



Universidad de Valladolid



MÁSTER EN SUBESPECIALIDADES OFTALMOLÓGICAS

(MSOF)

Superficie Ocular

Curso académico 2021-2022

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**ESTUDIOS CLÍNICOS DE TERAPIA CON CÉLULAS MADRE PARA PATOLOGÍA
DE LA SUPERFICIE OCULAR**

Estudiante: Juliana Ocampo Candamil

Tutora: Prof. Dra. Margarita Calonge Cano

RESUMEN

OBJETIVO. La terapia celular con células madre de estirpe epitelial y origen ocular está ya establecida como la de elección, en forma de trasplantes sobre la superficie ocular, para los síndromes de insuficiencia limbar (SIL). Este trabajo pretende averiguar si también es posible aplicar terapia celular para otras patologías graves de la superficie ocular, con otros posibles tipos celulares más ventajosos y usando otras vías que faciliten su administración.

MATERIALES Y METODOS. Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica incluyendo las publicaciones científicas sobre terapia celular con células madre o sus productos para cualquier tipo de patología de la superficie ocular. Se han usado los buscadores y las bases de datos de PubMed, Science Direct y Scopus, seleccionando múltiples palabras clave relacionadas con la temática, en español e inglés, sin límite de fecha anterior y hasta la actualidad. Se ha aplicado, a cada publicación incluida, un nivel de evidencia y de recomendación.

RESULTADOS. Se incluyeron 37 publicaciones de terapias con células madre para la patología de la superficie ocular. Se encontraron numerosas publicaciones sobre trasplantes de células epiteliales limbares cultivadas (CLET), todas ellas para el tratamiento del SIL, por lo que se seleccionaron las 15 en las que se comparaba CLET autólogo con alogénico o con alguna otra técnica; la tasa de éxito varió entre un 59% y un 100%. Como tratamiento con células de estirpe epitelial pero extraoculares, se incluyeron 26 publicaciones que trasplantaban células epiteliales cultivadas proveniente de mucosa oral autóloga (COMET) para el tratamiento del SIL; tenían una tasa de éxito entre el 50% y 100%, pero presentaron tasas importantes de defectos epiteliales persistentes e incrementos de neovascularización corneal. Por último, y utilizando como tipo celular no epitelial extraocular, se obtuvieron 6 publicaciones usando células madre mesenquimales (MSC) de médula ósea o tejido adiposo para SIL, enfermedad de ojo seco (EOS) grave, causticación aguda o ectasias corneales graves y tanto en trasplante sobre membrana amniótica como en inyecciones intravenosa o locales; el más reciente de dichos trabajos, abordó el uso de exosomas derivados de MSC de cordón umbilical por vía tópica para EOS grave; la tasa de éxito varió entre el 55% y el 100%.

CONCLUSIONES. La superficie ocular dañada por las diversas patologías conducentes a SIL puede abordarse ya de manera suficientemente demostrada mediante CLET, tanto autólogo como alogénico, así como como con trasplante de MSC alogénicas. También pueden usarse células epiteliales extraoculares (COMET), aunque con dudas pendientes de solventar sobre su eficacia. Además, ya existen ensayos clínicos con células madre de estirpe no epitelial y extra-oculares, siendo la MSC la célula universalmente elegida. Pero no sólo se ha demostrado su eficacia en forma de trasplante para SIL, sino también, aunque de forma preliminar, para otras patologías como la EOS grave, las causticaciones agudas y las ectasias corneales avanzadas.

Palabras clave. Célula madre epitelial limbar, célula madre mesenquimal, ectasia corneal, enfermedad de la superficie ocular, enfermedad de ojo seco, ingeniería de tejidos, medicina regenerativa, terapia con células madre, síndrome de insuficiencia limbar.

ABSTRACT

PURPOSE. Cell therapy based on stem cells, from epithelial lineage and ocular origin, is already established as a therapeutic option, in the form of transplants on the ocular surface, for limbal stem cell deficiency (LSCD). This work aims to find out if it is possible to apply cell therapy for other severe ocular surface pathologies, with other more advantageous cell types, and using other routes that facilitate its administration.

MATERIAL AND METHOD. We conducted a scientific literature search including publications on cell therapy with stem cells or their products for any type of ocular surface pathology. We used PubMed, Science Direct and Scopus search engines and databases, selecting multiple keywords related to the subject, in Spanish and English, with no previous date limit and up to the present. A level of evidence and a recommendation was applied to each publication.

RESULTS: Thirty-seven publications were included. As numerous publications on cultured limbal epithelial cell transplants (CLET) were found, all of them for the treatment of LSCD, we selected 15 in which autologous CLET was compared with allogeneic CLET or with some other techniques. The success rate varied between 59% and 100%. As cell therapy with stem cells of epithelial lineage but extraocular lineage, 26 publications were included that transplanted cultured epithelial cells from autologous oral mucosa (COMET) for the treatment of LSCD; they had a success rate between 50% and 100%, but presented significant rates of persistent epithelial defects and increased corneal neovascularization. Finally, and as a non-epithelial and extraocular stem cell type, 6 publications were retrieved using mesenchymal stem cells (MSC) from bone marrow or adipose tissue for LSCD, severe dry eye disease (DED), acute ocular burns, or severe corneal ectasias, both as transplant on amniotic membrane and in intravenous or local injections. The most recent of these works addressed the use of exosomes from umbilical cord-derived MSC topically applied for severe DED; the success rate varied between 55% and 100%.

CONCLUSIONS: The ocular surface failure due to the different pathologies leading to LSCD, can already be addressed in a sufficiently demonstrated manner by means of CLET, both autologous and allogeneic, as well as with allogeneic MSC transplantation. Extraocular epithelial cells from oral mucosa (COMET) can also be used, although doubts about their efficacy remain to be solved. In addition, there are already clinical trials with non-epithelial and non-ocular stem cells, with MSC being the universally chosen cell. In this last case, its efficacy has not only been demonstrated in the form of a transplant for LSCD, but also for other pathologies such as severe DED, acute ocular burns, and advanced corneal ectasias.

Keywords: Limbal epithelial stem cell, mesenchymal stem cell, corneal ectasia, ocular surface disease, dry eye disease, tissue engineering, regenerative medicine, stem cell therapy, limbal stem cell deficiency.

ABREVIATURAS

- Alo: Alogénico
- Auto: Autólogo
- CELC: Células epiteliales limbares cultivadas
- CLET: Trasplante de células limbares epiteliales cultivadas (“cultivated limbal epithelial transplantation”).
- COMET: Trasplante de células epiteliales de mucosa oral cultivadas (“cultivated oral mucosa epithelial cell transplantation”).
- EICH: Enfermedad de injerto contra huésped.
- EOS: Enfermedad de ojo seco.
- IOBA: Instituto de Oftalmobiología Aplicada
- LTT: Trasplante de tejido limbar (“limbal tissue transplantation”)
- MA: membrana amniótica
- MeSH: Medical subject headings
- MSC: Células madre (estromales) mesenquimales (“mesenchymal stem -stromal- cells).
- SIGN: Scottish Intercollegiate Guidelines Network
- SIL: Síndrome de insuficiencia limbar (“limbal stem cell deficiency”)
- UVa: Universidad de Valladolid

INDICE

INTRODUCCION y JUSTIFICACION	Pág. 1
HIPOTESIS y OBJETIVOS	Pág. 6
MATERIALES y METODOS	Pág. 7
RESULTADOS y DISCUSION	Pág. 9
CONCLUSIONES	Pág. 21
BIBLIOGRAFIA	Pág. i-iv

INTRODUCCIÓN y JUSTIFICACION

La superficie ocular comprende la película lagrimal, la córnea, la conjuntiva y el limbo esclero-corneal. Las enfermedades de la superficie ocular son, sin duda, las más frecuentemente padecidas, ya que la superficie ocular es el tejido epitelial en contacto con el exterior y es por tanto el expuesto primariamente a gérmenes, tóxicos, alérgenos, traumatismos o condiciones ambientales adversas. Afortunadamente, muchas de ellas curan sin secuelas. Pero otras muchas patologías causan patología crónica que llevan al padecimiento de síntomas crónico, incluso dolor y/o a la ceguera, con la consiguiente afectación de la calidad de vida visual y global del paciente.

Una de las patologías más graves de la superficie ocular es la ocasionada por una incapacidad de regeneración del epitelio corneal debido a un fracaso de las células madre epiteliales limbares encargadas de ello. Esta patología, que hace años se denominaba pannus neovascular o conjuntivalización, hoy en día se le denomina “síndrome de insuficiencia limbar (SIL)”. Este concepto de SIL, por tanto, no es algo nuevo y su origen se empezó ya a publicar hace casi 40 años, cuando Thoft y Friend (1), en 1983, propusieron la hipótesis X, Y y Z intentando explicar la regeneración epitelial corneal con la migración centripeta de las células epiteliales de la córnea periférica al centro. Poco después, en 1986, Schermer et al. (2), en 1986, aportaron la primera evidencia de que las células madre del epitelio corneal debían estar localizadas en el limbo esclero-corneal. Múltiples investigaciones posteriores demostraron ya firmemente que las células madre epiteliales se encuentran en las empalizadas de Vogt localizadas en el limbo esclero-corneal (revisado en 3)(3) demostrando que la vieja hipótesis X,Y, Z era cierta (Figura 1).

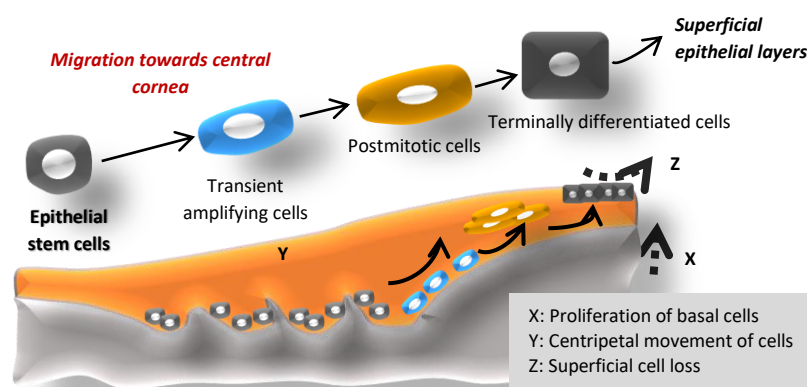


Figura 1. Representación gráfica actual de la hipótesis X, Y, Z publicada en 1983 (1). *Imagen cedida por el grupo de superficie ocular, IOBA, Universidad de Valladolid.*

El SIL es la consecuencia de múltiples patologías de la superficie ocular que son lo suficientemente graves y/o crónicas como para destruir las células madre limbares o incluso la propia arquitectura de su nicho. Por lo tanto, la destrucción o disfunción de las células madre del epitelio corneal, localizadas en el limbo esclero-corneal, ocasionando crecimiento del epitelio conjuntival en la córnea, aparición de vascularización superficial, fibrosis, defectos epiteliales persistentes y opacidad corneal progresiva, es la definición actualmente aceptada SIL que, en la literatura publicada en inglés se denomina “limbal stem cell deficiency”)(4).

El SIL, según su etiología, puede ser primario debido a mutaciones genéticas tales como la aniridia congénita o la displasia ectodérmica, entre otras. Pero, con más frecuencia, es secundario a lesiones químicas (causticación) o térmicas, queratoconjuntivitis cicatrizantes inmuno-mediadas (penfigoide de membranas mucosas, síndrome de Steven-Johnson y su espectro, queratoconjuntivitis atópica, rosácea ocular grave), enfermedad de ojo seco (EOS) grave (enfermedad de injerto contra huésped (EICH) y síndrome de Sjögren), lesiones iatrogénicas (cirugías oculares repetidas, quimioterapia o radioterapia afectando la superficie ocular), toxicidad por fármacos, secuelas de infecciones graves, tumores o, más raramente, abuso de lentes de contacto (4) (Figura 2).

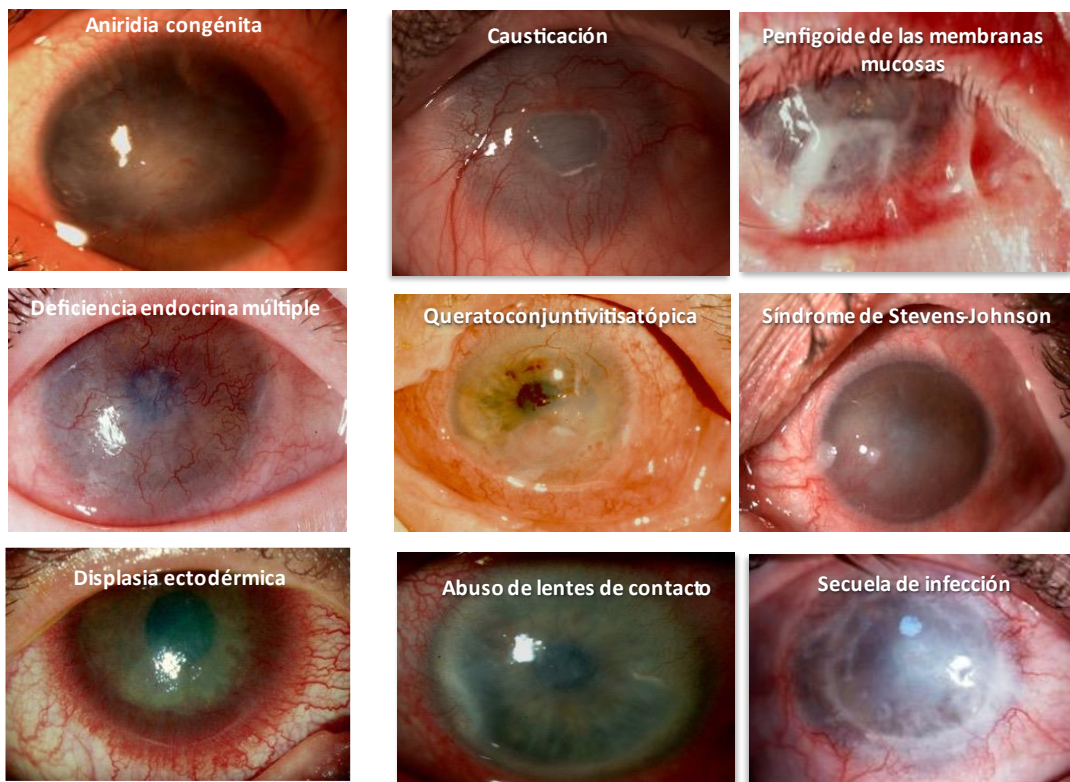


Figura 2. Diferentes causas de síndrome de insuficiencia limbar: primarias (panel izquierdo) y secundarias (panel central y derecho). *Imágenes cedidas por la unidad de inmunología ocular y terapia celular del IOBA, Universidad de Valladolid.*

Debido a que un trasplante de córnea no reemplaza las células madre limbares epiteliales dañadas y, por lo tanto, éste está condenado al fracaso, en las últimas tres décadas, se han venido desarrollado múltiples técnicas quirúrgicas enfocadas al tratamiento y la reconstrucción de la superficie ocular gravemente afectada por SIL, intentando recuperar el nicho limbar dañado.

Inicialmente, se utilizaron trasplantes de tejido limbar, siendo Kenyon y Tseng, en 1989, los primeros en reportar buenos resultados con el trasplante de tejido limbar del ojo sano contralateral. El inconveniente de esta técnica en el caso de los autoinjertos es el riesgo que conlleva para el ojo sano el extraer una muestra relativamente grande de tejido limbar; en el caso de los injertos alogénicos, el inconveniente principal es la necesidad de inmunosuprimir al receptor durante un mínimo de tres años o incluso más, si se quiere evitar un rechazo inmunológico. Una variación más moderna es la denominada SLET ("simple limbal epithelial transplantation"), que elimina el riesgo del ojo sano contralateral, pero no la necesidad de inmunosupresión si el SIL es bilateral y ha de utilizarse material alogénico (revisado en 3)(3).

En 1997, Pellegrini et al. (5) introdujeron una terapia basada en el trasplante de células epiteliales limbares (ya no tejido) cultivadas del ojo contralateral, lo que más tarde se denominó "cultivated limbal epithelial transplantation" o CLET, acrónimo que también se utiliza en castellano. Esta técnica consiste en la expansión y cultivo *in vitro* de pequeñas biopsias de tejido limbar (2x2 mm) del ojo sano contralateral (auto-CLET). Como soporte, los mencionados autores usaron fibrina autóloga con fibroblastos de ratón inactivados; más adelante, se intentó huir de componentes animales y se utilizaron también otros soportes, siendo el más usado la membrana amniótica (MA) humana. Debido a los buenos resultados de esta terapia y a la dificultad que conlleva tratar los casos bilaterales en donde no hay disponibilidad de tejido limbar autólogo, Schwab et al. (6), en el año 1999, propusieron realizar CLET alogénico (alo-CLET), utilizando material proveniente de ojos de donantes familiares. A partir de este momento, se han publicado múltiples series (recopiladas en Goals and challenges hasta 2021) con éxitos variables, siempre por encima del 55%. Son menos, sin embargo, los ensayos clínicos siguiendo la normativa legal europea (7), y menor aún aquellos en los que se comparan auto-CLET con alo-CLET (3). Nuestro grupo de trabajo ha contribuido con un ensayo clínico (8) en el que se compararon auto-CLET con alo-CLET, obteniendo un éxito del 80% al año y del 75% a los tres años y similar supervivencia para ambos tipos.

Otra terapia celular disponible para los casos de SIL bilateral en donde no hay disponibilidad de tejido limbar autólogo y que evita la inmunosupresión que requieren los trasplantes alogénicos, es el cultivo de células epiteliales de origen extraocular como las de la mucosa oral,

denominado “cultivated oral mucosal epithelial transplantation” o COMET, acrónimo que también ha sido adoptado en castellano. En estudios preclínicos se ha demostrado que COMET es un método factible para la reconstrucción de la superficie ocular; aunque se desconoce el mecanismo de acción molecular se ha demostrado que reduce los defectos epiteliales de la córnea, la opacidad y la neovascularización corneal, logrando células epiteliales similares a las del epitelio corneal que expresan queratina-3, un marcador fiable de diferenciación corneal (9) En 2004 Nakamura et al. (10), publicaron los primeros casos clínicos tratados con COMET. Las tasas de éxito reportadas para esta técnica son de alrededor del 70.8% (11) pero el inconveniente es que parece generar un epitelio corneal irregular secundario a neovascularización periférica, problema que se está intentando solventar.

Actualmente, CLET es el tratamiento de terapia celular establecido para SIL total y severo (3,12). Como se mencionó anteriormente, el problema radica en que, en los casos bilaterales en los cuales sólo es posible usar células de origen alogénico, la inmunosupresión para evitar el rechazo es necesaria. Además, son tratamientos altamente costosos, pues requieren el uso de salas de producción celular que fabriquen estos productos de terapias avanzadas siguiendo la normativa europea (7).

Por ello, y gracias a los avances en medicina regenerativa e ingeniería de tejidos y sabiendo que existen numerosos nichos como fuentes alternativas de células madre oculares, se han venido desarrollando otros métodos menos invasivos y más accesibles para la obtención de células madre.

Sin duda, las células madre mesenquimales (MSC) han sido el tipo de célula madre alogénico más utilizado en medicina regenerativa en general debido a sus excelentes propiedades. A nivel ocular, nuestro grupo de trabajo ha logrado publicar el primer ensayo clínico demostrando la seguridad y la eficacia de las MSC procedentes de médula ósea alogénica frente a alo-CLET en casos de SIL grave (13).

Además de las terapias basadas en células madre limbares o mesenquimales que se están empezando a usar actualmente en la práctica clínica, existen otros tipos celulares en fase de estudio preclínico, tales células madre embrionarias humanas, células madre pluripotenciales inducidas humanas, células madre de la pulpa dental, células madre derivadas de la protuberancia del folículo piloso, células epiteliales de membrana amniótica o células epiteliales de cordón umbilical. Y no sólo eso, sino que también se está experimentando con productos derivados de las células madre, como diversas vesículas extracelulares normalmente

procedentes de MSC, para usarlos directamente en lugar de la célula madre en sí (revisado en 3)(3).

Por último, las terapias celulares descritas típicamente empleadas para el SIL, también se están empezando a usar para otros problemas de la superficie ocular como la inflamación crónica grave secundaria a EOS severa (EICH y síndrome de Sjögren), ectasias corneales, para intentar evitar el rechazo del trasplante de córnea o para favorecer la cicatrización corneal.

Por todo ello, estaría justificado realizar una revisión bibliográfica que recopile las terapias ya establecidas y los nuevos avances en las diferentes terapias celulares basadas en células madre y sus derivados en la patología de la superficie ocular y no únicamente en el SIL.

HIPOTESIS

Es posible tratar la superficie ocular humana enferma con células madre, no sólo de origen ocular y epitelial, sino también con células madre o sus productos de otras estirpes y de localizaciones extraoculares.

Para demostrar esta hipótesis, se ha realizado una amplia revisión bibliográfica recogiendo aquellos estudios y ensayos clínicos realizados en seres humanos con células madre o sus productos de cualquier estirpe u origen sobre patologías de la superficie ocular.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es comprobar si las enfermedades graves de la superficie ocular, o al menos algunas de ellas, pueden tratarse mediante terapia celular con células madre o sus productos derivados de cualquier estirpe, y no sólo epitelial y/o de origen extraocular.

Los **objetivos específicos** son los siguientes:

Objetivo 1

Identificar **aquellas patologías de la superficie ocular** para las cuales se están desarrollando terapias basadas en células madre o sus productos derivados.

Objetivo 2

Identificar qué **tipo de células madre o productos derivados de éstas** se están desarrollando actualmente para la patología de la superficie ocular.

Objetivo 3

Identificar que **vías de administración** se están desarrollando para el tratamiento con células madre de la patología de la superficie ocular.

MATERIAL y METODOS

Se ha realizado una búsqueda y revisión bibliográfica, obteniendo artículos científicos publicados en las bases de datos Pubmed, Science Direct y Scopus, que hubieran sido publicados hasta la fecha y sin límite temporal anterior. Sólo se han considerado los artículos científicos publicados en los idiomas inglés y español.

Asimismo, se han tenido en cuenta los estudios clínicos, es decir, los realizados sobre seres humanos, excluyendo los estudios de investigación preclínica realizados "in vitro" o en animales de experimentación.

Se utilizaron estrategias de búsqueda con términos "medical subject headings (MeSH)", operadores booleanos (AND y OR) y términos en formato libre. Se realizaron, además, búsquedas manuales de referencias cruzadas de los artículos incluidos.

Los términos específicos usados para la búsqueda de artículos científicos han sido: "ocular surface disease" or "corneal pathology" or "limbal stem cell deficiency" or "dry eye disease" or Sjögren syndrome" or "graft versus host disease" or "corneal transplantation" [AND] "stem cell transplantation" or "cell therapy" or "stem cell therapy" or "limbal stem cell therapy" or "mesenchymal stem cell", "extraocular stem cell" or "regenerative medicine" or tissue engineering". Los mismos términos fueron buscados en castellano.

A cada publicación científica incluida se le ha asignado un nivel de evidencia científica y grado de recomendación. Para ello, se han utilizado los publicados por la "Scottish Intercollegiate Guidelines Network" (SIGN)(14), según se exponen en la tabla 1.

Por último, este trabajo ha contado con la aprobación de la comisión de investigación del Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid (UVA) y del Comité Ético de Investigación Clínica del Área Este de Valladolid.

Tabla 1. Niveles de evidencia científica y grados de recomendación según la “Scottish Intercollegiate Guidelines Network” (SIGN) (14).

1++	Metaanálisis de alta calidad, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados, ensayos clínicos aleatorizados con un muy bajo riesgo de sesgos
1+	Metaanálisis bien desarrollados, revisiones sistemáticas, ensayos clínicos aleatorizados con un bajo riesgo de sesgos
1-	Metaanálisis, revisiones sistemáticas, ensayos clínicos aleatorizados con un alto riesgo de sesgos
2++	Revisiones sistemáticas de alta calidad de estudios de cohorte o de casos y controles. Estudios de cohorte y de casos y controles de alta calidad con bajo riesgo de factores de confusión o sesgos y alta probabilidad de relación causal
2+	Estudios de cohortes o de casos y controles bien realizados con bajo riesgo de factores de confusión o de sesgos y probabilidad de relación causal moderada
2-	Estudios de cohorte o de casos y controles con un alto riesgo de factores de confusión o sesgos y riesgo significativo de que la relación no sea causal
3	Estudios no analíticos, como series de casos o reporte de casos
4	Opinión de expertos

A	Metaanálisis de alta calidad, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados, ensayos clínicos aleatorizados con un muy bajo riesgo de sesgos
B	Metaanálisis bien desarrollados, revisiones sistemáticas, ensayos clínicos aleatorizados con un bajo riesgo de sesgos
C	Metaanálisis, revisiones sistemáticas, ensayos clínicos aleatorizados con un alto riesgo de sesgos
D	Revisiones sistemáticas de alta calidad de estudios de cohorte o de casos y controles. Estudios de cohorte y de casos y controles de alta calidad con bajo riesgo de factores de confusión o sesgos y alta probabilidad de relación causal

RESULTADOS y DISCUSION

Se han seleccionado un total de 37 publicaciones que se ajustaban a los criterios definidos en la metodología. Se exponen, en las siguientes tres tablas, los resultados resumidos de los artículos seleccionados agrupándolos según el tipo celular empleado. En cada tabla, se resume la patología de la superficie ocular para la que se ha indicado la terapia celular, el tipo celular y la vía de administración empleados, el tiempo de seguimiento al que se reportan los resultados, así como un resumen de la eficacia de las terapias propuestas en cada publicación. Además, se ha otorgado a cada una de las publicaciones el nivel científico y nivel de recomendación que se aprecia en la primera columna de cada una de las tablas.

Y así, en la **tabla 2** se recogen las publicaciones que han usado **células epiteliales cultivadas procedentes del nicho limbar, trasplante denominado CLET** como ya se ha comentado. Pero, debido al alto número de publicaciones, se han seleccionado las 15 en las que se ejercía alguna comparación entre dos o más grupos. De entre ellas, sólo existe un ensayo clínico aleatorizado y con grupo control (13), siendo el resto de las publicaciones estudios prospectivos no aleatorizados (10 de ellas) o bien estudios retrospectivos (4 de ellas) con, lógicamente, menor nivel de evidencia y recomendación. Se observa, además, que sólo se ha realizado CLET, hasta el momento, para la patología conducente a SIL.

Del total de 15 publicaciones seleccionadas, la mayoría (10 en total), comparan auto-CLET con alo-CLET. Aunque en un principio se extendió la idea de que sólo los auto-CLET tenían éxito, pronto empezó a comprobarse que esto sólo era cierto si no se realizaba inmunosupresión en el huésped, necesaria sólo con un fármaco y durante un año (8,13). Un único estudio no utilizó inmunosupresión oral prolongada para alo-CLET, reportando una tasa de rechazo inmune del 9,5% (15). En el resto de las publicaciones, se usó inmunosupresión oral al menos 12 meses, sin presentar este evento adverso, confirmando así que es necesaria para evitarlo.

En este sentido, un metaanálisis publicado en 2015 (16), y que incluyó 18 publicaciones, reportó una tasa de éxito del 67% para ambas técnicas, auto- o alo-CLET. Estos resultados fueron corroborados por otros investigadores, nuestro grupo de trabajo entre ellos (8)(Figura 3), comprobando que las dos técnicas son seguras y eficaces para el tratamiento del SIL.

Y así, las tasas de éxito para ambas técnicas son similares, aunque variables entre diversos grupos de trabajo, oscilando entre el 59% y el 100% (tabla 2).

Tabla 2. Trabajos publicados usando células epiteliales limbares cultivadas para patología de la superficie ocular en estudios clínicos.

AÑO Nivel de evidencia* Autor 1º - senior (ref)	ENFERMEDAD (nº pacientes/ojos) Tipo de estudio	TIPO CELULAR Vía administración Tiempo seguimiento	ÉXITO CLINICO
2007 3 D Shizamaki-Tsubota (17)	SIL Auto-CLET (7/7); alo-CLET (20/20) Retrospectivo	CELC en MA sobre córnea y limbo 31,6 meses	Global: 59,3% Auto-CLET: 85,7% Alo-CLET: 50% (alo: inmunosupresión)
2008 1 D Shortt – Daniels (18)	SIL Auto-CLET (3/3) vs alo-CLET (7/7) Ensayo clínico no aleatorizado	CELC en MA sobre córnea y limbo 6-13 meses	Global: 60% Auto-CLET 33% Alo-CLET 71% (alo: inmunosupresión)
2010 1 D Pauklin – Meller (19)	SIL Auto-CLET (30) vs alo-CLET (14) Ensayo clínico no aleatorizado	CELC en MA sobre córnea y limbo 28,5 meses	Global: 68% Auto-CLET: 76,7% Alo-CLET: 50% (alo: inmunosupresión)
2012 1 D Prabhasawat – Tesavibul (20)	SIL Auto-CLET (12/12) vs alo-CLET (7/7) Ensayo clínico no aleatorizado	CELC en MA sobre córnea y limbo 26,1 meses	Global: 73,7% Auto-CLET: 66,7% Alo-CLET: 85,7% (alo: inmunosupresión)
2014 1 D Zakaria – Tassignon (21)	SIL Auto-CLET (15/15) vs alo-CLET (3/3) Ensayo clínico no aleatorizado	CELC en MA sobre córnea y limbo 22 meses	Global 67% Auto-CLET: nc; alo-CLET: nc Éxito similar (alo: inmunosupresión)
2015 1 D Ramírez – Calonge (8)	SIL Auto-CLET (11/11) vs alo-CLET (9/9) Ensayo clínico no aleatorizado	CELC en MA sobre córnea y limbo 24, 48 y 36 meses	Global: 1-2 años: 80% 3 años: 75% (alo: inmunosupresión)
2015 3 D Ganger – Tandon (22)	SIL Auto-CLET (54/54); alo-CLET (8/8) Retrospectivo	CELC en MA sobre córnea y limbo 12 meses	Global: nc Auto-CLET niños: 87,8% Auto-CLET adultos: 99,9% Alo-CLET 62,5% (alo: no inmunosupresión)
2017 1 D Parihar – Nath (23)	SIL Alo-CLET (20/25) vs alo-TTL (20/25) Ensayo clínico no aleatorizado	CELC en MA sobre córnea y limbo-alo-TTL 12 meses	Global: nc Éxito similar (alo: inmunosupresión)
2018 1 D Sharma – Vajpayee (24)	SIL Auto-CLET (20/20) vs trasplante MA (20/20) Ensayo clínico no aleatorizado	CELC en MA o sólo MA sobre córnea y limbo 12 meses	Global: nc Éxito similar

Tabla 2 (CONTINUACION). Trabajos publicados usando células epiteliales limbares cultivadas para patología de la superficie ocular en estudios clínicos

AÑO Nivel de evidencia* Autor 1º - senior (ref)	ENFERMEDAD (nº pacientes/ojos) Tipo de estudio	TIPO CELULAR Vía administración Tiempo seguimiento	ÉXITO CLINICO
2019 1++ A Calonge – Herreras (13)	SIL Alo-MSCT (14/17) vs alo-CLET (9/11) Ensayo clínico fase I-II, aleatorizado, controlado	CELC o MSCT en MA sobre córnea y limbo 6-12 meses	Global: 65% a 6 meses y 82,6% a 12 meses Alo-MSCT: 85,7% Alo-CLET: 77,8% (alo: inmunosupresión)
2019 1+ B Campbell – Dihillon (25)	SIL Alo CLET (8/8) vs AMT (5/5) Ensayo clínico aleatorizado, controlado	CELC en MA y sólo MA sobre córnea y limbo 18 meses	Global: nc Alo-CLET: mejoría AMT: no mejoría (alo: inmunosupresión)
2019 3 D Borderie – Rouard (26)	SIL Auto-CLET (7/7) vs alo-CLET (7/7) Ensayo clínico fase II Auto-TTL (8/8) y alo-TTL (8/8) vs grupo control: retrospectivo	CELC en MA sobre córnea y limbo-TTL 3 y 5 años	Global: nc 3 años: CLET=Auto: 100%/Alo: 29% TTL=Auto: 75% / Alo: 50% 5 años: CLET=Auto: 71%; Alo: 0% Alo-TTL: 33% (alo: inmunosupresión)
2019 3 D Wang – Xie (15)	SIL Alo-CLET (41/42) vs auto- COMET (32/34) Retrospectivo	CELC o células mucosa oral en MA sobre córnea y limbo CLET: 23,3 meses COMET: 16 meses	Global: nc Rechazos inmunes: 9,5% Alo-CLET: 71,4% COMET: 52,9% (úlceras) (alo: Inmunosupresión sólo corticoides, 3 meses)
2019 3 D Behaeghe – Dhubhghaill (27)	SIL Auto-CLET (9/9) vs alo- CLET (4/4) Ensayo clínico no aleatorizado: corto plazo Retrospectivo: largo plazo	CELC en MA sobre córnea y limbo 2,1 años corto plazo 6,7 años largo plazo	Global corto plazo:46.1% CLET: Auto 77.8%; alo 75% Global largo plazo 23.1% CLET= Auto 55%; alo 0% (alo: inmunosupresión)
2020 3 D Shimazaki – Tsubota (28)	SIL Auto-CLET (28/28) + auto- COMET (143/143) Alo- CLET (75/75) Retrospectivo	CELC o células mucosa oral en MA sobre córnea y limbo 89,3 meses	Global: 65,1% Auto-CLET+COMET 65,6% Alo- CLET: 63% (alo inmunosupresión)

*Nivel de evidencia científica y grado de recomendación está basado en los datos mostrados en la tabla 1. Auto: autólogo; alo: alogénico; CELC: células epiteliales limbares cultivadas; CLET: “cultivated limbal epithelial transplantation”; COMET: “cultivated oral mucosal epithelial transplantation”; MA: membrana amniótica; MSCT: mesenchymal stem cell transplantation; nc: no consta; TTL: trasplante de tejido limbar

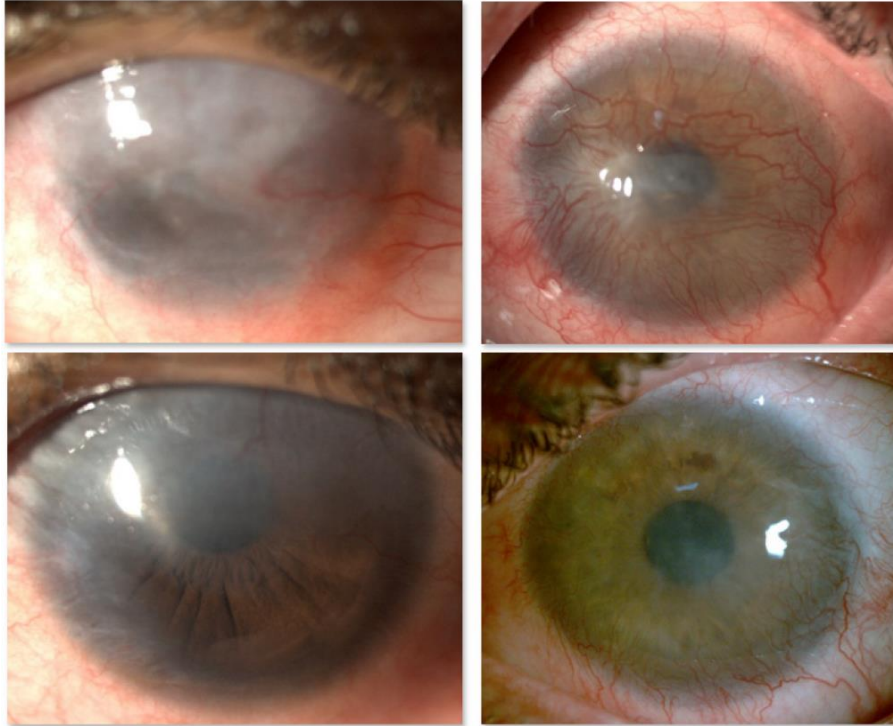


Figura 3. Síndrome de insuficiencia limbar en dos pacientes, antes (fila superior) y tras un año (fila inferior) de haber recibido un trasplante de células epiteliales limbares cultivadas (CLET). El CLET fue autólogo en el paciente del panel izquierdo y alogénico de cadáver en el paciente del panel derecho. *Imagen procedente del ensayo clínico Ramírez y cols.(8) aunque publicada en Calonge y cols (3)*

Se puede observar también en las diversas publicaciones que los criterios diagnósticos para SIL no son uniformes. Y más diversos aún son los criterios que definen el éxito o fracaso de un trasplante, siendo la mayoría exclusivamente clínicos; de hecho, sólo un ensayo incluye también criterios objetivos como la caracterización del tipo de epitelio recuperado tras el trasplante en córnea central mediante microscopía confocal *in vivo* (13). También existe una falta de uniformidad en los protocolos de obtención del producto celular (siendo bastante constante el uso de membrana amniótica como soporte) y en los protocolos quirúrgicos y de cuidados pre- y post-operatorios. Todas estas variables hacen difícil la evaluación objetiva de los resultados y la comparación de entre las diversas publicaciones.

Aun así, la revisión realizada deja claro que CLET es la técnica de terapia celular de elección para los casos de fracaso de la superficie ocular por SIL grave. Por supuesto, se requieren ensayos clínicos multicéntricos, aleatorizados, controlados para poder obtener una mayor evidencia científica.

Casi a la vez que se inició la terapia con células limbares cultivadas y el subsiguiente CLET, los grupos japoneses empezaron a trasplantar láminas de mucosa oral primero y a cultivar células epiteliales de la mucosa oral más tarde. La razón para buscar fuentes extraoculares era la imposibilidad de obtener material celular limbar al no existir un ojo donante sano; el deseo de mantener la procedencia autóloga, les llevó a pensar en la mucosa oral.

La **tabla 3** recoge las 26 publicaciones que han usado **células epiteliales cultivadas procedentes de la mucosa oral**, en el procedimiento de trasplante denominado COMET, como ya se ha comentado.

En este caso, y al existir un número menor de publicaciones, se han incluido todas las encontradas, aunque no fueran comparativas y, de hecho, sólo dos de ellas lo son, siendo esta comparación con CLET (15,28).

En nuestra revisión, pudimos comprobar que, hasta el momento, COMET es la técnica más usada para tratar ojos con SIL con células epiteliales de origen extraocular. Como en el caso de CLET, COMET sólo se ha usado para casos graves de SIL.

Las técnicas de cultivo son más uniformes que en los CLET, aunque se han ido introduciendo innovaciones. La mayoría de las publicaciones revisadas usaron como sustrato y soporte para el trasplante la MA, aunque en algunos casos intentaron evitar el uso de sustratos animales o humanos para evitar la transmisión de infecciones o la reacción inmunitaria (29–34).

COMET tendría la ventaja de eliminar el riesgo del rechazo del injerto, puesto que son células autólogas y evitaría así la necesidad de inmunosupresión. Además, según los diversos autores, la biopsia es fácil de obtener y los cultivos son relativamente rápidos. Muchos autores discuten, sin embargo, la existencia de células madre en dichos cultivos (11).

La tasa de éxito global para COMET encontrada en las publicaciones recogidas es muy variable, entre un 50% y un 100%. Cabe destacar que en varias publicaciones es difícil establecer la tasa de éxito, pues a los pocas semanas o meses, los diversos autores suelen realizar otros procedimientos quirúrgicos que enmascaran el verdadero resultado de COMET. En 2019, Cabral et al. (11), publicaron una revisión de casos de SIL bilateral tratados con COMET publicados entre 2004 y 2019, reportando una tasa de éxito global del 70,8%.

Pero en varias publicaciones refieren una tasa de defectos epiteliales persistentes elevada y un incremento en la presencia de neovascularización periférica (tabla 3). Por ello, en la mayoría

de las revisiones y metaanálisis aconsejan elegir CLET alogénico en casos de SIL bilateral (e incluso unilateral) y no COMET, ya que las células epiteliales limbares parecen tener mejor capacidad que las células epiteliales de la mucosa oral para mantener integro el epitelio corneal y la estabilidad de la superficie ocular (3).

La misma conclusión se derivaría de la publicación de Wang et al. del año 2019 (15). En este estudio de cohortes retrospectivo, compararon los resultados de COMET frente a alo-CLET en pacientes con SIL bilateral total, encontrando una tasa de éxito superior para CLET (71,4%) en comparación con la de COMET (52,9%).

Uno de los riesgos más frecuentemente detectados en estos estudios clínicos y que conducían al fracaso de COMET fueron anomalías palpebrales preoperatorias como entropión, triquiasis o lagofthalmos. Se recomienda, por ello, la corrección de estas patologías antes, y nunca a la vez, que los trasplantes de células madre.

El nivel de evidencia científica y de recomendación de estas publicaciones es bajo, pues la mayoría son estudios prospectivos sin grupo control o retrospectivos y no existen ensayos clínicos aleatorizados con grupo control.

Tabla 3. Trabajos publicados usando células madre extraoculares cultivadas para patología de la superficie ocular en estudios clínicos

AÑO Autor 1º - senior (ref)	ENFERMEDAD (nº pacientes/ojos) Tipo de estudio	TIPO CELULAR Vía administración Tiempo seguimiento	EXITO CLINICO
2004 3 D Nakamura – Kinoshita (10)	SIL COMET (4/6) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 13,8 meses	Global: 100%
2004 3 D Nishida – Tano (29)	SIL COMET (4/4) Prospectivo	CEMOC sin soporte sobre córnea y limbo 14 meses	Global: 100%
2006 3 D Inatomi-Kinoshita (35)	SIL COMET (12/15) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 20 meses	Global: 67% DEP: 33% NVCP leve: 100%
2006 3 D Ang – Kinoshita (30)	SIL COMET (10/10) Prospectivo	CEMOC con suero autólogo sobre córnea y limbo 12,6 meses	Global: 100%
2007 3 D Nakamura - Kinoshita (36)	SIL COMET (5/6) Retrospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo nc	Global: 66,6%
2008 3 D Satake -Shimazaki (37)	SIL COMET (4/4) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 16 meses	Global: 100%
2009 3 D Chen-Ma (38)	SIL COMET (4/4) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 14,2 meses	Global: nc (incierto: añaden otras cirugías)
2009 3 D Ma – Lin (39)	SIL COMET (5/5): 2 agudo; 3 crónico Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 29,6 meses	Global: nc (incierto: añaden otras cirugías)
2011 3 D Priya - Muthukkaruppan (40)	SIL COMET (10/10) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 18,6 meses	Global: 50%
2011 3 D Satake – Shimazake (41)	SIL COMET (36/40) Retrospectivo	CEMOC en MA/fibrina sobre córnea y limbo 25,5 meses	Global: 57,5% 1-2-3 años: 64,8-59-53,1% DEP: 22,5% NVCP: 20%

AÑO Autor 1º - senior (ref)	ENFERMEDAD (nº pacientes/ojos) Tipo de estudio	TIPO CELULAR Vía administración Tiempo seguimiento	EXITO CLINICO
2011 3 D Nakamura – Kinoshita (42)	SIL COMET (17/19) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 36 meses	Global: 100% DEP: 37%; HTO: 16% Infección: 5%
2011 3 D Takeda – Kinoshita (43)	SIL COMET (3/3) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 30 meses	Global: 66,3%
2012 3 D Burillon - Damour (31)	SIL COMET (25/26) Prospectivo	CEMOC en polímero sobre córnea y limbo 12 meses	Global: 64%
2012 3 D Hirayama – Shimazaki (32)	SIL COMET (32/32) sin/con sustrato (16 ojos por grupo) Retrospectivo/prospectivo	CEMOC sin/con MA sobre córnea y limbo 12 meses	Global: nc Sin MA: 62,5% Con MA: 43,8%
2012 3 D Chen – Ma (44)	SIL COMET (6/6) Retrospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 36,7 meses	Global: 100% (incierto: añaden otras cirugías)
2013 3 D Sotozono - Kinoshita (45)	SIL COMET (40/46) Retrospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 24 meses	Global: nc (incierto: añaden otras cirugías) DEP 34,8%; Infección 4,3%
2014 3 D Kocaba – Burillon (33)	SIL COMET (22/23) Prospectivo	CEMOC en polímero sobre córnea y limbo 28 meses	Global: 62,5%
2014 3 D Sotozono – Kinoshita (46)	SIL COMET (9/10) Retrospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 21,5 meses	Global: 100%
2014 3 D Kolli - Figueiredo(47)	SIL COMET (2/2) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 13 y 20 meses	Global: 100%
2015 3 D Drobowski – Aragona (48)	SIL COMET (13/17) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 12-18 meses	Global: 76,4% DEP: 23,5%
2016 3 D Prabhasawat – Luemsamran (49)	SIL COMET (18/20) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 31,9 meses	Global: 75% 1-4 años: 79,3%-70,5%

AÑO Autor 1º - senior (ref)	ENFERMEDAD (nº pacientes/ojos) Tipo de estudio	TIPO CELULAR Vía administración Tiempo seguimiento	EXITO CLINICO
2017 3 D Baradaren-Rafii – Roshandel (50)	SIL COMET (14/14) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 28,2 meses	Global: 92,9%
2018 3 D Kim – Kim (34)	SIL COMET (8/8) Prospectivo	CEMOC sin sustrato sobre córnea y limbo 6 meses	Global: 75% (incierto: añaden otras cirugías)
2019 3 D Wang - Xie (15)	SIL Alo-CLET (41/42); COMET (32/34) Retrospectivo	CELC o CEMOC en MA sobre córnea y limbo CLET: 23,3 meses COMET: 16 meses	Global: nc Rechazos inmunes: 9,5% Alo-CLET: 71,4% COMET: 52,9% (úlceras) (alo: inmunosupresión sólo corticoides por 3 meses)
2020 3 D Shimazaki – Tsubota (28)	SIL Auto-CLET (28/28)+COMET (143/143) y alo-CLET (75/75) Retrospectivo	CELC o CEMOC en MA sobre córnea y limbo 89,3 meses	Global: 65,1% Auto-CLET+COMET: 65,6% Alo- CLET: 63% (alo: inmunosupresión)
2021 3 D Venugopal – Sharma (51)	SIL COMET (41/45) Prospectivo	CEMOC en MA sobre córnea y limbo 24 meses	Global: 88,8%

Auto: autólogo; Alo: alogénico; CELC: células epiteliales limbares cultivadas; CEMOC: células epiteliales cultivadas de la mucosa oral cultivadas; CLET: “cultivated limbal epithelial transplantaion”; COMET: “cultivated oral mucosal epithelial transplantaion”; DEP: defecto epitelial persistente; MA: membrana amniótica; nc: no consta; NVCP: neovascularización corneal periférica.

Debido a la baja disponibilidad de donantes y la dificultad para cultivar las células epiteliales del limbo, sus altos costos y el inconveniente de que en los casos que reciben trasplantes alogénicos requieren inmunosupresión durante al menos 12 meses, los investigadores siguen avanzando y proponiendo otras terapias basadas en células madre de origen extraocular.

Actualmente las MCS son el tipo de célula madre alogénico más utilizado en medicina regenerativa, debido a sus excelentes propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias, habiendo demostrado, tanto *in vitro* como *in vivo*, ser eficaces para tratar la superficie ocular enferma. Tienen la capacidad de migrar a tejidos lesionados e inflamados y son capaces de diferenciarse en células epiteliales de la córnea. Por lo tanto, se han propuesto como un posible tratamiento exitoso en aquellos pacientes afectados de estas enfermedades graves de la superficie ocular (3).

La **tabla 4** recoge las 6 publicaciones que, hasta la fecha, han usado **MSC o productos derivados de ellas**, obtenidos de diferente origen extraocular como médula ósea, tejido adiposo y cordón umbilical humano.

Asimismo, se empiezan a ver otras rutas de administración diferentes al trasplante celular en soportes sobre la superficie ocular, como son las inyecciones intravenosas, inyecciones sobre la glándula lagrimal, inyecciones subconjuntivales o el implante corneal intraestromal. Además, estas terapias no sólo están siendo dirigidas al tratamiento del SIL, sino que se empiezan a abordar también otras patologías graves de la superficie ocular como EOS en el contexto de EICH (52), EOS grave sin asociación sistémica (53), causticación aguda (54) o ectasias corneales como queratocono avanzado (55).

Sólo una de las 6 publicaciones se ha dirigido a SIL, el ensayo clínico realizado por nuestro grupo de trabajo, que ya se ha comentado y que refiere un éxito similar para alo-CLET (77,6%) y el grupo tratado con MSC de médula ósea alogénica (85,7% (13) (Figura 4).

Se ha publicado también el primer ensayo abierto en causticación en fase aguda, inyectando MSC subconjuntivalmente, con una tasa de éxito de 87,5% (54).

También se ha publicado el uso de láminas estromales de córneas de cadáver descelularizadas, con o sin recelularización posterior a base de MSC de tejido adiposo autólogo para ectasias corneales (queratocono), con tasas de éxito notables, aunque variables según los parámetros evaluados (55).

Tabla 4. Trabajos publicados usando células madre mesenquimales (MSC) para patología de la superficie ocular en estudios clínicos

AÑO Autor 1º - senior (ref)	ENFERMEDAD (nº pacientes/ojos) Tipo de estudio	TIPO CELULAR Vía administración Tiempo seguimiento	ÉXITO CLÍNICO
2012 1- B Weng - Du (52)	EOS en EICH crónico Alo-MSC (22/44) Ensayo clínico abierto	BM-MSC en inyección intravenosa 12 semanas	Global: 55% Atribuido a aumento de células T reguladoras CD8+CD28-
2019 1++ A Calonge - Herrerias (13)	SIL Alo-MSCT (14/17) vs alo-CLET (9/11) Ensayo clínico fase I-II, aleatorizado, controlado	CELC y BM-MSC en MA sobre córnea y limbo 6-12 meses	Global: 65% a 6 meses y 82,6% a 12 meses Alo-MSCT: 85,7% Alo-CLET: 77,8% (alo: inmunosupresión)
2021 1- B Moller-Hansen - Heegaard (53)	EOS Alo-MSC (7/7) Ensayo clínico abierto	AT-MSC en inyección en glándula lagrimal 16 semanas	Global: 100% Síntomas, osmolaridad, estabilidad y producción lagrimal: mejoría significativa
2021 1- B Liang - Liang (54)	Causticación aguda Alo-MSC (16/13) Ensayo clínico abierto	BM-MSC en inyección subconjuntival 4-10 semanas	Global: 87,5% (Atribuido a ningún caso con perforación ocular)
2021 1+ B El Zarif - Makdissy (55)	Queratocono avanzado Auto-ADASCs/Láminas estromales corneales descelularizadas sin/con auto-ADASCs (14/14) Ensayo clínico aleatorizado, no enmascarado	Auto-ADASCs/Láminas estromales corneales descelularizadas/recelularizadas con auto-ADASCs en implante intraestromal 3 años	Global: 100% (atribuido a mejora visual) Mejoría moderada en visión Aumento en espesor corneal variable
2022 1- B Zhou - Liu (56)	EOS en EICH crónico Exosomas de alo-MSC (14/28) Ensayo clínico abierto	Exosomas de MSC de cordón umbilical (miRNA-2004) en aplicación tópica, 4 veces al día 2 semanas	Global: 100% Síntomas, tinción corneal, estabilidad y producción lagrimal: mejoría significativa

ADASCs: células madre adultas derivadas de tejido adiposo (“adipose-derived adult stem cells”); CELC: células epiteliales limbares cultivadas; BM-MSC: células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (“bone marrow-derived mesenchymal stem cells”) CLET: trasplante de células epiteliales limbares cultivadas (“cultivated limbal epithelial transplantation”); EOS: enfermedad de ojo seco; EICH: enfermedad injerto contra huésped; MA: membrana amniótica; miRNA: micro-ácido ribonucleico; MSCT: trasplante de células madre mesenquimales (“mesenchymal stem cell transplantation”); SIL: síndrome de insuficiencia limbar.

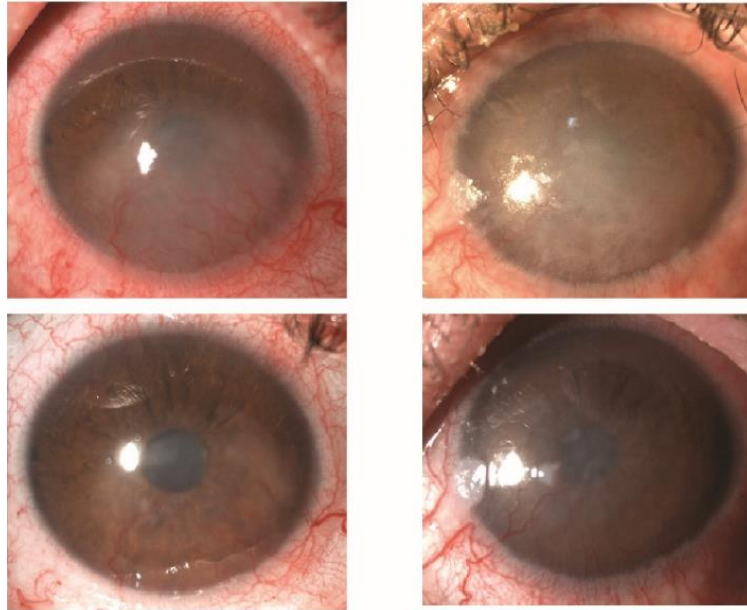


Figura 4. Paciente afecta de síndrome de insuficiencia limbar por síndrome de Stevens-Johnson, antes (panel superior) y 12 meses (panel inferior) tras recibir un trasplante de células madre bilateral, procedente de epitelio limbar alogénico (alocLET) en su ojo derecho (panel izquierdo) y de células madre mesenquimales de médula ósea alogénica en su ojo izquierdo. *Imagen procedente de Calonge y cols. (3)*

De las tres publicaciones dirigidas al tratamiento de EOS grave, una de ellas ya es antigua y trató con inyección intravenosa de MSC alogénicas procedentes de médula ósea a pacientes con EICH crónico sistémico, con una mejoría del cuadro ocular en el 55% de los casos (52). Otro ensayo, ya más reciente, inyectó MSC, también de médula ósea, en la glándula lagrimal orbitaria vía transconjuntival en pacientes con EOS grave (53).

Y el ensayo clínico más reciente, en el presente año 2022, no usa ya MSC sino vesículas extracelulares (exosomas) derivadas de dichas células, usando la vía tópica y mejorando la situación clínica de todos los pacientes (56).

Por lo tanto, el número de publicaciones con respecto a la terapia con MSC para patologías de la superficie ocular es aún escaso, con sólo un ensayo clínico aleatorizado y controlado, aunque con un número escaso de pacientes (13). El resto de las publicaciones son aún ensayos abiertos, con poco tamaño muestral y tiempo de seguimiento corto, pero con resultados alentadores, pues consiguen buenos resultados entre el 50% y el 100% que animan a seguir avanzando por este camino.

CONCLUSIONES

Tras la revisión y análisis de la bibliografía incluida en este trabajo, se puede confirmar la hipótesis planteada, con las siguientes conclusiones respondiendo a cada uno de los tres objetivos planteados:

1. La superficie ocular enferma por patologías graves como el SIL, se trata ya de manera eficaz y sobradamente probada con células madre. Pero, y más recientemente, se están abordando ya otras patologías de la superficie ocular como el EOS grave, las causticación ocular aguda o las ectasias corneales.
2. La patología grave de la superficie ocular se puede abordar de manera exitosa con células madre de estirpe epitelial y de origen ocular (limbo esclero-corneal). También se usan células epiteliales de mucosa oral, con éxito variable y con complicaciones que se están intentado resolver en la actualidad. Más recientemente, se está usando un tipo celular de estirpe no epitelial, las MSC de diverso origen (médula ósea, tejido adiposo o cordón umbilical). Y, además, se empiezan a usar en clínica humana productos derivados de MSC como los exosomas, con un éxito inicial esperanzador. Tanto las MSC como sus productos derivados han de probarse aún en ensayos clínicos aleatorizados y controlados.
3. Finalmente, en cuanto a las vías de administración empleadas, la terapia celular para la patología grave de la superficie ocular se inició con trasplantes sobre soportes (MA o fibrina), lo más adecuado, en principio, para el SIL. Pero, intentando usar rutas más fáciles y que eviten el uso de quirófano, se están ensayando las inyecciones locales (subconjuntivales o intraglandulares) o incluso la vía tópica ocular, posible si se usan productos derivados de células y no las células en sí. Estas nuevas vías de administración celular requieren aún más estudios y ensayos con mayor evidencia científica.

BLIBLIOGRAFÍA

1. Thoft R.A., Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol.* 1983;24:1442–3.
2. Schermer A, Galvin S, Sun TT. Differentiation-related Expression of a Major 64K Corneal Keratin In Vivo and In Culture Suggests Limbal Location of Corneal Epithelial Stem Cells. *J. Cell Biol.* 1986;103:49-62.
3. Calonge M, Nieto-Miguel T, de la Mata A, Galindo S, Herreras JM, López-Paniagua M. Goals and challenges of stem cell-based therapy for corneal blindness due to limbal deficiency. *Pharmaceutics.* 2021;13:1483.
4. Le Q, Xu J, Deng SX. The diagnosis of limbal stem cell deficiency. *Ocul. Surf.* 2018;16:58–69.
5. Pellegrini G, Traverso CE, Franzi AT, Ingirian MZ, Cancedda R, de Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet.* 1997;349:990–3.
6. Schwab IR. Cultured corneal epithelia for ocular surface disease. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 1999;97:891–986.
7. López-Paniagua M, de la Mata A, Galindo S, Blázquez F, Calonge M, Nieto-Miguel T. Advanced therapy medicinal products for the eye: definitions and regulatory framework. *Pharmaceutics.* 2021;13:1–18.
8. Ramírez BE, Sánchez A, Herreras JM, Fernández I, García-Sancho J, Nieto-Miguel T, Calonge M. Stem cell therapy for corneal epithelium regeneration following good manufacturing and clinical procedures. *Biomed Res. Int.* 2015;2015,408495.
9. Nakamura T, Endo KI, Cooper LJ, Fullwood NJ, Tanifuji N, Tsuzuki M, et al. The successful culture and autologous transplantation of rabbit oral mucosal epithelial cells on amniotic membrane. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2003;44:106–16.
10. Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Amemiya T, Kanamura N, Kinoshita S. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br. J. Ophthalmol.* 2004;88:1280–4.
11. Cabral JV, Jackson CJ, Utheim TP, Jirsova K. Ex vivo cultivated oral mucosal epithelial cell transplantation for limbal stem cell deficiency: a review. *Stem Cell Res. Ther.* 2020;11:301.
12. Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Koizumi N, Kinoshita S. Ocular surface reconstruction using stem cell and tissue engineering. *Prog. Retin Eye Res.* Elsevier Ltd. 2016;51:187–207.
13. Calonge M, Pérez I, Galindo S, Nieto-Miguel T, López-Paniagua M, Fernández I, Iberca M, García-Sancho J, Sánchez A, Herreras JM. A proof-of-concept clinical trial using mesenchymal stem cells for the treatment of corneal epithelial stem cell deficiency. *Transl. Res.* 2019;206:18–40.
14. Delgado CM, Manterola C, Asenjo-Lobos C, Otzen T. Jerarquización de la evidencia. Niveles de evidencia y grados de recomendación de uso actual Hierarchy of evidence. Levels of evidence and grades of recommendation from current use. *Rev. Chilena Infectol.* 2014;13.
15. Wang J, Qi X, Dong Y, Cheng J, Zhai H, Zhou Q, et al. Comparison of the efficacy of different cell sources for transplantation in total limbal stem cell deficiency. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2019;257:1253–63.
16. Zhao Y, Ma L. Systematic Review and Meta-analysis on Transplantation of Ex Vivo Cultivated Limbal Epithelial Stem Cell on Amniotic Membrane in Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea.* 2015;34:592–600.

17. Shimazaki J, Higa K, Morito F, Dogru M, Kawakita T, Satake Y, Shimmura S, Tsubota K. Factors Influencing Outcomes in Cultivated Limbal Epithelial Transplantation for Chronic Cicatricial Ocular Surface Disorders. *Am. J Ophthalmol.* 2007;143:945–53.
18. Shortt AJ, Secker GA, Rajan MS, Meligonis G, Dart JK, Tuft SJ, Daniels JT. Ex Vivo Expansion and Transplantation of Limbal Epithelial Stem Cells. *J. Ophthalmol.* 2008;115(11):1989–97.
19. Pauklin M, Fuchsluger TA, Westekemper H, Steuhl KP, Meller D. Research Projects in Dry Eye Syndrome. *Dev. Ophthalmol.* Basel, Karger. 2010;45:57-70.
20. Prabhasawat P, Ekpo P, Uiprasertkul M, Chotikavanich S, Tesavibul N. Efficacy of cultivated corneal epithelial stem cells for ocular surface reconstruction. *Clin. Ophthalmol.* 2012;6:1483–92.
21. Zakaria N, Possemiers T, Dhubhghaill SN, Leysen I, Rozema J, Koppen C, Timmermans JP, Berneman Z, Tassignon MJ. Results of a phase I/II clinical trial: Standardized, non-xenogenic, cultivated limbal stem cell transplantation. *J. Transl. Med.* 2014;12:58.
22. Ganger A, Vanathi M, Mohanty S, Tandon R. Long-term outcomes of cultivated limbal epithelial transplantation: Evaluation and comparison of results in children and adults. *BioMed Res Int.* 2015;2015,480983.
23. Parihar JKS, Parihar AS, Jain VK, Kaushik J, Nath P. Allogenic cultivated limbal stem cell transplantation versus cadaveric keratolimbal allograft in ocular surface disorder: 1-year outcome. *Int. Ophthalmol.* 2017; 37: 1323–31.
24. Sharma N, Mohanty S, Jhanji V, Vajpayee RB. Amniotic membrane transplantation with or without autologous cultivated limbal stem cell transplantation for the management of partial limbal stem cell deficiency. *Clin. Ophthalmol.* 2018; 12: 2103–6.
25. Campbell JDM, Ahmad S, Agrawal A, Bienek C, Atkinson A, MCGowan NWA, Kaye S, Mantry S, Ramaesh K, Glover A, Pelly J, MacRury C, MacDonald M, Hargreaves E, Barry J, Drain J, Cuthbertson B, Nerurkar L, Downing I, Fraser AR, Turner ML, Dhillon B . Allogeneic ex vivo expanded corneal epithelial stem cell transplantation: a randomized controlled clinical trial. *Stem Cells Transl. Med.* 2019; 8:323–31.
26. Borderie VM, Ghoubay D, Georgeon C, Borderie M, de Sousa C, Legendre A, e. Long-term results of cultured limbal stem cell versus limbal tissue transplantation in stage iii limbal deficiency. *Stem Cells Transl. Med.* 2019;8:1230–41.
27. Behaegel J, Zakaria N, Tassignon MJ, Leysen I, Bock F, Koppen C, Ni Dhubhghaill, S. Short-and long-term results of xenogeneic-free cultivated autologous and allogeneic limbal epithelial stem cell transplantations. *Cornea.* 2019;38,1543–49.
28. Shimazaki J, Satake Y, Higa K, Yamaguchi T, Noma H, Tsubota K. Long-term outcomes of cultivated cell sheet transplantation for treating total limbal stem cell deficiency: Long-term outcomes of cultivated cell sheet transplantation. *Ocul. Surf.* 2020;18:663–71.
29. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Yamamoto K, Adachi E, Shigeru N, Akihiko K, Naoyuki M, Hitoshi W, Teruo O, Yasuo T. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N. Engl. J. Med.* 2004;51:1187-96.
30. K Ang LP, Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Koizumi N, Yokoi N, Shigeru K. Autologous serum-derived cultivated oral epithelial transplants for severe ocular surface disease. *Arch. Ophthalmol.* 2006;124:1543-51.
31. Burillon C, Huot L, Justin V, Nataf S, Chapuis F, Decullier E, Damour O. Cultured autologous oral mucosal epithelial cell sheet (CAOMECS) transplantation for the treatment of corneal limbal epithelial stem cell deficiency. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012;3:1325–31.

32. Hirayama M, Satake Y, Higa K, Yamaguchi T, Shimazaki J. Transplantation of cultivated oral mucosal epithelium prepared in fibrin-coated culture dishes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012;53:1602–9.
33. Yamato M K v. Long-Term Results of Cultured Autologous Oral Mucosa Epithelial Cell-Sheet (CAOMECS) Graft for the treatment of blindness due to bilateral limbal stem cell deficiency. *J. Stem Cell Res. Ther.* 2014;04.
34. Kim YJ, Lee HJ, Ryu JS, Kim YH, Jeon S, Oh JY, Choung HK, Khwarg SI, Wee WR, MD, Kim MK. Prospective clinical trial of corneal reconstruction with biomaterial-free cultured oral mucosal epithelial cell sheets. *Cornea.* 2018;37:76–83
35. Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Sotozono C, Yokoi N, Kinoshita S. Midterm results on ocular surface reconstruction using cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation. *Am. J. Ophthalmol.* 2006;141:267-75.
36. Nakamura T, Inatomi T, Cooper LJ, Rigby H, Fullwood NJ, Kinoshita S. Phenotypic investigation of human eyes with transplanted autologous cultivated oral mucosal epithelial sheets for severe ocular surface diseases. *J. Ophthalmol.* 2007;114:1080–8.
37. Satake Y, Murat D, Yamane GY, Kinoshita S, Tsubota K, Shimazaki J. Barrier function and cytologic features of the ocular surface epithelium after autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation. *Arch. Ophthalmol.* 2008;126:23-8.
38. Chen HCJ, Chen HL, Lai JY, Chen CC, Tsai YJ, Kuo MT, Chu PH, ChCh Sun, JK Chen, Ma DHK . Persistence of transplanted oral mucosal epithelial cells in human cornea. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009;50:4660–8.
39. Ma DHK, Kuo MT, Tsai YJ, Chen HCJ, Chen XL, Wang SF, Li L, Hsiao CH. Transplantation of cultivated oral mucosal epithelial cells for severe corneal burn. *Eye.* 2009;23:1442–50.
40. Priya CG, Arpitha P, Vaishali S, Prajna N v., Usha K, Sheetal K, Muthukkaruppan V. Adult human buccal epithelial stem cells: Identification, ex-vivo expansion, and transplantation for corneal surface reconstruction. *Eye.* 2011;25:1641–9.
41. Satake Y, Higa K, Tsubota K, Shimazaki J. Long-term outcome of cultivated oral mucosal epithelial sheet transplantation in treatment of total limbal stem cell deficiency. *J. Ophthalmol.* 2011;118: 1524–30.
42. Nakamura T, Takeda K, Inatomi T, Sotozono C, Kinoshita S. Long-term results of autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation in the scar phase of severe ocular surface disorders. *Br. J. Ophthalmol.* 2011;95: 942–6.
43. Takeda K, Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Watanabe A, Kinoshita S. Ocular surface reconstruction using the combination of autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation and eyelid surgery for severe ocular surface disease. *Am J. Ophthalmol.* 2011;152.
44. Chen HCJ, Yeh LK, Tsai YJ, Lai CH, Chen CC, Lai JY, Sun ChCh, Chang G, Hwang TL, Cheng JK, Ma DHK. Expression of angiogenesis-related factors in human corneas after cultivated oral mucosal epithelial transplantation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012;53:5615–23.
45. Sotozono C, Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Yokoi N, Ueta M, Matsuyama K, Miyakoda K, Kaneda H, Fukushima M, Kinoshita S. Visual improvement after cultivated oral mucosal epithelial transplantation. *J. Ophthalmol.* 2013;120:193–200.
46. Sotozono C, Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Yokoi N, Ueta M, Matusayama K, Kaneda H, Fukushima M, Kinoshita S. Cultivated oral mucosal epithelial transplantation for persistent

- epithelial defect in severe ocular surface diseases with acute inflammatory activity. *Acta Ophthalmol.* 2014;92:447-453.
47. Kolli S, Ahmad S, Mudhar HS, Meeny A, Lako M, Figueiredo FC. Successful application of ex vivo expanded human autologous oral mucosal epithelium for the treatment of total bilateral limbal stem cell deficiency. *Stem Cells.* 2014;32:2135–46.
 48. Dobrowolski D, Orzechowska-Wylegala B, Wowra B, Wroblewska-Czajka E, Grolik M, Szczubialka K, Nowakowska M, Puzzolo D, Wylegala EA, Micali A, Aragona P. Cultivated oral mucosa epithelium in ocular surface reconstruction in aniridia patients. *BioMed Res. Int.* 2015;2015.
 49. Prabhasawat P, Ekpo P, Uiprasertkul M, Chotikavanich S, Tesavibul N, Pornpanich K, Luemsamran P. Long-term result of autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation for severe ocular surface disease. *Cell Tissue Bank.* 2016;17:491–503.
 50. Baradaran-Rafii A, Delfazayebaher S, Aghdami N, Taghiabadi E, Bamdad S, Roshandel D. Midterm outcomes of penetrating keratoplasty after cultivated oral mucosal epithelial transplantation in chemical burn. *Ocul. Surf.* 2017;15:789–94.
 51. Venugopal R, Nagpal R, Mohanty S, Sen S, Kashyap S, Agarwal T, Maharana PK, Vajpayee RB, Sharma N. Outcomes of cultivated oral mucosal epithelial transplantation in eyes with chronic stevens-johnson syndrome sequelae. *A. J. Ophthalmol.* 2021;222:82–91.
 52. Weng J, He C, Lai P, Luo C, Guo R, Wu S, Geng S, Xiangpeng A, Liu X, Du X. Mesenchymal stromal cells treatment attenuates dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Mol. Ther.* 2012;20:2347–54.
 53. Møller-Hansen M, Larsen AC, Toft PB, Lynggaard CD, Schwartz C, Bruunsgaard H, Haack-Sørensen M, Ekblond A, Kastrup J, Heegaard S. Safety and feasibility of mesenchymal stem cell therapy in patients with aqueous deficient dry eye disease. *Ocul. Surf.* 2021;19:43–52.
 54. Liang L, Luo X, Zhang J, Su W, Zhu W, Xie Y, Zhang N, Peng Y, Chen X, Xiang AP, Liu Y, Liang D. Safety and feasibility of subconjunctival injection of mesenchymal stem cells for acute severe ocular burns: a single-arm study: mesenchymal stem cells for acute severe ocular burns. *Ocul. Surf.* 2021;22:103–9.
 55. El Zarif M, Alió JL, Alió del Barrio JL, Jawad KA, Palazón-Bru A, Jawad ZA, De Migue MP, Makdissy N. Corneal stromal regeneration therapy for advanced keratoconus: long-term outcomes at 3 years. *Cornea.* 2021;40:741–54.
 56. Zhou T, He C, Lai P, Yang Z, Liu Y, Xu H, Lin X, Ni B, Ju R, Yi W, Liang L, Pei D, Egwuagu CHE, Liu X. miR-204-containing exosomes ameliorate GVHD-associated dry eye disease. *Sci. Adv.* 2022; 8.