



---

**Universidad de Valladolid**

FACULTAD DE CIENCIAS

# **Grado en Óptica y Optometría**

MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO TITULADO

Aplicaciones del ácido hialurónico en la  
superficie ocular

Presentado por: Enara Cendoya Garcia

Tutelado por: Laura García Posadas

Tipo de TFG:  Revisión  Investigación

En Valladolid a, 19 de mayo de 2022

## ÍNDICE

RESUMEN .....	3
1. INTRODUCCIÓN .....	4
2. JUSTIFICACIÓN.....	5
3. OBJETIVOS.....	5
4. MATERIAL Y MÉTODOS .....	5
5. RESULTADOS .....	6
5.1. Ácido hialurónico (AH).....	6
5.1.1. Descubrimiento.....	6
5.1.2. Fuentes de obtención .....	6
5.1.3. Propiedades fisicoquímicas .....	7
5.2. Estructura de la superficie ocular .....	7
5.2.1. Película lagrimal .....	7
5.2.2. Conjuntiva.....	8
5.2.3. Córnea.....	8
5.2.4. Limbo.....	10
5.3. Ácido hialurónico en el ojo .....	10
5.4. Aplicaciones del ácido hialurónico en la superficie ocular.....	10
5.4.1. Como lágrima artificial .....	11
5.4.1.1. En el tratamiento de ojo seco .....	11
5.4.1.2. Para mejorar la estabilidad de la película lagrimal tras cirugía de cataratas .....	12
5.4.2. Como fármaco .....	13
5.4.2.1. Para heridas de la córnea .....	13
5.4.2.2. En trastornos relacionados con estrés oxidativo .....	15
5.4.3. Cómo portador de fármacos para el tratamiento de enfermedades oculares .....	16
5.4.4. Como aditivo en LC para mantener la hidratación y comodidad del paciente .....	18
6. CONCLUSIONES .....	19
BIBLIOGRAFÍA .....	20

## RESUMEN

El ácido hialurónico es un mucopolisacárido al que se le atribuyen propiedades lubricante, regeneradoras y antiinflamatorias, entre otras. Por todo ello, juega un papel importante en medicina, en áreas como la dermatología, ortopedia, oncología y oftalmología. En esta última, tiene varias aplicaciones sobre la superficie ocular, que han ido aumentando en los últimos años. Entre estas aplicaciones, destaca su uso como componente de lágrimas artificiales en el tratamiento de ojo seco y para mejorar la estabilidad de la película lagrimal tras cirugía de cataratas, como fármaco para heridas de la córnea y en trastornos relacionados con estrés oxidativo, como portador de fármacos para el tratamiento de enfermedades oculares y como aditivo en lentes de contacto para mantener la hidratación y comodidad del paciente. En este trabajo se lleva a cabo una revisión bibliográfica sobre todas estas aplicaciones con el objetivo de entender mejor las propiedades del ácido hialurónico y los beneficios que pueden tener sus distintas aplicaciones sobre la superficie ocular.

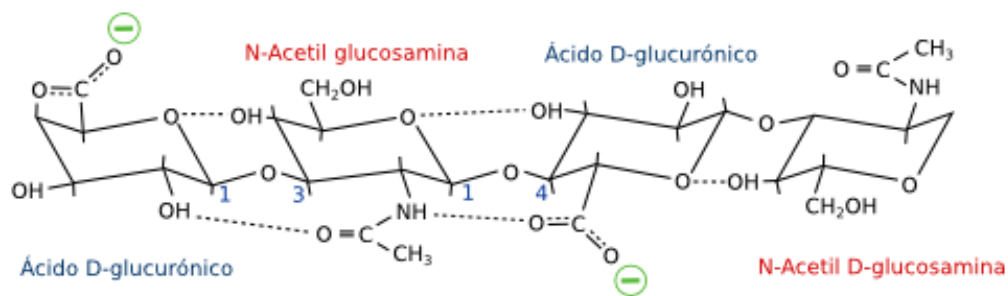
## ABSTRACT

Hyaluronic acid is a mucopolysaccharide with potential lubricant, regenerating and anti-inflammatory properties, among others. For all these reasons, it plays an important role in medicine, in different areas such as dermatology, orthopedics, oncology and ophthalmology. In ophthalmology, it has several applications on the ocular surface, which has increased in recent years. These applications include its use as a component of artificial tears in the treatment of dry eye and to improve the stability of the tear film after cataract surgery, as a drug for corneal wounds and in oxidative stress related disorders, as a drug carrier for the treatment of ocular diseases and as an additive in contact lenses to maintain hydration and patient comfort. In this work, a profound bibliographic review is carried out with the purpose of better understanding the properties of hyaluronic acid and the benefits of its different applications on the ocular surface.

## 1. INTRODUCCIÓN

El ácido hialurónico (AH) es un polisacárido de alto peso molecular que se encuentra en todos los tejidos de cuerpo, sobre todo, en el tejido conectivo del cuerpo, concretamente en la matriz extracelular y recubriendo los vasos sanguíneos (1).

Se genera de forma natural en el organismo y es producido por la enzima Ácido Hialurónico Sintasa (AHS) en la membrana plasmática, compuesto por residuos de los monosacáridos ácido d-glucurónico y N-acetil-d-glucosamina de forma alternante, termina por generar un glucosaminoglicano (**Figura 1**). Por tanto, su uso no debería provocar ninguna respuesta inmunológica (1).



**Figura 1.** Esquema de los componentes del AH, formando el glucosaminoglicano (2)

Las funciones del AH están relacionadas con sus características moleculares. Gracias a la gran propiedad aniónica de dicho ácido, este puede atraer agua para engrosar y aumentar el volumen, regulando el balance hídrico de los tejidos y su osmolaridad y proporcionando soporte estructural. Además, al tener en las células receptores específicos y al encontrarse en los nichos de las células madre participa en la regulación del crecimiento capilar, el reconocimiento y la migración celular. Por otro lado, juega un papel en los procesos de cicatrización y es el principal componente de la matriz extracelular, aportando viscosidad (3).

Teniendo en cuenta dichas propiedades, actualmente, varios derivados del AH son usados en distintas áreas de salud. Su uso más conocido es en el área de dermatología, ya que, en el envejecimiento, se encuentra que la producción tanto del AH, como el del colágeno están disminuidos, provocando de esta manera que la piel pierda las propiedades viscoelásticas y se formen arrugas. Las inyecciones dérmicas de dicho ácido sirven para retrasar la aparición de estas, dando volumen a la piel. También es usado en el área de ortopedia proporcionando estabilidad mecánica a las articulaciones y en oncología por la capacidad de cicatrización celular mencionada anteriormente (4).

En el área de oftalmología, el AH tiene varias funciones: sirve de lubricante, aportando viscosidad a las lágrimas artificiales; se utiliza en procesos quirúrgicos de forma protectora, como en la extracción de cataratas, implantación de lente intraocular, trasplante de córnea, glaucoma, etc. y se usa como sustitutivo del humor vítreo (1,4).

## 2. JUSTIFICACIÓN

El AH es un glucosaminoglicano cuyo uso clínico ha aumentado en estos últimos años en varias áreas de la salud, al haber mostrado tener varios beneficios, sin llegar a provocar efectos adversos severos.

De entre todas las aplicaciones que puede tener el AH a nivel oftalmológico, muchas están relacionadas con la superficie ocular, destacando por su efectividad.

Dada la variedad de aplicaciones en la superficie ocular, y su aumento en los últimos años, se considera necesario la realización de una revisión bibliográfica en la que se recopilará y organizará la información disponible en la literatura científica sobre dichas aplicaciones, estudiando sus ventajas e inconvenientes.

## 3. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es analizar en detalle las funciones del AH a nivel ocular y estudiar en profundidad sus aplicaciones en la superficie ocular.

Los objetivos específicos son los siguientes:

- Detallar las características del AH.
- Describir las estructuras que forman parte de la superficie ocular y la función de esta.
- Revisar las diferentes aplicaciones del AH en la superficie ocular y analizar sus beneficios.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología empleada para realizar este TFG ha sido la realización de una revisión tras una exhaustiva búsqueda bibliográfica en la base de datos científica PubMed y en el buscador Google Scholar, siendo la información recogida en ellos principalmente en inglés y español.

Las palabras clave para dicha búsqueda han sido "*hyaluronic acid*", "*ocular surface*", "*corneal components*", "*hyaluronic acid on eye*", "*eye drops*", "*dry eye*", "*catarats surgery*", "*corneal injury*", "*ROS*", "*oxidative stress*", "*HA nanospheres*", "*ocular drug delivery*" y "*contact lens*".

La búsqueda de artículos sobre la aplicación del AH en la superficie ocular se ha restringido a aquellos publicados a partir del año 2000. Para aspectos introductorios de este trabajo se han empleado algunas referencias anteriores.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Ácido hialurónico (AH)

El AH es un polisacárido lineal compuesto por los disacáridos glucurónico y N-acetil glucosamina (5). Al ser un mucopolisacárido se le atribuyen propiedades lubricantes que están relacionadas con la capacidad para unirse a una cantidad significativa de agua (6). Por estas razones, juega un papel importante en el relleno estructural. Además, influye en varios procesos biológicos como la movilidad celular y la interacción celular y se ha demostrado que tiene actividad antiinflamatoria (7).

#### 5.1.1. Descubrimiento

El AH fue descrito por primera vez en 1934, cuando Karl Meyer y John Palmer escribieron en el "*Journal of Biological Chemistry*" sobre un inusual polisacárido con muy alto peso molecular aislado del vítreo de ojos bovinos que llamaron ácido hialurónico. Aunque estos sean considerados los descubridores del AH, en 1918 Levene y López-Suarez ya habían conseguido aislar un nuevo polisacárido del cuerpo vitreo y del cordón umbilical que llamaron "ácido mucotín-sulfúrico" y que consistía en un glucosamino, ácido glucurónico y una pequeña porción de iones sulfatos. Actualmente, se sabe que se referían al AH extraído con una mezcla de glucosaminoglicanos sulfatados (7).

#### 5.1.2. Fuentes de obtención

Actualmente, se sabe que el AH no es una macromolécula inactiva del tejido conectivo, sino que es un biopolímero metabólicamente activo. Su vida media en las articulaciones es de entre 1 y 30 semanas, en la epidermis y dermis de 1-2 días y en el flujo sanguíneos de 2-5 minutos. Se ha calculado que, durante un día, se sintetizan aproximadamente 5 g de AH. Por otro lado, las cadenas del AH son degradadas por la endoglucanasa y exoglucanasa, llevando a cabo una hidrólisis (7). De esta forma se consigue un balance entre síntesis y degradación.

Debido a sus posibles aplicaciones, se empezó a investigar sobre las fuentes de las que se podría extraer el AH. Inicialmente, la atención se focalizó en la extracción del AH del tejido animal, como el cordón umbilical, el humor vítreo del bovino y la piel y cresta de gallos. Esta última se convirtió en la fuente más usada desde un punto de vista industrial, pero al ser el AH de alto peso molecular era difícil y costoso de aislar. Además, la aplicación biomédica de materiales de fuentes animales está sujeta a un control regulatorio cada vez más estricto, debido al riesgo de contaminación por agentes víricos. Por último, otro inconveniente es que las cantidades que se pueden obtener de estas fuentes son limitadas, y la demanda de AH ha aumentado (6,8).

Por tanto, se intentaron identificar fuentes alternativas para el AH y descubrieron que los estreptococos del grupo A y C de Lancefield, que son patógenos humanos y animales, producen AH, de forma que han sido explotados para el desarrollo de procesos de fermentación a escala industrial. La posibilidad de contaminación con agentes virales no es una preocupación importante y el uso de mutantes no patógenos en los procesos industriales asegura la ausencia de otras impurezas tóxicas. Una ventaja adicional del uso de estreptococos, que se ha hecho evidente en los últimos años, es que la tecnología del ADN recombinante se puede aplicar a estos organismos (6).

### 5.1.3. Propiedades fisicoquímicas

El AH está compuesto por unidades de disacáridos lineales, sin ramificaciones, que consisten en ácido glucurónico (Glc UA) y N-acetilglucosamina (Glc NAC) unidos alternativamente por enlaces  $\beta$  1-3 y  $\beta$  1-4 de glucósidos (9).

Es un miembro de la familia de los glucosaminoglicanos, que incluye el condroitín sulfato, la dermatina y el sulfato de heparina. A diferencia de estos, no se encuentra covalentemente unido a las proteínas y no tiene un grupo sulfato (10).

La molécula de AH en su estado natural tiene un peso molecular de 107 Da, pero la fragmentación natural de la misma provoca que esta molécula se distinga en tres grupos dependiendo de su peso molecular: AH de alto peso molecular, AH de bajo peso molecular y oligómeros u oligosacáridos de AH (11). Las cadenas del AH se disponen en una estructura espiral aleatoria. A altos pesos moleculares, los espirales aleatorios se enredan para formar un gel viscoelástico (10).

Posee un conjunto de características únicas, ya que su solución presenta unas propiedades reológicas inusuales, es muy lubricante e hidrófilo. Esto último se debe a su naturaleza aniónica y al alto número de grupos hidroxilo que permiten la formación de enlaces con el H<sub>2</sub> (9).

## 5.2. Estructura de la superficie ocular

Thoft and Friend fueron los primeros en proponer que la córnea, la conjuntiva, las glándulas lagrimales y los párpados trabajan de forma conjunta formando una estructura a la que llamaron superficie ocular (12). Una definición más actual de la superficie ocular incluye los epitelios de la córnea, conjuntiva y limbo junto con la película lagrimal.

La superficie ocular forma así, la primera barrera física y química del ojo y tiene un importante papel eliminando radicales libres (13).

### 5.2.1. Película lagrimal

La película lagrimal es la interfase entre el epitelio de la córnea y el medio ambiente. Tiene un grosor de aproximadamente 3  $\mu$ m y un volumen de 3-10  $\mu$ L, siendo secretado entre 1-2  $\mu$ L/min, con un pH de 7.14-7.82 (14).

Tiene una composición compleja, conteniendo agua, electrolitos, mucinas y varias proteínas y lípidos. Aunque existan tres tipos de lágrima (basales, reflejas y emocionales), en todas se mantienen relativamente constantes tanto la osmolaridad como las cantidades de lactoferrina, lipocalina-1 y la lisozima. Sin embargo, la cantidad total de proteínas, lípidos e IgA varían, habiendo mayor cantidad de proteínas y lípidos en las lágrimas basales (14).

Estudios han demostrado que la función de las lágrimas es mantener el confort, prevenir infecciones, evitar la inflamación, curar heridas traumáticas y quirúrgicas, eliminar los detritus y mantener una alta calidad de visión. Por tanto, la película lagrimal cubre la superficie ocular y es esencial para proteger al ojo del medio ambiente, lubricándolo, manteniendo una superficie lisa para la refracción de la luz y preservando la salud de la conjuntiva y córnea (15).

Comúnmente, la película lagrimal se ha dividido en tres capas; la mucínica, la acuosa y la lipídica. No obstante, en años recientes se ha descubierto que no hay una distinción clara entre la capa de mucina y acuosa. Aun así, para que sea más ilustrativo, en este trabajo describiremos brevemente las tres capas (16).

La capa mucínica es la capa interna y está formada por mucinas secretadas por las células caliciformes del epitelio de la conjuntiva y en una cantidad menor, por las células acinares de la glándula lagrimal y las epiteliales de la córnea y conjuntiva. Se encarga de estabilizar la capa acuosa anclándola al epitelio corneal hidrofóbico a través del glucocálix, de disminuir la tensión superficial y aumentar la estabilidad de la película lagrimal (14).

La capa acuosa está formada por proteínas, metabolitos, sales inorgánicas, glucosa, oxígeno y electrolitos. Mantiene la lubricación, protección y la salud de la superficie ocular, eliminando los detritus y toxinas (14).

Finalmente, se distingue la capa lipídica que es la capa más externa y es esencial para alargar el tiempo de evaporación de la lágrima. Como su nombre indica, está constituido de lípidos como el colesterol, ésteres de cera, ácidos grasos y fosfolípidos, siendo la mayoría producidos por las glándulas de Meibomio (16).

### 5.2.2. Conjuntiva

La conjuntiva es una membrana mucosa que recubre la parte profunda de los párpados y rodea la parte anterior de la superficie palpebral, donde se extiende hasta la córnea. Estructuralmente, la conjuntiva está formada por un epitelio estratificado que se apoya sobre un estroma laxo. Es un tejido vascularizado, innervado, y que además contiene un tejido linfoide asociado, el CALT (17).

Juega un papel vital en la visión e inmunidad, ya que protege las estructuras del ojo al ser una barrera mecánica para las sustancias externas y proporciona al epitelio la capacidad de cubrir heridas. Como ya se ha mencionado, sus células caliciformes secretan mucinas que forman parte de la película lagrimal y sus abundantes vasos sanguíneos proporcionan sustancias como anticuerpos, complementos y glóbulos blancos, que, a su vez, ofrecen protección (17).

Se diferencia anatómicamente en tres partes: la conjuntiva bulbar (se inserta en el limbo esclerocorneal y recubre la cara anterior del ojo), la conjuntiva tarsal (recubre la cara interna de los párpados) y el fondo de saco (zona de unión de la conjuntiva bulbar y tarsal) (18). Además, presenta dos estructuras especializadas llamadas plica semilunaris y carúncula (19).

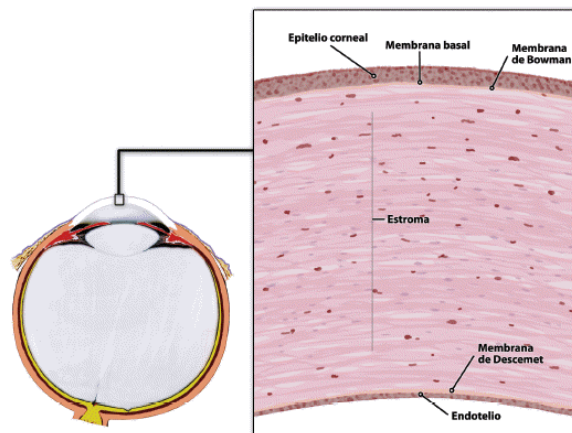
### 5.2.3. Córnea

La córnea es la parte anterior y transparente de la cubierta externa del ojo. Es elíptica y más delgada en el centro ( $\approx 520 \mu\text{m}$ ) que en la periferia ( $\approx 650 \mu\text{m}$ ), debido a que la cantidad de colágeno que se encuentra en periferia es mayor (12).

Teniendo todo ello en cuenta, se calcula que el poder refractivo total de la córnea es de unas 43 dioptrías, aportando así el 70% del poder refractivo ocular (12).



La córnea tiene compuestos tanto celulares (células epiteliales, queratocitos y células endoteliales), como acelulares (colágeno y glucosaminoglicanos) y, a diferencia de la conjuntiva, carece de vasos sanguíneos y linfáticos (19).



**Figura 2.** Esquema de estructura corneal (20)

La córnea está formada por cinco capas (**Figura 2**): epitelio, capa de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio.

El epitelio corneal que está formado por unas 5-6 capas de células que constituyen unas 50  $\mu\text{m}$  de la córnea. Sus células tienen microproyecciones que facilitan la adherencia de la película lagrimal al glucocáliz y fuertes uniones laterales (desmosomas) que crean una barrera anatómica. Además, las células basales son mitóticamente activas y pueden ejercer la función de migración celular. En su parte inferior, se encuentra la membrana basal que está compuesta fundamentalmente por colágeno tipo IV, laminina, fibronectina y fibrina, y desempeña una función de adherencia epitelio-estroma (12,19).

La capa de Bowman se sitúa inmediatamente debajo de la membrana basal del epitelio y es una capa acelular de unos 8-12  $\mu\text{m}$  de espesor. Está compuesta por fibrillas de colágeno tipo I, III, V y XII sin patrón específico (21). En cuanto a su función, no hay ningún estudio suficientemente significativo que pueda afirmar que la capa tenga una función crítica en la fisiología corneal, sino que es una capa indicadora de la interacción epitelio-estroma (22).

El estroma corneal forma el 90% de la estructura de la córnea y proporciona propiedades únicas y necesarias para su función, incluyendo la transparencia, avascularidad y propiedades mecánicas necesarias para la fuerza y mantenimiento de la forma. Está principalmente compuesto por agua (78%), colágeno, proteoglicanos, glucosaminoglicanos y queratocitos (23). Su función depende de la organización del colágeno tipo I en fibrillas y estructuras de mayor orden, conocidas como lamelas. Estas fibrillas están organizadas de manera muy rigurosa, con una distancia uniforme entre ellas, lo cual sumado a la ausencia de pigmentos y vasos, aporta la transparencia corneal (23,24). Por otro lado, el espacio entre lamelas es mayor en el estroma posterior, lo cual ayuda a mantener la forma de la córnea y es responsable de la propiedad birrefringente de la córnea (24,25).

La membrana de Descemet es una lámina basal gruesa producida por el endotelio. Es una estructura de 7-10  $\mu\text{m}$ , que está formada, sobre todo, de colágeno tipo IV y fibronectina (12,23). Esta capa ofrece una comunicación entre

los queratocitos del estroma posterior y el endotelio, proyectando los procesos endoteliales al estroma (19) y a diferencia de la capa de Bowman, esta se desprende del estroma con facilidad, pero se genera con rapidez (19).

Por último, la capa más posterior de la córnea es el endotelio, y está formada por una monocapa de 5µm de grosor de células hexagonales (26). El endotelio es el encargado de mantener la transparencia y fisiología del estroma, lo cual consigue gracias a que las células adyacentes comparten interdigitaciones que contienen GAP y *tight junctions* en los laterales, mientras que la membrana lateral contiene bombas Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/ATPasa. Además, la superficie basal del endotelio contiene numerosos hemidesmosomas que promueven la adhesión a la membrana de Descemet (12,27). Por otro lado, la densidad de sus células disminuye con el avance de los años, pasando de una densidad de 6000 células/mm<sup>2</sup> en el nacimiento a 2600 células/mm<sup>2</sup> en la vejez (12,27). Por ello, un daño endotelial es potencialmente más serio que cualquier daño en otra zona corneal y puede resultar en la pérdida de células y daño irreversible al citoesqueleto endotelial, afectando a la función visual (28).

#### 5.2.4. Limbo

De manera breve, el limbo se define como una zona de transición entre el estroma corneal y la escleral (19).

Tiene una organización fibrilar de la matriz extracelular diferente al del estroma para conectar ambos tejidos y entre algunos cambios destacan la pérdida de transparencia del estroma corneal, junto a la disposición ordenada del colágeno, al igual que su tamaño y diámetro y la terminación de la membrana de Bowman (19,23).

### 5.3. Ácido hialurónico en el ojo

El AH es comúnmente encontrado en tejido conectivo como componente de la matriz extracelular en varias estructuras oculares, pero, sobre todo, en el vítreo. También ha sido encontrada en la superficie conjuntival y células corneales, pero su lugar de síntesis y metabolización no están claros (29).

Hay varios estudios que han medido los niveles de AH en la superficie ocular. Frescura et al. determinaron que la concentración del AH en la película lagrimal variaba entre 12-1900 nm/ml, sin ninguna variación diurna individual. Estos resultados mostraron que el AH está presente de forma soluble en la película lagrimal, aunque no quedó claro si se debe a la liberación de AH localizado en la superficie o como un producto secretado (29).

En otro estudio similar, donde se recogieron lágrimas de pacientes normales y de pacientes con enfermedades de la córnea, se encontró una concentración de AH de 273 ± 266 ng/ml en el primer grupo y 205 ± 134 ng/ml para el segundo (30).

### 5.4. Aplicaciones del ácido hialurónico en la superficie ocular

A lo largo de las últimas décadas se han descrito distintas aplicaciones del ácido hialurónico en la superficie ocular. En este apartado se revisarán y clasificarán dichas aplicaciones.

### 5.4.1. Como lágrima artificial

#### 5.4.1.1. En el tratamiento de ojo seco

El síndrome de ojo seco (SOS) es una enfermedad inflamatoria que puede presentarse de forma acuodeficiente, hiperevaporativa o mixta. En todos los casos los síntomas referidos por los pacientes suelen ser muy poco específicos (ojo rojo, quemazón, picor, sensación de cuerpo extraño...), y, además, a menudo no están relacionados con los signos clínicos que ellos presentan (31).

Las lágrimas artificiales son la primera línea de tratamiento para el SOS y son conocidas por imitar las propiedades de la película lagrimal, pudiendo así suplementar la lágrima y proporcionar la lubricación necesaria (31).

Hay un gran número de lágrimas artificiales en el mercado, y entre sus componentes más frecuentes se encuentran el alcohol polivinilo, povidona, hidroxipropil guar, derivados de celulosa y AH (31).

En 2016, D Pucker et al. realizaron un metaanálisis con el fin de evaluar la efectividad y toxicidad de las lágrimas artificiales de venta libre en el tratamiento de SOS. Entre ellas, encontraron tres que llevaban en su composición AH (32).

La primera comparación se llevaba a cabo con dos lágrimas artificiales de carboximetilcelulosa con AH de diferentes concentraciones (grupo de estudio 1 y 2) y otro tipo de carboximetilcelulosa (grupo de control). El seguimiento completo fue realizado a 286 pacientes, los cuales se debían instilar al menos dos gotas al día. En el resultado subjetivo, se concluyó que hubo una mejoría de síntomas, pero sin diferencias significativas entre ambos grupos. En el resultado objetivo, no hubo diferencias significativas en el BUT, mientras que el test de Schimmer mejoraba significativamente con ambos grupos de estudio en comparación con el control. En las tinciones corneales y conjuntivales se observaron resultados significativamente mejores en el grupo de estudio 1 (32,33).

Realizaron una segunda comparación con 113 pacientes, esta vez entre 0.3% hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y 0.4% AH. En el resultado subjetivo se concluyó que había una disminución significativa de los síntomas en ambos grupos, pero dicha disminución era mayor en el compuesto de AH. Además, en los resultados objetivos se confirmaba la conclusión anterior, pues en la tinción con fluoresceína, rosa de bengala, test de Schimmer y BUT, los resultados fueron significativamente mejores en el grupo con AH, aunque hubiera mejoras con ambas lágrimas. La osmolaridad de la lágrima medida a 57 participantes también disminuía en el grupo con AH (32,34).

Por último, en un estudio de 17 participantes con SOS moderado-severo compararon la combinación trehalosa-AH con el polietilenglicol (PEG) con propil propileno (PG) e hidroxipropil guar (HP). Tanto en el resultado subjetivo, como objetivo, los autores concluyeron que no había diferencias significativas (32,35).

En otro metaanálisis que también tenía como objetivo analizar la eficacia de las lágrimas artificiales con AH, se investigaron 17 estudios realizados entre 1988 y 2018, de los cuales 6 usaron AH en una concentración de 0.1%, mientras los otros 11 usaron una concentración de 0.15-0.4%. El compuesto más común en aquellos sin AH, usados para establecer una comparación, era la

metilcelulosa, aunque también se usaron emulsión, alcohol polivinilo, carbómero y salina. En estos estudios también se utilizaron cuestionarios subjetivos y test objetivos para obtener los resultados. En un análisis combinado se mostró que el grupo de AH mejoraba significativamente la producción de lágrima (test de Schimmer) comparado con las que no tenían AH. Sin embargo, la tinción de la córnea con fluoresceína y el BUT fueron similares en ambos grupos. Por último, en el test de OSDI aquellos con las lágrimas con AH tenían mejores resultados, pero no eran estadísticamente significativos. A pesar de que los resultados fueron más positivos con el compuesto con AH, por las limitaciones del estudio fue difícil concluir que estos fueran clínicamente significativos (36).

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito, se concluye que el AH tiene beneficios como lágrima artificial a la hora de tratar el SOS frente a otros compuestos, ya que en todos ellos las mejorías que se obtenían en los síntomas y signos favorecían a los compuestos con dicho polisacárido. Sin embargo, se debe considerar que todos los estudios mencionados son de grupos pequeños, por lo que sería interesante que se hiciera un mayor estudio en donde los resultados sean más fáciles de extrapolar a la población general.

#### **5.4.1.2. Para mejorar la estabilidad de la película lagrimal tras cirugía de cataratas**

La catarata u opacificación del cristalino es una de las causas más comunes de pérdida de visión, cuya solución es quirúrgica, siendo actualmente el método más común la facoemulsificación (37,38).

Aunque la facoemulsificación sea una de las intervenciones quirúrgicas más ejecutadas, tras ella, es frecuente encontrarse con pacientes que refieran síntomas del SOS por la desestabilización de la lágrima causada por efectos secundarios de la anestesia tópica, la exposición a luz intensa del microscopio e incluso daños a la córnea al realizar sobre ella una incisión (37).

Estos síntomas son tratados al igual que el SOS, por ello, se han realizado varios estudios que comparan la eficacia de distintos tipos de lágrimas artificiales con componentes diferentes. Al igual que en el punto anterior, este trabajo se centrará exclusivamente en aquellos que incluyan AH.

En todos los artículos encontrados en los que se comparaban la efectividad de las lágrimas artificiales con AH con otros compuestos, se valoraron los síntomas a través de cuestionarios de ojo seco y los signos a través del test de Schimmer, BUT y tinción corneal con fluoresceína.

En un primer ensayo clínico randomizado controlado de 2012 se incluyeron 90 pacientes que se dividieron en tres grupos: grupo A o los tratados con antibióticos convencionales, grupo B o los tratados con gotas oculares de hialuronato de sodio y grupo C o los tratados con un gel de carbómero con lípidos. La prevalencia de SOS fue de 56.7% sin diferencias significativas entre los 3 grupos. En el cuestionario de OSDI hubo diferencias entre los 3 grupos, siendo la media de la prueba en el grupo C significativamente menor; la media del BUT en el grupo B y C era significativamente mejor que en el grupo A. Por tanto, en este ensayo clínico se llegó a la conclusión de que el tratamiento con las lágrimas artificiales con lípidos era beneficioso (39).

En estudios retrospectivos que evaluaban los efectos de distintas soluciones oftálmicas con AH en la prevención de SOS tras cirugía de catarata

(tanto en pacientes que previamente presentaban SOS, como en aquellos que no), se ha llegado a la conclusión de que instilar dichas soluciones es efectivo en la protección de la superficie ocular, particularmente si es administrado en el periodo preoperatorio, pues así lo mostraban los resultados obtenidos mediante test subjetivos y objetivos (38,40).

Atendiendo a todos los casos descritos, se puede confirmar que aquellos compuestos con AH ayudan a reducir los síntomas y signos de SOS, aunque se puede observar que otros compuestos como el carbómero tienen el mismo efecto, en algunos casos con mayor efectividad y en otros con menor. Por otro lado, cabe destacar la importancia que puede tener la instilación de las lágrimas artificiales con AH preoperatoriamente, ya que se observa que tanto en los casos en los que no había SOS preoperatoriamente, como en los que sí, funciona de protector y los resultados subjetivos y objetivos obtenidos mejoran tras su instilación previa.

#### 5.4.2. Como fármaco

Debido a sus propiedades previamente descritas, el AH ha sido empleado como principio activo en distintas situaciones.

##### 5.4.2.1. Para heridas de la córnea

En varios estudios se ha demostrado que el AH promueve la migración y reparación de las células epiteliales de la córnea. Para ello, debe unirse a receptores en la células. Entre los receptores de AH, los más estudiados son el CD44 al que el AH se le une de forma extracelular e intracelular, pudiendo interactuar así con proteínas del citoesqueleto y regular la señalización celular, junto a la migración y proliferación (41) y el RHAMM (*receptor for HA-mediated motility*) que al unirse el AH desencadena una cascada de fosforilación implicada en la señalización celular, la migración celular y la proliferación y participa en la modulación de la inflamación aguda y crónica (42).

El CD44 está presente en las células epiteliales de la conjuntiva y córnea y por ello, se cree que este polímero es capaz de acelerar la migración y proliferación celular, pudiendo acelerar así el cierre de úlceras (41). A su vez, también se ha demostrado que el RHAMM está presente en todo el epitelio conjuntival, en tejidos corneales y limbares (42). Además, un estudio ha demostrado que la expresión del ARNm del RHAMM varía dependiendo de las condiciones inflamatorias a la que esté expuesta la superficie ocular (43).

Actualmente, para el tratamiento de las úlceras corneales, se usan fármacos de aplicación tópica que se deben instilar varias veces al día, ya que su efecto sobre la superficie ocular es de corta duración. Para superar esta limitación, se están llevando a cabo varias investigaciones sobre nuevos vehículos que permitan que el fármaco se adhiera mejor al tejido de la conjuntiva o córnea, entre ellos, hidrogeles y micelas poliméricas, nanocápsulas biodegradables o nanoesferas recubiertas de HA (44).

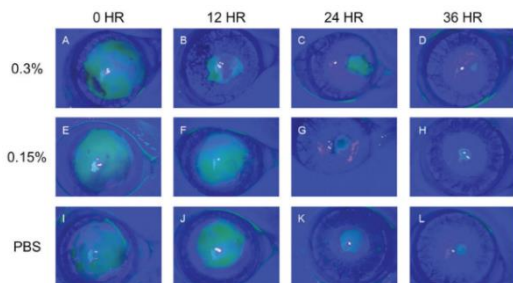
Atendiendo a lo mencionado, se describen a continuación varias investigaciones que han estudiado las propiedades del AH y su eficacia en la reepitelización corneal tras un traumatismo.

En un primer estudio se investigó un gel de uso oftálmico que consistía en un polímero de AH entrecruzado tiolado (CMHA-S) patentado por Jade

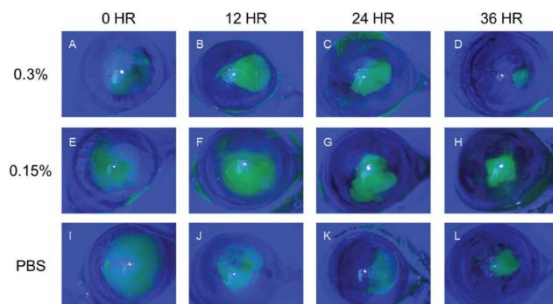
Therapeutics. Este estudio se realizó en conejos blancos de Nueva Zelanda. Se observó que el gel CMHA-S era retenido en la zona inferior del fórnix y era biocompatible 96 h más tarde, sin signos de irritación, rojez o hinchazón ocular, para lo cual usaron de comparación al grupo sin el CMHA-S. Tras producir las quemaduras químicas en la córnea y haber aplicado el gel, se observó la opacidad corneal y la reepitelización a distintos tiempos. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado con CMHA-S y el grupo control sin polímero. Los animales del grupo con CMHA-S presentaron menor opacidad corneal y más reepitelización (45).

El estudio de Carlson et al., que evaluaba los efectos de 6 lágrimas artificiales del mercado que contenían AH, llegó a una conclusión similar. En este estudio se usaron 96 ratones y los traumatismos eran erosiones corneales. Se observó mejoría con el uso de aquellas lágrimas que consisten en un dual de los polímeros HPG y AH, donde se obtenía un promedio y porcentaje del área de reepitelización mayor. Sin embargo, esta investigación presentaba importantes limitaciones, ya que, en este estudio preclínico *in vivo* no se incluyó un grupo control y no se evaluó más allá de las 24 h. (46).

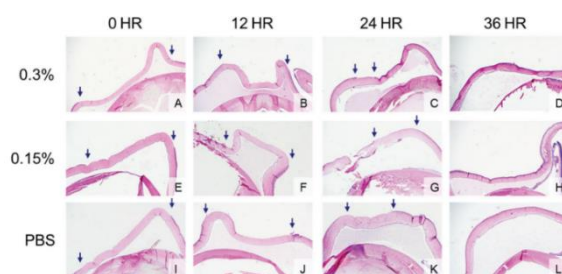
En un tercer estudio, donde se comparaba con el mismo componente las diferencias entre el cierre de una úlcera corneal por quemadura química y una abrasión corneal, se usaron lágrimas artificiales sin conservantes al 0.3% y 0.15% de HA/high-K en ratas Sprague-Dawley. Al grupo control se le instiló PBS. Este estudio llegó a la conclusión de que el compuesto de HA/high-K al 0.3% era el más efectivo en el tratamiento de las abrasiones corneales (**Figuras 3 y 4**). Sin embargo, en las químicas no se observaron diferencias entre los tres grupos (**Figuras 5 y 6**) (41).



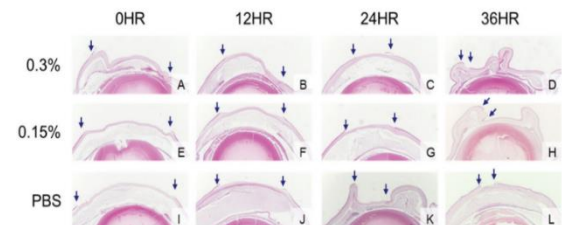
**Figura 3.** Tinción de fluoresceína 0h, 12h, 24h y 36h tras la abrasión mecánica, en tratamientos con lágrimas artificiales al 0.3%, 0.15% y PBS (40)



**Figura 5.** Tinción de fluoresceína 0h, 12h, 24h y 36h tras quemadura de álcali, en tratamientos con lágrimas artificiales al 0.3%, 0.15% y PBS (40)



**Figura 4.** Examen histológico 0h, 12h, 24h y 36h tras la abrasión mecánica, en tratamientos con lágrimas artificiales al 0.3%, 0.15% y PBS (40)



**Figura 6.** Examen histológico 0h, 12h, 24h y 36h tras quemadura de álcali, en tratamientos con lágrimas artificiales al 0.3%, 0.15% y PBS (40)

Finalmente, el estudio de Ho et al. tenía el objetivo de probar que el combinado del s-PRGF (*Serum Rich in Growth Factors*) y AH presentaba efectos sinérgicos en la migración y proliferación de las células epiteliales de la córnea para lograr una reducción del tiempo de cierre de las heridas. Para completarlo, realizaron ensayos *in vitro* e *in vivo* en células epiteliales corneales de conejos e *in vitro* en cultivos de células epiteliales corneales humanas y un análisis inmunohistoquímico. Lo más destacable de este estudio es la diferencia que se pudo observar entre las células humanas y la de los conejos, ya que se comprobó que las células humanas reaccionaban de manera más positiva al AH, mientras que las células de los conejos reaccionaban de la misma manera al AH, s-PRGF y a su combinación. Los autores concluyeron que dicha diferencia se debía a que las células humanas estaban más diferenciadas y reaccionaban más a las señales del microambiente. Por otro lado, el uso combinado de s-PRGF y AH no mostró mejorías en los cultivos de células humanas, cuando se ha visto en otras investigaciones de células de origen mesodérmico que dicha combinación actúa sinérgicamente. Al ser las células del epitelio corneal de origen ectodérmico, se concluye que el efecto de esta combinación dependerá del tipo de célula sobre la que se quiera actuar (44).

Todos estos estudios sugieren un potencial efecto del AH en la reepitelización corneal. No obstante, todos ellos son estudios preclínicos, por lo que debería realizarse algún ensayo clínico para confirmar este efecto en humanos. Además, se puede observar que existen diferencias dependiendo de la profundidad y gravedad de la úlcera también, pudiendo concluir que en aquellas más superficiales puede que tenga mayores beneficios que en las más profundas como la de las quemaduras de álcali que presentan gran penetrabilidad.

#### 5.4.2.2. En trastornos relacionados con estrés oxidativo

Los radicales libres son compuestos reactivos que se producen de forma natural en el cuerpo humano, pudiendo causar distintos efectos. Para limitar los efectos negativos, el sistema antioxidante formado por enzimas antioxidantes y antioxidantes no enzimáticos, se encarga del equilibrio de dichos radicales. Un desequilibrio en el sistema puede llevar al cuerpo a un estado de estrés oxidativo (47).

En el ojo una continua producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) puede causar estrés oxidativo, el cual puede estar relacionado con la propagación de daño celular que conduzca a patologías como SOS, chalasis, DMAE o daño epitelial inducido por rayos UV y tabaco (48).

Macri et al. investigaron el estrés oxidativo en la conjuntiva de pacientes con SOS y evaluaron el efecto de lágrimas artificiales con AH al 0.15 % y vitamina B12 en los niveles de dicho estrés oxidativo. En este estudio se incluyeron 102 pacientes que se iban a someter a cirugía de cataratas y que se dividieron en 3 grupos: 29 pacientes con SOS sin tratamiento (grupo 1), 31 pacientes con SOS que empezaron con el tratamiento mencionado 4 veces al día durante 1 mes antes de la cirugía (grupo 2) y 42 pacientes pertenecientes al grupo control que no presentaban SOS (grupo 3). Los resultados obtenidos tras realizar una biopsia conjuntival mostraron un aumento de estrés oxidativo en la conjuntiva de pacientes con SOS en comparación a pacientes sanos, aumentos significativos en los valores del test de eliminación de fluoresceína y OSDI y una reducción

significativa en el volumen de la lágrima. Además, el grupo con tratamiento con la lágrima con AH redujo significativamente los niveles de estrés oxidativo, el test de eliminación de fluoresceína y OSDI y aumentó el test de Schirmer y BUT, lo cual indica que las lágrimas artificiales con AH al 0.15% y vitamina B12 mejoraban el nivel de estrés oxidativo y el de los síntomas de SOS (48).

Por otro lado, ya se ha mencionado que los rayos UV pueden causar daños epiteliales, al inducir la producción de ROS. Aunque la forma de protección más habitual es el uso de gafas de sol, en condiciones especiales se pueden usar gotas oculares que reduzcan los daños de los rayos UV. Un estudio de 2010 investigó el efecto de las gotas oculares de actinoquinol con AH en la hidratación corneal y absorción de luz. Como grupos control se usaron soluciones salinas y soluciones que sólo contenían AH. El estudio se llevó a cabo en conejos blancos de Nueva Zelanda y se concluyó que la combinación de actinoquinol con AH aplicado durante la radiación UVB en la córnea, disminuía los cambios en la hidratación corneal y absorción de luz e inhibía el daño oxidativo de la córnea. Sin embargo, su eficacia como protección fue limitado debido a la dosis baja de UVB (49).

Por último, otro estudio investigó el efecto sinérgico del AH y el arabinogalacta (AG) en la curación de tejidos oculares inflamados. Este estudio *in vitro* concluyó que la combinación de AG y AH tenía un efecto sinérgico y contribuía a la disminución de ROS (50).

Teniendo en cuenta lo mencionado, se puede concluir que el AH puede provocar una disminución en la formación de radicales libres de oxígeno que, a su vez, evitará el estrés oxidativo. Sin embargo, se considera que se deben realizar mayores estudios, y a poder ser *in vivo*, para poder afirmar de forma rotunda esta propiedad, ya que se observa que incide en varias patologías oculares.

#### **5.4.3. Cómo portador de fármacos para el tratamiento de enfermedades oculares**

Ya se ha mencionado anteriormente que la aplicación tópica de medicamentos en el ojo es limitada debido a las lágrimas reflejas o el reflejo de parpadear y porque una gran parte es absorbida por la conjuntiva o eliminada a través del canal nasolagrimal. Consecuentemente, estas formas convencionales no proporcionan un mantenimiento adecuado de la concentración del fármaco en el lugar de acción por un largo periodo de tiempo. Además, la parte absorbida llega a la circulación sistémica pudiendo producir efectos secundarios (51).

Para mejorar el tiempo de resistencia precorneal y la habilidad de penetración del ingrediente activo se han evaluado varias estrategias. Entre ellas, una consiste en usar sistemas coloidales de transporte de fármacos como las micropartículas, los liposomas y las nanopartículas, los cuales proporcionan mayor biodisponibilidad y disminuyen los efectos secundarios sistémicos. Entre los polímeros bioadhesivos investigados, el AH destaca por su gran biocompatibilidad y propiedades mucoadhesivas y reológicas, con las cuales consigue unirse a la capa mucínica de la película lagrimal con uniones no covalentes. Aunque la bioadhesividad permite que haya mayor biodisponibilidad, la eliminación de la zona precorneal sigue siendo afectada por la gran viscosidad de las soluciones instiladas, incluso pudiendo obstruir el punto y canalículo lagrimal (51,52).



Para evitarlo, un estudio se dedicó a diseñar un nuevo sistema de transporte de fármacos oculares basados en la biodegradación de las nanoesferas recubiertas por polímeros bioadhesivos, concretamente, se trataba de poli- $\epsilon$ -caprolactona (PCL) rodeado por una corona bioadhesiva de AH. En el estudio se dividieron tres grupos en base a la forma de recubrimiento del fármaco: recubriendo la PCL en la formación de partículas mediante un cruzamiento de cadenas con AH, recubriendo una nanoesfera de PCL mediante adsorción de AH y recubriendo una nanoesfera de PCL mediante interacciones electrostáticas entre cargas negativas de AH y surfactante catiónicos. Para lo último, se usaron dos surfactantes catiónicos, uno lipídico (estearilamina, SA) y cloruro de benzalconio (BKC) y para medir la cantidad del AH en las nanoesferas se utilizó la técnica de radioinmunoensayo (RIA) (51).

Se concluyó que el AH es absorbido en nanoesferas recubiertas de PCL cargadas positivamente (recubiertas con SA o BKC) y que interactúa de manera leve con la superficie hidrofóbica de la nanoesfera de PCL. Este resultado muestra que hay una posibilidad de usar surfactantes catiónicos para conseguir una capa de AH mediante interacciones electrostáticas. Entre la SA y BKC, el BKC se unía de manera más firme a la matriz de PCL y la cantidad de AH encontrada era mayor (41.6  $\mu\text{g}$  HA/mg PCL), pero además en otros estudios, se ha demostrado que el AH disminuye la toxicidad del BKC, lo cual es beneficioso (51,53).

Teniendo todo ello en cuenta, en un estudio se puso a prueba dicha estrategia para evaluar la biodisponibilidad ocular de la ciclosporina A (Cy A). La Cy A inhibe la activación de células T-auxiliar bloqueando la producción de la interleucina-2, una citoquina clave para respuesta inmune inflamatoria. Además, es beneficioso en tratamientos de varias enfermedades inmunes oculares, como la queratoconjuntivitis vernal, escleritis necrotizante y síndrome de Behçet. Este estudio utilizó conejos machos de Nueva Zelanda divididos en tres grupos: aquellos que recibieron Cy A en solución oleosa (grupo 1, grupo control), los que recibieron Cy A en nanoesferas de PLC/BKC (grupo 2) y los que recibieron Cy A en nanoesferas de PLC/BKC recubiertas de AH (grupo 3) (53).

Tras la investigación, las formulaciones de nanoesferas obtuvieron una mayor concentración de Cy A en córnea en las primeras 24h, aunque la concentración de Cy A y la dosis usadas fueran menores en ellas. Aun así, se observó que la difusión al humor acuoso fue muy limitada, resultado indetectable en un 19.4% de los casos. Por otro lado, se recolectó lágrima con el test de Schirmer durante 15 segundos y se encontraron niveles bajos de Cy A en las lágrimas en los grupos que usaron nanopartículas, pudiendo indicar que estas fueron bien toleradas, debido a la presencia del AH que se usa como un polímero adhesivo (53).

En conclusión, los resultados demostraron que las formulaciones de nanoesferas son capaces de distribuir altas concentraciones de ciclosporina A a la córnea y los sistemas de nanopartículas de cloruro de benzalconio y poli- $\epsilon$ -caprolactona recubiertas de AH se muestran prometedores para el tratamiento local de la enfermedad corneal inmunomediada. A pesar de ello, se debe recalcar que el uso racional de los AH para aumentar la eficiencia de la liberación ocular de fármacos se requiere de acuerdo con las características de la enfermedad a tratar y el tipo de fármaco administrado. De hecho, hasta que el AH se utilice de

forma más extensa como vehículo, es posibles que se encuentren ciertas limitaciones (52,53).

#### **5.4.4. Como aditivo en lentes de contacto para mantener la hidratación y comodidad del paciente**

Las lentes de contacto blandas se pueden dividir en dos clases basándose en su material: hidrogeles convencionales (LCH) e hidrogeles de silicona (LCHSi). Estos últimos, tienen mayor permeabilidad al oxígeno, pero son más hidrofóbicos, pudiendo provocar mayor irritación. Por otro lado, la hidratación y la hidrofiliidad de la superficie de las LCH mejoran la permeabilidad y humectación. La mayoría de estas LC se basan en el polihidroxietil metacrilato que se deshidrata con cierta facilidad una vez colocada en el ojo (54,55).

Una lubricación inadecuada con lentes de contacto puede causar la disrupción de la película lagrimal y está asociada a signos como epitelopatía en parabrisas y pliegues paralelos conjuntivales (lipcof) (56).

Para minimizar la deshidratación y la acumulación proteica en las LCH, se emplean varios tratamientos químicos que modifican la superficie o la lente completamente. El dopaje o anclaje de agentes humectantes poliméricos altamente higroscópicos ha sido el enfoque más comúnmente perseguido. Se empezaron a utilizar materiales sintéticos como el alcohol polivinílico (PVA) o el polietilenglicol (PEG). Sin embargo, tienen limitaciones. Por ello, algunos investigadores se han centrado en el uso del AH como agente humectante (55).

Existen varios métodos para incorporar el AH en la masa de la lente de contacto como el cross-linkig o para inmovilizar el AH en la superficie, pero todos ellos están obstaculizados por la cantidad de pasos que requiere realizarlos. Por ello, desde hace algunos años se propone el proceso químico “click” para facilitar y conseguir de manera más directa y con alto rendimiento la funcionalización del AH en la lente de contacto. El “click” consiste en la oxidación del pHEMA con laca/TEMPO y la posterior inmersión en una solución de HA funcionalizada con hidrazida, uniendo así covalentemente el AH a la superficie de una LCH (55).

En varios estudios se ha demostrado que las LCH modificadas con AH mejoran la retención de agua superficial, reducen la adsorción de proteínas y eliminan las lágrimas más lentamente, lo que aumenta considerablemente la comodidad. Además, mejoran su biocompatibilidad con las células epiteliales de la córnea humana (54). Más concretamente, un estudio describe que la presencia del AH en LCHSi aumenta la hidrofiliidad y consigue que haya un equilibrio en el contenido acuoso sin afectar a la transparencia. Además, disminuye la sorción de lisozimas y aunque no tuviera ningún efecto sobre la desnaturalización de la lisozima en los hidrogeles que contenían un 0% y un 1,7% de ácido metacrílico (MAA) (en peso), cuando se aumentó la cantidad de MAA hasta el 5%, el nivel de desnaturalización de la lisozima fue significativamente menor en comparación con los materiales de control (57). Otro estudio confirmó que la distribución del AH dentro de los hidrogeles parece afectar a la desnaturalización, siendo el AH de menor peso molecular y más móvil en la superficie más eficaz para evitar la desnaturalización (58).

Estos resultados sugieren que el AH tiene un gran potencial para ser utilizado como agente humectante en las LCH y LCHSi para mejorar la humectabilidad y disminuir la sorción y desnaturalización de la lisozima (57).

## 6. CONCLUSIONES

El AH es un mucopolisacárido al que se le atribuyen propiedades lubricantes, regeneradoras y antiinflamatorias. La principal conclusión de este trabajo es que el AH, debido a estas propiedades, presenta numerosas aplicaciones beneficiosas para la superficie ocular.

Las características del AH hacen que este pueda emplearse de distintas formas en la superficie ocular: como lágrima artificial, en hidrogeles, como componente de nanopartículas y como aditivo en lentes de contacto.

Actualmente, existen en el mercado distintas lágrimas artificiales que incluyen AH en su composición. Aunque varios trabajos han mostrado mejorías en los síntomas y signos que puede provocar, debe tenerse en consideración el tamaño muestral de los estudios que se han realizado y se debe destacar la necesidad de un estudio de mayor tamaño para poder extrapolar de forma completamente segura a la sociedad las conclusiones a las que se ha llegado.

Como fármaco el AH se ha estudiado en el tratamiento de heridas corneales y en trastornos asociados al estrés oxidativo. En cuanto al primero, las investigaciones llevadas a cabo son pequeñas y no se han encontrado ensayos clínicos, por lo que llegar a una conclusión es complicado. Aun así, existe la hipótesis de que la respuesta de las células al AH en úlceras corneales puede depender del origen que tengan. Por tanto, la importancia de que las investigaciones se lleven a cabo en ojos humanos o en especies que tengan el mismo origen celular en las células epiteliales corneales cobra mayor importancia. En cuanto a su potencial en el tratamiento de estrés oxidativo, se puede concluir que el AH puede producir una disminución en la formación de radicales libres de oxígeno que, a su vez, evitará el estrés oxidativo, aunque también sigue existiendo esa necesidad de realizar estudios *in vivo* que puedan confirmar las afirmaciones de las investigaciones *in vitro*.

Los resultados de los estudios que han empleado AH como vehículo para fármacos demuestran que las nanoesferas poli- $\epsilon$ -caprolactona recubiertas de AH se muestran prometedoras para el tratamiento local de las enfermedades inmunes de la córnea, ya que se evita que gran parte del fármaco sea absorbido por la vía lagrimal o eliminado rápidamente a través del parpadeo, aumentando el tiempo de acción de estas. Como en los puntos anteriores, se recalca la necesidad de investigaciones mayores que pueden afirmar estas conclusiones, ya que sería un avance importante para el tratamiento de varias patologías.

Finalmente, se puede concluir que ha suficiente evidencia científica sobre la utilidad de emplear AH como aditivo en las LC, donde el AH actúa como un agente humectante que además de aportar mayor confort, disminuye la sorción y desnaturalización de la lisozima y, por ende, la formación de depósitos proteicos que aumentan la incomodidad y disminuyen las horas de uso.

Atendiendo a todo ello, se debe hacer hincapié en que el AH es un polisacárido prometedor que tiene varias aplicaciones que pueden ser de gran utilidad en el área de oftalmología, pero la mayoría de ellas se encuentran en desarrollo o no han sido aplicadas en ensayos clínicos. Por tanto, es muy importante incitar la realización de investigaciones sobre esta partícula para poder concluir de forma clara cuáles son los efectos favorables que puede tener su uso en la superficie ocular.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Ortega MM, Espinoza PC, Suazo S, Jiménez AN, Rubio F, Breve L. APLICACIÓN CLÍNICA DEL ÁCIDO HIALURÓNICO. 2015;9.
2. Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal. La célula <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/ampliaciones/2-hialuronico.php> [consultado 15 de febrero de 2022]
3. Fraser JRE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med.* 1997;242(1):27-33.
4. Walker K, Basehore BM, Goyal A, Zito PM. Hyaluronic Acid. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482440/>
5. Cantor JO, Nadkarni PP. Hyaluronan: the Jekyll and Hyde molecule. *Inflamm Allergy Drug Targets.* diciembre de 2006;5(4):257-60.
6. O'Regan M, Martini I, Crescenzi F, De Luca C, Lansing M. Molecular mechanisms and genetics of hyaluronan biosynthesis. *Int J Biol Macromol.* diciembre de 1994;16(6):283-6.
7. Selyanin MA, Boykov PY, Khabarov VN. Hyaluronic acid: Preparation, properties, application in biology and medicine. 2014. 1 p.
8. Milas M, Rinaudo M. Characterization and properties of hyaluronan. *Polysaccharides.* 2004;535-50.
9. Saranraj P. Hyaluronic acid production and application: A Review. 2013;
10. Calles JA, Tártara I, Palma SD. El ácido hialurónico y sus aplicaciones oftalmológicas. :5.
11. Baeva LF, Lyle DB, Rios M, Langone JJ, Lightfoote MM. Different molecular weight hyaluronic acid effects on human macrophage interleukin 1 $\beta$  production. *J Biomed Mater Res A.* 2014;102(2):305-14.
12. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol.* 2018;66(2):190-4.
13. Chen Y, Mehta G, Vasiliou V. Antioxidant Defenses in the ocular surface. *Ocul Surf.* 2009;7(4):176-85.
14. Chang AY, Purt B. Biochemistry, Tear Film. En: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572136/>
15. Pflugfelder SC, Stern ME. Biological Functions of Tear Film. *Exp Eye Res.* 2020;197:108115.
16. Gipson IK. The Ocular Surface: The Challenge to Enable and Protect Vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(10):4390-8.
17. Nichols BA. Conjunctiva. *Microsc Res Tech.* 1996;33(4):296-319.
18. Tong L, Lan W, Petznick A. Definition of the Ocular Surface. *Ocul Surf Anat Physiol Disord Ther Care.* 2012;1.
19. Arffa R., Superficie ocular, En: Arffa R., Enfermedades de la córnea, Grayson, 1993.
20. Fernández A, Moreno J, Prósper F, García M, Echeveste J. Regeneración de la superficie ocular: stem cells/células madre y técnicas reconstructivas. *An Sist Sanit Navar.* 2008;31(1):53-69.
21. Wilson SE. Bowman's layer in the cornea— structure and function and regeneration. *Exp Eye Res.* 2020;195:108033.
22. Wilson SE, Hong JW. Bowman's Layer Structure and Function: Critical or Dispensable to Corneal Function? A Hypothesis. *Cornea.* 2000;19(4):417-20.
23. Espana EM, Birk DE. Composition, Structure and Function of the Corneal Stroma. *Exp Eye Res.* 2020;198:108137.
24. Dutta P. Anatomy of Cornea, <https://www.eophtha.com/posts/anatomy-of-cornea> [5 de marzo de 2022]
25. Meek KM, Knupp C. Corneal structure and transparency. *Prog Retin Eye Res.* 2015;49:1-16.
26. Tuft SJ, Coster DJ. The corneal endothelium. *Eye.* 1990;4(3):389-424.
27. Bourne, W. Biology of the corneal endothelium in health and disease. *Eye.* 2003; 17, 912–918.
28. Zavala J, López Jaime GR, Rodríguez Barrientos CA, Valdez-García J. Corneal endothelium: developmental strategies for regeneration. *Eye.* 2013;27(5):579-88.
29. Frescura M, Berry M, Corfield A, Carrington S, Easty DL. Evidence of hyaluronan in human tears and secretions of conjunctival cultures. *Biochem Soc Trans.* 1994;22(2):228S.

30. Paves L, Martins JRM, Manso PG, Coelho BV, Furlaneto RP, Nader HB. Tear Concentration of Hyaluronic Acid in Normal Subjects and Patients With Graves Ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(13):1965.
31. Messmer EM. The Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Dry Eye Disease. *Dtsch Arztebl Int.* 2015;112(5):71-82.
32. Pucker AD, Ng SM, Nichols JJ. Over the counter (OTC) artificial tear drops for dry eye syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;2016(2):CD009729.
33. Simmons PA, Liu H, Carlisle-Wilcox C, Vehige JG. Efficacy and safety of two new formulations of artificial tears in subjects with dry eye disease: a 3-month, multicenter, active-controlled, randomized trial. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2015;9:665-75.
34. Iester M, Orsoni GJ, Gamba G, Taffara M, Mangiafico P, Giuffrida S, et al. Improvement of the ocular surface using hypotonic 0.4% hyaluronic acid drops in keratoconjunctivitis sicca. *Eye Lond Engl.* 2000;14(Pt 6):892-8.
35. Pinto-Bonilla JC, del Olmo-Jimeno A, Llovet-Osuna F, Hernández-Galilea E. A randomized crossover study comparing trehalose/hyaluronate eyedrops and standard treatment: patient satisfaction in the treatment of dry eye syndrome. *Ther Clin Risk Manag.* 2015;11:595-603.
36. Yang YJ, Lee WY, Kim Y jin, Hong Y pyo. A Meta-Analysis of the Efficacy of Hyaluronic Acid Eye Drops for the Treatment of Dry Eye Syndrome. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(5):2383.
37. Caretti L, La Gloria Valerio A, Piermarocchi R, Badin G, Verzola G, Masarà F, et al. Efficacy of carbomer sodium hyaluronate trehalose vs hyaluronic acid to improve tear film instability and ocular surface discomfort after cataract surgery. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2019;13:1157-63.
38. Favuzza E, Cennamo M, Vicchio L, Giansanti F, Mencucci R. Protecting the Ocular Surface in Cataract Surgery: The Efficacy of the Perioperative Use of a Hydroxypropyl Guar and Hyaluronic Acid Ophthalmic Solution. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2020;14:1769-75.
39. You R, Wang J, Han Y, Liu LJ, Wang WY. [Comparison of two kinds of artificial tears on the dry eye after phacoemulsification]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi Chin J Ophthalmol.* 2017;53(6):445-50.
40. Mencucci R, Favuzza E, Decandia G, Cennamo M, Giansanti F. Hyaluronic Acid/Trehalose Ophthalmic Solution in Reducing Post-Cataract Surgery Dry Eye Signs and Symptoms: A Prospective, Interventional, Randomized, Open-Label Study. *J Clin Med.* 2021;10(20):4699.
41. Ho WT, Chiang TH, Chang SW, Chen YH, Hu FR, Wang IJ. Enhanced corneal wound healing with hyaluronic acid and high-potassium artificial tears. *Clin Exp Optom.* 2013;96(6):536-41.
42. García-Posadas L, Contreras-Ruiz L, López-García A, Villarón Álvarez S, Maldonado MJ, Diebold Y. Hyaluronan receptors in the human ocular surface: a descriptive and comparative study of RHAMM and CD44 in tissues, cell lines and freshly collected samples. *Histochem Cell Biol.* 2012;137(2):165-76.
43. García-Posadas L, Contreras-Ruiz L, Arranz-Valsero I, López-García A, Calonge M, Diebold Y. CD44 and RHAMM hyaluronan receptors in human ocular surface inflammation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2014;252(8):1289-95.
44. Suárez-Barrio C, Etxebarria J, Hernández-Moya R, Del Val-Alonso M, Rodríguez-Astigarraga M, Urkaregi A, Freire V, Morales MC, Durán JA, Vicario M, Molina I, Herrero-Vanrell R, Andollo N. Hyaluronic Acid Combined with Serum Rich in Growth Factors in Corneal Epithelial Defects. *Int J Mol Sci.* 2019;3;20(7):1655.
45. Griffith GL, Wirostko B, Lee HK, Cornell LE, McDaniel JS, Zamora DO, et al. Treatment of corneal chemical alkali burns with a crosslinked thiolated hyaluronic acid film. *Burns J Int Soc Burn Inj.* 2018;44(5):1179-86.
46. Carlson E, Kao WWY, Ogundele A. Impact of Hyaluronic Acid-Containing Artificial Tear Products on Reepithelialization in an In Vivo Corneal Wound Model. *J Ocul Pharmacol Ther Off J Assoc Ocul Pharmacol Ther.* 2018;34(4):360-4.
47. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative Stress. *Sports Med.* 2006;36(4):327-58.
48. Macri A, Scanarotti C, Bassi AM, Giuffrida S, Sangalli G, Traverso CE, et al. Evaluation of oxidative stress levels in the conjunctival epithelium of patients with or without dry eye, and dry eye patients treated with preservative-free hyaluronic acid 0.15 % and vitamin B12 eye drops. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 2015;253(3):425-30.

49. Čejka Č, Luyckx J, Ardan T, Pláteník J, Širc J, Michálek J, et al. The effect of actinoquinol with hyaluronic acid in eye drops on the optical properties and oxidative damage of the rabbit cornea irradiated with UVB rays. *Photochem Photobiol.* 2010;86(6):1294-306.
50. Silvani L, Bedei A, De Grazia G, Remiddi S. Arabinogalactan and hyaluronic acid in ophthalmic solution: Experimental effect on xanthine oxidoreductase complex as key player in ocular inflammation (in vitro study). *Exp Eye Res.* 2020;196:108058.
51. Barbault-Foucher S, Gref R, Russo P, Guechot J, Bochot A. Design of poly-ε-caprolactone nanospheres coated with bioadhesive hyaluronic acid for ocular delivery. *J Controlled Release.* 2002;83(3):365-75.
52. Zhang X, Wei D, Xu Y, Zhu Q. Hyaluronic acid in ocular drug delivery. *Carbohydr Polym.* 2021;264:118006.
53. Yenice İ, Mocan MC, Palaska E, Bochot A, Bilensoy E, Vural İ, et al. Hyaluronic acid coated poly-ε-caprolactone nanospheres deliver high concentrations of cyclosporine A into the cornea. *Exp Eye Res.* 2008;87(3):162-7.
54. Chang WH, Liu PY, Lin MH, Lu CJ, Chou HY, Nian CY, et al. Applications of Hyaluronic Acid in Ophthalmology and Contact Lenses. *Molecules.* 2021;26(9):2485.
55. Deng X, Korogiannaki M, Rastegari B, Zhang J, Chen M, Fu Q, et al. «Click» Chemistry-Tethered Hyaluronic Acid-Based Contact Lens Coatings Improve Lens Wettability and Lower Protein Adsorption. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2016;8(34):22064-73.
56. Korogiannaki M, Samsom M, Matheson A, Soliman K, Schmidt TA, Sheardown H. Investigating the Synergistic Interactions of Surface Immobilized and Free Natural Ocular Lubricants for Contact Lens Applications: A Comparative Study between Hyaluronic Acid and Proteoglycan 4 (Lubricin). *Langmuir ACS J Surf Colloids.* 2021;37(3):1062-72.
57. Weeks A, Luensmann D, Boone A, Jones L, Sheardown H. Hyaluronic acid as an internal wetting agent in model DMAA/TRIS contact lenses. *J Biomater Appl.* 2012;27(4):423-32.
58. Weeks A, Boone A, Luensmann D, Jones L, Sheardown H. The effects of hyaluronic acid incorporated as a wetting agent on lysozyme denaturation in model contact lens materials. *J Biomater Appl.* 2013;28(3):323-33.