

Máster en Investigación en Ciencias de la Visión  
Curso 2015-2016  
Universidad de Valladolid

Análisis de una nueva variante fenotípica  
de distrofia del estroma corneal

Autor: Yago Varela Conde

Tutor: Miguel José Maldonado López



Este Trabajo de Fin de Máster tiene la aprobación de la Comisión de Investigación del IOBA  
(Anexo 1).



# Índice

1. CURRICULUM VITAE.....	1
2. RESUMEN.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	25
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	26
7. RESULTADOS.....	28
8. DISCUSIÓN.....	31
9. CONCLUSIONES.....	32
10. AGRADECIMIENTOS.....	32
11. BIBLIOGRAFÍA.....	33
12. ANEXOS.....	36



## Curriculum Vitae

Nombre: Yago

Apellidos: Varela Conde

DNI: 12415121C

Domicilio: Calle Miseses 14 9ºD 47009 Valladolid

Teléfono: 678902727

Correo electrónico: [yavacon89@gmail.com](mailto:yavacon89@gmail.com)

Fecha de nacimiento: 08/07/1989

Idiomas: Español (nativo), Inglés (medio)

Formación Académica: Licenciado en Medicina por la Universidad de Lleida (2007-2013)

Situación actual: Residente de Oftalmología en Hospital Universitario Río Hortega (desde 2014)

## Resumen

Introducción: Las distrofias corneales son un conjunto de enfermedades hereditarias de la córnea con base genética demostrable y sin afectación sistémica. Su nomenclatura y clasificación han sido revisadas recientemente, prescindiendo de ciertas patologías y agrupando las distrofias en nuevas categorías. Se ha hallado una variante fenotípica atípica con afectación del estroma corneal, por lo que sólo se han revisado las distrofias corneales localizadas a ese nivel (epiteliales-estromales y estromales).

Hipótesis y objetivos: Por el carácter atípico de las lesiones y la ausencia de precedentes en la literatura, se supone el hallazgo de una nueva variante de distrofia corneal estromal. El objetivo principal del trabajo es investigar la causa genética y establecer su relación con el fenotipo encontrado. Una vez comprobado esto, es necesario determinar si se ha descubierto una variante no descrita de distrofia del estroma corneal.

Material y métodos: La evaluación clínica de las lesiones fue realizada mediante exploración con lámpara de hendidura, registro fotográfico y tomografía óptica de coherencia de segmento anterior. El análisis genético se ha realizado, tras la identificación de los individuos afectados y construcción de árboles genealógicos, mediante secuenciación automática de ADN extraído de muestras de sangre periférica. Se realizó una búsqueda bibliográfica de las palabras “corneal dystrophy” y se seleccionaron los artículos referentes a distrofias del estroma corneal para clasificarlos según tipo de distrofia y temática.

Resultados: La exploración con lámpara de hendidura reveló opacidades puntiformes confluentes que afectan a estroma medio y posterior del centro de la córnea y opacidades lineales en menor número, sin *haze* del estroma circundante; las imágenes de OCT mostraron las opacidades hiperreflectivas afectando a estroma medio y profundo, deformando la superficie del endotelio. El análisis genético descubrió una mutación con cambio de sentido L558P en el exón 12 del gen TGFBI. En la revisión bibliográfica se encontraron 2 artículos que describen la alteración estudiada.

Discusión: La mutación encontrada afecta a la degradación normal de la proteína, lo que favorece su acumulación y depósito anómalos. Se establece una base genética acorde con los hallazgos clínicos, relación ya descrita en dos ocasiones en la literatura. La presencia de la mutación en el área geográfica de los pacientes de este trabajo también ha sido descrita.

Conclusiones: La variante estudiada no es de nuevo descubrimiento, aunque son pocos los casos descritos. La presencia de la mutación en la misma área geográfica descrita previamente, así como la descripción de varias familias afectadas en este trabajo, sugiere la aparición de la mutación en un antepasado común. La inclusión de imágenes de tomografía óptica de coherencia es una novedad, aunque el trabajo es limitado en cuanto a la ausencia de imágenes de anatomía patológica. Debido a la afectación profunda del estroma, las opciones terapéuticas quirúrgicas serían la queratoplastia penetrante y la queratoplastia laminar profunda.

## Introducción

El término distrofia corneal define a un grupo de enfermedades bilaterales determinadas genéticamente y de afectación restringida a la córnea, no asociadas a inflamación o afectación sistémica.

La córnea se compone básicamente de epitelio, estroma y endotelio. De estas tres capas, el noventa por ciento de espesor se corresponde a la intermedia o estroma, tejido conectivo compuesto en su mayor parte matriz extracelular. Las macromoléculas que forman esta matriz son las responsables de la resistencia y transparencia corneales. Las células estromales corneales o queratocitos tienen la función de sintetizar y degradar estas macromoléculas. Esta función resulta alterada en ciertas distrofias corneales, por lo que se producen cambios en la estructura de la matriz extracelular que constituyen la base histopatológica de las alteraciones clínicas de estas enfermedades.

La Clasificación Internacional de Distrofias Corneales (IC3D) fue revisada y actualizada en el año 2015 (1). En la misma se prescinde de algunas las categorías clásicas basadas en la anatomía corneal, en concreto, las distrofias de las capas acelulares de la córnea (Bowman y Descemet) y se introduce el importante factor genético implicado en el origen de estas enfermedades. Esta clasificación divide a las distrofias en epiteliales y subepiteliales, epiteliales-estromales TGFBI, estromales y endoteliales.

El objetivo de este trabajo es la descripción de una nueva variante fenotípica de distrofia corneal estromal, por lo que se ha realizado una revisión del estado actual de la literatura referente a las categorías de la IC3D que afectan al estroma corneal (tabla 1)

<p><b>DISTROFIAS EPITELIALES-ESTROMALES (TGFBI)</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Distrofia corneal Reis-Bücklers (RBCD)</li><li>• Distrofia corneal Thiel-Behnke (TBCD)</li><li>• Distrofia corneal lattice tipo 1 (LCD1)</li><li>• Distrofia corneal granular tipo 1 (GCD1)</li><li>• Distrofia corneal granular tipo 2 (GCD2)</li></ul> <p><b>DISTROFIAS CORNEALES ESTROMALES</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Distrofia corneal macular (MCD)</li><li>• Distrofia corneal de Schnyder (SCD)</li><li>• Distrofia corneal estromal congénita (CSCD)</li><li>• Distrofia corneal moteada (FCD)</li><li>• Distrofia corneal amorfa posterior</li><li>• Distrofia nebulosa central de François (CCDF)</li><li>• Distrofia corneal pre-Descemet (PDCD)</li></ul>
---

Tabla 1

## Revisión y actualización bibliográfica

### DISTROFIAS EPITELIALES-ESTROMALES (TGFBI)

#### Generalidades

TGFBI es una proteína de matriz extracelular inducida por el factor de crecimiento transformante beta 1 y es altamente expresada en el epitelio corneal. Contiene un motivo Arg-Gly-Asp (RGD) que actúa como una secuencia de reconocimiento de ligando para varias integrinas, y por lo tanto está asociado con las interacciones célula-colágeno necesarias en la regulación de la adhesión celular. Así pues, se cree que TGFBI juega un papel importante en el desarrollo de la córnea y la curación de heridas por la mediación de la adhesión celular a través de su interacción con el colágeno, la fibronectina, y las integrinas. El gen TGFBI humano codifica una proteína de 683 aminoácidos (68 kDa) con cuatro repeticiones homólogas internas. En la actualidad, más de 30 mutaciones en TGFBI se han demostrado en cinco diferentes tipos de distrofias corneales.

#### Distrofia corneal de Reis-Bücklers (RBCD)

- Genética  
Se debe a una mutación del gen TGFBI que se transmite con carácter autosómico dominante. Se han encontrado diversas mutaciones de este gen causantes de esta distrofia: R124C, R124L, R555Q, G623D.
- Histología
  - Microscopía óptica (figura 1): La capa de Bowman se sustituye por una lámina de depósitos granulares de color rojo a la tinción tricrómica de Masson (flechas), que se puede extender al estroma subepitelial y, en casos avanzados, aparecen depósitos circulares dispersos en el estroma medio y posterior (asterisco).

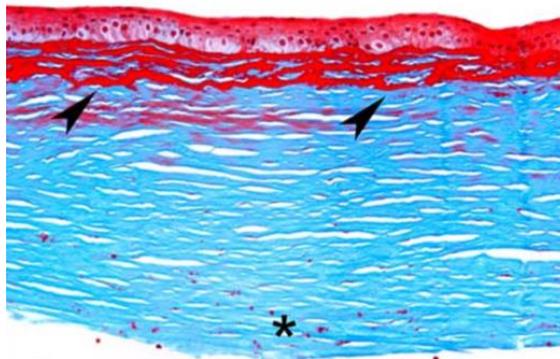


Figura 1. Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [7C].

- Microscopía electrónica (figura 2): La capa de Bowman es sustituida por cuerpos electrodensos subepiteliales con forma de bastón o trapezoidal, idénticos a los de GCD1. Éstos se extienden desde las células epiteliales basales al estroma anterior y, en menor medida, al estroma profundo. Las células epiteliales basales pueden

contener vesículas con varillas similares. La microscopía electrónica es necesaria para el diagnóstico histopatológico definitivo al distinguir la RBCD de la TBCD, que presenta fibras rizadas en lugar cuerpos en forma de bastoncillos.

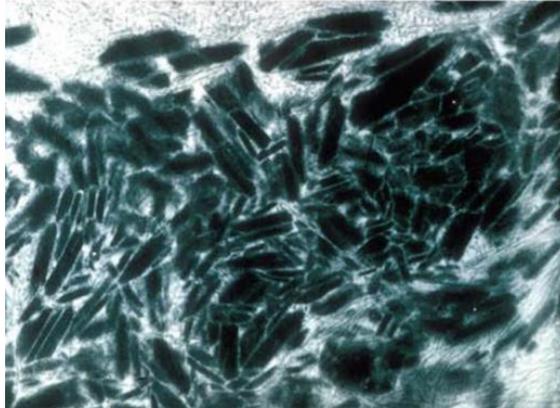


Figura 2. Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [7D].

- Inmunohistoquímica: Los cuerpos en forma de bastoncillos son inmunopositivos para la proteína TGFBI (keratoepitelina).
- Clínica
  - Síntomas: Visión afectada desde la infancia, con deterioro progresivo. Erosiones corneales recurrentes que disminuyen en frecuencia con el tiempo.
  - Signos (figura 3): Opacidades confluentes irregulares de forma geográfica con diferentes densidades que se desarrollan a nivel de la capa de Bowman y el estroma superficial, inicialmente discretas. Posteriormente, se extienden por detrás del limbo y el estroma más profundo. Puede ser confundida con TBCD especialmente en las primeras dos décadas. En esta primera etapa, RBCD muestra opacidades difusas más irregulares con interrupciones claras, mientras que TBCD exhibe múltiples opacidades con disposición reticular.



Figura 3: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [7B].

Para el estudio de las alteraciones estructurales en la RBCD se ha utilizado la microscopía confocal, que permite una mejor diferenciación de esta dystrofia con la TBCD que con la simple exploración con lámpara de hendidura (2). Otras técnicas de imagen para la caracterización de la microestructura corneal que se han utilizado son la tomografía de coherencia óptica de segmento anterior *in vivo*, y la microscopía

electrónica de transmisión en explantes de corneas afectadas en las que se ha llevado a cabo queratoplastia penetrante (3).

- Tratamiento  
Se han utilizado la ablación fototerapéutica, la electrolisis y la queratoplastia laminar anterior. En todas ellas existe riesgo de recurrencia de la distrofia en el injerto. Para prevenirlo, se ha descrito la utilización de mitomicina C tópica al 0.02% en un caso tratado mediante queratectomía fototerapéutica (4). La electrolisis presenta la ventaja de no alterar el grosor corneal, lo que la hace una buena alternativa a la queratoplastia o la ablación fototerapéutica como tratamiento inicial, especialmente en pacientes jóvenes (5).

### *Distrofia corneal de Thiel-Behnke (TBCD)*

- Genética  
Se transmite de forma autosómica dominante. Las mutaciones del gen TGFBI halladas asociadas a TBCD son R555W y R124C, esta última también descrita en RBCD. Por tanto, la misma mutación puede ser causa de distintos fenotipos.
- Histología
  - Microscopía óptica (figura 4): Se observan engrosamientos y adelgazamientos alternantes del epitelio como compensación a las crestas y surcos del estroma subyacente. La capa de Bowman se sustituye por un pannus fibrocelular superficial con un patrón ondulado en dientes de sierra patognomónico.

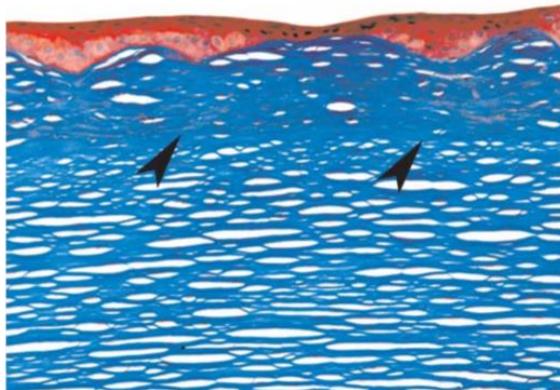


Figura 4: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [8D].

- Microscopía electrónica (figura 5): La presencia de las fibras de colágeno rizadas distingue característicamente la TBCD de la RBCD.

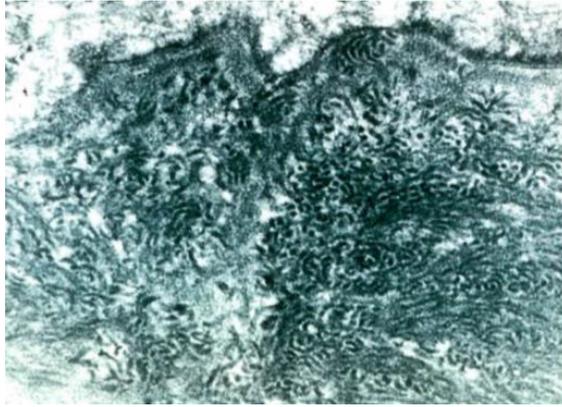


Figura 5: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [8E].

- Inmunohistoquímica: Las fibras de colágeno rizadas son positivas para TGFBI.
- Clínica
  - Síntomas: erosiones corneales recurrentes en la primera y segunda décadas. Posterior afectación visual, más tardía que en RBCD
  - Signos: inicialmente, un moteado aislado u opacidades irregulares a nivel de la capa de Bowman; más tarde, se dan las típicas opacidades subepiteliales en “panal de abeja”, sin afectación de córnea periférica (Figura 6). En pacientes mayores, las opacidades pueden profundizar a estroma y extenderse a córnea periférica. Los casos precoces o individuales pueden ser difíciles de distinguir clínicamente de RBCD.

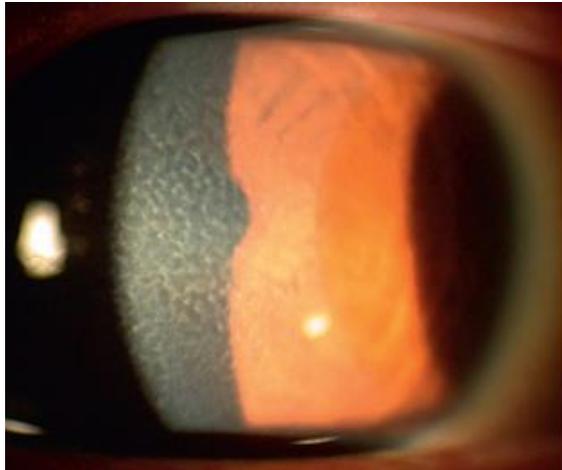


Figura 6: Chen, YJ. (2010). In vivo corneal confocal microscopic findings and gene analysis of three patients with Thiel-Behnke corneal dystrophy. [2A].

Se ha descrito un caso de regresión de las opacidades subepiteliales tras la concurrencia de una queratitis punteada superficial de Thygeson, cuya hipotética explicación es la interacción de mediadores inmunológicos e inflamatorios en la disolución del material subepitelial anómalo (6).

### *Distrofia corneal en enrejado (LCD, lattice corneal dystrophy)*

- Genética: Se han descrito hasta 29 de mutaciones del gen TGFBI causantes de LCD: R124C, R124H, R496W, P501T, V505D, R514P, F515L, L518P, L527R, T538P, N544S, A546D, A547T, P551Q, L558P, L558R, L565P, L569R, H572del, H572A, H572R, M619K, A620D, A620P, V624M, V625D, H626R, NVP629-630ins, V631D. Se transmite con patrón autosómico dominante.
- Histología:
  - Microscopía óptica (figura 7): Se observan atrofia y disrupción epitelial con degeneración de las células epiteliales basales, adelgazamiento focal o ausencia de la capa de Bowman. El material amiloide eosinofílico se acumula entre la membrana basal del epitelio y la membrana de Bowman (asterisco). El depósito de amiloide del estroma distorsiona la arquitectura de las laminillas de la córnea (flechas). Los depósitos de amiloide característicamente se tiñen con rojo Congo, muestran birrefringencia verde manzana al ser expuestos a la luz polarizada, metacromasia con cristal violeta y fluorescencia con tinción de tioflavina T.

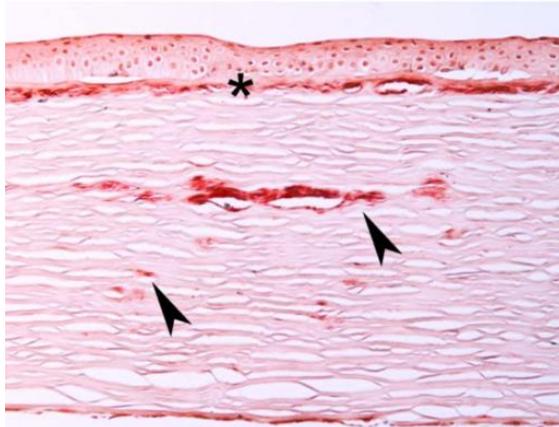


Figura 7: Weiss, JS. (2015). *IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2*. [9E].

- Microscopía electrónica: masas extracelulares de fibrillas finas, electrodensas, de 8 a 10 nm de diámetro y alineadas al azar, son características de la proteína amiloide. Hay un número reducido de queratocitos en las áreas de depósito de amiloide: algunos muestran degeneración con vacuolización citoplasmática, mientras que otros parecen metabólicamente activos. La membrana de Descemet y el endotelio son normales.
- Inmunohistoquímica: La tinción para integrinas  $\alpha 6$  y  $\beta 4$ , que son los componentes principales de los hemidesmosomas, se muestra discontinua e irregular tanto en formas subepiteliales como estromales de LCD. La tinción para integrina  $\alpha V$ , presente a lo largo de la membrana celular basolateral de las células epiteliales basales, muestra patrones de tinción irregular en LCD. Las fibras de colágeno muestran una tinción irregular y discontinua en formas subepiteliales de LCD; en formas estromales, la tinción es parcheada, por debajo de la zona de la membrana basal epitelial.

- Clínica

- Síntomas: molestias oculares, dolor y disminución de agudeza visual. A veces comienzan ya en la primera década como consecuencia de frecuentes ataques recurrentes erosivos. La deficiencia visual se manifiesta durante de la cuarta década.
- Signos: Los primeros signos son opacidades moteadas centrales superficiales que generalmente se desarrollan a finales de la primera década. También se desarrollan líneas finas ramificadas que refractan la luz y puntos ovoides subepiteliales a finales de la primera década (figura 8). Estas líneas comienzan en la superficie y el centro, extendiéndose de forma centrífuga y profundamente, aunque respetando el estroma periférico, la membrana de Descemet y el endotelio. Se produce un *haze* difuso subepitelial, con aspecto de vidrio esmerilado de la córnea central y paracentral al mismo tiempo que aparecen las líneas reticulares en la córnea central y paracentral que progresa acompañado de erosiones recurrentes (figura 9). El número de líneas en enrejado puede diferir entre los dos ojos (se han descrito casos unilaterales). La variante IIIA también muestra gruesas líneas reticulares gruesas centrales, mientras que el tipo IV se caracteriza por presentar depósitos más profundos y sin erosión epitelial.

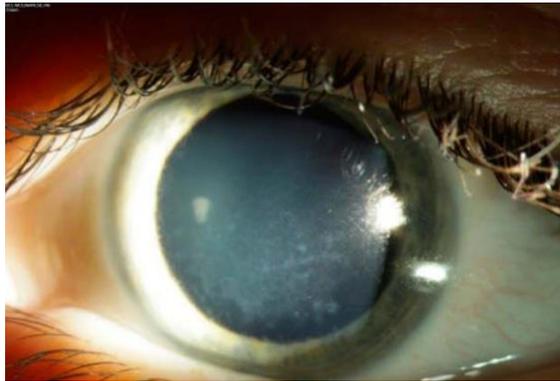


Figura 8: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [9A].

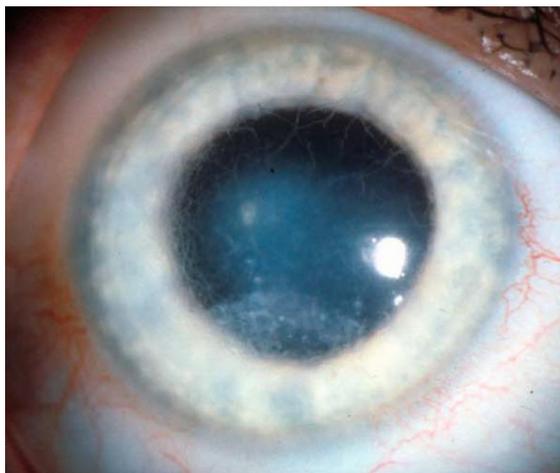


Figura 9: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [9C].

La microscopía confocal en vivo muestra estructuras lineales y ramificadas en el estroma con cambio de reflectividad y márgenes mal delimitados (Figura 10). Estas líneas deben diferenciarse de otras imágenes similares como, por ejemplo, hongos.



Figura 10: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [9G].

Existen variantes de LCD (tipos IIIA, I/IIIA, IV, y amiloidosis corneal polimórfica) caracterizadas por un comienzo tardío con respecto a la LCD clásica. Las líneas reticulares pueden ser más grandes (tipo IIIA, figura 11A), más finas (tipo I/IIIA), más pequeñas (tipo IV, figura 11B) o incluso ausentes (amiloidosis polimórfica), aunque hay que tener en cuenta que el patrón del reticulado depende mucho de la edad y la mutación. Las erosiones epiteliales son típicas de IIIA y I/IIIA, pero no se dan en el tipo IV y la amiloidosis polimórfica.

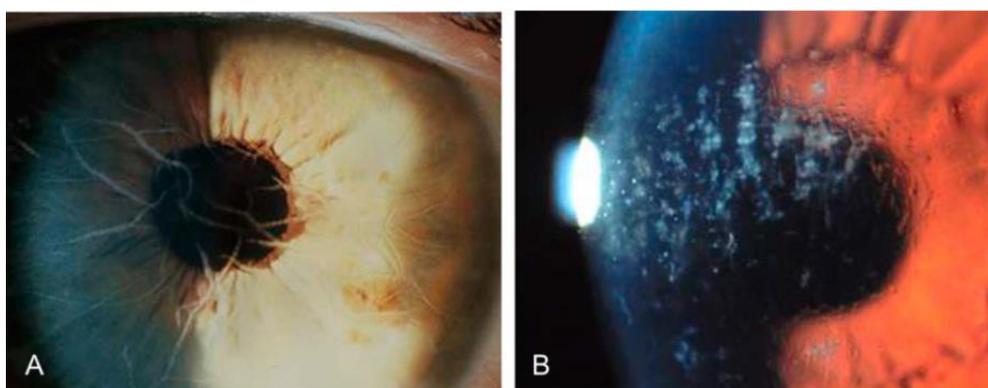


Figura 11: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [10].

La mal llamada distrofia corneal en enrejado tipo 2 (LCD2), en realidad una amiloidosis sistémica con líneas corneales en enrejado, debe ser denominada amiloidosis familiar tipo finlandés o tipo gelsolin. También se conoce como síndrome de Maretoja.

- Tratamiento

El tratamiento clásico de la LCD es la queratoplastia penetrante. No obstante, la localización de las lesiones en estroma superficial, hacen de la queratoplastia laminar profunda una buena alternativa, con un perfil mayor de seguridad (7). Por este mismo motivo se pueden llevar a cabo técnicas de ablación de superficie, como la queratectomía fototerapéutica, con mayor tasa de éxito en distrofias corneales que en opacidades por otras causas (8). No obstante, hay que tener en cuenta que el proceso de reepitelización postquirúrgica requiere periodos más prolongados en LCD que en otros tipos de distrofia corneal estromal independientemente de la técnica utilizada (9, 10).

Una nueva técnica descrita en el tratamiento de LCD es el desbridamiento epitelial con posterior instilación de colirio autólogo de fibronectina, sobre la base de que la fibronectina mejora la migración epitelial corneal. La técnica consiste en retirar el epitelio corneal central (6mm) y sumergir la córnea en solución de fibronectina durante 5 minutos. De forma ambulatoria, se pauta el colirio de fibronectina 4 veces al día 2 semanas, junto con cobertura antibiótica y antiinflamatoria tópica (11).

### *Distrofia corneal granular tipo 1 (GCD1)*

- Genética: Patrón de herencia autpsómico dominante. Las mutaciones descritas hasta el momento han sido: V113I, D123H, R124L, R124H,  $\Delta$ T125- $\Delta$ E126, D187N, A546D, R555W y H626R.
- Histología
  - Microscopía óptica: depósitos estromales múltiples que se pueden extender desde el epitelio profundo hasta la membrana de Descemet. Las opacidades hialinas se tiñen con tricrómico de Masson (Figura 12).

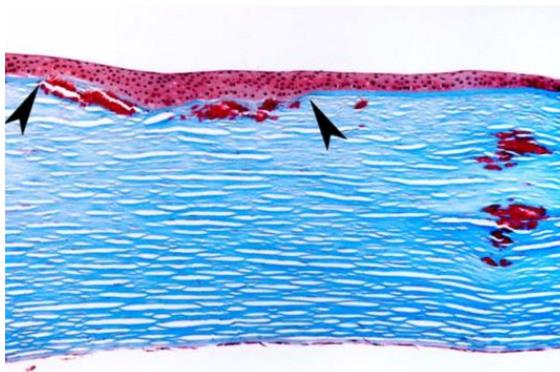


Figura 12: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [11E].

- Microscopía electrónica: cuerpos densos con forma de varilla, similares en apariencia a los de RBCD.
- Inmunohistoquímica: los depósitos anormales reaccionan con anticuerpos para TGFBI.
- Clínica

- Síntomas: el deslumbramiento y la fotofobia son los primeros síntomas, con comienzo en edad pediátrica. La agudeza visual disminuye a medida que progresa la opacificación con la edad. Las erosiones recurrentes se ven con frecuencia. Los casos homocigotos tienen síntomas más severos.
- Signos: en niños se desarrolla un patrón de vórtice superficial de la capa de Bowman, formado por gránulos de color marrón (Figura 13). A medida que el paciente envejece, los gránulos bien definidos aparecen blancos en iluminación directa con estroma claro circundante (Figura 14). El tamaño y el número de los gránulos aumenta, resultando en una apariencia de copos de nieve (Figura 15). En retroiluminación, estos gránulos están compuestos de puntos extremadamente pequeños, translúcidos, con apariencia de vacuolas, astillas de vidrio, o migas de pan trituradas (Figura 16). Las opacidades no se extienden al limbo. Más tarde, los gránulos se extienden en el estroma profundo acercándose a la membrana de Descemet. Los homocigotos tienen manifestaciones más graves.

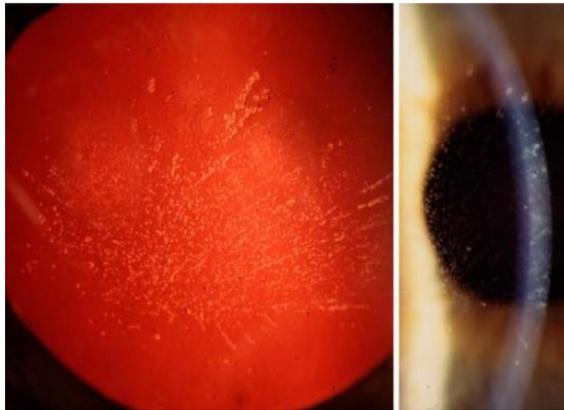


Figura 13: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [12A].

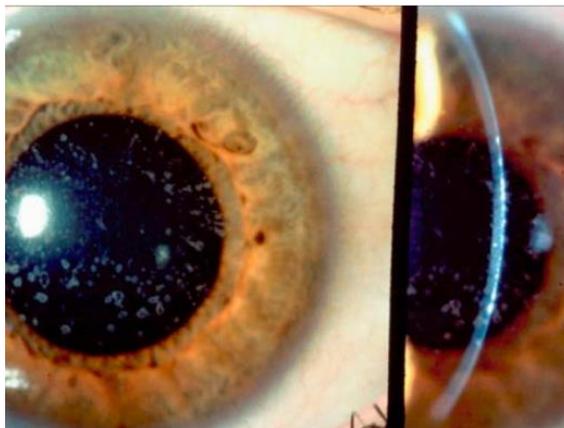


Figura 14: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [12B].



Figura 15: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [12C].

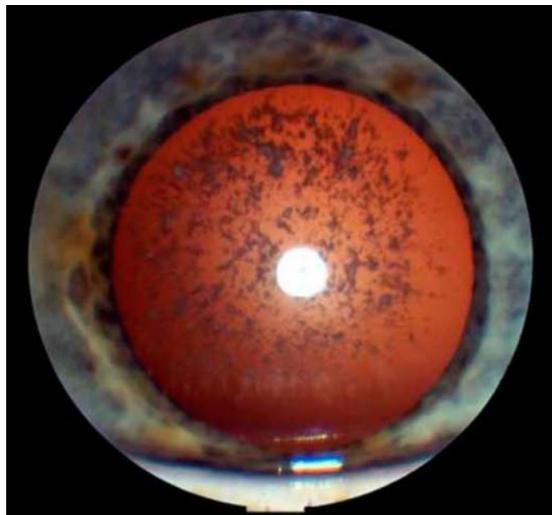


Figura 16: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [12D].

### *Distrofia corneal granular tipo 2 (GCD2)*

- Genética: La única mutación del gen TGFBI causal de la GCD2 es R124H. Se transmite con patrón autosómico dominante.
- Histología
  - Microscopía óptica (Figura 17): las opacidades se extienden desde el epitelio basal al estroma profundo. Hay depósito tanto amiloide (recuadro) como hialino (flechas) y las opacidades se tiñen con tricrómico de Masson y/o rojo Congo. Los homocigotos demuestran hallazgos más severos.

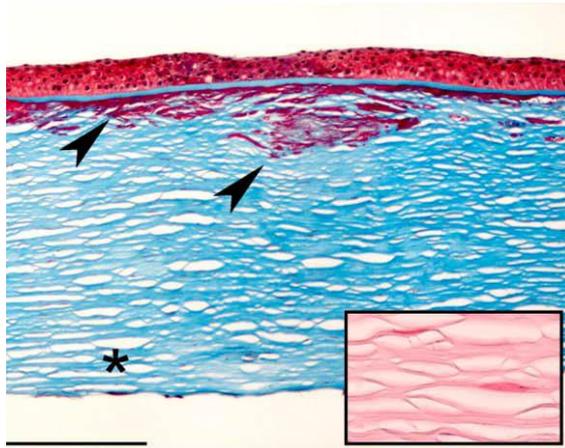


Figura 17: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [13E].

- Microscopía electrónica: depósitos estromales anteriores muy electrodensos con forma de varilla, similares a los observados en GCD1. En mayor magnificación, el depósito en forma de barra se compone de masas extracelulares de fibrillas finas, electrodensas y altamente alineadas. Los queratocitos están agrandados en el tejido corneal de heterocigotos, evidenciándose los orgánulos intracelulares, mientras que los detalles de los orgánulos intracelulares son apenas perceptibles en el citoplasma de las células normales. En el tejido heterocigótico, los queratocitos contienen muchas mitocondrias y vesículas dilatadas o degenerativas que contienen material amorfo. Un hallazgo ultraestructural muy común es la presencia de fibrillas de amiloide alineadas al azar.
- Clínica
  - Síntomas: comienzo precoz en homocigotos (3 años) comparado con heterocigotos (8 años). La visión disminuye con la edad cuando el eje central se ve afectado. Dolor causado por erosiones epiteliales.
  - Signos: En heterocigotos, los signos iniciales son pequeños puntos blanquecinos en la superficie del estroma (Figura 18), que normalmente desarrollan pequeños radios. Algunos pueden estar dispuestos linealmente como un collar de perlas. Más tarde, todos los ojos muestran parches redondos blanquecinos superficiales que tienen centros apolillados, por lo que pueden tener forma de disco o anillo (Figura 19). La mayoría de los pacientes también desarrollan depósitos espiculados anteriores al estroma medio con forma de estrella o araña y parcialmente translúcidos a la retroiluminación. Los pacientes también pueden tener depósitos lineales o puntiformes totalmente translúcidos en el estroma posterior profundo a las opacidades estromales ramificadas. Se pueden distinguir las líneas de GCD2 y LCD, ya que en GCD2 aparecen más blancas, y las líneas reticulares de LCD son más refringentes; en GCD2 rara vez se cruzan entre sí, mientras que las líneas reticulares en LCD característicamente cruzan para dar lugar a la patognomónica configuración en enrejado. En pacientes homocigotos la afectación es severa (Figura 20).

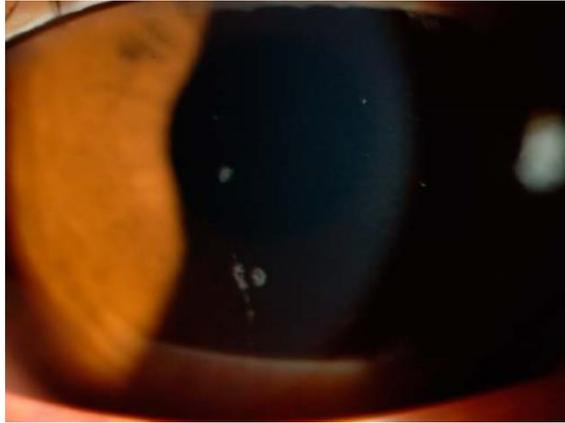


Figura 18: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [13A].



Figura 19: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [13B].



Figura 20: Moon, JW. (2007). Homozygous granular corneal dystrophy type II (Avellino corneal dystrophy): natural history and progression after treatment. [1C].

## DISTROFIAS ESTROMALES

### *Distrofia corneal macular (MCD)*

- Genética: Mutación del gen CHST6, en el locus 16q22, con patrón de herencia autosómico recesivo. CHST6 codifica la enzima carbohidrato (N-acetilglucosamina 6-O)

sulfotransferasa 6 que cataliza la transferencia de un grupo sulfato a los residuos de GlcNAc de queratán-sulfato (12). Se han encontrado varias mutaciones causales: M1?, W2ter, L3M, P31S, L46P, S53L, S54F, V56R, H63Q, P72S, A73P, A73T, W77X, Q82stop, A86A, A91fs, V92L, R93S, S98L, F107S, R114C, F121L, Q122P, S131L, R140end R155R, R162G, C165W, S167F, L173P, R177C, F178C, A192fs, L193P, L200R, D203N, P204R, R205W, A206V, R211Q, G223D, G227G, T228D, C246W, A247fs, S248R, R272H, R272S, L276P, Q331H, R334C, H335fs, C349W, C349Y.

- Histología

- Microscopía óptica (Figura 21): Se observan roturas en la capa de Bowman. Se produce acumulación de glicosaminoglicanos de forma difusa en todo el estroma corneal, intra y extracelularmente. Como característica diferencial con el resto de distrofias del estroma, la membrana de Descemet y el endotelio semven afectados de forma primaria, como se evidencia por el engrosamiento de la Descemet y guttas que se tiñen con hierro coloidal de Hale o azul Alcian.

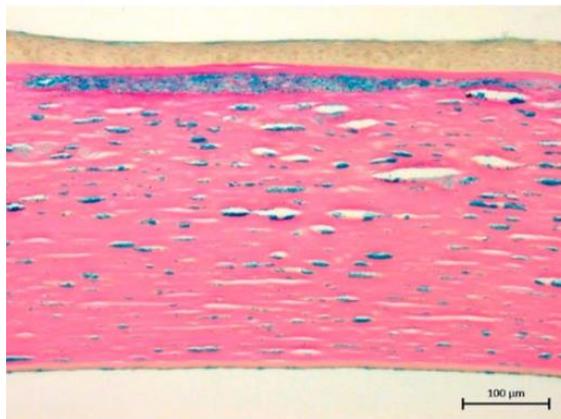


Figura 21: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [14D].

- Microscopía electrónica: Los queratocitos y las células endoteliales muestran tinción positiva para glicosaminoglicanos y contienen vacuolas y cuerpos lamelares (Figura 22). La matriz extracelular contiene glicosaminoglicanos fibrillogranulares focales y difusos.

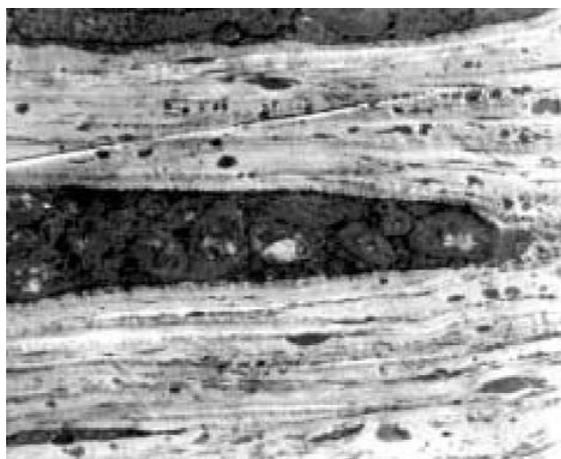


Figura 22: Gulias-Cañizo, R. (2006). Distrofia macular corneal: características clínicas, histopatológicas y ultraestructurales. [3].

- Clínica

- Síntomas: deficiencia visual severa entre los 10 y los 30 años de edad. Sensibilidad corneal reducida. Rara vez pueden ocurrir fotofobia y erosiones recurrentes dolorosas.
- Signos: Inicialmente, opacidades centrales superficiales blanquecinas irregulares (Figura 23). A diferencia de GCD, éstas alcanzan limbo y estroma profundo hasta la membrana de Descemet. Se acompañan de una neblina difusa progresiva que afecta todo el estroma corneal (Figura 24). El epitelio no suele afectarse, pero en ocasiones se desarrollan erosiones corneales. La córnea es mucho más delgada de lo normal. A medida que la enfermedad progresa, la membrana de Descemet se vuelve más gris y desarrolla excrescencias (guttas), aunque rara vez se produce una descompensación endotelial.

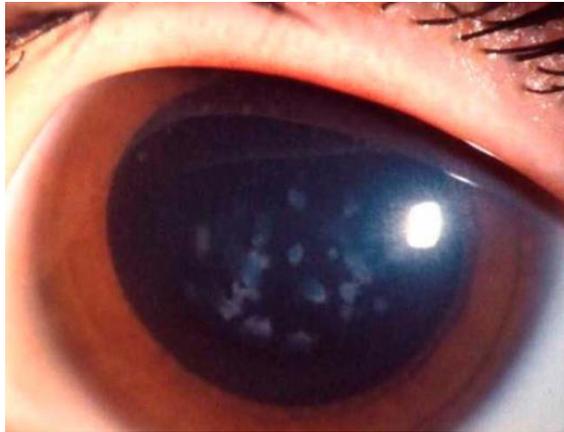


Figura 23: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [14A].



Figura 24: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [14C].

Se ha descrito en varios casos la coexistencia de MCD y queratocono. Se cree que una alteración bioquímica en el tamaño o empaquetado de las fibrillas de colágeno inducido por los depósitos anormales en MCD puede predisponer al adelgazamiento y la ectasia corneales (13).

- Tratamiento

En contraste con los pacientes con distrofias corneales autosómicas dominantes asociadas a TGFBI, la eficacia de la queratectomía fototerapéutica en pacientes MCD es cuestionable debido a que los depósitos implican todo el estroma y a veces incluso el endotelio. Además, la tasa de recurrencia es mucho mayor que en la mayoría de las distrofias corneales asociadas a TGFBI (14). Por otro lado, la queratoplastia penetrante conduce a buenos resultados con un menor número de recurrencias de los depósitos (15). En cuanto a la queratoplastia laminar profunda, los resultados visuales y refractivos son comparables a los de la queratoplastia penetrante, siendo más segura frente a complicaciones postoperatorias tales como el rechazo endotelial y glaucoma secundario, por lo que es una opción quirúrgica viable en casos con MCD (16).

### *Distrofia corneal de Schnyder (SCD)*

- Genética: Mutación del gen UBIAD1, en el locus 1p36, con patrón de herencia autosómico dominante. Este gen codifica una preniltransferasa implicada en la síntesis del colesterol (17). Las mutaciones descritas en dicho gen causantes de SCD son G98S, N102S, T103I, D112G, D118G, R119G, L121F, L121V, S171P, Y174C, T175I, G177R, K181R, G186R, N232S, N233H, D236E, D240N.
- Histología
  - Microscopía óptica: depósito intracelular y extracelular de fosfolípidos y colesterol en las células epiteliales basales, la capa de Bowman y el estroma. Ya que los disolventes orgánicos y las resinas pueden disolver los lípidos, la tinción de lípidos (como Oil Red O o negro Sudán) se facilita mediante la presentación de tejido fresco para la patología, lo que garantiza una fijación adecuada para tinciones especiales. Además, es posible la tinción con rojo Congo y azul de Alcian, que sugieren el depósito secundario de amiloide y glucosaminoglicanos, respectivamente.
  - Microscopía electrónica de transmisión: acumulación anormal de fosfolípidos y colesterol intra y extracelular. Se ven afectados el epitelio, la capa de Bowman y en todo el estroma (figura 25). La afectación endotelial rara vez ha sido descrita.

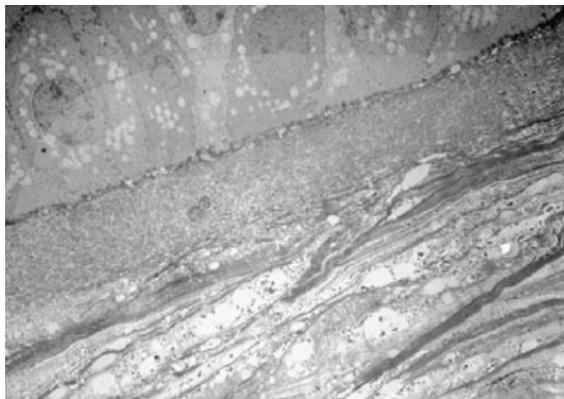


Figura 25: Arnold-Wörner, N. (2012). Clinical and pathological features of a non-crystalline form of Schnyder corneal dystrophy. [2A].

- Clínica
  - Síntomas: Disminución de agudeza visual y deslumbramiento que empeoran con la edad. Existe una alteración desproporcionada de la visión fotópica, pudiendo mantenerse una visión escotópica normal. La sensibilidad corneal está reducida. De forma característica, puede haber hiperlipoproteinemia asociada.
  - Signos: Los cambios en la córnea varían según la edad. Los pacientes de 23 años o menos tienen una opacidad corneal central en forma de anillo o de disco y/o acumulación de cristales con forma de coma subepiteliales centrales. Entre 23 y 38 años de edad, se puede observar el arco lipoide (figura 26, flecha). Después de los 38 años, de la periferia se desarrolla el haz estromal, haciendo que toda la córnea aparezca turbia. A pesar de haber sido conocida como distrofia corneal cristalina de Schnyder (SCCD), sólo en el 50% de los pacientes se presentan cristales corneales (Figura 26, punta de flecha). Los cristales pueden ser unilaterales, rara vez regresan, y pueden ocurrir en la enfermedad avanzada. Se ha reportado la desaparición de los cristales tras erosión epitelial producida por la propia distrofia, con reaparición de los cristales a los 5 años (18).

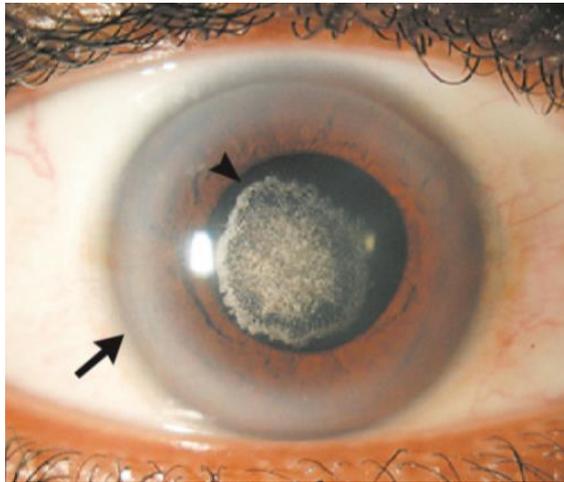


Figura 26: Ahmad, H. (2010). Images on clinical medicine. Schnyder's Crystalline Corneal Dystrophy. [A].

- Tratamiento
 

Las opciones quirúrgicas pueden ir de la queratectomía fototerapéutica en jóvenes a queratoplastia penetrante en pacientes mayores.

### *Distrofia corneal estromal congénita (CSCD)*

- Genética: Mutación del gen DCN, en la región 12q21.33, con patrón de herencia dominante. Este gen codifica para la proteína decorina, un proteoglicano de clase I rico en leucina que está distribuido ampliamente en diversos tejidos conectivos. Está implicada principalmente en la regulación de la morfología fibrilar del colágeno, siendo además el principal inhibidor del crecimiento lateral de las fibrillas de colágeno, por lo que su importancia es tanto estructural como reguladora (19). Las mutaciones halladas han sido: P314HfsX14, G316DfsX12, K321RfsX7, S323LfsX5, C346GfsX12.

- Histología

- Microscopía óptica: Las láminas estromales están separadas de forma irregular y pueden contener material amorfo.
- Microscopía electrónica (figura 27): las zonas amorfas consisten en delgados filamentos dispuestos al azar en una sustancia fundamental electrolucente (flechas) separada de laminillas de apariencia normal (asteriscos). Los cambios se pueden ver en todos los niveles del estroma. Las capas anormales son más extensas en el estroma posterior. Los queratocitos y el endotelio son normales, aunque se ha descrito la ausencia de la zona de bandas anterior de la membrana de Descemet. La acumulación de la decorina se encuentra en las zonas amorfas según se determina por microscopía inmunoelectrónica.

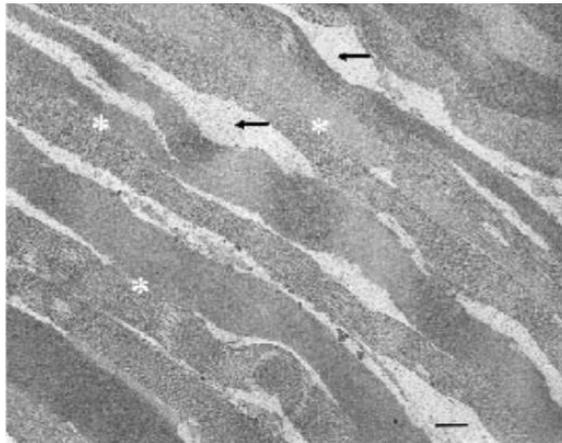


Figura 27: Van Ginderdeuren, R. (2002). Report of a new family with dominant congenital hereditary stromal dystrophy of the cornea. [3].

- Clínica

- Síntomas: Como su nombre indica, está presente desde el nacimiento, provocando disminución de agudeza visual de moderada a severa. Algunos pacientes pueden presentar fotofobia.
- Signos (figura 28): Opacidades corneales blanquecinas difusas bilaterales que afectan a todo el estroma. Los cambios de aspecto moteado son igualmente pronunciados en todas las áreas de la córnea. La superficie de la córnea es normal y sin tinción fluoresceína o vascularización. La paquimetría demuestra el aumento de espesor del estroma.

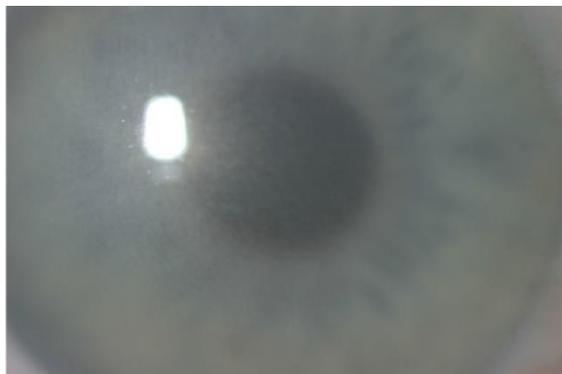


Figura 28: Pagon, RA. Congenital Stromal Corneal Dystrophy -- GeneReviews®. [1].

- Tratamiento

Queratoplastia penetrante. La mayoría de injertos permanecen transparentes tras el trasplante. Se ha llevado a cabo con éxito en niños menores de 10 años. Sin embargo, en edades inferiores a los 6-7 años, sólo se debe realizar si el riesgo de ambliopía profunda lo justifica (20).

### *Distrofia corneal moteada (FCD)*

- Genética: Mutación del gen PIKFYVE (o PIP5K3), en el locus 2q35, con herencia autosómica dominante. Codifica para una fosfoinositol 3-quinasa, con funciones reguladoras en la clasificación vesicular post-Golgi (21)
- Histología
  - Microscopía óptica: queratocitos hinchados y vacuolizados que contienen glucosaminoglicanos (tinción con azul Alcian y hierro coloidal) y lípidos complejos (demostrado por Sudán negro y Oil Red O).
  - Microscopía electrónica: Algunos queratocitos muestran inclusiones a base de membrana con material granular delicado.
- Clínica
  - Síntomas: congénita o de inicio en los primeros años de vida, es normalmente asintomática. Ocasionalmente causa leve fotofobia o sensibilidad corneal disminuida.
  - Signos: opacidades discoides sutiles, pequeñas, translúcidas, con aspecto de caspa, a veces en forma de anillo, dispersas en todos los niveles del estroma claro (figura 29). Las manchas se pueden extender al limbo y se detecta mejor con el haz de la hendidura o retroiluminación. El epitelio, la capa de Bowman, la membrana de Descemet y el endotelio no se ven afectados. Puede presentarse de forma asimétrica o unilateral.



Figura 29: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [17B].

- Tratamiento: se ha descrito la ausencia de exacerbación de la enfermedad tras 6 años de queratomileusis in situ asistida por láser para corrección de la miopía en un paciente con FCD (22).

### *Distrofia corneal amorfa posterior (PACD)*

- Genética: se transmite con un patrón autosómico dominante. Su origen está en la deleción de cuatro genes de la región 12q21.33 (KERA, LUM, DCN, y EPYC) que codifican para pequeños proteoglicanos ricos en leucina (SLRP: queratocano, lumicano, decorina, y epificano). Éstos desempeñan un papel importante en la fibrilogénesis del colágeno y el montaje de la matriz (23). Mutaciones del gen DCN, como se ha visto previamente, son las causantes de la SCD. Las mutaciones en KERA causan una forma hereditaria recesiva de la córnea plana (CNA2).
- Histología
  - Microscopía óptica (figura 30): Se puede observar irregularidad de las laminillas del estroma posterior, con tinción coloidal de hierro (puntas de flecha) anterior a una membrana de Descemet adelgazada y atenuación focal de las células endoteliales.

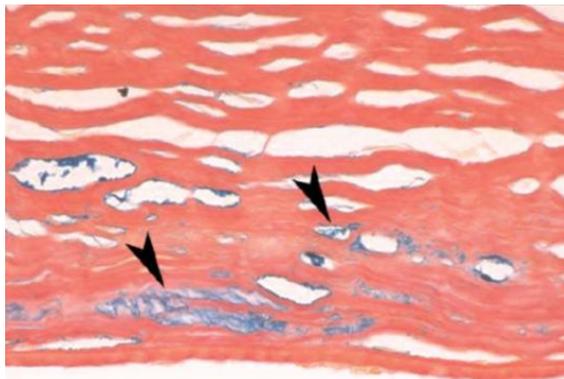


Figura 30: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [18C].

- Microscopía electrónica: Se pueden ver fibras de colágeno orientadas de forma anómala y queratocitos anormales con desorganización de las laminillas del estroma posterior. Una capa fibrilar semejante a las fibras de colágeno estromales interrumpe la membrana de Descemet. Estos hallazgos no son patognomónicos de esta distrofia y se pueden encontrar en otras anomalías. Pueden presentarse de forma adicional depósitos subepiteliales y una gruesa capa de colágeno posterior a la membrana de Descemet.
- Clínica
  - Síntomas: afectación leve de la agudeza visual.
  - Signos: opacidades en forma de hoja de color gris-blanco difusas que pueden afectar a cualquier capa del estroma, pero son más prominentes en sentido posterior (figura 31). Las lesiones pueden ser centroperiféricas, con extensión hasta el limbo, o periféricas, con hallazgos y síntomas menos pronunciados. A menudo hay roturas del estroma transparentes. La disminución del espesor de la córnea hasta los 380  $\mu\text{m}$  (figura 31) y el aplanamiento corneal a menos de 41

dioptrías (figura 32) con hipermetropía asociada son características de PACD, en particular en forma centroperiférica. Se pueden ver indentaciones en la membrana de Descemet y el endotelio producidas por las opacidades, y se han observado alteraciones endoteliales focales. Una línea de Schwalbe prominente, procesos iridianos finos, restos pupilares, adherencias iridocorneales, corectopia, pseudopolicoria y marcas estromales anteriores han sido descritas, particularmente en pacientes con el patrón centroperiférico, pero sin asociación con glaucoma.

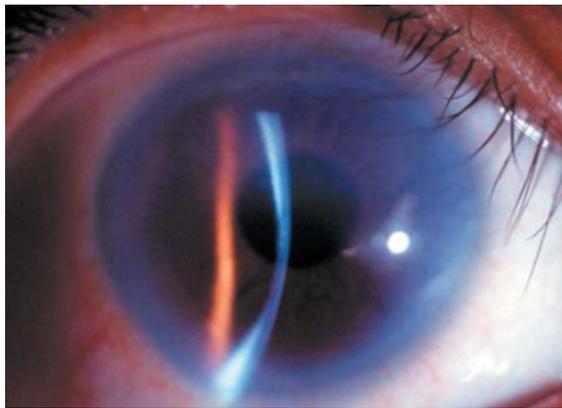


Figura 31: de Oliveira, LA. (2006). Distrofia corneana amorfa posterior: Relato de caso. [1].

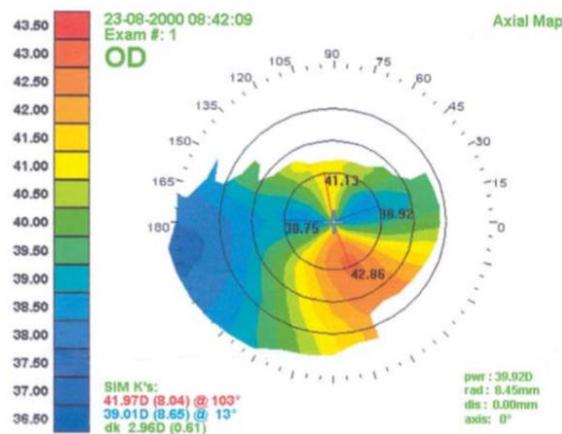


Figura 32: de Oliveira, LA. (2006). Distrofia corneana amorfa posterior: Relato de caso. [2].

### *Distrofia nebulosa de François (CCDF)*

- Genética: No se ha encontrado una base genética de esta distrofia, aunque se ha descrito un patrón de herencia autosómica dominante ocasional.
- Histología
  - Microscopía óptica: apariencia ondulante del estroma profundo y tinción positiva para glucosaminoglicanos.
  - Microscopía electrónica: vacuolas extracelulares que contienen material fibrillogranular y depósitos electrodensos. También se han descrito vacuolas endoteliales con material de fibrillogranular y un patrón de dientes de sierra laminar.

- Clínica
  - Síntomas: la mayoría de casos asintomáticos. Aparece en la primera década.
  - Signos: hallazgo casual de opacidades estromales centrales nebulosas, de forma poligonal o redondeada, que se desvanecen en sentido anterior y periféricamente y están rodeadas de tejido claro (figura 33). Los cambios son indistinguibles de la degeneración corneal en piel de cocodrilo posterior.

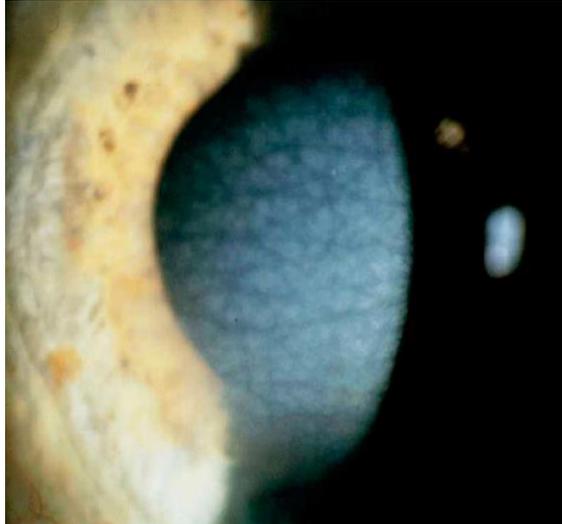


Figura 33: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [19].

- Tratamiento: se ha descrito la ausencia de exacerbación de la enfermedad tras 4 años de queratomileusis in situ asistida por láser para corrección de la miopía en un paciente con CCDF (24).

### *Distrofia corneal pre-Descemet (PDCD)*

- Genética: existe como forma aislada o bien asociada a ictiosis ligada al cromosoma X (XLI). La forma aislada tiene un patrón de herencia y locus genético desconocidos, mientras que la causa de la PDCD asociada a XLI se encuentra en la ausencia de enzima sulfatasa esteroidea, codificada por el gen STS en el locus Xp22.3, una región con alta incidencia de deleciones (25).
- Histología:
  - Microscopía óptica: queratocitos agrandados en el estroma posterior que contienen vacuolas intracitoplasmáticas e inclusiones de material lipídico.
  - Microscopía electrónica: vacuolas intracelulares unidas a la membrana que contienen material electrodens, lo que sugiere lisosomas secundarios e inclusiones de una lipoproteína similar a lipofuscina, consistentes con un proceso degenerativo. No se han observado depósitos extracelulares.
- Clínica
  - Síntomas: se inicia normalmente en torno a los 30 años, aunque se han encontrado casos hasta de 3 años. Los pacientes normalmente no refieren síntomas.

- Signos: Opacidades grises polimórficas, focales, finas, que pueden ser centrales, anulares o difusas (figura 34). Se encuentran en el estroma profundo inmediatamente anterior a la membrana de Descemet. Existe un subtipo puntiforme y policromático con alteraciones más uniformes (figura 35). Alteraciones similares se han observado en asociación con otras enfermedades oculares y sistémicas, tales como el pseudoxantoma elástico, la ictiosis ligada al cromosoma X, el queratocono, la distrofia polimorfa posterior, la distrofia de la membrana basal epitelial, y la CCDF.

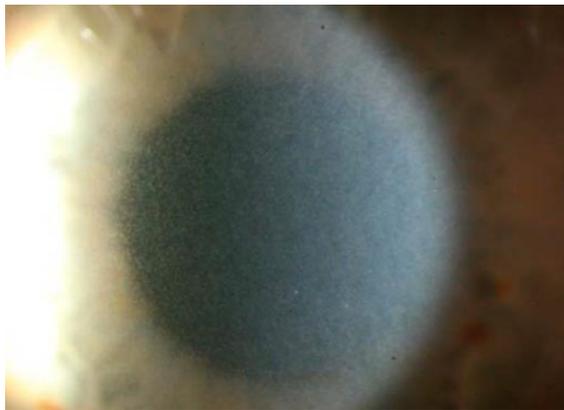


Figura 34: Weiss, JS. (2015). IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. [20A].

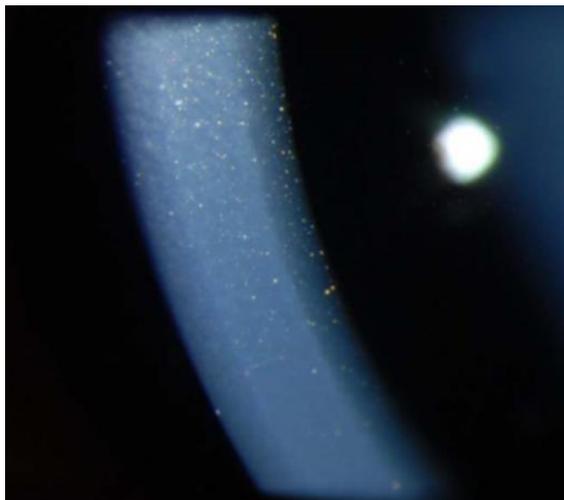


Figura 35: Lagrou, L. (2016) Punctiform and Polychromatophilic Dominant Pre-Descemet Corneal Dystrophy. [1A].

## Hipótesis y Objetivos

### Hipótesis

Se supone el hallazgo de una nueva variante de distrofia corneal estromal atendiendo a las características fenotípicas atípicas detectadas en las córneas de varios miembros de tres familias que sugieren una transmisión hereditaria de una patología del estroma corneal. La posterior confirmación de una mutación genética en un locus asociado a mutaciones causantes de distrofia corneal no descrita en las bases de datos consultadas en un primer momento, refuerza la idea del descubrimiento de una nueva variante de distrofia corneal estromal.

## Objetivos

El propósito principal de este trabajo es determinar la relación existente entre el fenotipo descubierto y su base genética. También se pretende investigar, mediante revisión y actualización bibliográfica, si la detectada es efectivamente una nueva variante de distrofia corneal estromal o, por el contrario, ya ha sido descrita en la literatura.

## Material y Métodos

### Evaluación clínica

Fueron investigadas tres familias de entre las cuales había varios miembros afectados en varias generaciones. Se llevó a cabo exploración con lámpara de hendidura en el Hospital Virgen de los Lirios de Alcoy. Además se realizaron fotografías de segmento anterior y tomografía axial computarizada (OCT) de segmento anterior de uno de los afectados.

### Análisis genético

Se construyó el árbol genealógico de cada familia, indicando los miembros con afectación fenotípica (figuras 36, 37 y 38).

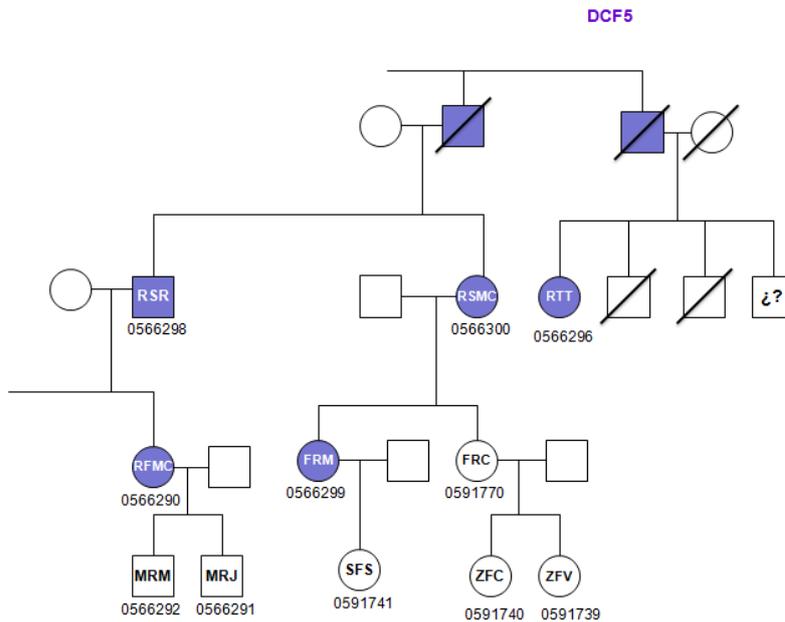


Figura 36

DCF6

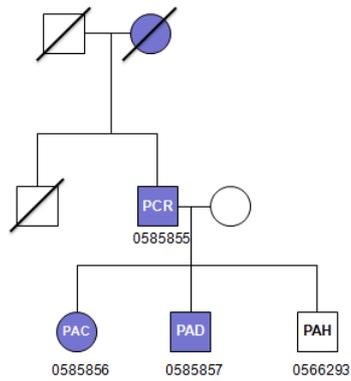


Figura 37

DCF7

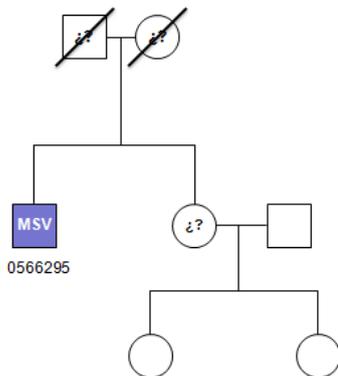


Figura 38

Se extrajeron muestras de sangre periférica del probando (RSMC) y una hija afectada (FRM) y se analizaron los exones 4, 11, 12 y 14 del gen TGFBI mediante secuenciación automática de ADN. Las muestras fueron recogidas tras autorización de los pacientes mediante consentimiento informado escrito (Anexo 1).

## Revisión y actualización bibliográfica

Se ha realizado una búsqueda en PubMed de las palabras “corneal dystrophy”, seleccionando de entre todas las entradas aquéllas en las que se expresaba referencia en el título o en el resumen sobre cualquiera de las distrofias de interés (epiteliales-estromales y estromales), varias de ellas o cualquier tema relacionado con las mismas.

## Resultados

### Evaluación clínica

La exploración con lámpara de hendidura revela opacidades puntiformes confluentes que afectan a estroma medio y posterior del centro de la córnea, blanco-grisáceas a la iluminación directa y traslúcidas a la retroiluminación (figuras 39 y 40). También se distinguen opacidades lineales en menor número. No se produce *haze* del estroma circundante. En las imágenes de OCT, las opacidades se muestran como zonas hiperreflectivas afectando a estroma medio y profundo, deformando la superficie del endotelio (figura 41).

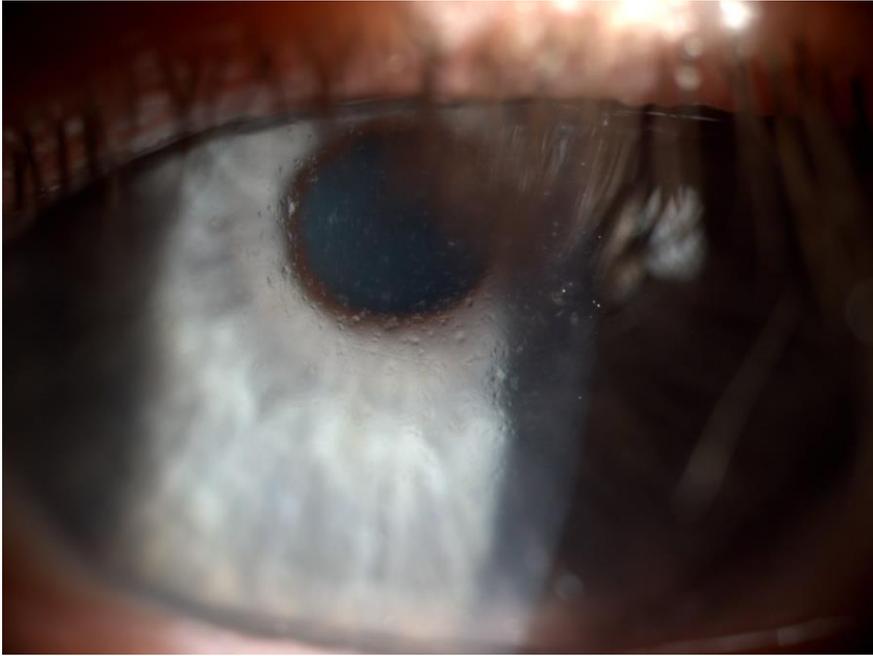


Figura 39



Figura 40

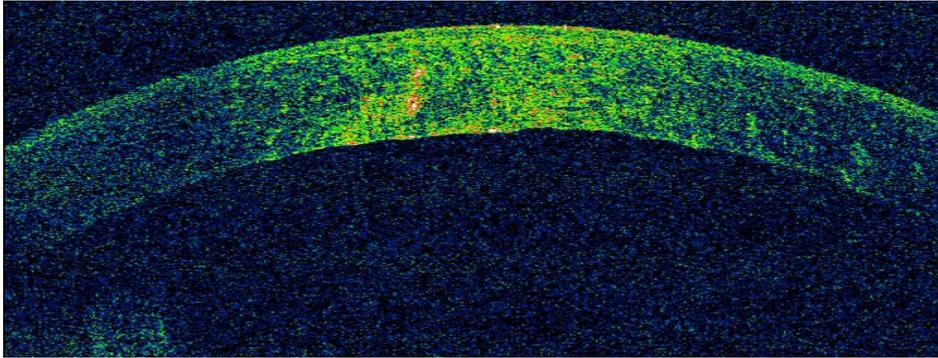


Figura 41

## Análisis genético

En el paciente probando fue detectada la mutación con cambio de sentido L558P en el exón 12 del gen TGFBI. La misma mutación fue hallada en el análisis genético de la hija del probando. Esta mutación se produce por la sustitución de una base de timina por otra de citosina en la posición 1673 del exón 12 del gen TGFBI (c.1673T>C), en segunda posición del codón CUC para el aminoácido neutro no polar leucina, que se sustituye por el codón CCC para el aminoácido neutro no polar prolina.

## Revisión y actualización bibliográfica

Se han hallado 835 artículos, publicados entre febrero de 1984 y julio de 2016, de los cuales 661 (79,16%) pudieron ser obtenidos íntegramente por libre acceso o a través de solicitud a los servicios de biblioteca del Hospital Universitario Río Hortega y de la Universidad de Valladolid. 80 artículos fueron escritos en una lengua distinta del inglés (21 en alemán, 17 en chino, 16 en francés, 13 en japonés, 3 en español, 3 en ruso, 2 en portugués, 2 en polaco, 1 en finés, 1 en rumano y 1 en noruego).

Entre el total de artículos hallados hay 55 revisiones, 328 reportes de casos clínicos, 1 capítulo de libro, 3 estudios clínicos, 19 comentarios, 37 estudios comparativos, 2 ensayos clínicos controlados, 2 editoriales, 6 estudios de evaluación, 2 artículos históricos, 52 cartas, 3 estudios multicéntricos, 2 artículos retractados y 3 revisiones sistemáticas.

Se ordenaron los 661 artículos disponibles en su totalidad, quedando distribuidos de la siguiente manera (algunos se clasifican en más de una categoría):

- Generalidades: 59 artículos
  - Genética: 18 artículos
  - Histología y fisiología: 13 artículos
  - Pruebas complementarias: 9 artículos
  - Tratamiento: 19 artículos
- Distrofias epiteliales-estromales (gen TGFBI): 413 artículos
  - Gen TGFBI: 82 artículos

- Distrofia corneal Reis-Bücklers: 22 artículos
  - Generalidades: 1 artículo
  - Genética: 11 artículos
  - Histología: 1 artículo
  - Clínica: 4 artículos
  - Tratamiento: 6 artículos
- Distrofia corneal Thiel-Behnke: 14 artículos
  - Genética: 6 artículos
  - Histología: 4 artículos
  - Clínica: 4 artículos
  - Tratamiento: 2 artículos
- Distrofia corneal lattice: 158 artículos
  - Forma asociada al gen de la gelsolina: 36 artículos
    - Genética: 8 artículos
    - Histología: 5 artículos
    - Clínica: 25 artículos
    - Tratamiento: 1 artículos
  - Generalidades: 4 artículos
  - Genética: 50 artículos
  - Histología: 22 artículos
  - Clínica: 42 artículos
  - Tratamiento: 19 artículos
- Distrofia corneal granular tipo 1: 81 artículos
  - Generalidades: 2 artículos
  - Genética: 21 artículos
  - Histología: 12 artículos
  - Clínica: 27 artículos
  - Tratamiento: 30 artículos
- Distrofia corneal granular tipo 2: 74 artículos
  - Generalidades: 9
  - Genética: 17
  - Histología: 15
  - Clínica: 17
  - Tratamiento: 26
- Distrofias estromales: 180 artículos
  - Distrofia corneal macular: 76 artículos
    - Generalidades: 1 artículos
    - Genética: 37 artículos
    - Histología: 15 artículos
    - Clínica: 15 artículos
    - Tratamiento: 17 artículos
  - Distrofia corneal de Schnyder: 49 artículos
    - Generalidades: 2 artículos
    - Genética: 20 artículos
    - Histología: 11 artículos

- Clínica: 15 artículos
- Tratamiento: 5 artículos
- Distrofia corneal estromal congénita: 15 artículos
  - Generalidades: 1 artículos
  - Genética: 6 artículos
  - Histología: 7 artículos
  - Clínica: 2 artículos
- Distrofia corneal moteada: 11 artículos
  - Genética: 6 artículos
  - Histología: 2 artículos
  - Clínica: 3 artículos
  - Tratamiento: 1 artículos
- Distrofia corneal amorfa posterior: 11 artículos
  - Generalidades: 3 artículos
  - Genética: 3 artículos
  - Histología: 1 artículos
  - Clínica: 4 artículos
- Distrofia nebulosa central de François: 9 artículos
  - Histología: 4 artículos
  - Clínica: 7 artículos
  - Tratamiento: 1 artículos
- Distrofia corneal pre-Descemet: 9 artículos
  - Genética: 1 artículos
  - Clínica: 8 artículos

Otros trastornos estromales: 8 artículos

Los hallazgos de la variante estudiada fueron descritos en 2 artículos (29, 30)

## Discusión

Las distrofias corneales epiteliales-estromales o TGFBI están asociados con depósitos extracelulares de agregados de proteínas insolubles en la córnea, que pueden ser amiloide (como en LCD), granular o no-amiloide (tipo GCD I y RBCD), o una mezcla de ambos (tipo GCD II). La proteína codificada por TGFBI (683 aminoácidos) contiene cuatro dominios homólogos de la proteína fasciclina 1 (FAS1), una molécula con funciones de adhesión celular hallada en *Drosophila*, repetidos en tándem entre los aminoácidos 134–236 (FAS1–1), 242–372 (FAS1–2), 373–501 (FAS1–3) y 502–632 (FAS1–4) (26). La mayoría de mutaciones de TGFBI con cambio de sentido causantes de distrofias corneales se encuentran en el cuarto dominio FAS1 y conducen a una agregación de la proteína por alteración la estructura, de la estabilidad y del procesamiento de la misma (27). Se ha encontrado un sitio de escisión proteolítica entre los aminoácidos R557 y L558, por lo que la mutación L558P puede resultar en una proteína TGFBI resistente a la proteólisis y por tanto a la degradación y recambio normales (28).

Los resultados indican una base genética relacionada con las características clínicas observadas. De este modo se puede establecer la relación entre genotipo y fenotipo en esta distrofia corneal, aunque faltaría un estudio histopatológico de las lesiones que reforzaría el diagnóstico de la misma.

A pesar de ser considerada una variante posiblemente nueva, es decir, no descrita previamente, lo cierto es que ya fue descubierta en miembros de 4 familias ucranianas y reportada como una “nueva mutación L558P del gen TGFBI asociada a distrofia corneal atípica” (29). Asimismo, durante la redacción de este trabajo, fue publicado un artículo sobre el hallazgo de la misma mutación en una paciente de la provincia de Alicante y una hermana, como los que aquí se describen. En este caso los investigadores, tras los resultados clínicos, histopatológicos y genéticos, concluyeron que la mutación es causante de una variante de distrofia corneal lattice (30).

## Conclusiones

Por lo expuesto, la variante encontrada no es de nuevo descubrimiento, aunque hay pocos casos descritos en la literatura. Para realizar esta afirmación ha sido necesaria una búsqueda exhaustiva y actualizada de la información publicada sobre distrofias corneales estromales. Aunque uno de los artículos ya reportaba la relación de la mutación L558P del gen TGFBI con una variante atípica de distrofia corneal estromal en el momento de los hallazgos en los pacientes descritos en este trabajo, es posible que no se recogiera la información en las bases de datos por su difícil acceso.

Es interesante de este trabajo la descripción de la enfermedad en varias familias de la misma área geográfica. Esto unido al hecho de que uno de los artículos encontrados describa la mutación en individuos también de la misma zona, indica la posibilidad de la aparición *de novo* en un ancestro común.

Este trabajo también aporta imágenes de OCT de segmento anterior de la córnea de un paciente afectado, que pueden ser de utilidad en el estudio de este tipo patologías debido a su carácter no invasivo. Como limitación en este aspecto, no se han incluido imágenes de anatomía patológica, al no disponer de muestras de explantes corneales.

En cuanto al tratamiento, debido a la afectación de capas profundas del estroma, las opciones se reducen a la queratoplastia anterior laminar profunda y la queratoplastia penetrante. Esta última podría ser la única opción quirúrgica en caso de afectación del endotelio corneal, tal como sugieren las imágenes de OCT incluidas.

## Agradecimientos

Al Dr. D. Miguel Maldonado por su ayuda y tutoría de este Trabajo de Fin de Máster.

Al Dr. D. Ezequiel Campos, del Servicio de Oftalmología del Hospital Virgen de los Lirios de Alcoy, por el estudio clínico de los pacientes.

Al Dr. D. Julio Escribano, director del Laboratorio de Genética Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad de Castilla-La Mancha, por el análisis genético.

A D<sup>ª</sup>. María Luz De Andrés, bibliotecaria del Hospital Universitario Río Hortega, por su ayuda en la adquisición de artículos sin acceso abierto.

A los miembros del tribunal evaluador.

## Bibliografía

1. Weiss JS, Moller HU, Aldave AJ, Seitz B, Bredrup C, Kivela T, et al. IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2. *Cornea*. 2015; 34(2):117–59. doi: 10.1097/ICO.0000000000000307.
2. Kobayashi A, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopy findings for Bowman's layer dystrophies (Thiel-Behnke and Reis-Bücklers corneal dystrophies). *Ophthalmology*. 2007; 114:69–75.
3. Liang Q, Pan Z, Sun X, Baudouin C, Labbé A. Reis-Bücklers corneal dystrophy: a reappraisal using in vivo and ex vivo imaging techniques. *Ophthalmic Res*. 2014; 51(4):187-95. doi: 10.1159/000358805. Epub 2014 Mar 20.
4. Miller A, Solomon R, Bloom A, Palmer C, Perry HD, Donnenfeld ED. Prevention of recurrent Reis-Bücklers dystrophy following excimer laser phototherapeutic keratectomy with topical mitomycin C. *Cornea*. 2004; 23:732–5.
5. Kamoi M, Mashima Y, Kawashima M, Tsubota K. Electrolysis for corneal opacities in a young patient with superficial variant of granular corneal dystrophy (Reis-Bücklers corneal dystrophy). *Am J Ophthalmol*. 2005; 139(6):1139-40.
6. Kobayashi A, Ijiri S, Ohta T, Sugiyama K. Disappearance of honeycomb opacity of Thiel-Behnke corneal dystrophy after Thygeson superficial punctate keratitis. *Cornea*. 2005; 24(8):1029-30.
7. Kawashima M, Kawakita T, Den S, Shimmura S, Tsubota K, Shimazaki J. Comparison of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for lattice and macular corneal dystrophies. *Am J Ophthalmol*. 2006; 142(2):304-9.
8. Das S, Langenbucher A, Seitz B. Excimer laser phototherapeutic keratectomy for granular and lattice corneal dystrophy: a comparative study. *J Refract Surg*. 2005; 21(6):727-31.
9. Foerster CG, Langenbucher A, Cursiefen C, Kruse FE, Seitz B. Delayed epithelial healing after keratoplasty for lattice corneal dystrophy. *Cornea*. 2007; 26(10):1182-3.
10. Das S, Langenbucher A, Seitz B. Delayed healing of corneal epithelium after phototherapeutic keratectomy for lattice dystrophy. *Cornea*. 2005; 24(3):283-7.
11. Morita Y, Chikama T, Yamada N, Morishige N, Sonoda KH, Nishida T. New mode of treatment for lattice corneal dystrophy type I: corneal epithelial debridement and fibronectin eye drops. *Jpn J Ophthalmol*. 2012; 56(1):26-30. doi: 10.1007/s10384-011-0104-5. Epub 2011 Nov 12.
12. Vance JM, Jonasson F, Lennon F, Sarrica J, Damji KF, Stauffer J, et al. Linkage of a gene for macular corneal dystrophy to chromosome 16. *Am J Hum Genet*. 1996; 58(4):757-62.

13. Mohammad-Rabei H, Shojaei A, Aslani M. Concurrent Macular corneal dystrophy and keratoconus. *Middle East Afr. J. Ophthalmol.* 2012; 19(2):251-253. doi:10.4103/0974-9233.95266.
14. Gruenauer-Kloevekorn C, Braeutigam S, Heinritz W, Froster UG, Duncker GI. Macular corneal dystrophy: mutational spectrum in German patients, novel mutations and therapeutic options. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008; 246(10):1441-7. doi: 10.1007/s00417-008-0836-1. Epub 2008 May 24.
15. Karimian F, Baradaran-Rafii A-R, Feizi S, et al. Outcomes of penetrating keratoplasty for macular corneal dystrophy. *J Ophthalmic Vis Res.* 2009; 4(1):14-18.
16. Reddy JC, Murthy SI, Vaddavalli PK, Garg P, Ramappa M, Chaurasia S, et al. Clinical outcomes and risk factors for graft failure after deep anterior lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for macular corneal dystrophy. *Cornea.* 2015; 34(2):171-6. doi: 10.1097/ICO.0000000000000327.
17. Orr A, Dubé M-P, Marcadier J, et al. Mutations in the UBIAD1 gene, encoding a potential prenyltransferase, are causal for Schnyder crystalline corneal dystrophy. Kronenberg F, ed. *PLoS ONE.* 2007; 2(8):e685. doi:10.1371/journal.pone.0000685.
18. Chern KC, Meisler DM. Disappearance of crystals in Schnyder's crystalline corneal dystrophy after epithelial erosion. *Am J Ophthalmol.* 1995; 120(6):802-3.
19. Bredrup C, Knappskog PM, Majewski J, Rødahl E, Boman H. Congenital stromal dystrophy of the cornea caused by a mutation in the decorin gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46(2):420-6.
20. Rødahl E, Knappskog PM, Bredrup C, et al. Congenital stromal corneal dystrophy. 2008 Nov 25 [Updated 2012 Feb 2]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2016. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2690/>
21. Li S, Tiab L, Jiao X, et al. Mutations in *PIP5K3* are associated with François-Neetens mouchetée fleck corneal dystrophy. *Am J Hum Genet.* 2005; 77(1):54-63.
22. Banning CS, Larson PM, Randleman JB. Outcome of LASIK in fleck corneal dystrophy. *Cornea.* 2006; 25(10):1262-4.
23. Aldave AJ, Rosenwasser GOD, Yellore VS, et al. Linkage of posterior amorphous corneal dystrophy to chromosome 12q21.33 and exclusion of coding region mutations in *KERA*, *LUM*, *DCN*, and *EPYC*. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51(8):4006-4012. doi:10.1167/iovs.09-4067.
24. Zaidi A, McLeod SD. Laser in situ keratomileusis in a patient with presumed central cloudy corneal dystrophy of Francois. *Am J Ophthalmol.* 2005; 139(2):376-7.
25. Hung C, Ayabe RI, Wang C, Frausto RF, Aldave AJ. Pre-Descemet corneal dystrophy and X-linked ichthyosis associated with deletion of Xp22.31 containing the *STS* gene. *Cornea.* 2013; 32(9):1283-1287. doi:10.1097/ICO.0b013e318298e176.
26. Zenteno JC, Ramirez-Miranda A, Santacruz-Valdes C, Suarez-Sanchez R. Expanding the mutational spectrum in TGFBI-linked corneal dystrophies: Identification of a novel and unusual mutation (Val113Ile) in a family with granular dystrophy. *Mol Vis.* 2006; 12:331-5.
27. Munier FL, Frueh BE, Othenin-Girard P, Uffer S, Cousin P, Wang MX, et al. BIGH3 mutation spectrum in corneal dystrophies. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002; 43(4):949-54.
28. Underhaug J, Koldsø H, Runager K, et al. Mutation in transforming growth factor beta induced protein associated with granular corneal dystrophy type 1 reduces the proteolytic

- susceptibility through local structural stabilization. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1834(12):2812-2822. doi:10.1016/j.bbapap.2013.10.008.
29. Pampukha VM1, Kravchenko SA, Tereshchenko FA, Livshits LA, Drozhyna GI. Novel L558P mutation of the TGFBI gene found in Ukrainian families with atypical corneal dystrophy. *Ophthalmologica*. 2009; 223(3):207-14. doi: 10.1159/000202645. Epub 2009 Feb 17.
30. Ann LB, Abbouda A, Frausto RF, Huseynli S, Gupta K, Alió JL, et al. Variant lattice corneal dystrophy associated with compound heterozygous mutations in the TGFBI gene. *Br J Ophthalmol*. 2016 Jul 11. pii: bjophthalmol-2015-307602. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307602. [Epub ahead of print]



Universidad de Valladolid



COMISION DE INVESTIGACION

Dña. M<sup>a</sup> Paz García García como **Secretaria de la Comisión de Investigación** del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid,

**CERTIFICA**

Que el TFM titulado “Análisis de una nueva variante fenotípica de distrofia del estroma corneal” con número de registro 08/2016 de **Yago Varela Conde**, se encuentra en el momento de la última reunión de la Comisión de Investigación de 26 de agosto de 2016

- Aprobado  
 Pendiente de

Y para que así conste expido el presente certificado.

En Valladolid, a 30 de agosto de 2016

Fdo.: M<sup>a</sup> Paz García García  
Secretaria de la Comisión de Investigación

Edificio IOBA · Campus Miguel Delibes · Paseo de Belén, 17 · 47011 Valladolid · [www.ioba.es](http://www.ioba.es)

Anexo 1: Aprobación de la Comisión de Investigación del IOBA

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PRUEBAS GENÉTICAS Y MOLECULARES  
DE LA DISTROFIA CORNEAL

Nº de Historia: \_\_\_\_\_

Don/Doña.: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad,  
(Nombre y dos apellidos del paciente)

Con domicilio en: \_\_\_\_\_ y DNI: \_\_\_\_\_  
(Domicilio del paciente)

Don/Doña.: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad,  
(Nombre y dos apellidos del representante legal)

Con domicilio en: \_\_\_\_\_ y DNI: \_\_\_\_\_  
(Domicilio del representante legal)

En calidad de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_  
(Representante legal, familiar o allegado) (Nombre y dos apellidos del paciente)

**DECLARO**

Que el DOCTOR/A .....

me ha explicado y he comprendido que puedo estar afectado o ser portador de un trastorno genético hereditario y que el diagnóstico se basa en los resultados de pruebas de laboratorio, las cuales se realizan a partir de muestras biológicas del paciente, y de otros familiares cuando sea necesario.

**HERENCIA Y DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO GENÉTICO**

Actualmente es posible identificar mediante un estudio genético a aquellas personas que son propensas a desarrollar distrofia corneal.

Se les realizará una extracción de 10 mL de sangre a aquellas personas que acepten participar en el estudio (Este procedimiento no produce más molestias ni más riesgos que los de cualquier análisis de sangre). Posteriormente se realizará el test del ADN y la caracterización genética, exclusivamente de la distrofia corneal.

El material genético no será utilizado con otros fines de los que aquí se indican sin el consentimiento de la persona estudiada.

El estudio permitirá identificar aquellas familias con riesgo de padecer distrofia corneal y, de esta manera, realizar un diagnóstico más precoz para aplicar el tratamiento y control adecuados.

**CONFIDENCIALIDAD DE LOS RESULTADOS**

Los resultados se tratarán de manera confidencial conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos 15/99. Únicamente serán transmitidos por escrito al médico solicitante y al paciente (en caso de menores de edad, al representante legal).

Los resultados obtenidos podrán ser utilizados para una posible publicación científica. Los datos serán completamente anónimos para evitar la identificación de los pacientes.

#### DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO

- He comprendido que existe en mi familia una predisposición a la distrofia corneal.
- Se me ha explicado que un test genético puede permitirme saber si soy o no portador de esa predisposición.
- Si el test es negativo las recomendaciones de tratamiento y vigilancia no se modificarán.
- Si el test es positivo las recomendaciones de tratamiento y vigilancia actuales pueden ser modificadas.
- He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.
- También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.
- En relación con los resultados del estudio genético se me asegura que serán realizados de forma confidencial y se me comunicarán a mi personalmente por el facultativo en caso de que yo lo solicite. Así mismo se me indica que estos resultados no serán comunicados a otros miembros de mi familia o a terceras partes sin mi consentimiento expreso.
- Por ello, manifiesto que estoy satisfecho con la información recibida y que comprendo el alcance del estudio genético.

Y en tales condiciones

**DOY CONSENTIMIENTO** al equipo médico del Hospital para utilizar estas muestras para el estudio genético, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes, en los centros designados por el Servicio de Oftalmología del Hospital Virgen de los Lirios de Alcoy: Área de Genética de La Universidad de Castilla la Mancha.

En \_\_\_\_\_,  
(Lugar)

a \_\_\_\_\_  
(Fecha)

Fdo: El/la Médico

Fdo: El/la Paciente

Fdo: El representante legal,  
familiar o allegado



## AUTORIZACIÓN DEL TUTOR PARA LA EXPOSICIÓN PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

*(Art. 6.2 del Reglamento de la UVA sobre la Elaboración y Evaluación del Trabajo Fin de Máster)*

D./Dña. Miguel José Maldonado López  
en calidad de Tutor/a del alumno/a  
D. /Dña. Yago Varela Conde  
del Máster en: Investigación en Ciencias de la Visión  
Curso académico: 2015-2016

CERTIFICA haber leído la memoria del Trabajo de Fin de Máster titulado  
“Análisis de una nueva variante fenotípica de distrofia del estroma corneal”  
y estar de acuerdo con su exposición pública en la convocatoria de septiembre  
(indicar julio o septiembre)

En Valladolid a 29 de agosto de 2016

Vº Bº

Fdo.: *M. Miguel J. Maldonado Lopez*  
El/La Tutor/a