



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE CIENCIAS

Grado en óptica y optometría

MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO TITULADO

**Correlación entre la transmisión de luz y los cambios
biológicos en el estroma corneal**

Presentado por: Raquel Sancho Cabrera

Tutelado por: M. Carmen Martínez García

Tipo de TFG: Investigación

En Valladolid a 19 de mayo de 2017

Abstract:

The corneal scarring after injury is a complex process in which many types of cells and molecules are involved. Myofibroblasts are a kind of cells which appear and participate in the corneal healing process. The presence of myofibroblasts produces a decrease in corneal transmittance thus, if there is a greater number of myofibroblasts there will be a lower transmittance.

This TFG pretends to correlate the number of myofibroblasts with the transmittance of the cornea after an injury. The study was carried out with rabbits.

The results showed us how the presence of myofibroblasts decrease the corneal transmittance, although has not been found direct relationship because the sample was small and due to other factors. We have also observed a myofibroblast localization related with the burn zone.

Resumen:

La cicatrización corneal tras una lesión es un proceso complejo en el que intervienen numerosos tipos de células y moléculas. Los miofibroblastos son un tipo de células que aparecen y participan en el proceso de la cicatrización corneal. La presencia de miofibroblastos produce una disminución en la transmitancia corneal, de modo que a mayor número de miofibroblastos habrá una menor transmitancia.

En este TFG se ha intentado correlacionar el número de miofibroblastos con la transmitancia de la córnea tras una lesión. El estudio fue llevado a cabo con conejos.

Los resultados obtenidos nos mostraron como la presencia de miofibroblastos si disminuye la transmitancia corneal, aunque no se encontró una relación directa debido a que la muestra estudiada era pequeña y no es solo debido a los miofibroblastos. También se pudo ver como los miofibroblastos se encuentran en mayor parte en la zona en concreto en la que se produce la lesión.

Índice:

1. Introducción: (Página 1)
 - 1.1. Histología corneal
 - 1.1.1. Humana
 - 1.1.2. Del conejo
 - 1.2. Cicatrización corneal el conejos
 - 1.2.1. Epitelio
 - 1.2.2. Estroma
 - 1.2.3. Endotelio
 - 1.2.4 Transmitancia
2. Objetivos (Página 9)
3. Material y método (Página 10)
4. Resultados (Página 13)
5. Discusión (Página 16)
6. Conclusiones (Página 17)
7. Bibliografía (Página 18)

1. Introducción

1.1. Histología corneal

1.1.1. Humana

Según el " Centro de oftalmología Bonafonte" (1) y un artículo de " Villa C y Santodomingo J." publicado en 2016 (2) la córnea humana tiene un grosor de 540 micras aproximadamente y está compuesta de 7 capas :

Epitelio: Es la capa más externa de la córnea. Es un epitelio poliestratificado no queratinizado. Tiene 5-7 capas de células en el centro y 8-10 en la periferia. Las células más profundas son cúbicas y se van aplanando hacia la superficie. Las células están unidas mediante uniones estrechas y desmosomas. El epitelio se renueva completamente cada 4-7 días a partir de las células madre del limbo. Está ricamente innervado y su función principal es protectora.

Membrana basal del epitelio: las células epiteliales se anclan a ella mediante hemidesmosomas.

Membrana de Bowman: es una lámina delgada acelular formada por fibrillas de colágeno y mucopolisacáridos. Es muy resistente pero no se regenera. Sus funciones principales son ayudar a dar forma a la córnea y proteger el estroma de traumatismos y microorganismos.

Estroma: está formado por fibras de colágeno, queratocitos, fibroblastos y matriz extracelular. Las fibras de colágeno se organizan de forma regular y ordenada en lamelas de colágeno, lo cual es fundamental para la transparencia corneal. Las lamelas se unen mediante uniones laxas entre sí. La matriz es secretada por los fibroblastos y está compuesta principalmente de colágeno y proteoglicanos. Las funciones principales del estroma son dar forma, resistencia, elasticidad y transparencia a la córnea.

Capa de Dua: descrita por primera vez en 2013 por Harminder Dua en el artículo "Human corneal anatomy redefined" (3). Es una capa acelular y resistente.

Membrana de Descemet: es la membrana basal del endotelio y es secretada por él. Está compuesta por glicoproteínas, laminina y fibrillas de colágeno. Sus principales funciones son la elasticidad y resistencia ante infecciones y traumatismos.

Endotelio: es una única capa de células aplanadas con forma hexagonal. Las células endoteliales no se regeneran, por lo que su cantidad disminuye con la edad. Esta disminución se compensa con un crecimiento de las células adyacentes. Su principal función es mantener el equilibrio acuoso en la córnea con una bomba de sodio potasio y regular el intercambio de metabolitos con la lágrima y el humor acuoso.

1.1.2. Del conejo

La histología de la córnea de los conejos es bastante similar a la de los humanos, aunque con algunas diferencias. Es un poco más fina que la de los humanos, tiene un grosor de unas 490 micras aproximadamente. Está formada por 5 capas (en la córnea de los conejos no hay membrana de Bowman):

Epitelio: la estructura del epitelio es igual que en humanos, la única diferencia es que hay menos capas de células, como podemos observar en la imagen 2.

Membrana basal del epitelio: al igual que en los humanos el epitelio está anclado a una membrana basal.

Estroma: es muy similar al de los humanos.

Membrana de Descemet: es muy similar a la de los humanos.

Endotelio: es muy similar al de los humanos.

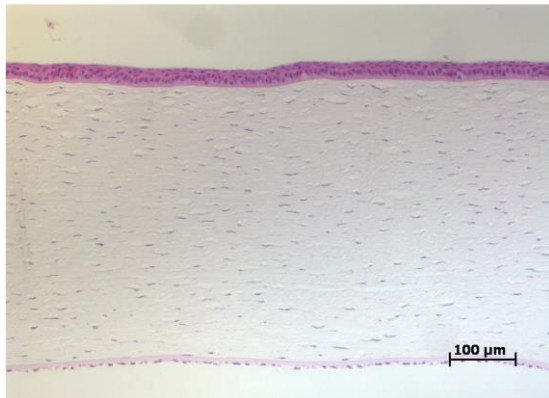


Imagen 1. Corte histológico de la córnea completa del conejo.

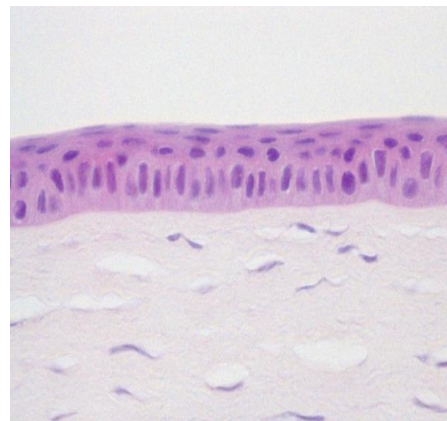


Imagen 2. Corte histológico de la córnea del conejo, en la que se observa el epitelio y el estroma anterior.

1.2. Cicatrización corneal en conejos

La cicatrización corneal ha sido descrita por varios autores, como Ljubimov A. y Saghizadeh M. en su artículo "Progress in corneal wound healing" publicado en 2015 (5), Fernández A, Moreno J, Prósper F, García M y Echeveste J. en su artículo "Regeneración de la superficie ocular" (6), Eraslan M y Toker E. en su artículo "Mechanism of corneal wound and its modulation following refractive surgery" publicado en 2009 (7), Meek K y Knupp C. en su artículo "Corneal structure and transparency" publicado en 2015 (8), Sadler T. en su artículo "El tejido mesenquimal" (9) y Martínez MC, Merayo J, Blanco T y Mar S. en su artículo "Wound healing following refractive surgery in hens" publicado en 2006 (10).

La cicatrización corneal es un proceso complejo que involucra muerte celular, proliferación, migración, diferenciación y remodelado de matriz extracelular. Se observan muchas similitudes en los procesos de cicatrización

de las células epiteliales, estromales y endoteliales, así como diferencias características de cada tipo celular.

El propósito principal de la cicatrización corneal es recuperar el aspecto anatómico y las funciones del tejido de forma rápida y adecuada.

La cicatrización corneal es una cascada compleja que implica interacciones mediadas por citoquinas entre las células epiteliales, los queratocitos estromales, los nervios corneales, las glándulas lagrimales, la película lagrimal y las células del sistema inmune.

La cicatrización corneal puede producir mayor dispersión de la luz y pérdida de la transparencia corneal.

1.2.1. Epitelio

El epitelio corneal se renueva constantemente a partir de las células madre del limbo que migran de la periferia a la córnea central y de las capas basales a las capas apicales. La renovación del epitelio se explica mediante la hipótesis X, Y y Z propuesta por Thoft y Friend en 1983 (4). Según esta hipótesis, X es la proliferación del epitelio basal, Y es el movimiento centripeto de las células epiteliales periféricas y Z es la pérdida celular por muerte y descamación. La ecuación $X + Y = Z$ significa que la pérdida celular se compensa con la proliferación y migración celular.

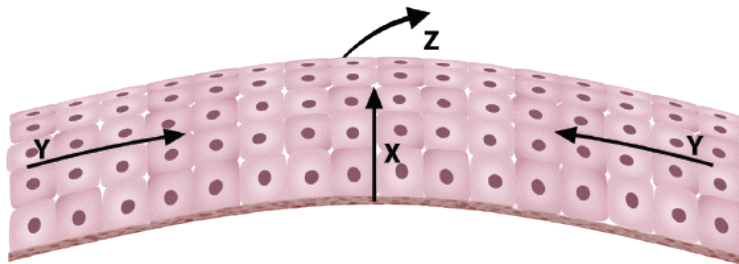


Imagen 3. Hipótesis X, Y y Z.

En caso de haber daño epitelial, las células madre del limbo también son las encargadas de regenerarlo. La cicatrización de un daño epitelial implica proliferación, migración, adhesión y diferenciación celular.

Después de una lesión epitelial, se liberan citoquinas desde el epitelio lesionado y desde la membrana basal del epitelio, incluyendo interleuquina-1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa, proteínas morfogénicas óseas (BMP) 2 y 4, el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Todas estas citoquinas intervienen en el proceso de la cicatrización.

En una córnea sana, no es posible detectar IL-1 en los queratocitos estromales pero cuando se daña el epitelio, ésta pasa al estroma. La IL-1

regula la síntesis del ligando Fas en los queratocitos, que se une al receptor Fas e induce apoptosis.

La IL-1 también regula la producción por los queratocitos del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), que median la interacción entre el estroma y el epitelio para regular la proliferación, la motilidad y la diferenciación de células epiteliales.

Después de la lesión epitelial, aumenta la producción por la glándula lagrimal de los factores de crecimiento que modulan la cicatrización epitelial como el HGF, el EGF y otras citoquinas que regulan la proliferación, migración y diferenciación durante el período de cicatrización.

En la cicatrización epitelial hay dos fases distintas, una latente inicial y una de cierre. La fase inicial incluye la reorganización celular y subcelular para activar la migración de las células epiteliales en el borde de la herida. La fase de cierre incluye migración celular, proliferación, diferenciación celular y estratificación para restaurar la capa epitelial multicelular que había antes de la herida.

A las 24 horas de la herida, se forma una primera capa de células epiteliales. Los factores de crecimiento liberados y las citoquinas ayudan a organizar una nueva membrana basal, el epitelio superficial comienza a deslizarse y replicarse, y da como resultado una cubierta fina de una sola capa de células que tapa la herida.

Cuando se forma esta capa es cuando se deja de sentir dolor porque las terminaciones nerviosas dejan de estar al descubierto.

En la cicatrización corneal, cuando se regenera el epitelio queda más grueso de lo normal; esto se conoce como hiperplasia epitelial.

1.2.2. Estroma

Como ya hemos visto, cuando la IL-1 llega a los queratocitos estromales se desencadena la muerte por apoptosis de los mismos. Recientemente se ha visto que algunos queratocitos mueren por necrosis, según el agente que cause el daño. Estos queratocitos son eliminados por macrófagos.

A las 24-48 horas de la lesión (en conejos) se produce la proliferación y migración de los queratocitos restantes dando lugar a queratocitos activados, fibroblastos y miofibroblastos responsables de repoblar el estroma.

Los fibroblastos tienen propiedades migratorias necesarias para repoblar y cerrar la herida. Estas células pasan de tener morfología estelar a alargada. Los fibroblastos regulan negativamente la expresión de proteínas de queratocitos, como las cristalinas y comienzan a producir proteinasas, necesarias para remodelar la herida.

Después de alcanzar el lecho de la herida, los fibroblastos comienzan a expresar la α -SMA y la desmina, que regulan positivamente la expresión de

vimentina y se convierten en miofibroblastos, altamente móviles y contráctiles, necesarios para la síntesis de la matriz extracelular. Los miofibroblastos generan fuerzas contráctiles para cerrar el hueco de la herida.

Los miofibroblastos son células críticas en el proceso de cicatrización de heridas corneales. Tienen prolongaciones contráctiles. Son derivados de queratocitos que responden al factor de crecimiento transformante (TGF) - beta. También tienen una transparencia reducida debido a la alteración de la producción cristalina corneal y juegan un papel importante en la producción del colágeno y de la matriz extracelular mediante la producción de colágeno y glicosaminoglicanos. También intervienen en la renovación del colágeno ya que producen metaloproteinasas como colagenasas y gelatinasas.

Al aparecer estas células, que son más grandes y tienen más organelas, se produce una mayor dispersión de la luz al atravesar la córnea. Además estas células no tienen cristalinas.

Al terminar la cicatrización, los miofibroblastos dejan de expresar la α -SMA y mueren por apoptosis o se convierten en queratocitos cicatriz.

La curación del epitelio normal que conduce a la restauración de los niveles homeostáticos de las citoquinas puede ser la señal de la regulación del principio y el final de la proliferación de los queratocitos.

En la cicatrización, aparecen en las primeras 24 horas en el estroma células inflamatorias como monocitos, macrófagos, células T, leucocitos polimorfonucleares y células natural killer. Las células inmunitarias pueden llegar a la córnea dañada desde el limbo, desde los vasos sanguíneos o desde la película lagrimal.

Las funciones de las células inmunitarias son limpiar los remanentes de queratocitos apoptóticos, proteger la córnea de una posible infección y algunas de estas células pueden convertirse en miofibroblastos y participar así en el cierre de la herida.

La matriz extracelular secretada por los miofibroblastos rellena los huecos, pero no es homogénea y acumula proteínas aberrantes. La matriz se va normalizando a medida que el proceso de cicatrización va avanzando.

La remodelación estromal incluye síntesis y descomposición del colágeno. Este periodo dura varios meses o incluso años. Primeramente las fibras de colágenos se disponen al azar y luego se va remodelando y gradualmente se reorganiza el tejido corneal hasta ser similar al de una córnea ilesea, con la mayor transparencia posible.

Se va produciendo una síntesis, degradación y resíntesis del colágeno hasta que las láminas de colágeno vuelven a ser regulares y a estar ordenadas. La degradación del colágeno y de la matriz es producida por unas enzimas degradantes de la matriz, llamadas metaloproteinasas (MMP). La

colagenasa es una MMP encargada de degradar el colágeno rompiendo los enlaces peptídicos.

Finalmente hay un retorno a la normalidad con la eliminación de células inflamatorias, miofibroblastos y fibroblastos y la restauración del estado quiescente de los queratocitos. La remodelación del colágeno desordenado es una parte de este proceso y puede continuar durante años. La mayoría de las células inflamatorias mueren por apoptosis.

1.2.3. Endotelio

Cuando se produce un daño endotelial las células endoteliales adyacentes crecen para rellenar los huecos, ya que las células endoteliales no se regeneran (ni en los humanos ni en los conejos). Si el daño endotelial es muy grande y no se puede compensar de este modo se produce una transformación mesenquimal del tejido y aparecen miofibroblastos en el endotelio para rellenar los huecos. El tejido mesenquimal es conjuntivo laxo y está formado por fibras delgadas de colágeno y pocas células.

1.2.4. Transmitancia

La transmitancia de la luz a través de la córnea ha sido descrita por varios autores como Gonzalez M. en su artículo "Transmitancia y absorbancia" (11), Mateus S. en su artículo "Medida de la transmitancia en córneas de conejos mediante un espectrofotómetro" (12), Martínez MC, Blanco JT, Mar S y Merayo JM y Torres RM. en su artículo "Investigación en cicatrización corneal" publicado en 2017 (13), Mar S, Martínez MC, Blanco T, Torres RM y Merayo J. en su artículo "Measurement of correlation between transmission and scattering during wound healing in hen corneas" publicado en 2009 (14) y Pérez P, Martínez MC, Mar S, Pérez A, Blanco T, Mayo A y Merayo J. en su artículo "Corneal Light Transmission and Roughness After Refractive Surgery" publicado en 2010 (15).

Cuando la luz pasa a través de un medio parte de la energía es absorbida, parte reflejada y parte transmitida. La transmitancia es la cantidad de luz que atraviesa un medio y matemáticamente se define como el cociente entre la cantidad de luz transmitida y la luz incidente.

La transmitancia de la córnea puede ser medida mediante diversos métodos pero el más usado es el espectrofotómetro.

Como ya hemos visto, en la cicatrización corneal se producen una serie de cambios histológicos; estos cambios hacen que la córnea pierda transparencia y disminuya su transmitancia ya que aumenta la porción de luz absorbida y reflejada y también aumenta el scattering o dispersión de la luz.

En una córnea sin lesión la transmitancia tampoco es del 100% ya que también se produce dispersión, absorción y reflexión de la luz. El scattering se produce por variaciones en el índice de refracción. Estas variaciones son

debidas a alteraciones microestructurales, una organización no del todo regular de la matriz extracelular y a las células y sus organelas.

Cuando se produce una lesión corneal la dispersión aumenta debido a cambios microestructurales en la matriz extracelular del estroma y en las células. Cuando el proceso de cicatrización finaliza, la matriz extracelular del estroma recupera su orden parcial o totalmente, las células vuelven a su estado quiescente, alteran su composición, reducen el número y el tamaño de organelas y adquieren un índice de refracción similar al del medio para evitar la dispersión.

Los principales cambios histológicos en la cicatrización que hacen que disminuya la transmitancia de la córnea son:

-Los primeros días hay hiperplasia de las células epiteliales y su membrana basal es irregular; esto implica una alteración de la transparencia corneal ya que el epitelio es el lugar donde se produce la primera refracción y conviene que sea liso para una correcta transmisión de la luz. También se producen cambios en el índice de refracción de la superficie epitelial.

-Los fibroblastos y los miofibroblastos son más grandes que los queratocitos y presentan más organelas. Además los microfilamentos de actina de los miofibroblastos están más desorganizados.

-Los fibroblastos y miofibroblastos no tienen cristalinas.

-La matriz extracelular secretada durante la cicatrización no es tan regular porque los fibroblastos y los miofibroblastos producen más colágeno, glucosaminoglicanos y metaloproteinasas.

-Aumenta la separación y la desorganización de las fibras de colágeno.

-El anclaje entre la membrana basal y el estroma es más irregular.

-Aparecen células inflamatorias.

-Se altera la hidratación del tejido corneal.

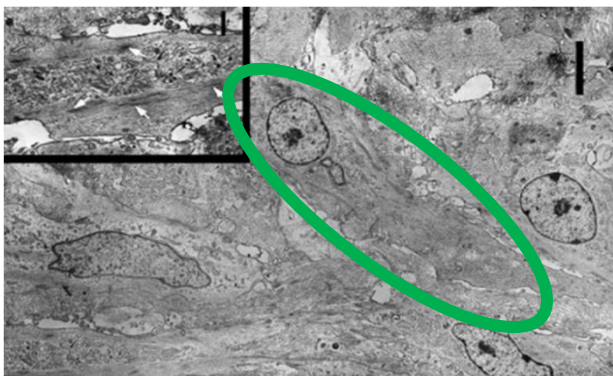


Imagen 4. Miofibroblasto (elipse verde) y citoesqueleto del miofibroblasto aumentado, en el que se aprecian los filamentos de actina (recuadro negro).

Sancho R. Transmisión de luz y cicatrización corneal.

Tras una lesión corneal también puede quedar cierto astigmatismo irregular y también se suelen aumentar las aberraciones oculares, lo que produce que la imagen no se forme adecuadamente en la retina y no la veamos del todo nítida.

Esto, junto a la pérdida de transparencia al producirse una lesión corneal hace que se disminuya la agudeza visual del sujeto.

2. Objetivos

- Comprender los diferentes acontecimientos que tienen lugar durante el proceso de cicatrización.
- Comprender los cambios que sufre el paso de la luz a través de las estructuras en la cicatrización.
- Distinguir las células que intervienen en esos procesos y correlacionar el número de miofibroblastos con la transmitancia.

3. Material y método

Se está haciendo un proyecto con una farmacéutica que consiste en probar un fármaco para ver si con el mejora la cicatrización corneal. Este proyecto se lleva a cabo de la siguiente manera:

Se parte de unos conejos con ambos ojos sanos y se les hace una herida en el ojo izquierdo y se deja el ojo derecho sin dañar (control). La herida se hace con sosa caustica con una concentración de 0,5N durante un minuto. Luego se lava el ojo con agua hasta eliminar completamente la sosa cáustica.

Nos centraremos en las córneas control y heridas de los conejos que no han recibido el fármaco.

Un mes después de hacer las heridas en los ojos de los conejos se les sacrifica con una inyección intracardiaca con previa sedación, se extraen las córneas y se mide su transmitancia. Una hora antes de sacrificar a los conejos se les inyecta un marcador (BRDU) que se incorpora al DNA que está en síntesis y marca las células que están en división.

Una vez extraídas las córneas se mide la transmitancia con un espectrómetro y una cámara OMA2.

Cuando se ha medido la transmitancia, las córneas se meten en un fijador para que no pierdan su estructura y se mandan a la Universidad de Murcia donde se continúa con el proyecto.

En la Universidad de Murcia se mira la disposición del colágeno en estas córneas con un microscopio múltifotónico que ofrece la posibilidad de ver imágenes tomográficas y no lineales.

Posteriormente las córneas son procesadas en Valladolid y con ellas se preparan cortes histológicos para ver la relación entre la disminución de transmitancia y la aparición de un determinado tipo de células implicadas en la pérdida de transparencia.

Este TFG consiste en correlacionar la transmitancia con el número de miofibroblastos en ojos de conejos dañados, a los que no se les ha administrado el fármaco.

Por una parte tenemos que analizar la transmitancia de las córneas estudiadas y por otra ver el número de miofibroblastos que hay en dichas córneas. Luego estudiaremos si hay relación entre ambos resultados.

Para contar el número de miofibroblastos se preparan cortes histológicos con las córneas y se realiza un inmuno marcaje con anticuerpo anti alfa-SMA (marca los miofibroblastos en verde) y con DAPI (marca los núcleos en azul).

Para teñir las muestras se siguen los siguientes pasos: se desparafina la muestra con Xilol, se hidrata con alcoholes, se lava con PBS de pH 7.4, se mete en suero de cabra diluido en PBS al 2%, se mete en suero completo de

cabra al 10% en PBS sin diluir, se pone anticuerpo primario anti- actina de musculo liso sin diluir y a temperatura ambiente, se aclara en PBS, se añade el anticuerpo secundario de cabra unido al fluorocromo FICT diluido, se añade el DAPI, se lava en PBS, se lava en agua destilada y se monta con glicerina al 60% o AntiFAde.

Luego se sacan fotos de los cortes a 100 aumentos para posteriormente poder contar los miofibroblastos (se hacen fotos porque si las preparaciones están mucho tiempo expuestas a la luz del microscopio pierden la fluorescencia de la tinción inmuno alfa-SMA).

A continuación con el photoshop se retocan las fotos para producir un mayor contraste en las fotos y que sea más fácil diferenciar las células (aumentamos la intensidad tanto del color verde como del azul, que son los que nos interesan para ver los miofibroblastos).

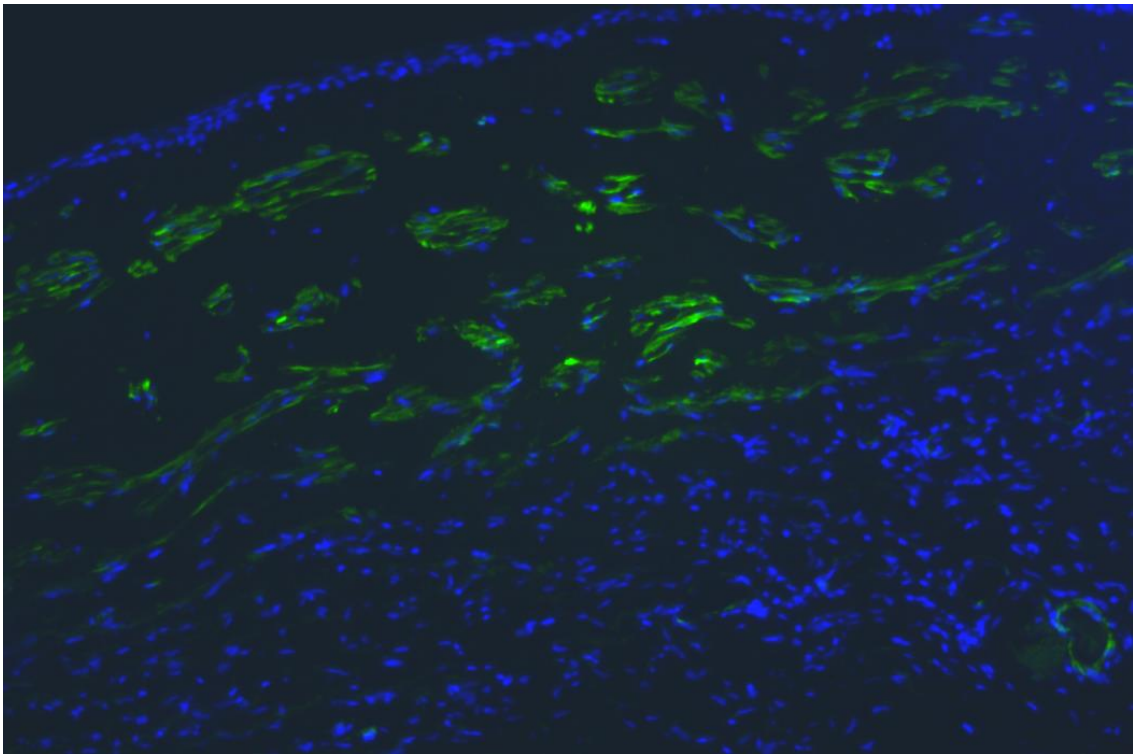


Imagen 5. Tinción inmuno alfa-SMA con DAPI de un corte histológico de la córnea C 219. La foto está tomada en la zona anterior de la córnea. En la imagen vemos numerosos miofibroblastos.

Para contar las células se emplea un programa que se llama Cell[^]A; con este programa vamos pinchando sobre las fotos donde vemos miofibroblastos, se marcan con un aspa y luego nos da el número total de células marcadas.

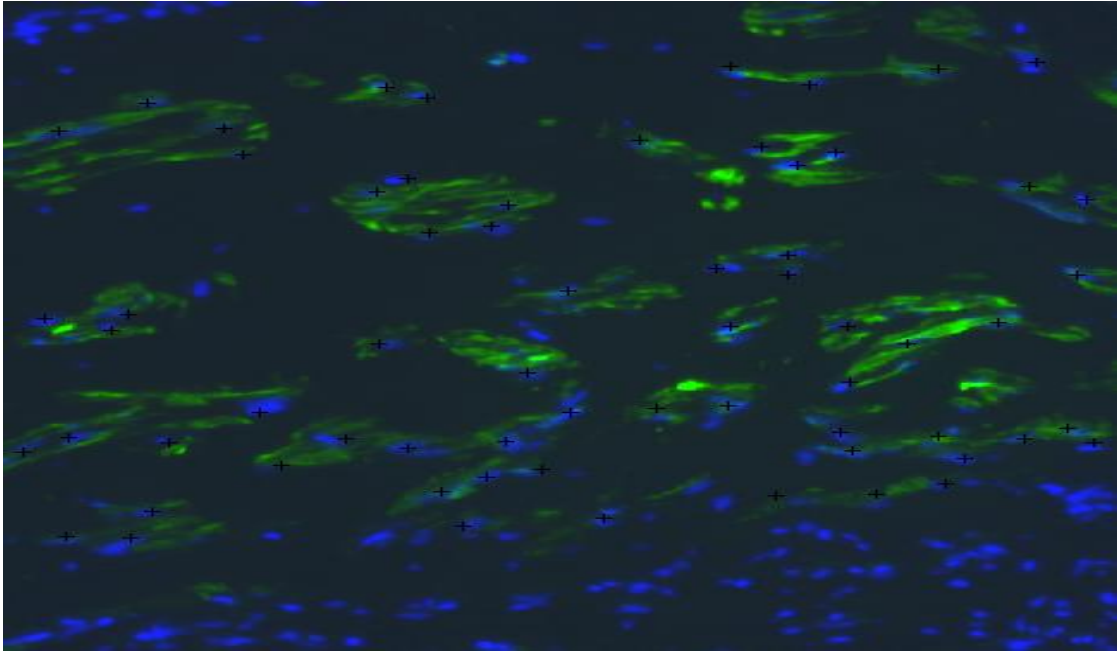


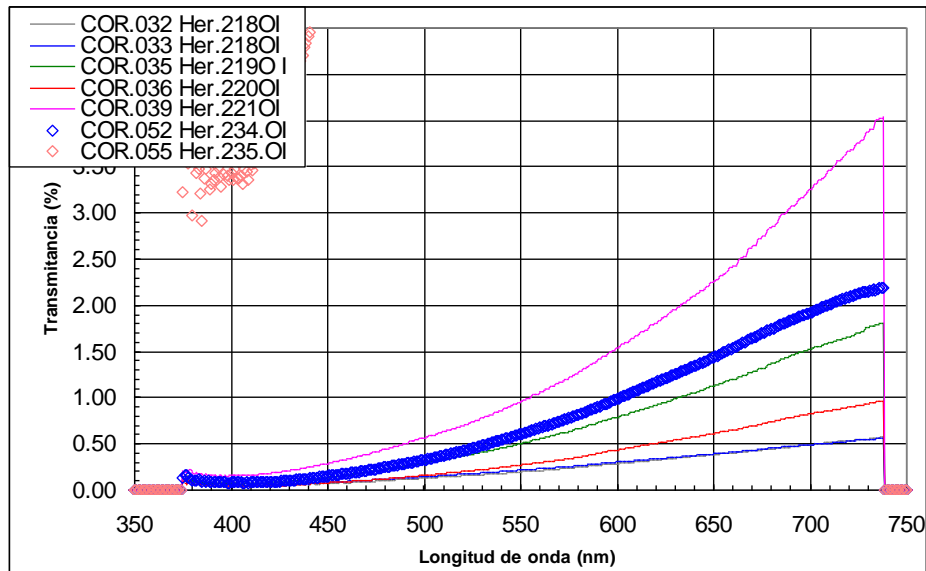
Imagen 6. Ejemplo de contaje de miofibroblastos con el Cell[^]A.

De cada preparación se hacen varias fotos en distintas las zonas donde hay miofibroblastos, se cuentan los de cada imagen y luego se suman los de la misma preparación para saber el número total que hay. Se hacen fotos en la cara anterior de la muestra y en la cara posterior. En la mayoría de preparaciones se hicieron cuatro fotos en la zona anterior de la córnea y cuatro en la zona posterior.

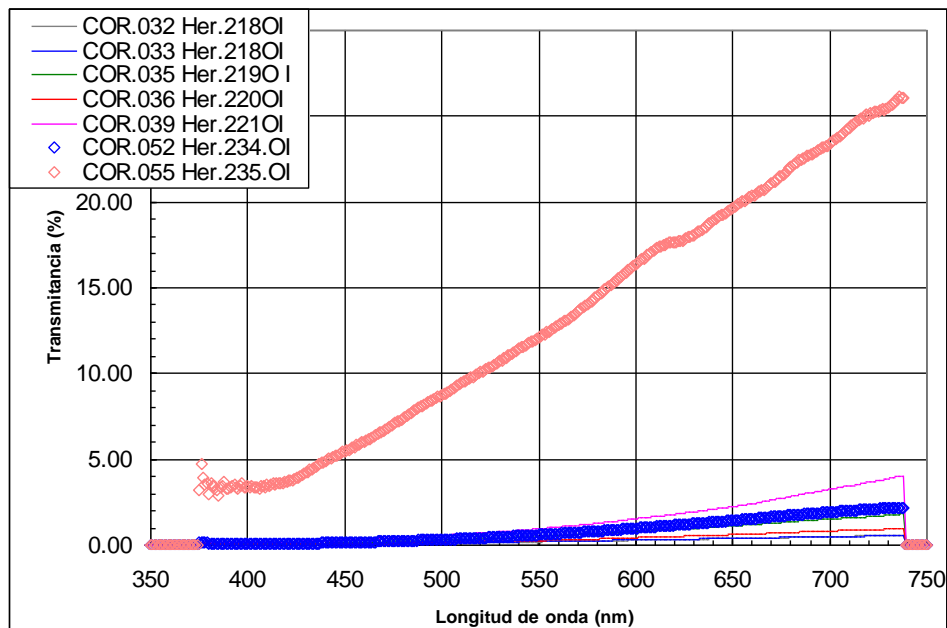
4. Resultados

Se va a analizar la relación entre la transmitancia y el número de miofibroblastos en las muestras C 218, C 219, C 220 y C 234 del ojo izquierdo, es decir, en las que se ha producido una herida. Estas muestras tienen 30 días de cicatrización.

Primero nos fijaremos en la transmitancia de estas córneas para una determinada longitud de onda, en concreto 550 nm.



Gráfica 1. Transmitancias, en tanto por ciento, de las córneas heridas.



Gráfica 2. Transmitancias, en tanto por ciento, de las córneas heridas (representado con distinta escala en el eje de la transmitancia respecto a la gráfica anterior).

Las transmitancias de las muestras elegidas para una longitud de onda de 550 nm son las siguientes:

C 218: 0,2157nm

C 219: 0,5023nm

C 220: 0,2730nm

C 234: 0,6nm

Sumamos el número de miofibroblastos de cada zona de una misma preparación y obtenemos los siguientes valores:

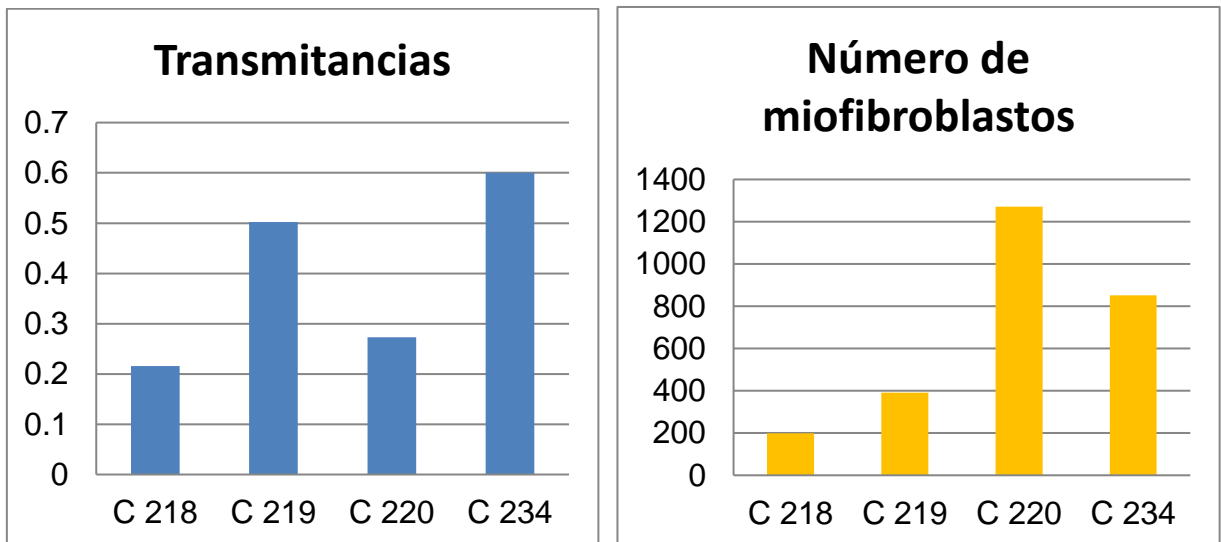
C 218: 199 miofibroblastos

C 219: 391 miofibroblastos

C 220: 1271 miofibroblastos

C 234: 851 miofibroblastos

A continuación representamos en dos gráficas los resultados obtenidos para poder hacer una comparación:



Gráfica 3. Transmitancia en % para una longitud de onda de 550 nm de las muestras elegidas.

Gráfica 4. Número de miofibroblastos en las muestras elegidas.

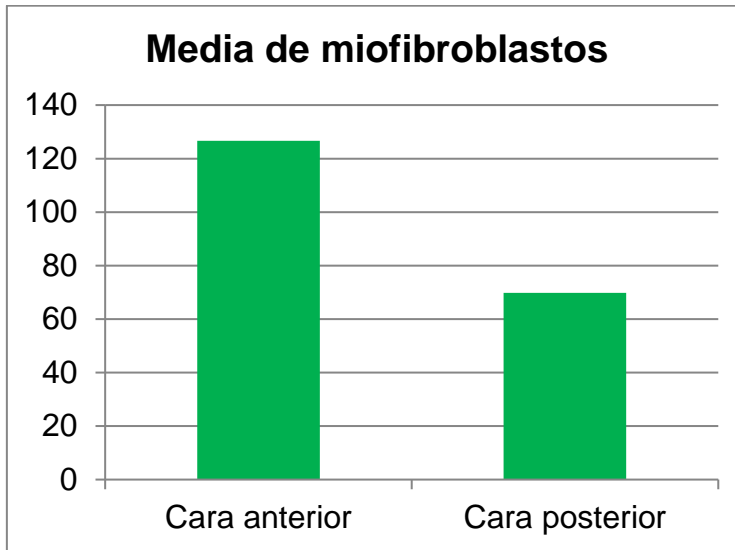
Tan solo en alguna de las muestras existe correlación (C219, C 234) si bien, existe una gran variabilidad

Se hace la media número de miofibroblastos por imagen de la cara anterior de las muestras y de la cara posterior:

Media de miofibroblastos por imagen en la cara anterior: 126,615

Media de miofibroblastos por imagen en la cara posterior: 69,8

Podemos ver que hay un mayor número de miofibroblastos en la zona anterior de la córnea.



Gráfica 5. Comparación de la media de miofibroblastos por imagen entre la cara anterior y la cara posterior.

5. Discusión

Estas muestras tienen una transmitancia muy baja, que no llega al 1%. Como vimos en el apartado de introducción, cuando se produce una lesión en la córnea suceden una serie de cambios en su estructura que hacen que disminuya la transmitancia. En estas muestras al haberse producido una herida hay un cambio en la estructura corneal, lo que produce una disminución de la transmitancia corneal de la luz. Son muchos los cambios que producen una disminución de la transmitancia durante la cicatrización, como la presencia de miofibroblastos, la desorganización de la matriz extracelular, la hiperplasia de las células epiteliales... . Analizando los resultados obtenidos vemos que la presencia de miofibroblastos produce una disminución de la transmisión de la luz a través de la córnea, ya que todas estas muestras tienen miofibroblastos y una muy baja transmitancia.

También se sabe que cuanto mayor es el número de miofibroblastos, menor es la transmitancia. En este caso no sucede que a mayor número de miofibroblastos menor sea la transmitancia debido a que depende de más factores como la irregularidad de la matriz extracelular y la zona de la herida con la que se prepara el corte histológico.

Para poder comprobar que a mayor número de miofibroblastos la transmitancia es menor habría que analizar más muestras para disminuir el error muestral.

Como vemos al hacer la media de miofibroblastos en la parte anterior y posterior de la córnea hay mas miofibroblastos en la parte anterior que en la posterior. Esto se debe a que cuando se hace la herida no se deja que la sosa caustica penetre hasta la parte posterior de la córnea, por lo que la cicatriz se encuentra sobre todo en la zona anterior de la córnea y por ello es donde hay un mayor número de miofibroblastos.

6. Conclusiones

- La cicatrización corneal es un proceso complejo con varias fases en las que intervienen diferentes tipos de células.
- La transmitancia de la córnea disminuye cuando se produce un daño corneal y va aumentando progresivamente durante el proceso de cicatrización recuperándose total o parcialmente la transmitancia inicial.
- La presencia de miofibroblastos en la cicatrización corneal, entre otros factores, hace que disminuya la transmitancia de la córnea.
- A mayor número de miofibroblastos menor transmitancia corneal, aunque en este caso no se cumple debido a que depende de más factores y a que habría que analizar un mayor número de muestras para disminuir el error muestral.
- En este caso encontramos un mayor número de miofibroblastos en la cara anterior de la córnea porque es donde se encuentra principalmente la lesión.

7. Bibliografía

1. Centro de oftalmología Bonafonte. Histología de la córnea. https://www.youtube.com/watch?v=QIRGB_2T2ms (16 de enero de 2016).
2. Villa C y Santodomingo J. La córnea. Parte I Estructura, función y anatomía microscópica. [file:///C:/Users/Portatil/Downloads/cientifico1%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Portatil/Downloads/cientifico1%20(1).pdf) (16 de enero de 2016).
3. Dua H, Faraj L, Said D, Grey T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined. *Ophthalmology*. 2013. 120: 1778–1785.
4. Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983. 10:1442-3.
5. Ljubimov A. y Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res*. 2015. 49: 17–45.
6. Fernández A, Moreno J , Prósper F, García M y Echeveste J. Regeneración de la superficie ocular: stem cells/células madre y técnicas reconstructivas. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272008000100005 (3 de marzo de 2017).
7. Eraslan M, Toker E. Mechanism of corneal wound and its modulation following refractive surgery. *Marmara Medical Journal*. 2009. 22(2):169-178.
8. Meek K, Knupp C. Corneal structure and transparency. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2015.
9. Sadler T. El tejido mesenquimal. https://www.ecured.cu/El_tejido_mesenquimal (5 de marzo de 2017).
10. Martinez MC, Merayo J, Blanco T, Mar S. Wound healing following refractive surgery in hens. *Experimental Eye Research*. 2006. 83: 728-735.
11. Gonzalez M. Transmitancia y absorbancia. <http://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/transmitancia-y-absorbancia> (12 de marzo de 2017).
12. Mateus S. Medida de la transmitancia en córneas de conejos mediante un espectrofotómetro. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/19268/1/TFM-G%20549.pdf> (12 de marzo de 2017).
13. Martinez MC, Blanco JT, Mar S, Merayo JM, Torres RM. Investigación en cicatrización corneal. 2017.
14. Mar S, Martinez MC, Blanco T, Torres RM, Merayo J. Measurement of correlation between transmission and scattering during wound healing in hen corneas. *Journal of Modern Optics*. 2009; 56: 1014–1021.
15. Pérez P, Martinez MC, Mar S, Pérez A, Blanco T, Mayo A, Merayo J. Corneal Light Transmission and Roughness After Refractive Surgery. *Optometry and Vision Science*. 2010; 87: 469-474.