC	22	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.78	47.43	Paracentral inf.	No	No	No
2918	QC	21	No	Femenino	Si	Si	Si	No	20/100	Severo	-12.75	53.19	Paracentral inf.	No	No	No
2939	QC	21	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.25	47.54	Central	No	No	No
2942	QC	23	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.54	48.42	Paracentral inf.	No	No	No
2946	QC	19	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.57	49.64	Paracentral inf.	No	No	No
2959	QC	29	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-2.00	43.89	Central	No	No	No
2975	QC	26	Si	Masculino	No	Si	Si	Si	20/40	Leve	-3.15	44.76	Paracentral inf.	No	No	No
2978	QC	23	Si	Femenino	Si	Si	No	Si	20/50	Moderado	-7.72	45.37	Central	No	No	No
2950	QC	26	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-6.47	45.28	Paracentral inf.	No	No	No
2954	QC	22	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.52	49.52	Central	No	No	No
2957	QC	29	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/30	Leve	-2.75	44.72	Paracentral inf.	No	No	No
2931	QC	19	No	Femenino	No	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-4.18	50.27	Paracentral inf.	No	No	No
2933	QC	21	Si	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-4.32	51.43	Paracentral inf.	No	No	No
2725	QC	28	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-6.28	51.48	Paracentral inf.	No	No	No

2939	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.18	49.37	Paracentral inf.	No	No	No
2404	QC	17	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-8.42	48.53	Central	No	No	No
2179	QC	28	Si	Masculino	No	Si	Si	Si	20/40	Leve	-3.00	44.27	Paracentral inf.	No	No	No
2765	QC	21	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.27	49.27	Paracentral inf.	No	No	No
2391	QC	27	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/60	Moderado	-7.52	51.38	Paracentral inf.	No	No	No
2185	QC	26	Si	Masculino	No	Si	Si	Si	20/30	Leve	-2.25	43.87	Central	No	No	No
2401	QC	23	No	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-7.65	48.59	Paracentral inf.	No	No	No
2755	QC	21	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-2.00	44.97	Paracentral inf.	No	No	No
2220	QC	28	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/40	Leve	-2.25	43.67	Paracentral inf.	No	No	No
2738	QC	23	No	Masculino	No	Si	Si	No	20/60	Moderado	-8.64	50.38	Central	No	No	No
2701	QC	24	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/60	Moderado	-7.26	50.39	Paracentral inf.	No	No	No
2714	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/30	Leve	-3.00	44.82	Paracentral inf.	No	No	No
2714	QC	27	Si	Masculino	No	Si	Si	Si	20/40	Leve	-1.00	43.83	Paracentral inf.	No	No	No
2931	QC	23	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/60	Moderado	-6.42	45.93	Paracentral inf.	No	No	No
2717	QC	29	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/50	Moderado	-5.77	46.92	Paracentral inf.	No	No	No
2487	QC	27	No	Masculino	Si	Si	No	Si	20/50	Moderado	-4.21	47.92	Paracentral inf.	No	No	No
2500	QC	29	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-6.24	48.03	Paracentral inf.	No	No	No
2772	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.14	49.38	Central	No	No	No
2766	QC	23	Si	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	Moderado	-7.14	49.38	Central	No	No	No
2490	DM P	39	No	Masculino	Si	No	No	No	20/60	-	-5.87	45.67	Inferior	No	No	No
2583	DM P	46	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/50	-	-4.87	44.82	Inferior	No	No	No
2585	DM P	48	No	Masculino	Si	No	Si	Si	20/40	-	-3.68	43.87	Inferior	No	No	No
2481	DM P	47	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/60	-	-5.82	46.54	Inferior	No	No	No
2714	DM P	46	No	Masculino	Si	No	Si	Si	20/40	-	-3.86	43.27	Inferior	No	No	No
2775	DM P	46	No	Femenino	Si	No	Si	Si	20/50	-	-4.29	44.48	Inferior	No	No	No
2633	DM P	44	Si	Masculino	Si	Si	No	Si	20/70	-	-5.38	45.93	Inferior	Si	No	No
2482	DM P	47	No	Femenino	Si	No	Si	Si	20/60	-	-6.39	48.37	Inferior	No	No	No
2933	DM P	44	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/60	-	-5.83	45.38	Inferior	No	No	No
2481	DM P	41	No	Masculino	Si	No	Si	No	20/40	-	-6.39	46.93	Inferior	No	No	No
2391	DM P	45	No	Masculino	Si	Si	No	Si	2/200	-	-10.75	50.47	Inferior	No	Si	No
2487	DM P	47	Si	Masculino	No	No	Si	Si	20/40	-	-5.39	45.84	Inferior	No	No	No
2522	DM P	44	No	Masculino	Si	Si	Si	No	20/30	-	-4.37	44.23	Inferior	No	No	No
2603	DM P	48	No	Masculino	Si	Si	No	Si	20/50	-	-6.84	47.83	Inferior	No	No	No
2664	DM P	46	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/40	-	-4.30	43.39	Inferior	No	No	No
2609	DM P	44	Si	Femenino	No	No	Si	Si	20/70	-	-5.93	46.94	Inferior	Si	No	No
2625	DM P	47	No	Masculino	Si	Si	No	No	20/30	-	-3.29	44.73	Inferior	No	No	Ehlers Danlos
2755	DM P	48	Si	Femenino	Si	Si	Si	No	20/50	-	-5.93	46.94	Inferior	No	No	No
2765	DM P	45	No	Masculino	No	No	No	No	20/40	-	-4.85	45.93	Inferior	No	No	No
2593	DM P	48	Si	Femenino	No	Si	Si	Si	20/50	-	-5.83	45.93	Inferior	No	No	No
2481	DM P	46	No	Masculino	Si	Si	Si	Si	20/80	-	-6.83	46.73	Inferior	Si	No	No
2480	DM P	44	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	5/200	-	-10.54	49.93	Inferior	Si	Si	No
2581	DM P	47	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/40	-	-3.86	44.93	Inferior	No	No	No
2223	DM P	48	No	Masculino	No	No	No	No	20/30	-	-3.60	43.98	Inferior	No	No	No
2487	DM P	45	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/40	-	-4.12	43.79	Inferior	No	No	No
2567	DM P	47	No	Femenino	Si	Si	Si	Si	20/60	-	-5.84	47.95	Inferior	No	No	No
2731	DM P	48	No	Masculino	No	No	No	No	20/70	-	-6.43	46.94	Inferior	Si	No	No
2711	DM P	46	No	Femenino	Si	No	Si	No	20/50	-	-5.42	45.93	Inferior	No	No	No
2688	DM P	41	No	Masculino	No	Si	Si	Si	20/40	-	-4.78	44.93	Inferior	No	No	No
2583	DM P	48	No	Masculino	Si	No	No	No	20/60	-	-6.21	46.93	Inferior	No	No	No
2633	QB	34	No	Femenino	Si	No	Si	Si	1/200	-	-8.75	58.75	Generalizado	No	Si	No

## Anexo 2

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo \_\_\_\_\_, declaro libremente que acepto participar de manera voluntaria en el protocolo de investigación "Estudio de secuenciación del gen miR-184 en pacientes con ectasias corneales primarias" que se realizará en el servicio de Cornea del Instituto de Oftalmología Fundación "Conde de Valenciana" y que estará bajo la responsabilidad de la Dra. Erika Paulina López Lizárraga. Se me ha explicado que se requiere de la toma de una muestra de 2 mililitros de sangre venosa y que esta toma no representa ningún riesgo para mi salud más que la posible formación de un pequeño hematoma en el área de la punción. Se me ha asegurado que el material genético que se extraiga de mi muestra de sangre se utilizará exclusivamente para investigar las alteraciones genéticas que produjeron mi enfermedad corneal y para identificar posibles riesgos de heredar la enfermedad. También me ha sido señalado que puedo retirar mi consentimiento para participar en esta investigación en el momento en que yo lo desee y que esta decisión no afectaría la calidad de la atención que recibo por parte del personal de este hospital. Finalmente manifiesto que se me han respondido satisfactoriamente todas mis dudas y que los médicos responsables han señalado su compromiso de aclarar las que pudieran surgir eventualmente.

Atentamente, \_\_\_\_\_ Nombre y  
firma

México, D.F., a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

Médico responsable \_\_\_\_\_ Nombre y  
firma

Testigo 1 \_\_\_\_\_ Nombre y  
firma

Testigo 2 \_\_\_\_\_ Nombre y  
firma