



---

**Universidad de Valladolid**

FACULTAD DE CIENCIAS

# Grado en Óptica y Optometría

MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO TITULADO

## Conceptos actuales sobre la aniridia

Presentado por: Ana Alonso Sampériz

Tutelado por: Ana De la Mata Sampedro

Tipo de TFG:  Revisión  Investigación

En Valladolid a 28 de mayo de 2024



## IOBA - Proyectos Investigación

Conformidad del Director del IOBA / Comisión de Investigación



D<sup>a</sup> **Miguel Maldonado López**, como Director del IOBA.

Hace constar:

Que conoce la documentación relativa al estudio con código de la Comisión de Investigación **IOBA-2024-02** que lleva por título **Conceptos actuales sobre la aniridia**, y que la misma ha sido evaluada previa realización por la Comisión de Investigación del IOBA.

El investigador principal del proyecto será:

D//D<sup>a</sup> **Ana de la Mata Sampedro**

Declaro tener conocimiento y apruebo la realización del estudio en el IOBA.

En Valladolid a, 21/3/2024

Fdo.: Miguel Maldonado López

Director del IOBA



IOBA - Campus Miguel Delibes - Paseo de Belén 17 - 47011 - Valladolid  
Tel. 983 42 35 59 | Fax 983 18 37 33 | ioba@ioba.med.uva.es | www.ioba.es

UEC-CEIM-02  
1 de 1  
V1 - 20180622

<b>Código Seguro De Verificación</b>	En+£9z9JJOFV40b00oGcqQ==	<b>Estado</b>	<b>Fecha y hora</b>	
<b>Firmado Por</b>	Miguel Jose Maldonado Lopez - Director Instituto de Oftalmobiología Aplicada (ioba)	Firmado	04/04/2024 13:16:00	
<b>Observaciones</b>		<b>Página</b>	1/1	
<b>Uri De Verificación</b>	<a href="https://portal.sede.uva.es/validador-documentos?code=En%2B£9z9JJOFV40b00oGcqQ%3D%3D">https://portal.sede.uva.es/validador-documentos?code=En%2B£9z9JJOFV40b00oGcqQ%3D%3D</a>			
<b>Normativa</b>	Este informe tiene carácter de copia electrónica auténtica con validez y eficacia administrativa de ORIGINAL (art. 27 Ley 39/2015).			

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>6</b>
1.1. Anatomía del iris .....	6
1.2. Funciones del iris .....	7
1.3. Aniridia: características generales .....	7
1.4. Signos y síntomas .....	8
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	<b>8</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>9</b>
<b>4. DESARROLLO Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>9</b>
4.1. Epidemiología.....	9
4.2. Diagnóstico y abordaje .....	10
4.3. Genética de la aniridia .....	12
4.3.1 PAX6: características del gen.....	12
4.3.2 Funciones del gen .....	13
4.3.3 Mutaciones genéticas .....	14
4.4. Complicaciones oculares asociadas .....	14
4.4.1 Hipoplasia del iris .....	15
4.4.2 Enfermedad de ojo seco (EOS) .....	16
4.4.3 Queratopatía .....	16
4.5. Tratamientos .....	18
4.5.1. Dispositivos protésicos de iris (DIP).....	18
4.5.2. Consideraciones postoperatorias .....	20
4.5.3. Perspectivas y direcciones futuras .....	20
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>22</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>23</b>

## RESUMEN

### Introducción

El iris es una estructura esencial para el correcto desarrollo de la función visual. La ausencia parcial o total del mismo se denomina aniridia y causa fotofobia y disminución de la agudeza visual.

### Justificación y Objetivos

Se realizó una búsqueda bibliográfica con el objetivo de describir los conceptos de la aniridia: diagnóstico, componente genético, complicaciones y tratamientos actuales.

### Material y métodos

Se revisaron y comprendieron diversos artículos científicos publicados entre 2005 y 2023 procedentes de ScienceDirect y PubMed utilizando términos de búsqueda relacionados con la aniridia.

### Desarrollo y discusión

La aniridia presenta una gran morbilidad, a pesar de su baja prevalencia. El examen diagnóstico se realiza por medio de una exploración oftalmológica. En la mayor parte de los casos se asocia a una mutación en el gen PAX6, sin embargo, la aniridia también se ve asociada frecuentemente a ciertas complicaciones oculares como la queratopatía y la hipoplasia foveal del iris. El principal tratamiento son los dispositivos protésicos de iris, aunque se están explorando nuevas opciones terapéuticas.

### Conclusiones

Dada la gran morbilidad asociada a la aniridia y sus frecuentes complicaciones, se está promoviendo la exploración de nuevas opciones de tratamiento como las lentes de contacto inteligentes o la terapia genética.

**Palabras clave:** aniridia, gen PAX6, óptica.

## **ABSTRACT**

### **Introduction**

The iris is an essential structure for the correct development of visual function. The partial or total absence of the iris is called aniridia and causes photophobia and decreased visual acuity.

### **Justification and objectives**

A bibliographic search was conducted with the aim of describing the concept of aniridia and its associations and updating treatments.

### **Materials and methods**

Between February and May 2024, various scientific articles published between 2005 and 2023 from ScienceDirect and PubMed were reviewed and understood through specific search terms.

### **Development and Discussion**

There is significant morbidity associated with aniridia despite its isolated prevalence. Diagnostic examination is performed through ophthalmological exploration. In most cases, it is associated with a mutation in the PAX6 gene, however, aniridia is more frequently associated to certain ocular complications such as keratopathy and foveal iris hypoplasia. The iris prosthetic devices is the main treatment known to date, although new options are being explored.

### **Conclusions**

The significant morbidity associated with aniridia promotes the exploration of the new treatment options such as smart contact lenses or gene therapy.

**Keywords:** aniridia, PAX6 gene, optics.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Anatomía del iris

El iris es un tejido en forma de disco delgado y contráctil situado entre el cristalino y la córnea<sup>1</sup>.

La formación de la compleja estructura del iris es evidente a mitad de la gestación en los seres humanos y finaliza en las etapas postnatales. Este proceso se ve condicionado por el adecuado desarrollo de las estructuras embrionarias que dan origen al iris, el neuroectodermo y el mesénquima periocular<sup>1</sup>.

En el desarrollo del segmento anterior del bulbo ocular, se originan células desde el epitelio superficial, estas necesitan interactuar con las células mesenquimales originadas principalmente en la cresta neural. En este proceso, intervienen diversos factores de transcripción, entre ellos el gen PAX6, el cual sincroniza la interacción entre estas células involucradas para la correcta formación del polo anterior. Defectos en esta interacción epitelio-mesenquimática pueden derivar en trastornos del desarrollo, como la aniridia<sup>2</sup>.

El iris está compuesto por diversos tipos celulares, donde el epitelio pigmentado es la capa más posterior. Por encima de este epitelio se hallan los músculos iridiales y, en la parte anterior, se sitúa el estroma del iris. La raíz de esta estructura se encuentra unida al cuerpo ciliar y a la unión córnea-esclera, formando lo que se conoce como ángulo iridocorneal<sup>1</sup>.

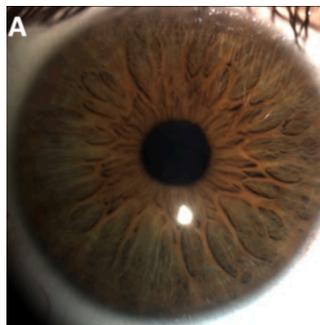


Figura 1. "Imagen de un iris fisiológico". Lovino C et al. *Eye (Lond)*. 2022.

### Epitelio pigmentado del iris (EPI)

Estructura formada por dos capas celulares, las cuales conectan con las capas epiteliales pigmentadas y no pigmentadas del cuerpo ciliar. Las células del EPI destacan por su capacidad de cambio o plasticidad<sup>1</sup>.

### Músculos del iris

El iris se compone de dos músculos de acción involuntaria denominados esfínter y dilatador, que se encargan de la contracción y dilatación de la pupila<sup>1</sup>.

### Estroma

El estroma se compone de células y fibras conectivas, cuya función es la creación de mallas donde se integran los vasos sanguíneos y los nervios<sup>1</sup>.

El contenido de melanina de esta estructura y del EPI, permiten la existencia de variaciones en el color del iris ocular<sup>1</sup>.

### Ángulo iridocorneal

El ángulo iridocorneal es aquel formado por la córnea y el iris, donde se lleva a cabo el constante drenaje del humor acuoso<sup>1</sup>.

## **1.2. Funciones del iris**

El iris desempeña múltiples funciones, entre las que se incluye el control de la cantidad de luz que penetra en las vías visuales y alcanza la retina. También se encarga de la focalización de los objetos cercanos, toma parte en la circulación del humor acuoso y, en la regulación de la presión intraocular. Además, la posición del iris permite la separación entre la cámara anterior y posterior en el ojo<sup>2</sup>.

Estas funciones se llevan a cabo gracias a la participación de dos músculos involuntarios citados anteriormente, el esfínter y el dilatador. Ambos actúan de forma contraria, provocando miosis (contracción) y midriasis (dilatación) respectivamente, ante cambios de iluminación o durante el ajuste focal. El sistema nervioso parasimpático se encarga de controlar la acción del musculo esfínter y, su inervación, se realiza a través del nervio oculomotor. Por otro lado, el musculo dilatador es controlado por el sistema nervioso simpático<sup>2</sup>.

Por otra parte, las células pigmentadas del iris tienen la capacidad de diferenciarse en diversos tipos celulares, como las del epitelio pigmentado de la retina, los fotorreceptores o las células del cristalino. Esto lo convierte en una fuente prometedora de terapias de reemplazo celular<sup>1</sup>.

## **1.3. Aniridia: características generales**

La aniridia se define como un trastorno ocular poco común caracterizado por distintos grados de hipoplasia del tejido que forma el iris<sup>3,4</sup>. A pesar de que la palabra provenga del griego significando “sin” [an-] “iris” [-iridia]<sup>5</sup>, no es del todo acertado, ya que siempre está presente alguna parte del iris. Aproximadamente, el 90% de los casos de aniridia se asocian a múltiples cambios oculares<sup>6</sup>, los cuales pueden aparecer en el nacimiento o progresivamente con el tiempo<sup>4</sup>. Debido a esto, se reconoce como un defecto panocular, afectando en la mayor parte de los casos a ambos ojos (bilateralidad). La primera descripción de este trastorno fue en 1818 por Barrata et al<sup>6</sup>.

Se encuentran una gran variabilidad de manifestaciones oculares y otras anomalías del segmento anterior y posterior, como distrofias retinianas o neuropatías ópticas, que suelen aparecer junto con la aniridia<sup>7</sup>. Además, entre ellas suele haber un gran solapamiento clínico. Debido a ello y a la asociación

de hallazgos no oculares, cada vez es más común el empleo del término “Síndrome de aniridia” para nombrar la afectación<sup>8</sup>.

La hipoplasia de la fovea es algo común en esta patología y suele asociarse a pérdida de visión (agudeza visual) y nistagmo. Se pueden encontrar complicaciones secundarias como queratopatía, glaucoma, cataratas y enfermedad de ojo seco entre otras. Este tipo de complicaciones comunes, pueden llegar a ser graves y pueden empeorar con el tiempo tras aparecer en la infancia o adolescencia, afectando aún más la función visual. Tratar estas complicaciones es difícil y conlleva un elevado riesgo de generar efectos secundarios, sin embargo, actualmente hay nuevos enfoques que ofrecen pronósticos más alentadores<sup>8</sup>.

Además, existen formas más leves de aniridia en las que suceden cambios sutiles en la arquitectura del iris, pero se mantiene una buena visión y la estructura foveal es normal. La severidad de la enfermedad y sus complicaciones puede variar entre familias y los individuos que las conforman<sup>9</sup>.

#### **1.4. Signos y síntomas**

Esta patología conlleva como principal consecuencia la incapacidad del ojo para controlar adecuadamente la entrada de luz a la retina. Esto deriva en deslumbramientos, deterioro de la visión y fotofobia. Comúnmente, las personas que padecen aniridia tienen problemas para distinguir detalles de objetos a contraluz. Además, es común que estos pacientes presenten defectos refractivos, especialmente la hipermetropía<sup>10</sup>.

Es por ello por lo que la agudeza visual de las personas con aniridia suele ser menor a un 20%, e incluso descender por debajo del 10%, en función de los diversos problemas asociados que se presenten en cada individuo<sup>10</sup>.

## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

Según el consorcio europeo para enfermedades raras, la aniridia es una enfermedad rara con una prevalencia mínima, siendo de 1:64.000/1:96.000. La literatura actual pone su foco en los aspectos genéticos del trastorno, mientras que los estudios sobre el manejo clínico son escasos. Además, la asociación de esta patología con otras alteraciones oculares es cada vez más común y compleja.

Con todo lo anterior, una búsqueda basada en la evidencia científica podría proporcionar un mayor entendimiento de esta patología y de los posibles planes de acción que existen frente a ella.

Como ópticos optometristas, es relevante conocer los signos principales de la aniridia para detectarla de manera temprana, realizar un buen manejo y, así asegurar una correcta intervención. Es importante conocer las bases de este trastorno y desarrollar habilidades comunicativas para poder ofrecer un correcto consejo genético y ayudar a los pacientes afectados.

Por todo ello, la realización de un TFG en el que se aborden estos temas importantes para el conocimiento, manejo, abordaje y tratamiento de la aniridia toma relevancia.

Los objetivos principales del trabajo se pueden describir de la siguiente manera:

- Objetivo general: realizar una búsqueda bibliográfica acerca de la aniridia con el fin de describir las principales características de esta y conocer los aspectos más relevantes relacionados con la patología, así como sus tratamientos actuales.
- Objetivos específicos:
  - o Estudiar la fisiopatología de la aniridia y las diversas asociaciones oculares.
  - o Estudiar los síntomas y signos asociados para realizar una correcta detección precoz.
  - o Actualizar bibliográficamente los avances y tratamientos que existen para esta enfermedad.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

En el proceso de realización de este TFG, se han empleado diversos artículos científicos, los cuales han sido revisados y comprendidos. La información que se presenta en el trabajo se ha extraído de la lectura de estos artículos procedentes de ScienceDirect y PubMed entre otros, con periodo de publicación entre “2005 y 2023”. También, se han revisado revistas científicas y la página oficial de asociación española de aniridia para la recopilación de datos.

Se han utilizado diferentes términos de búsqueda: “aniridia diagnosis”, “iris function”, “genetics of congenital aniridia”, “aniridia-associated keratopathy”, “WAGR síndrome”, “iris prosthetics”.

### **4. DESARROLLO Y DISCUSIÓN**

#### **4.1. Epidemiología**

Las enfermedades raras son aquellas que presentan una elevada tasa de mortalidad, pero baja prevalencia. Normalmente, suelen tener una evolución crónica severa, con deficiencias motoras, sensoriales y cognitivas múltiples. Debido a esto, poseen un alto nivel de complejidad clínica, dificultando así su diagnóstico y tratamiento. Mayoritariamente son de origen genético, aunque el componente ambiental nunca debe descartarse<sup>11</sup>.

La aniridia está definida como una enfermedad rara según la Organización Nacional de Enfermedades Raras de los Estados Unidos (NORD) y Orphanet, el consorcio europeo para enfermedades raras<sup>8</sup>. Según este último, “la prevalencia de la aniridia aislada es aproximadamente de 1 entre 64.000 a 96.000 nacidos vivos”<sup>3</sup>. Según NORD, “esta patología afecta por igual a hombres y mujeres en igual número y, se estima que ocurre en 1 de cada 40.000 a 96.000 nacidos vivos en EE. UU”<sup>12</sup>. En España, “se ha descrito una incidencia mínima de

1:135.000/238.000” en el Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas<sup>8</sup>.

La morbilidad de esta enfermedad es frecuentemente elevada, debido al deterioro visual y a las alteraciones sistémicas asociadas<sup>6</sup>. Hasta el momento, la revisión de la literatura no ha descubierto indicios de que las exposiciones ambientales o el uso de medicamentos en periodos de embarazo aumenten el riesgo de tener un descendiente con aniridia. Así mismo, tampoco se ha observado una predilección racial o de género significativa<sup>8</sup>.

## 4.2. Diagnóstico y abordaje

El diagnóstico de la aniridia se lleva a cabo por medio de una exploración oftalmológica y se puede conocer la causa por medio de la detección de una mutación en el gen PAX6 a través de pruebas genéticas<sup>3</sup>. Los diversos estudios moleculares son herramientas diagnósticas esenciales, ya que permiten un correcto manejo clínico del paciente y asesoramiento familiar<sup>7</sup>.

Esta patología no se identifica siempre en los exámenes pediátricos rutinarios, sin embargo, si se logra detectar a lo largo de la primera o segunda semana de vida. En un niño con aniridia, los padres podrán encontrar las siguientes peculiaridades<sup>5</sup>:

- Evita abrir los ojos y llora ante luces intensas.
- Mayor tendencia a abrir los ojos en condiciones bajas de iluminación.
- Aparecen movimientos oculares erráticos.
- No es capaz de fijar la mirada y no sonríe.
- Ausencia de “color” en el iris, sus ojos son negros de igual color que la pupila.

Ante la detección de alguno de estos signos, el niño deberá someterse a una evaluación médica realizada por un oftalmólogo. Este, realizará diversas pruebas para confirmar la presencia de aniridia y evaluar la gravedad de la alteración<sup>5</sup>:

- Examen de motilidad ocular extrínseca (MOE)<sup>5</sup>:
  - Evaluar presencia de nistagmo.
  - Evaluar la fijación ocular.
- Examen del segmento anterior de los ojos<sup>5</sup>:
  - Determinar si la aniridia presente es parcial o completa
  - Evaluar la transparencia del cristalino y córnea. Diagnosticar presencia de cataratas.

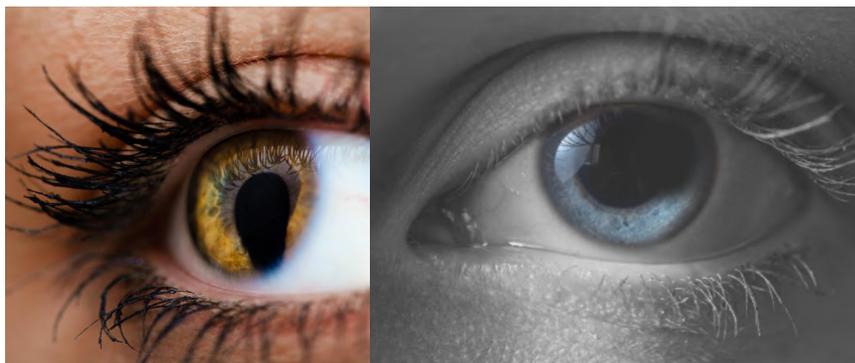
- Examen de la parte posterior de los ojos<sup>5</sup>:
  - Presencia de hipoplasia foveal
  - Presencia de hipoplasia del nervio óptico
- Medición de la presión intraocular (PIO)<sup>5</sup>:
  - Evaluar si la PIO es elevada, baja o normal.
  - Este examen deberá realizarse cada 6 meses en un paciente con aniridia.
  - Es probable que, en niños pequeños o recién nacidos, la evaluación deba realizarse bajo anestesia general.

En principio, el diagnóstico de la aniridia es bastante sencillo, ya que la ausencia total o parcial del iris es un signo evidente<sup>8</sup>. Se podrá observar en el paciente una pupila excesivamente grande de manera continua, la cual no variará de tamaño ante la presencia de luz<sup>5</sup>.

Después de que un oftalmólogo determine el diagnóstico de la patología, el paciente deberá realizar una serie de pruebas genéticas que permitirán conocer la mutación que ha causado la aniridia. Además, se comprobará si hay algún síndrome asociado. Aquellos diagnósticos de aniridia relacionada con el gen PAX6 se obtienen tras un ensayo en el cual se advierte alguno de los siguientes hallazgos genéticos clínicos y moleculares<sup>7</sup>:

- Aniridia aislada (sin participación sistémica), caracterizada por una variante patógena heterocigota en el gen PAX6, el cual puede variar en tamaño desde una mutación de un solo nucleótido a una deleción total o parcial del gen<sup>7</sup>.
- Aniridia asociada a uno o más hallazgos del síndrome de WAGR, junto con una deleción del gen PAX6 y del gen adyacente<sup>7</sup>.

Es importante realizar un diagnóstico diferencial con la patología de coloboma de iris (Figura 2A). Esta se debe a un defecto congénito caracterizado por una fisura o agujero en el iris. A diferencia de la aniridia (Figura 2B), el coloboma no suele producir alteraciones de la visión ni va asociado a otras complicaciones oculares<sup>8</sup>.



*Figura 2. “Comparación de la apariencia de un coloboma (A) y una aniridia (B)”.*  
A. National Eye Institute. Coloboma. <https://www.nei.nih.gov> (29 de febrero de 2024).  
B. Asociación Española de Aniridia. Aniridia mes a mes. <https://aniridia.es> (29 de febrero de 2024).

A pesar de la simplicidad del diagnóstico, el pronóstico de la aniridia puede ser bastante complejo de determinar, ya que cada ojo puede presentar diversas situaciones iniciales, influyendo así en la evolución de la patología<sup>5</sup>.

El manejo de este trastorno y de sus complicaciones asociadas se realizará de manera individualizada y personalizada. Dado que esta patología tiene baja incidencia, los resultados no pueden generalizarse y deberán tenerse en cuenta únicamente para cada caso<sup>5</sup>.

Para el abordaje de las enfermedades raras es necesario un planteamiento y enfoque interdisciplinar, centrándose en buscar la reducción de la morbilidad, evitar lo máximo posible la mortalidad prematura y disminuir el grado de discapacidad. De esta manera se conseguirá mejorar la calidad de vida de los pacientes, así como el nivel socioeconómico de las personas afectadas<sup>11</sup>.

### **4.3. Genética de la aniridia**

En el 90% de los casos, el origen de la aniridia es debido a una mutación heterocigota en el gen PAX6. El 10% restante de los casos, se trata de aniridia esporádica, en la cual no se encuentran antecedentes familiares. En ocasiones también pueden darse casos de aniridia secundaria a traumatismos<sup>8</sup>.

La aniridia clásica es heredada de manera autosómica dominante. Una alteración se considera dominante cuando únicamente se necesita un alelo mutado para que se produzca (los alelos son dos copias de cada gen presentes en cada célula del cuerpo). Sólo es transmitido un alelo de cada padre a su hijo, por lo que la persona afectada puede transmitir la mutación con una probabilidad del 50%, independientemente del género de sus descendientes<sup>5</sup>.

Aproximadamente, un tercio de los casos son denominados “mutación de novo”, indicando que el niño desarrolla una mutación nueva en el gen y que los padres no tienen aniridia (aniridia esporádica)<sup>5</sup>.

#### 4.3.1 PAX6: características del gen

El gen PAX6 (*Figura 3*) se ubica en el brazo corto del cromosoma 11 (11p13). Este se compone de 14 exones, los cuales se encargan de codificar una proteína con dos dominios de unión al ADN, un homeodominio, un dominio pareado y un dominio rico en prolina-serina-teonina<sup>7</sup>.

En humanos, este gen se expresa de manera temprana en la vesícula óptica y, posteriormente en la copa óptica, donde contribuye a la creación de la retina neural y pigmentaria. También, se expresa en capas ectodérmicas favoreciendo la diferenciación de diversas estructuras del segmento anterior, como el cristalino y el epitelio corneal. En la etapa postnatal, la expresión del gen PAX6 se restringe a algunas capas retinianas, al cristalino, córnea, iris y al

cuerpo ciliar, donde juega un papel importante en el mantenimiento de estas estructuras<sup>7</sup>.

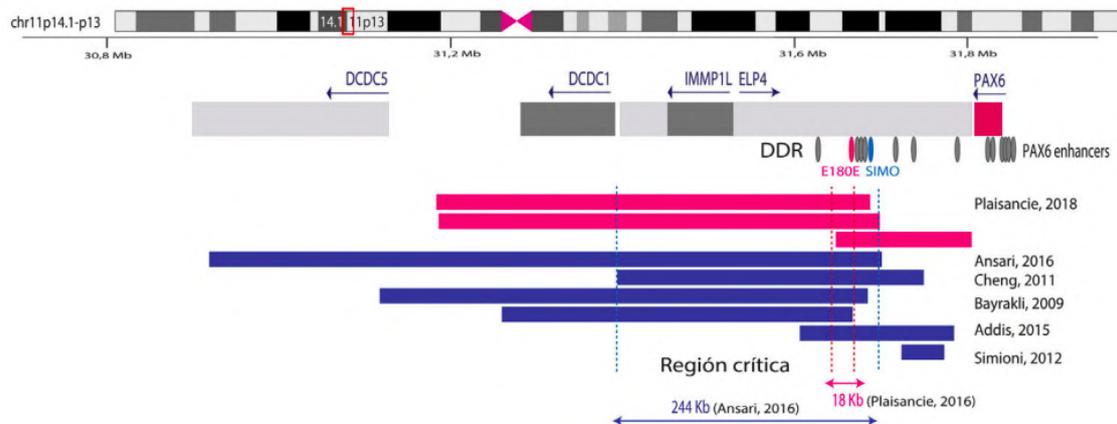


Figura 3. “Representación del locus de PAX6 en la región cromosómica 11p13, gen PAX6 y sus elementos reguladores. Se representa la estructura exónica con los 14 exones del gen PAX6, incluyendo regiones no codificantes (en gris) y las diferentes regiones codificantes, en donde los colores indican el dominio proteico codificado, y los promotores”. Blanco Kelly F et al. Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología .2021.

#### 4.3.2 Funciones del gen

El gen PAX6 desempeña un papel esencial en la embriogénesis ocular, encargándose de regular la diferenciación espaciotemporal de los segmentos anterior y posterior del ojo. La posible desregulación de la expresión de este gen durante el desarrollo embrionario ya sea por haploinsuficiencia o sobreexposición, puede dar lugar a una gran variedad de alteraciones y anomalías oculares en distintos modelos animales y en humanos<sup>7</sup>.

Este gen es responsable de la codificación de una proteína que actúa como factor de transcripción, uniendo el ADN y regulando la expresión del gen. El volumen de producción de la proteína PAX6 asociado a una copia normal del gen PAX6 se considera insuficiente para mantener la función normal, es por ello por lo que la pérdida de una copia funcional está asociada a la aparición de la aniridia. El gen PAX6 se encarga de controlar una serie de genes diana, debido a esto, la falta de una pequeña cantidad de PAX6 altera la expresión de múltiples genes, afectando así al desarrollo de células y tejidos<sup>8</sup>.

Debido a que el gen PAX6 se encarga de la regulación de otros genes, las alteraciones genéticas pueden afectar a otras estructuras oculares como el cristalino o la retina, sin respetar la división en capas embrionarias<sup>13</sup>. Además, se cree que la proteína que codifica activa genes que intervienen en la formación del sistema nervioso central y el páncreas. Cuando se identifica la alteración genética en una familia, es posible la realización de pruebas prenatales durante un embarazo de mayor riesgo y pruebas genéticas preimplantacionales<sup>9</sup>.

### 4.3.3 Mutaciones genéticas

Los genes se encuentran en los cromosomas, donde se halla la totalidad de nuestra información hereditaria y del desarrollo<sup>5</sup>. El gen PAX6 regula el desarrollo ocular de la semana 8 a la 14 del embarazo, coincidiendo este período con el crucial para la formación de los ojos, durante el cual se puede producir la aniridia hereditaria<sup>8</sup>.

Distintas mutaciones del gen PAX6 pueden alterar el producto de la proteína de diversas maneras. Las mutaciones de “sentido erróneo” o “missense” resultan en proteínas PAX6 disfuncionales, ya que se genera un mal plegamiento o una incapacidad de unirse de manera adecuada a los genes objetivo. Por otro lado, las de tipo “sin sentido” o “nonsense” pueden dar lugar a proteínas truncadas que, probablemente, se encuentren funcionalmente inactivas<sup>8</sup>.

Las mutaciones que presentan un codón de terminación prematura en el gen PAX6, suelen estar asociadas con la aniridia u otras condiciones estrechamente relacionadas, tales como hipoplasia del iris, queratitis y cataratas congénitas<sup>8</sup>.

Las mutaciones de “sentido erróneo” o “missense”, normalmente se relacionan con un fenotipo de aniridia más leve, lo que incluye una frecuencia de hipoplasia foveal menor y un deterioro de la visión menos grave<sup>8</sup>.

Hasta un tercio de los pacientes que padecen aniridia pueden presentar una forma sindrómica<sup>7</sup>. Algunas de las alteraciones más extensas del cromosoma 11, que incluyen los genes PAX6 y WT1, pueden derivar en la aparición del síndrome de WAGR. Por otro lado, puede aparecer el síndrome de Gillespie, asociado también a la aniridia. Este se considera autosómico recesivo y es genéticamente distinto a la aniridia clásica<sup>14</sup>.

- Síndrome de WAGR: Se trata de un trastorno genético de baja frecuencia que se caracteriza por la combinación de aniridia total o parcial, alteraciones genitourinarias que abarcan desde la ambigüedad sexual hasta la ectopia testicular, diferentes grados de discapacidad intelectual y un elevado riesgo de sufrir un tumor de Wilms (tipo de tumor pediátrico que afecta al riñón)<sup>3</sup>.
- Síndrome de Gillespie: Trastorno neurológico congénito poco común que se caracteriza por la combinación de aniridia bilateral parcial, ataxia cerebelosa no progresiva y discapacidad intelectual<sup>3</sup>.

### **4.4. Complicaciones oculares asociadas**

Las anomalías fenotípicas más frecuentes de la aniridia congénita son la queratopatía asociada a la aniridia (QAA) y la hipoplasia foveal de iris. Estas se encuentran en aproximadamente el 80% o el 100% de los casos<sup>8</sup>.

Tabla 1. "Representación general de los hallazgos oculares asociados a la aniridia y su correspondiente prevalencia". Landsend ECS et al. Survey of Ophthalmology. 2021.

Hallazgo	Predominio
Agudeza visual reducida	Probablemente 100%
Nistagmos	64-95%
EOS	56-95%
QAA	78-96%
Hipoplasia del iris	Probablemente 100%
Glaucoma	46-70%
Catarata	90%
Hipoplasia foveal por OCT	92%
Hipoplasia del nervio óptico	11-29%

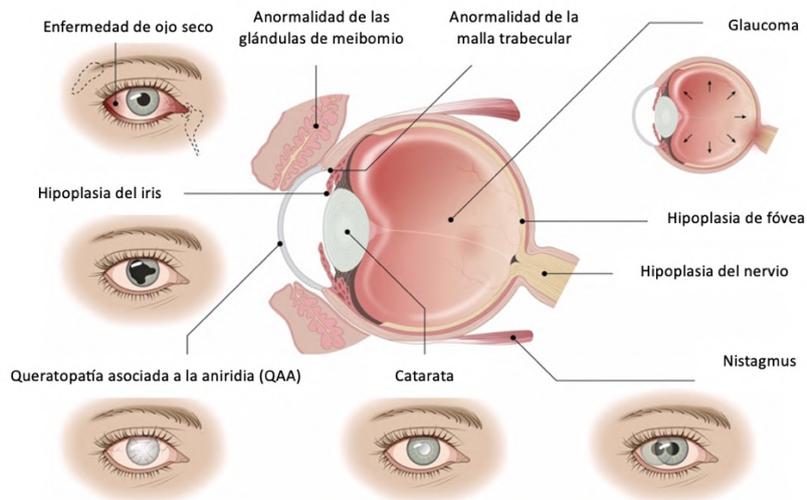


Figura 4. "Manifestaciones oculares del síndrome de aniridia". Van Velthoven AJH et al. Survey of Ophthalmology. 2023.

#### 4.4.1 Hipoplasia del iris

Este fenómeno es un rasgo distintivo de la aniridia. Su grado de presentación puede variar considerablemente entre los pacientes, en algunos el tejido del iris únicamente podrá ser observado por medio de una gonioscopia o

tomografía de coherencia óptica (OCT) del segmento anterior. Sin embargo, en otros casos este tejido será visible a través de la realización de un examen con lámpara de hendidura (BPA)<sup>8</sup>.

#### 4.4.2 Enfermedad de ojo seco (EOS)

Anteriormente, se atribuía el grado de enfermedad de la superficie ocular en pacientes con aniridia a una baja producción de lágrima. Sin embargo, más tarde, Jastaneiah y Al-Rajhi<sup>15</sup> sugirieron que la EOS que se daba en estos pacientes, tenía relación con una mala calidad de la película lagrimal. Esto fue respaldado por la observación de una reducción de tiempo de ruptura lagrimal en una gran cantidad de pacientes (80,6%). Además, se informó sobre la presencia de orificios estenóticos en la glándula meibomiana en un gran porcentaje de pacientes con ojo seco (77,8%)<sup>8,15</sup>.

Posteriormente, Landsend ECS et al<sup>16</sup> revelaron una EOS agravada en pacientes con aniridia en comparación con aquellos que no la padecían. Este incluyó un aumento de la osmolaridad de la película lagrimal en la aniridia. Ambos análisis, tanto los subjetivos como los computarizados, mostraron un aumento de la atrofia de las glándulas de meibomio. Además, el número de glándulas era significativamente menor en los pacientes con aniridia. Por lo tanto, la disfunción de la glándula meibomiana se considera un factor patológico importante en la aparición de la EOS en la aniridia<sup>8,16</sup>.

Por otro lado, se observó que los sujetos con aniridia mostraron una puntuación elevada de tinción vital corneal, lo cual se asoció positivamente con el estadio de QAA y, de manera negativa con la sensibilidad corneal. Este hallazgo sugiere que la enfermedad corneal puede desencadenar el desarrollo de la EOS en pacientes que padezcan aniridia y que la EOS podría inducir o aumentar la QAA<sup>8,16</sup>.

#### 4.4.3 Queratopatía

Es una opacificación progresiva de la córnea. Se trata de una de las manifestaciones más dolorosas y limitantes asociadas a la aniridia congénita y, si no se trata, puede conducir a la ceguera con el transcurso del tiempo<sup>17</sup>.

La progresión de esta afección sigue un patrón característico similar al déficit de células madre limbares, que puede ser clasificado por medio de un esquema (Figura 5)<sup>17</sup>:

- Grado 0: córnea sana donde el borde limbar está intacto y bien definido.
- Grado 1: etapa más temprana de la QAA, en la que comienza la ruptura del borde limbar causada por la neovascularización corneal.
- Grado 2: seguido, se produce una invasión radial hacia el interior de un epitelio conjuntival traslucido anormal.
- Grado 3: la invasión radial llega hasta el eje visual central.

- Grado 4: se genera una superficie corneal desigual y engrosada con opacidades blancas.

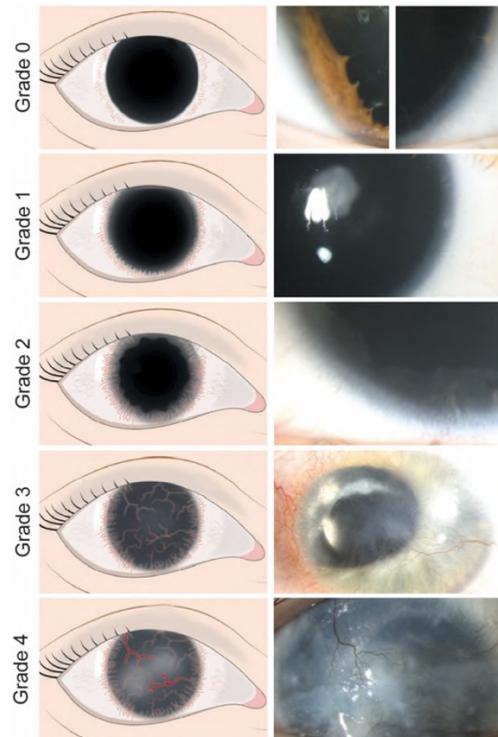


Figura 5. “Escala de clasificación para la queratopatía asociada a la aniridia”.  
Van Velthoven AJH. *Survey of Ophthalmology*. 2023.

#### 4.4.3.1 Gestión de la QAA y posibles direcciones futuras

El manejo de la QAA supone un desafío debido a la naturaleza multifacética que caracteriza a la patología de la superficie ocular y al elevado riesgo de complicaciones que se pueden dar tras las intervenciones. El enfoque de tratamiento es individualizado y específico, y está guiado por la gravedad de la enfermedad y la presencia de otras complicaciones oculares como el glaucoma o las cataratas<sup>17</sup>.

Si bien el tratamiento convencional se centra en el alivio sintomático, la restauración de la visión funcional y el mantenimiento de una superficie ocular saludable, existen nuevos enfoques de tratamiento que se centran en ralentizar la progresión de la QAA y prevenir el deterioro de la visión. A continuación, se describen brevemente algunos de ellos<sup>17</sup>:

#### Queratoprótesis

Cuando la queratoplastia no es viable o ha fallado repetidamente, la queratoprótesis de Boston tipo I puede considerarse como último recurso. El principal beneficio es que el cilindro óptico de la prótesis no puede opacificarse ni vascularizarse debido a la naturaleza artificial de su parte central. Sin embargo, esta alternativa presenta gran cantidad de efectos secundarios y complicaciones, tales como la formación de una membrana retro-protésica, la fusión de la córnea o el desarrollo de glaucoma<sup>17</sup>.

### Inmunosupresión

A pesar de que la córnea sea considerada como un tejido inmunoprivilegiado, el fracaso del injerto suele ocurrir con elevada frecuencia. El tratamiento actual para este tipo de rechazos se centra en el uso de esteroides y otros agentes inmunomoduladores<sup>17</sup>.

Aunque estos regímenes de inmunosupresión sistémica y/o tópica se apliquen en pacientes con aniridia, la tasa de éxito de los trasplantes sigue siendo baja<sup>17</sup>.

### Terapia celular

Dado que la QAA está asociada con la deficiencia de células madre limbares, normalmente se han empleado tratamientos centrados en la restauración de un epitelio corneal sano<sup>17</sup>.

El trasplante epitelial limbar cultivado alogénico, que utiliza células de donantes cadáver, ha mostrado buenos resultados sólo a corto plazo en el tratamiento de los ojos gravemente afectados por QAA, ya que a largo plazo se ha producido rechazo<sup>17</sup>.

## **4.5. Tratamientos**

La ausencia de iris no solo implica consecuencias cosméticas, sino que también afecta directamente a la calidad visual. El enfoque principal en el manejo clínico de la aniridia se centra en la restauración de la función del iris, buscando la mejora de la agudeza visual del paciente. Las opciones de tratamiento de esta patología pueden centrarse en la modificación de la superficie ocular o del entorno intraocular<sup>18</sup>.

En cuanto al enfoque de la superficie ocular, se incluyen la cirugía de párpados y las lentes de contacto tintadas entre otras. Ninguna de estas alternativas ha mostrado resultados satisfactorios<sup>18</sup>.

### 4.5.1. Dispositivos protésicos de iris (DIP)

En el tratamiento intraocular destaca la pupiloplastia o el implante de un iris artificial. Cuando el defecto del iris es pequeño y persiste una cantidad de tejido suficiente, es posible restaurar la función del iris mediante técnicas de sutura como McCannell o Siepser. En casos de defectos mayores, el recurso más empleado es la prótesis de iris<sup>18</sup>.

La literatura ha descrito tres dispositivos protésicos de iris (DPI): el diafragma de lente de iris (DLI), un dispositivo de iris basado en el anillo de tensión capsular (DPI basado en ATC) y el iris artificial (IA) personalizado<sup>18</sup>.

Tabla 2. “Ventajas y desventajas de cada tipo de prótesis utilizada en la literatura revisada”. Romano D et al. *Survey of Ophthalmology*. 2023.

Tipo de prótesis	Ventajas	Desventajas
DLI	Trata la aniridia y la afaquia simultáneamente.	Requiere una gran incisión corneal. La colocación en el segmento anterior es complicada.
DPI basado en ATC	Requiere una pequeña incisión corneal. Disminuye el riesgo de complicaciones intra y postoperatorias	Susceptible a fracturas. La alineación precisa es difícil.
IA personalizado	Requiere una pequeña incisión corneal debido a su material de silicona y a la falta de óptica central.	Se requiere una lente intraocular separada si es necesario.

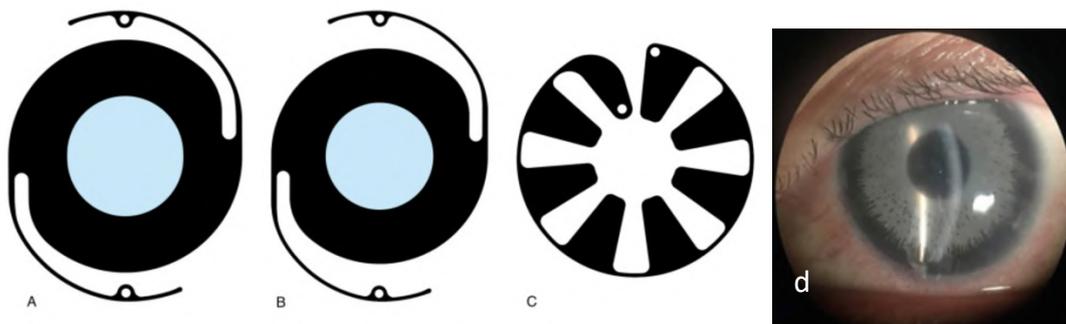


Figura 6. “Diafragma de lente de iris (ILD) (A y B), dispositivo protésico de iris (PID) basado en CRT (C) e implante de iris artificial (D)”. Romano D et al. *Survey of Ophthalmology*. 2023

Los DPI, ya sea con lente intraocular o no, suponen la única opción para la mejora de los síntomas existentes en algunos pacientes. Sin embargo, el proceso de implantación es complejo y conlleva un alto riesgo de complicaciones. Los DPI se han utilizado principalmente para la aniridia traumática, pero su uso puede extenderse a pacientes con aniridia congénita<sup>19</sup>.

#### 4.5.2. Consideraciones postoperatorias

Además de la utilización de gotas antiinflamatorias postoperatorias estándar, como los esteroides, se debe plantear el uso de una versión sin conservantes. Esto es debido a la gran cantidad de anomalías de las células madre limbares observadas en pacientes con aniridia y, a la elevada progresión de la QAA observada en adultos<sup>19</sup>.

Todos los estudios revisados incluyen casos con complicaciones postoperatorias, entre ellas se encuentran la progresión del glaucoma en pacientes con glaucoma preexistente (58,9%), el glaucoma secundario (27,6%), la progresión de la QAA (27%), la descentralización de la prótesis (10,6%) y la pérdida de células endoteliales (9%). Ninguno de los implantes de iris descritos en la literatura revisada es capaz de replicar las propiedades dinámicas de un iris humano<sup>18</sup>.

La endoftalmitis postoperatoria crónica es compleja de detectar en el contexto de aniridia traumática e implantación de prótesis de iris. Esto es debido a su confusión con otras posibles inflamaciones intraoculares crónicas. Actualmente se han descubierto casos de pacientes con esta complicación y, es por ello por lo que los médicos deben sospechar de ella ante cualquier caso de inflamación intraocular recurrente<sup>20</sup>.

La literatura sugiere que la combinación de un implante de iris con la cirugía de cataratas mejora la agudeza visual y los síntomas en pacientes con aniridia<sup>18</sup>. Cuando exista la posibilidad, se debe colocar una lente intraocular frente a las lentes de contacto afáquicas, ya que estas últimas pueden afectar negativamente a las células madre limbares<sup>19</sup>.

#### 4.5.3. Perspectivas y direcciones futuras

La baja incidencia de la aniridia complica la realización de estudios clínicos con tamaños de muestra adecuados. Esta limitación puede afectar a la disponibilidad de evidencia científica y, por tanto, las conclusiones que se extraen de la literatura pueden considerarse menos fiables<sup>18</sup>.

Una mayor comprensión de las correlaciones fenotipo-genotipo basada en hallazgos clínicos específicos, será fundamental para predecir la evolución de la enfermedad y tomar medidas preventivas frente a la aniridia congénita<sup>19</sup>.

La colaboración multidisciplinaria a nivel nacional e internacional entre médicos, biólogos, genetistas e investigadores permitirá mejorar el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de esta rara enfermedad. Además, la inclusión de los pacientes en los registros nacionales mejorará el contacto con ellos cuando las terapias específicas para la mutación estén disponibles<sup>19</sup>.

En los últimos años, el progreso que se ha logrado en cuanto a pruebas moleculares exhaustivas es notable. Esto ha permitido el descubrimiento de nuevos genes y mutaciones asociadas a múltiples trastornos hereditarios, incluida la aniridia congénita. Estos avances permiten dirigir las estrategias

genéticas clásicas hacia nuevos horizontes, permitiendo en el futuro ofrecer diagnósticos clínicos definitivos de manera temprana<sup>19</sup>.

Debido a su baja prevalencia, la aniridia congénita supone una serie de desafíos de investigación, especialmente en el diseño de ensayos clínicos. Esta patología constituye un modelo para el desarrollo de la terapia génica, especialmente para la QAA y el glaucoma, las cuales son las principales causas de ceguera en la aniridia y deberían ser el objetivo de futuras investigaciones<sup>19</sup>.

### Lentes de contacto inteligentes

La calidad óptica en pacientes con aniridia se ve limitada por las aberraciones de alto orden. El diseño tradicional de las lentes de contacto esclerales corrige el desenfoque con precisión, sin embargo, no es capaz de compensar estas aberraciones, especialmente las esféricas<sup>21</sup>.

El diseño de las lentes de contacto inteligentes, basado en iris artificiales, consigue la compensación de prácticamente todas las aberraciones de alto orden. Esto es por medio de un control activo del diámetro pupilar, utilizando células de cristal líquido activadas por la iluminación ambiental. Además, se consigue reducir el tamaño de la pupila aumentando así la profundidad de foco<sup>21</sup>.

Se está estudiando actualmente el concepto de una plataforma de iris artificial inteligente encapsulada en una lente de contacto escleral para su uso en pacientes con aniridia<sup>21</sup>.

### Tecnología CRISPR-cas9

Debido a la base genética de la enfermedad, se está estudiando la viabilidad de emplear la técnica CRISPR-cas9 (acrónimo de "repetición palindrómica corta agrupada y regularmente interespaciada" en inglés) como tratamiento. Esta técnica fue descrita por Doudna JA et al<sup>23</sup>, demostrando que es posible la edición del ADN, es decir, la capacidad de cortar y pegar el material genético de una célula. Para ello, una enzima denominada "cas" capaz de cortar el ADN, se dirige a la región del genoma que se desea modificar. Allí, la enzima ejerce su función y, la propia maquinaria celular se encarga de inducir el ADN reparado en el corte<sup>21,23</sup>.

Mirjalili Mohanna SZ et al<sup>24</sup>, indujeron con éxito la enfermedad de aniridia en ratones por medio de modificaciones en el gen PAX6. A continuación, se aplicó la técnica CRISPR-cas9 a las células germinales de los ratones con aniridia y, se observó que la corrección de la enfermedad se dio en el 34,8% de los casos. Posteriormente, se examinó la descendencia de estos ratones y se observó que poseían un iris funcional<sup>21,24</sup>.

### Terapia START

Las mutaciones "sin sentido" o "nonsense" ocurren aproximadamente en el 50% de los casos de aniridia. Un tratamiento dirigido a la supresión de este tipo de mutaciones puede ser beneficioso para un gran número de pacientes<sup>25</sup>.

Wang X et al<sup>26</sup> desarrollaron la exploración de una terapia de supresión para las mutaciones de tipo “sin sentido”, dirigida a la regulación de PAX6 disponible en diferentes etapas del desarrollo ocular en modelos de ratones con aniridia<sup>25,26</sup>.

En este tipo de mutaciones, la interrupción temprana en la producción de proteínas resulta en proteínas truncadas, afectando a los procesos posteriores en los que estén involucradas. En el caso de la aniridia congénita, estas proteínas interfieren en el desarrollo de los tejidos oculares. El objetivo de esta terapia es identificar la localización exacta de esa interrupción en la formación de proteínas y, dar la orden para que puedan ser sintetizadas correctamente<sup>25</sup>.

Los resultados indicaron que los ojos de ratones son capaces de remodelarse bajo terapias de supresión de mutaciones “sin sentido”, durante un periodo de tiempo limitado que coincide con los primeros años de vida. Este periodo de tiempo es desconocido en el caso de humanos, lo que hace imposible la aplicación de este tipo de terapias por ahora<sup>25,26</sup>.

## 5. CONCLUSIONES

1- La aniridia es una enfermedad rara caracterizada por la ausencia total o parcial del iris. Su diagnóstico se realiza por medio de una exploración oftalmológica, incluso en ocasiones la ausencia del tejido del iris puede detectarse a simple vista.

2- Las comorbilidades asociadas a la aniridia hacen necesaria la investigación de nuevas terapias. Hoy en día, muchas de ellas se centran en el estudio de las mutaciones genéticas, principalmente del gen PAX6, o en la creación de lentes de contacto inteligentes que permiten el control del desenfoque.

3- Debido a su baja prevalencia, el tratamiento de esta enfermedad supone un desafío tanto a nivel económico como social. Cabe destacar la importancia y la necesidad de la exploración de nuevas terapias alternativas para la mejora de la calidad de vida de los pacientes afectados por esta patología.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Davis Silberman N, Ashery Padan R. Iris development in vertebrates; genetic and molecular considerations. *Brain Research*. 2008; 1192:17-28.
2. Pellón M, Conei D, Saint Pierre G, Smok C, Donoso V, del Sol M, Rojas M. Desarrollo Embriofetal del Iris: Inmunotinción del Morfógeno Shh. *Int J Morphol*. 2019; 37(1):6-221.
3. Base de datos de enfermedades raras. Aniridia. Orphanet.es. 14 de marzo de 2024.
4. Hingorani M, Hanson I, van Heyningen V. Aniridia. *Eur J Hum Genet*. 2012; 20(10):7-1011.
5. Asociación Española de Aniridia. Aniridia Europa mirando por el colectivo con aniridia. *Aniridia .es*. 7 de marzo de 2024.
6. Solano A, Díaz Granados J, Castillo Á. ANIRIDIA CONGÉNITA. *Repertorio de Medicina y Cirugía*. 2011; 20(3):185-191.
7. Blanco-Kelly F, Tarilonte M, Villamar M, Damián A, Tamayo A, Moreno-Pelayo MA, Ayuso C, Cortón M. Genética y epidemiología de la aniridia congénita: actualización de buenas prácticas para el diagnóstico genético. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*. 2021; 96:4-14.
8. Landsend ECS, Lagali N, Utheim TP. Congenital aniridia- A comprehensive review of clinical features and therapeutic approaches. *Survey of Ophthalmology*. 2021; 66(6):50-1031.
9. Moosajee M, Hingorani M, Moore AT, Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, JH Bean L, Gripp KW, Amemiya A. PAX6-Related Aniridia. University of Washington, Seattle. 2018.
10. Clínica Baviera. Aniridia, qué ocurre cuando no tenemos iris. *Clinicabaviera.com*. 10 de marzo de 2024.
11. Posada M, Martín-Arribas C, Ramírez A, Villaverde A, Abaitua. Enfermedades raras. Concepto, epidemiología y situación actual en España. *Anales Sis San Navarra*. 2008; 31:9-20.
12. Organización nacional de enfermedades raras de EE. UU. Aniridia. *rarediseases.org*. 10 de marzo de 2024.
13. D'Oría F, Barraquer R, Alio JL. Alteraciones del cristalino en la aniridia congénita. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*. 2021; 96:38-51.
14. Edén U, Iggman D, Riise R, Tornqvist K. Epidemiology of aniridia in Sweden and Norway. *Acta Ophthalmologica*. 2008; 86(7):9-729.
15. Jastaneiah S, Al-Rajhi AA. Association of aniridia and dry eyes. *Ophthalmology*. 2005; 112(9):40-1535.

16. Landsend ECS, Pedersen HR, Utheim OA, Xiao J, Adil MY, Tashbayev B, Lagali N, Dartt DA, Baraas RC, Utheim TP. Meibomian gland dysfunction and keratopathy are associated with dry eye disease in aniridia. *British Journal of ophthalmology*. 2019; 103(1):24-119.
17. van Velthoven AJH, Utheim TP, Notara M, Bremond Gignac D, Figueiredo FC, Skottman H, Aberdam D, Daniels JT, Ferrari G, Grupcheva C, Koppen C, Parekh M, Ritter T, Romano V, Ferrari S, Cursiefen C, Lagali N, LaPointe VLS, Dickman MM. Future directions in managing aniridia-associated keratopathy. *Survey of Ophthalmology*. 2023; 68(5):940-956.
18. Romano D, Bremond-Gignac D, Barbany M, Rahman A, Muring L, Semeraro F, Cursiefen C, Lagali N, Romano V. Artificial iris implantation in congenital aniridia: A systematic review. *Survey of Ophthalmology*. 2023; 68(4):794-808.
19. Daruich A, Duncan M, Robert MP, Lagali N, Semina EV, Aberdam D, Ferrari S, Romano V, Burin des Roziers C, Benkortebi R, De Vergnes N, Polak M, Chiambaretta F, Nischal KK, Behar-Cohen F, Valleix S, Bremond-Gignac D. Congenital aniridia beyond black eyes: From phenotype and novel genetic mechanisms to innovative therapeutic approaches. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2023; 95(101133):101133.
20. Firl KC, Montezuma SR. Chronic post-operative iris prosthesis endophthalmitis in a patient with traumatic aniridia: a case report. *BMC Ophthalmology*. 2016; 16(1):197.
21. Vásques Quintero A, Pérez-Merino P, Fernández García AI, De Smet H. Lente de contacto inteligente: una prometedora herramienta terapéutica en aniridia. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*. 2021; 96:68-73.
22. Asociación Española de Aniridia. Aniridia y tecnología CRISPR-cas9. *Aniridia.es*. 16 de abril de 2024.
23. Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas-9. *Science*. 2014; 346(6213):1258096.
24. Mirjalili Mohanna SZ, Hickmott JW, Lam SL, Chiu NY, Lengyell TC, Tam BM, Moritz OL, Simpson EM. Germline CRISPR-Cas9 mediated gene editing prevents vision loss in a novel mouse model of aniridia. *Molecular therapy. Methods and clinical development*. 2020; 17:90-478.
25. Asociación Española de Aniridia. Terapia START. *Aniridia.es*. 16 de abril de 2024.
26. Wang X, Gregory-Evans K, Wasan KM, Sivak O, Shan X, Gregory-Evans CY. Efficacy of postnatal in vivo nonsense suppression therapy in a Pax6 model of aniridia. *Molecular therapy. Nucleic acids*. 2017; 7:417-428.