



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN
CIENCIAS DE LA SALUD
HOSPITAL CIVIL DE CULIACÁN**

**PERFIL DE EXPRESIÓN DEL MICRORNA 184 COMO
BIOMARCADOR GENÉTICO DE RIESGO PARA
QUERATOCONO EN POBLACIÓN CON ERRORES
DE REFRACCIÓN.**

Tesis para obtener el grado de especialista en
Oftalmología

INVESTIGADOR

Dr. Pablo César Sato Gastélum

DIRECTORES DE TESIS

Dr. Jesús Ramón Álvarez Félix

Cirujano Oftalmólogo con Alta Especialidad en Córnea
y Segmento anterior

Dra. Carla Ernestina Angulo

Doctora en Ciencias con Especialidad en Biomedicina
Molecular

Dr. Felipe de Jesús Peraza Garay

Doctor en Probabilidad y Estadística

Culiacán, Sinaloa a 20 de Enero del 2020

Firmas de Autorización de tesis para obtener el grado
de especialidad en Oftalmología

Vo. Bo. Director de Enseñanza

Dr. Carlos Fernando Corona Sapién

Director de CIDOCS / HCC

Vo. Bo. Subdirector de Investigación

Dr. Edgar Dehesa López

Dirección de Investigación CIDOCS / HCC

Vo. Bo. Subdirector de enseñanza

Dra. Erika Maria Celis Aguilar

Dirección de Enseñanza CIDOCS / HCC

Directores de Tesis

Dr. Jesús Ramón Álvarez Félix
Cirujano Oftalmólogo con Alta Especialidad en Cornea
y Segmento anterior

Dra. Carla Ernestina Angulo
Doctora en Ciencias con Especialidad en Biomedicina
Molecular

Dr. Felipe de Jesús Peraza Garay
Doctor en en probabilidad y estadística
Profesor e investigador TC titular "C"

RESUMEN DEL PROYECTO

Título: Perfil de expresión del microRNA 184 como biomarcador genético de riesgo para Queratocono en población con errores de refracción.

Objetivo general: Conocer la relación que existe entre la cantidad de microRNA 184 encontrado en pacientes con Queratocono comparado con pacientes con ametropías y pacientes sanos en el Hospital Civil de Culiacán.

Metodología: Se realizó un estudio de casos y controles prospectivo que incluirá a los pacientes que acudan al área de Oftalmología del Hospital Civil de Culiacán y que fueron diagnosticados con Queratocono o un error de refracción >1.50 dioptrías, así como un grupo de pacientes sanos dentro del periodo de marzo del 2019 a junio del 2019. Se incluyeron todos los pacientes con Queratocono y errores de refracción mayores a 1.50 dioptrías entre la edad de 18 a 40 años, y se excluyeron a pacientes que no cumplan con estos criterios así como pacientes que tengan un padecimiento oftalmológico diferente a los descritos o alguna alteración sistémica como desórdenes hepáticos, renales, hematológicos o inmunológicos.

Previa explicación detallada del motivo del protocolo y firma de consentimiento informado por parte del paciente, se procedió a realizar la toma de muestra de 50 microlitros de lágrima con micropipeta. De estas muestras se extrajo el RNA total utilizando el kit miRNeasy de Qiagen. Se evaluó el RNA extraído para calidad y cantidad utilizando el analizador MAGPIX.

Resultados: Se observó un incremento en la tasa de cambio en los pacientes con Queratocono (2.446) comparado con el grupo control (1.149) y grupo de Ametropías (1.667) la cual solo fue significativa al

comparar el grupo de Queratocono con el grupo control($p=0.038$)

Conclusion: La tasa de cambio del microRNA184 elevada en pacientes con Queratocono puede indicar una alteracion en el mismo en dichos pacientes.

Palabras clave: Queratocono, microRNA184, Ametropias

INDICE

Capitulo	I.-	Marco	
Teorico.....			01
Capitulo	II.-Planteamiento	del	
problema.....			19
Capitulo		III.-	
Justificación.....			
.19			
Capitulo		IV.-	
Hipotesis.....			
.19			
Capitulo	V.-	Objetivo	
general.....			20
Capitulo	VI.-	Objetivos	
específicos.....			20
Capitulo	VII.-	Material	y
metodos.....			20
Capitulo	VIII.-	Aspectos	
éticos.....			25
Capitulo	IX.-	Recursos	y
financiamiento.....			26
Capitulo	X.-Cronograma	de	
actividades.....			28

Capitulo	XI.-
Resultados.....	
....29	
Capitulo	XII.-
Discusion.....	
34	
Capitulo	XIII.-
Conclusiones.....	
38	
Capitulo	XIV.-
Graficas.....	
39	
Referencias	
bibliográficas.....	
....44	

CAPITULO I.- MARCO TEORICO

INTRODUCCIÓN

Queratocono (KCN) es una ectasia corneal progresiva y asimétrica que puede llevar a discapacidad visual importante. Aunque es una enfermedad con una prevalencia elevada, la etiología celular de la enfermedad no se comprende bien. Estudios en varios campos como genética, biología molecular, y análisis de expresión genética sugieren que la enfermedad puede tener un origen multifactorial.

KCN es una enfermedad bilateral y usualmente asimétrica en la cual la cornea toma una forma cónica.

Típicamente se presenta en la adolescencia y progresa hasta la tercera o cuarta década de vida y es una de las principales razones indicaciones para realizar una queratoplastia en los países desarrollados, aunque esta demanda esta disminuyendo gracias al crosslinking corneal. (1)

La etiología de KCN no se comprende del todo con varios caminos implicados (bioquímica, física, y genética) resultando en una condición con un camino en común final para diferentes enfermedades. Puede ocurrir como resultado de predisposición genética activada por factores ambientales. Puede aparecer como una condición aislada o en asociación con desordenes oculares y sistemicos como atopia, enfermedad vernal, síndrome de Down, retinitis pigmentosa, síndrome de Turner, desordenes del tejido conectivo como síndrome de Marfan, Síndrome de Ehlers-Danlos, osteogenesis imperfecta y pseudoxantoma elástico. KCN tiene una fuerte asociación con el frotamiento de los ojos, trauma repetido por lentes de contacto, y enfermedad ocular alérgica. Entre el 8-10% de los casos tienen un componente hereditario e historia familiar. El adelgazamiento estromal se piensa esta relacionado a una combinación del incremento en la actividad de proteinasas y disminución de los inhibidores de proteinasas con subsecuente estabilidad biomecánica reducida.(2)

EPIDEMIOLOGIA

KCN afecta ambos géneros y todas las razas. La prevalencia e incidencia reportada es variable. La incidencia en población Caucásica Europea es 5 y 23, con una prevalencia de 54, por 100,000 habitantes. Hay una prevalencia más alta en pacientes del sur de Asia comparado con caucásicos. Basado en un estudio epidemiológico de seguimiento por 48 años conducido en los Estados Unidos, KCN afecta aproximadamente una persona en 2,000, con una incidencia promedio de dos casos nuevos por 100,000 por año. Sin embargo, un estudio reciente por Godefrooij et al. Ha mostrado que tanto la prevalencia como la incidencia son mucho mas altas. Ellos realizaron un estudio epidemiológico observando a 4.4 millones de pacientes en los Países Bajos y encontraron una incidencia anual de 1:7,500 (13.3 casos por cada 100,000 habitantes) y la prevalencia estimada fue 1:375 (265 casos por 100,000 habitantes). Estos valores son 5 a 10 veces mayores que los previamente reportados en estudios poblacionales.(3)

PRESENTACIÓN CLÍNICA

Típicamente, afecta pacientes en la adolescencia o en los 20s. Inicia con síntomas de visión borrosa progresiva y/o distorsión. Fotofobia, glare, diplopia monocular, e irritación ocular son otras formas de presentación. En el curso de la enfermedad temprana, la agudeza visual

puede ser normal incluso en pacientes sintomáticos. Medir la sensibilidad al contraste puede, sin embargo, descubrir disfunción visual antes de que sea observada disminución visual en la cartilla de Snellen. Astigmatismo miopico alto, irregular con reflejo en tijeras en la retinoscopia es una presentación típica en el KCN establecido. En el KCN avanzado la protrusion de la cornea puede causar angulacion del parpado inferior en la depresión de la mirada. Este signo no especifico es conocido como signo de Munson.(4)

La examinacion en la lampara de hendidura muestra hallazgos característicos. Una protrusion ectatica de la cornea excéntricamente localizada es observada. Se observan estrías en el estroma posterior, justo anterior a la membrana de Descemet. Estas estrías conocidas como estrías de Vogt desaparecen al incrementar la presión intraocular al presionar el globo de forma externa. Un anillo de depósitos de hierro se acumula en el epitelio en la base del cono el cual se conoce como anillo de Fleischer. El signo de Rizutti se observa al proyectar un rayo de luz en el lado temporal de la cornea, formando un patrón en forma de flecha en la región nasal. En el signo de Charleaux se observa un reflejo en gota de aceite en el area del cono en la observación de la cornea con la pupila dilatada utilizando el oftalmoscopio directo. Hidrops agudo es una complicación en la cual hay una ruptura aguda de la membrana de Descemet resultando en sobrehidratacion aguda de la cornea y acumulación

de lagos de fluido en el estroma corneal. Con el tiempo las células endoteliales se dispersan sobre el defecto estroma posterior para formar nueva membrana de Descemet y recompensar la cornea.

DIAGNOSTICO

KCN se debe sospechar en cualquier paciente con astigmatismo irregular significativo, especialmente si es inestable o incrementa durante el tiempo. En las etapas tempranas de la enfermedad, existe una actividad metabólica alterada que puede conducir a inestabilidad biomecánica y elongamiento de los tejidos corneales. Conforme la enfermedad progresa, le acompaña la pérdida de tejido. Además, hay una pérdida de correlación entre la curvatura corneal anterior y posterior. La progresión del adelgazamiento corneal y distorsión causan una protrusión de forma cónica, la cual puede ser visible en la lámpara de hendidura en casos avanzados. En etapas tempranas, la condición puede pasar desapercibida a menos que se evalúen las superficies corneales posterior y anterior utilizando una topografía corneal.(5)

Topografía Corneal

Los parámetros de la topografía corneal deben despertar sospecha y examen para más evidencia de la

enfermedad: astigmatismo >5 dioptrias (D), y/o keratometrias (K1/K2) >48 D; keratometria máxima (Kmax) >49 D; grosor corneal central (GCC) <470 μm y esfericidad corneal $>-0,50$ μm .

Mapas topográficos con astigmatismo alto o patrón en moño asimétrico son sugestivos de KCN. Astigmatismo regular es representado como un patrón en moño con dos segmentos simétricos. El moño simétrico es vertical en el astigmatismo con la regla, horizontal si es contra la regla, y diagonal en el astigmatismo oblicuo. Irregularidades corneales, o desviaciones son detectadas por el mapa de curvatura y descritas en términos de su forma: redondas, ovaladas, adelgazamiento superior, adelgazamiento inferior, irregular, adelgazamiento inferior con moño asimétrico, adelgazamiento superior con moño asimétrico. Estos patrones son factores de riesgo para ectasia corneal cuando se acompañan de parámetros tomográficos anormales. Dentro de los 5 mm de la zona central, se comparan las locaciones simétricas superiores e inferiores opuestas. Hay un riesgo de ectasia corneal si el valor superior es mas de 2.50 D comparado con el valor inferior, o si el valor inferior es mas de 1.50 D mayor que el superior.(6)

Hay un desplazamiento del apex corneal con áreas localizadas de adelgazamiento. Los conos del KCN pueden ser clasificados en a) como en forma de pezón o redondo - el cono tiene un diámetro menor igual o menor a 5 mm, morfología redonda y localizado en la región central, paracentral o cuadrante inferonasal. b) cono oval

o caído - el cono tiene un diámetro mayor a 5 mm y una localización paracentral o periférica, mas comúnmente en el cuadrante inferotemporal. c) cono en forma de globo - el cono involucra 75% de la cornea.

Tomografía Corneal

La tomografía corneal ha permitido la detección temprana de ectasia corneal al permitir una examinacion detallada cuantitativa de las superficies anterior y posterior. Es esencial examinar la superficie posterior en busca de cambios tempranos de elevación, ectasia, y adelgazamiento estromal. Estos cambios son con frecuencia los primeros cambios estructurales detectables ya que el remodelado epitelial, el cual puede esconder un cono temprano, usualmente enmascara cambios tempranos en la superficie anterior.

La enfermedad establecida se caracteriza por incremento en la protrusion de ambos la superficie anterior y la superficie posterior. Áreas de incremento en el poder dioptrico pueden estar rodeadas de áreas adyacentes con disminución en el poder dioptrico de la cornea.(7)

Indices de Queratocono

Varios indices facilitan la distinción entre KCN y una cornea normal, como la diferencia en el valor central K, indice inferior-superior (I-S), indice KISA y indice de predicción de Queratocono, sin embargo, se ha probado

que el detectar KCN antes de que haya evidencia de deformidad es difícil.

El valor de K central es calculado promediando el poder dioptrico en los anillos 2-4 de los discos de placido. El valor I-S es la diferencia en dioptrias entre puntos en la cornea inferior comparados con los puntos correspondientes en la cornea superior. El indice KISA es derivado de 4 indices: K central; indice I-S; indice astigmático, el cual es una medida del astigmatismo corneal regular; indice de desviación de ejes mas curvos (SRAX). Es calculado de la siguiente manera:

$$\text{KISA} = (\text{K Central}) \times (\text{I-S}) \times (\text{AST}) \times (\text{SRAX}) \times 100/300$$

Belin Ambrosio display

Proyecta la información de la elevación anterior y posterior comparada con una esfera perfecta calculada en una zona óptica de 8.0 mm, ignorando los 4 mm alrededor del cono elevado. La diferencia en la elevación de los mapas se muestra como círculos concentricos de color verde, amarillo y rojo. El verde representa un cambio menor a 5 micras en la superficie anterior y 12 micras en la superficie posterior; amarillo un cambio entre 5-7 micras en la superficie anterior y 12-16 micras para la superficie posterior, y rojo cuando es mayor a 7 micras en la superficie anterior y mayor a 16 micras en la superficie posterior.(8)

Mapa Holladay 6

Si hay protrusion en el mapa tangencial, junto con adelgazamiento en la paquimetria y elevacion posterior >10 micras, entonces el diagnostico de KCN es evidente. El mapa paquimetrico muestra cuanto el grosor corneal varia de los valores normales: adelgazamiento es representado por colores cálidos y engrosamiento por colores fríos.

Paquimetria Corneal

Es importante comparar el grosor corneal promedio, la localización del apex, y el punto mas delgado en cada cornea. Valores para puntos superior e inferior en la misma cornea y el punto más delgado en ambos ojos no deben diferir por mas de 30 micras. Además, el grosor paquimetrico general incluyendo el punto más delgado no debe diferir por mas de 10 micras entre el ojo derecho e izquierdo. La consideración más importante es el desplazamiento del punto corneal mas delgado. En la cornea anormal, el punto mas delgado esta desplazado inferiormente o inferotemporalmente, y en la cornea normal el área central es generalmente de grosor uniforme.(9)

Sistemas de clasificación

Se han propuesto sistemas de clasificación basados en morfología, evolución de la enfermedad, signos oculares y sistemas basados en indices.

Amsler-Krumeich

Estadio 1: Protrusion exentrica; miopía, astigmatismo inducido, o ambos <5.00 D; valores centrales de K <48 D.

Estadio 2: Miopía, astigmatismo inducido, o ambos de 5.00 a 8.00 D; valores centrales de K <53.00 D; ausencia de cicatrización; grosor corneal >400 micras.

Estadio 3: Miopía, astigmatismo inducido, o ambos de 8.00 a 10.00 D; Valores centrales de K >53.00 D; Ausencia de cicatrización; Grosor corneal de $300-400$ micras.

Estadio 4: Refracción inmedible; Valores centrales de K >55.00 D; Cicatrización central; Grosor corneal <200 micras.

b) ABCD

Este nuevo sistema de clasificación toma en cuenta el radio de curvatura anterior

(A) y posterior (B) de los 3.00 mm de la zona centrada en el punto mas delgado, paquimetria corneal mas delgada (C), agudeza visual mejor corregida a distancia (D).

PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

No existe una definición clara o consistente de progresión de ectasia. Se define a progresión como un cambio constante en al menos dos de los siguientes parámetros: Protrusion de la superficie anterior o posterior de la cornea y adelgazamiento o cambios en la

taza de cambio de la paquimetría. No hay datos cuantitativos para definir la progresión, lo cual necesita investigación más profunda.

Kmax es comúnmente utilizado para la detección de progresión, sin embargo existe evidencia que sugiere su pobre función para este propósito. Solo representa una pequeña área de la curvatura anterior y falla en reconocer la contribución de la cornea posterior y que la progresión puede ocurrir sin cambios o incluso reducción en el valor de Kmax (10). Otros parámetros han sido investigados con el propósito de detección en la progresión, como el índice en variantes de superficie (ISV), el índice de descentración de altura (IHD), agudeza visual; refracción manifiesta, y grosor corneal central. Varios otros métodos han mostrado documentar progresión, pero los mismos se encuentran aun en investigación.

TRATAMIENTO

El manejo del KCN inicia con la corrección refractiva con lentes aéreas. Una vez que los lentes aéreos fracasan en proveer una adecuada función visual, los lentes de contacto son requeridos. El uso de lentes de contacto mejora la visión al crear una nueva superficie refractiva

anterior. Sin embargo, los lentes de contacto no previenen la progresión de la enfermedad.

Los lentes de contacto deben ser ajustados a la medida de las necesidades y tolerancia de cada paciente. Los lentes de contacto rígidos permeables al gas continúan siendo la base del tratamiento con lentes de contacto. Otras opciones incluyen lentes blandos toricos, lentes tipo Saturno (centro rígido y periferia blanda), sistema piggy-back, y las lentes esclerales o semiesclerales.(11) Una forma de intolerancia a las lentes de contacto puede resultar en ruptura epitelial la cual puede causar cicatrización fibrosa subepitelial en el apex del cono. Esto puede ser debridado en la lampara de hendidura con anestesia tópica. Una vez la cornea ha sanado, el paciente puede continuar con el uso de lentes de contacto. La Queratectomía fototerapéutica (PTK) también ha sido utilizada en este contexto, sin embargo, PTK puede causar queratolisis, incremento en la cicatrización, y ectasia.(12)

Pacientes intolerantes a lentes de contacto sin cicatrización central con enfermedad leve o moderada, pueden ser candidatos a la inserción de anillos intraestromales. El candidato ideal también tiene equivalentes esféricos bajos y queratometrías menores a 53 D en promedio. El procedimiento mejora la agudeza visual al aplanar la cornea central, reduciendo el astigmatismo y centrando el cono. El objetivo del procedimiento es mejorar la comodidad durante el uso de lentes de contacto.

Mientras que los anillos son retirables, el procedimiento no debe ser considerado completamente reversible. Los anillos no previenen la progresión de la enfermedad. Si la Queratoplastia es necesaria en el futuro, la cirugía debe ser realizado al menos 1 mes posterior a la resección de los anillos.(13)

El Crosslinking Corneal es la adición mas reciente al repertorio quirúrgico y puede disminuir o incluso frenar la progresión de KCN al utilizar un tratamiento fotooxidativo para incrementar la rigidez del estroma corneal.

El procedimiento inicia con la desepitelizacion central de la cornea para incrementar la saturación estromal de la riboflavina aplicada vía tópica. La cornea es posteriormente irradiada con luz ultravioleta A (UVA) a 370 nm for 30 minutos utilizando un aparato especial generador de UVA. La irradiación de la riboflavina resulta en reacciones químicas que crean enlaces covalentes nuevos a lo largo de las cadenas de colágeno del estroma.

El principal efecto del Crosslinking es en las 300 micras del estroma anterior. El efecto biomecanico en corneas humanas se ha mostrado ser de 328.9% incremento en la rigidez corneal. La mejora en la agudeza visual posterior al procedimiento se le atribuye a la disminución tanto de la curvatura corneal como del astigmatismo.(14)

Cuando no es posible la utilización de lentes de contacto, o estos fallan en brindar una adecuada visión, otras cirugías mas invasivas pueden ser recomendadas como la Queratoplastia. El tipo de Queratoplastia

depende de las necesidades de cada individuo y la técnica preferida por el cirujano. Mientras que la Queratoplastia penetrante ha sido tradicionalmente la cirugía de elección, la cirugía lamelar se ha vuelto muy popular en los pacientes con enfermedad leve a moderada.

La Queratoplastia lamelar anterior profunda (DALK) es una alternativa a la queratoplastia lamelar tradicional así como a la Queratoplastia penetrante. Una ventaja de realizar una DALK es que se preserva el endotelio corneal del paciente, reduciendo el riesgo de rechazo. El riesgo de endoftalmitis es menor al ser teóricamente una cirugía extraocular. Una membrana de Descemet intacta confiere una mejor estabilidad a la herida. Además, el reducir la necesidad de esteroide tópico en el paciente con DALK puede ayudar a sanar de forma más rápida la herida. (15)

El tratamiento del KCN rara vez es una emergencia. La excepción es el Hidrops corneal, el cual resulta por una ruptura en la membrana de Descemet. Este puede ser la presentación clínica en los pacientes con retraso en el desarrollo, como en los pacientes con Síndrome de Down. Una dramática reducción en la visión ocurre conforme aumenta el edema estromal. Este puede ser acompañado de hiperemia conjuntival, disconfor y fotofobia. Un manejo apropiado incluye lente de contacto de vendaje, cicloplejia y gotas o ungüento hipertónico. Aire o gas intracameral se ha utilizado como barrera mecánica reduciendo el paso de humor acuoso al

estroma corneal. Si el Hidrops no mejora en 3 a 4 meses es mejormente tratado con Queratoplastia penetrante.

(16)

FISIOPATOLOGIA Y GENÉTICA

El queratocono (KCN) es una enfermedad multifactorial con varios procesos bioquímicos que contribuyen a su desarrollo. Se menciona que desde el punto de vista patológico, hay cambios destructivos en la capa de Bowman con degeneración queratolítica y ruptura de la membrana de Descemet. (Vaughan & Asbury). Se caracteriza por un adelgazamiento del estroma central o paracentral que lleva a la curvatura de la córnea. Se observa una disminución en la densidad del queratocito, reducción en el número de lamelas y degradación de fibroblastos en el estroma. Añadiéndose a esto cambios en la organización de las lamelas y una distribución desigual de la masa fibrilar de colágeno. (17)

Se le atribuye al adelgazamiento de la córnea a la degradación de colágeno por enzimas proteolíticas o niveles descendidos de inhibidores de proteinasa. Aunque se ha propuesto que el colágeno no se pierde, sino que es redistribuido entre las lamelas. Este mecanismo es apoyado por la observación de la disminución de adhesión inter-lamelar, entrelazado lamelar en el ápice de las corneas con KCN y un número reducido de inserciones lamelares en la capa de Bowman. Se correlaciona esta enfermedad con

rompimiento de la capa de Bowman y la extensión del adelgazamiento, ya que se observan que en roturas de la capa de Bowman están usualmente llenas por colágeno del estroma.

Investigaciones adicionales reportan reducción de la distancia inter-fibrilar de colágeno y aumento de proteoglicanos con anomalías en su configuración. Estos cambios permiten el contacto entre el colágeno y los proteoglicanos, alterando la organización del estroma. Esta reorganización de lamelas de forma vertical y horizontal ocurre en la región apical de un avanzado KCN. (18)

Se ha propuesto que la pérdida de la estructura de la córnea que padece KCN, es causada por queratocitos y proteínas de matriz anormales, una aumentada proteólisis desencadenada por un desenredo de lamelas a lo largo de su longitud y su ancla en el limbo, con abertura en las bifurcaciones de las lamelas. Esta teoría es apoyada por observaciones en enlace cruzado de colágeno con riboflavina/UV, que aumenta la resistencia del estroma ante la digestión enzimática y la cohesión entre fibras de colágeno y la matriz sin colágeno.

Estudios recientes muestran que las lamelas de colágeno en pacientes con KCN exhiben una disminución significativa comparada con controles y que la enfermedad disminuye los tipos de colágeno I, III, V, y XII. Una disminución de proteoglicanos incluyendo decorina, lumican, biglycan, perlecan y keratan; que son los que interactúan con las fibras de colágeno haciéndolas bioquímicamente fuertes,

transparentes y refractivas. Además, una disminución de la concentración de factor de transformación beta (TGF-B) es observada. (19)

Genética.

KCN tiene una gran variabilidad genética y puede estar asociada con múltiples regiones en los cromosomas, relacionados con modos poli genéticos heredados. A pesar de presentarse en varios loci's, las mutaciones fueron más reportadas como susceptibilidad a la enfermedad, pero la falta de validación en un número más largos sugiere la heterogeneidad del KCN. A continuación se describen varios genes posiblemente relacionados.

Visual system homebox 1 (VSX1 gen)

Proteína que juega un papel en el desarrollo craneo facial y ocular. Está localizada en el cromosoma 20p11-q11 un locus de enlace conocido por una distrofia corneal llamada distrofia corneal polimorfa posterior (PCCD). Dos mutaciones (R166W Y L159M), fueron asociadas con KCN aunque permanece poco claro como las mutaciones en VSX1 contribuyen a la patogénesis de éste. Se sugiere que estas mutaciones solo afectan a un pequeño número de pacientes con dicha enfermedad. Esto se relaciona con el concepto de la heterogeneidad del queratótopo. (20)

Dedicator of cytokinesis (DOCK9)

Es un posible gen candidato que codifica un miembro de la familia de proteínas DOCK que posee trifosfato de guanosina / difosfato de guanosina, actividad de factor de cambio y especialmente activa Proteína-G CDC42 involucrada en red de señalización intracelular. Los patrones de expresión fueron observados en corneas queratoconicas y no queratoconicas, así como en líneas celulares linfoblásticas. Una mutación Gln754His fue reportada a través de la secuenciación de genes candidatos en un locus de vinculación previamente identificado, 13q32. Una mutación de ocho genes candidatos dentro del locus 13q32 identificó tres variantes de secuencias diferentes en el gen DOCK9.

Este locus, contiene genes adicionales IPO5 (importin 5) y STK24 . Todos estos tres genes son expresados en la córnea humana, pero un detallado análisis de su expresión se requiere para determinar su participación en la patogénesis de KCN. (21)

Factor de transformación de crecimiento Beta inducido.
(TGFB1)

Una citosina responsable de muchas distrofias corneales dominantes. Regulador de la formación de matriz extracelular durante lesiones y reparación de

tejido. Una mutación sinsentido de TGFBI (G535X) fue observada en un paciente chino con KCN. TGFBI está involucrado en fibrosis corneal y formación de cicatrices. Un aumento en los marcadores de ruta de TGFBI fue vista en casos severos de KCN.

SOD1 (superoxide dismutase 1)

Varios reportes han sugerido a SOD1 como potencial candidato que contribuye al KCN. Codifica una enzima antioxidante citoplasmática que metaboliza radicales de superóxido y provee una defensa contra toxicidad de oxígeno. Las mutaciones del SOD 1 se han visto implicadas en esclerosis lateral amiotrofica familiar (ALS). El estrés oxidativo, juega un rol importante en la progresión del KCN. Reportes han mostrado bioproductos de citotoxicidad, daño en el ADN mitocondrial, y altos niveles de estrés oxidativo en corneas con KCN. SOD1 fue seleccionada como gen candidato y fue examinado en muchos estudios; sin embargo, no se encontraron mutaciones en pacientes con KCN. (22)

COL4A3 Y COL4A4

Como se mencionó previamente, la patogénesis de KCN puede estar relacionada con cambios en la estructura del colágeno, su función y / o durante el desarrollo embrionario. Sin embargo, análisis de mutaciones de COL4A3 y COL4A4 no revelaron variantes patogénicas en 107 pacientes con KCN. Sin embargo, se encontró una frecuencia alélica en KCN que es D326Y variante de COL4A3 y M1237V y F1644F en COL4A4.

Investigaciones recientes han demostrado apoptosis de queratocitos observada en corneas con KCN, enfatizándose la participación de procesos apoptóticos en la patogénesis. El factor genético de riesgo asociado a apoptosis en dermatitis atópica son mutaciones en filaggrin (FLG), expresado en el epitelio corneal. La pérdida de función de alelos de FLG (R501X y 2282del4) fue encontrado en cinco pacientes con KCN. (23)

Estudio de asociación del genoma completo (GWAS).

Es un análisis de una variación genética a lo largo de todo el genoma humano con el objetivo de identificar su asociación a un rasgo observable. Los GWAS son técnicas muy útiles para explorar nuevos genes y sus funciones en vías celulares, que puede proveer la patología exacta del KCN, ayudado a diseñar mejores tratamientos.

Los GWAS, revelaron algunos genes candidatos incluidos IL1B, CDH11, NUB1, COL27A1, factor de

crecimiento del hepatocito (HGF), RAB3GAP1 y LOX asociados como factor de riesgo para KCN.

IL1 desencadenada por el epitelio corneal durante la apoptosis del queratocito se ha reportado en 60% casos de corneas con KCN. La trifosfatasa de guanosina (GTPasa) activando las mutaciones de gen de la proteína subunit 1 (RAB3GAP1) se han reportado estar asociadas a Síndrome de Micro con desordenes oculares.

HGF expresada de forma aumentada en queratinocitos corneales como respuesta a una lesión, que tiene un sitio vinculante para la citoquina pro inflamatoria IL-6,

dicha citoquina elevada en pacientes con KCN. Esta asociación, HGF con KCN, sugiere la posible participación de una vía inflamatoria.

En un análisis global de expresión de genes, usando un chip de ADN para RNA epitelial de pacientes con KCN y controles sanos, se encontró el Inhibidor tisular de metaloproteinasa 1 (TIMP1) significativamente reducido en corneas con KCN comparada con lo normal. El grupo de enzimas lisil oxidasa se muestran disminuidas en su expresión y con menor actividad en corneas con KC. Se encontró también el RNAm de isoforma angiopoyetina (ANGPTL7) aumentado en corneas queratoconicas indicando la participación de la vía de señalización WNT/ beta-catenin, esto es particularmente interesante porque un estudio reciente en la via de señalización Wnt demuestra SFRP1 es altamente expresado en epitelio con KCN. También se sugiere en la reciente literatura la presencia de moléculas inflamatorias y niveles anormales de enzimas en sujetos con KCN. Se ha demostrado que las lágrimas de pacientes con KC tienen niveles altos de IL-6, TNF-a y MMP9 comparado con controles.

En un segundo GWAS en KCN no se encontraron variantes significativas, lo asociación más significativa fue con SNP rs014091, en la posición arriba del gen HFG. El gen HFG también se ha relacionada con errores refractarios en muchas poblaciones incluyendo Chinos y caucásicos. Como ya se mencionó, esta asociación de HGF sugiere la participación de la inflamación en KCN.

KCN es un complejo trastorno que involucra múltiples genes y varios mecanismos que contribuyen la etiología de la clínica de la enfermedad. Como tal, idear una estrategia con terapia de genes para enfermedades es un riesgo y requiere un mejor entendimiento molecular, sin embargo algunos genes como VSX1, DOCK9 O TGFB1 puede tener un elemento esencial, aunque suficiente para la enfermedad. (24)

MiR-184

MicroRNAs son hebras reguladoras de ARN con 19-25 nucleotidos de longitud. miRNAs se unen a secuencias complementarias principalmente en la región 3' no

traducida (UTR) del ARNm de genes diana y conduce a la degradación del ARNm o a la supresión traduccional. Una mutación que altera el miR-184 fue reportada en una familia con KCN y en catarata polar anterior de inicio temprano. Esta región genómica chr15q22-q25 fue previamente mapeada como un locus de enlace de KCN. miR-184 es abundantemente expresado en la córnea y el cristalino. Se cree que miR-184 con la mutación r.57c>u no puede competir con otro miRNA, como miR205 por la superposición de sitios diana en los 3' UTR de dos genes diana, INPPL1 (inositol-polifosfato 1-fosfatasa) y ITGB4 (interia Beta 4) mientras que estos dos genes diana están involucrados en la reparación de la córnea después de una lesión como principal componente de hemodesmosomas del epitelio basal de la cornea. Los hallazgos de las mutaciones en la región de origen de miR-184 sugiere que las variantes de la regulación pueden tener impacto directo en la actividad transcripcional de genes en el desarrollo de la córnea y su mantenimiento. (25)

CAPITULO II.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Será mayor la expresión de microRNA 184 en lagrима en pacientes con Queratocono en comparación con pacientes con Ametropias y ojos sanos?

CAPITULO III.- JUSTIFICACIÓN

A pesar de la intensa investigación, la etiología, patogénesis y factores de riesgo del Queratocono son pobremente comprendidos. Sin embargo, existe una considerable cantidad de evidencia que apoya el rol de la predisposición genética en el desarrollo de Queratocono especialmente con incremento en la incidencia entre familiares, grupos étnicos, y gemelos. Entre los genes reportados asociados a KCN se encuentran el VSX1 (Sistema visual homeobox 1), MIR184 (microRNA184), y el DOCK9 (Dedicador de citoquinesis 9). El MIR 184 se ha reportado presente en cantidades elevadas en familias con Queratocono en lugares como Galicia, el norte de Irlanda, e Iran al medirlo en diferentes fluidos corporales, entre ellos plasma, orina, lagrима, saliva, líquido amniótico, etc. Sin embargo hasta la fecha no se ha realizado la medición del mismo comparando la cantidad encontrada en pacientes con Queratocono comparándola con pacientes sanos o con ametropias. En caso de encontrarse significativamente elevada, este podría servir como biomarcador genético de riesgo para KCN en pacientes con errores de refracción. El biomarcador

ideal debe ser accesible utilizando métodos no invasivos, sin alto costo, específicos para la enfermedad de interés, e indicación confiable de enfermedad incluso antes de que los síntomas aparezcan, por eso es que tenemos el propósito de buscar el mismo en lagrime, al ser un fluido de fácil acceso.

CAPITULO IV.- HIPOTESIS

El microRNA 184 será encontrado en mayores cantidades en las muestras de lagrime en pacientes con Queratocono comparado con pacientes con errores de refracción y pacientes sanos.

CAPITULO V.- OBJETIVO GENERAL

Comparar la cantidad de microRNA 184 en lagrimea entre los pacientes con Queratocono, ametropias y pacientes sanos en el Hospital Civil de Culiacán.

CAPITULO VI.- OBJETIVOS ESPECIFICOS

Medir la cantidad de microRNA 184 encontrado en lagrimea de pacientes con queratocono.

Medir la cantidad de microRNA 184 encontrado en lagrimea de pacientes con ametropias y pacientes sanos.

Determinar si el microRNA 184 puede ser utilizado como biomarcador genético de riesgo para Queratocono en pacientes con ametropias.

CAPITULO VII.- MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio: Estudio transversal, analítico, prospectivo.

Lugar de realización: Area de Oftalmologia del Hospital Civil de Culiacán.

Periodo de tiempo de realización: 01 de Febrero del 2019 al 31 de Octubre del 2019.

Criterios de inclusion:

Pacientes con diagnostico de Queratocono.

Pacientes con alguna ametropia >1.50 D.

Pacientes con edad entre 18 a 40 años.

Pacientes sin alteración ocular con edad entre 18 a 40 años.

Criterios de exclusión:

Pacientes con otra enfermedad oftalmológica en la cornea u otra estructura ocular.

Pacientes menores a 18 años o mayores a 40 años.

Pacientes con desórdenes hepáticos, renales, hematológicos, e inmunológicos.

Pacientes con diabetes mal controlada, infección en los días previos a toma de muestra, y tumores sólidos.

Criterios de eliminación:

Pacientes que no acepten firmar el consentimiento informado.

Análisis estadístico propuesto:

Los datos descriptivos para cada individuo fueron expresados como el valor de la media \pm desviación estándar. Para las diferencias de medias se utilizaron pruebas T student y medianas la prueba de Mann-whitney. Previo al análisis estadístico se comprobó que los datos estuvieran dentro de una distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para las

pruebas de diferencias entre grupos se utilizó la prueba de ANOVA. Además se realizaron pruebas de correlación Spearman y Pearson, dependiendo del tipo de distribución de los datos. El análisis se llevó a cabo en el programa estadístico Prism GraphPad. Los valores de $P < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Calculo del tamaño de muestra:

Al ser un estudio piloto se decidió tomar 15 pacientes de cada grupo.

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

Se reclutó a pacientes sanos, pacientes con errores de refracción, y pacientes con diagnóstico de Queratocono realizado por el servicio de Oftalmología. Previa explicación detallada del motivo del protocolo y firma de consentimiento informado por parte del paciente, se procedió a realizar la toma de muestra de 50 microlitros de lagrime con micropipeta. Los miRNAs totales presentes en lagrime, directamente fueron convertidos a cDNA mediante el kit miScript (Qiagen, catálogo 218161)

Se cuantificó miRNA-184 mediante PCR tiempo real, utilizando el sistema miScript SYBR Green PCR.

DESCRIPCION OPERACIONAL DE VARIABLES

Variable	Definición Operacional	Tipo de Variable	Escala de Medición
Edad	Edad en años del paciente	Cuantitativa/Continua	Años
Sexo	Masculino/Femenino	Cualitativa/Dicotónica	Masculino/Femenino
Tabaquismo	Índice tabaquico o mayor de 10	Cuantitativa/Discreta	SI/NO
Alergia Ocular	Presencia de papilas y folículos conjuntivales.	Cualitativa/Dicotónica	SI/NO
Ametropias	Error refractivo mayor a 1.5 dioptrías	Cuantitativa/Continua	Dioptrías
microRNA184 lagrimal	Cantidad de microRNA184 en 50 microlitros de lagrimal.	Cuantitativa/Continua	Tasa de Cambio
Diagnostico de Queratocono	QCS >47,0 D I-S >1,4 D Distancia apex a centro corneal > 1,0 mm	Cualitativa/Dicotónica	SI/NO

ESTANDARIZACION DE LOS INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

-Los miRNAs totales presentes en lagrima, directamente fueron convertidos a cDNA mediante el kit miScript (Qiagen, catálogo 218161)

-Se cuantifico miRNA-184 mediante PCR tiempo real, utilizando el sistema miScript SYBR Green PCR

-Se utilizo el Topografo Schwind Sirius con camara Scheimpflug para la realización de topografía corneal en el diagnostico de Queratocono.

-Lampara de Hendidura TOPCON Volt 120V, FREQ. 50 para la exploración oftalmológica.

CAPITULO VIII.- ASPECTOS ETICOS

El protocolo fue sometido a evaluación por parte del Comité de Investigación del CIDOCS de la Universidad Autónoma de Sinaloa con número de registro 308.

Nivel de riesgo

Según el artículo 17 de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud de nuestro país (CAPITULO I / TITULO SEGUNDO: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos), el actual protocolo corresponde a una investigación con riesgo mínimo para el paciente porque solo se realizaron procedimientos de diagnóstico rutinarios como toma de 50 microlitros de lágrima con micropipeta en adultos en buen estado de salud en una sola ocasión.

Poblaciones vulnerables

No se incluyeron en el estudio individuos o comunidades que enfrentan un riesgo mayor que el usual al ser reclutados en investigación.

Mecanismos para proteger la confidencialidad

Para proteger la privacidad y confidencialidad de los participantes, se recolectó información identificable de los mismos sólo en caso de ser necesario; los nombres fueron reemplazados con códigos de números, mismos que fueron almacenados con seguridad. El acceso a dicha información fue protegida y su acceso limitado mediante el uso de claves. Los participantes fueron informados en cuanto a cualquier información personal

que se recolecto, sobre quien tendrá acceso a esa información, las protecciones de confidencialidad que se implementarán y los riesgos que pudieran surgir si la información se liberara inapropiadamente.

Conflictos de interes:

Declaro que no tengo conflictos de interes.

CAPITULO IX.- RECURSOS Y FINANCIAMIENTO

Recursos Humanos:

- Médicos Adscritos del servicio de Oftalmología del HCC-CIDOCS
- Residentes del servicio de Oftalmología del HCC-CIDOCS

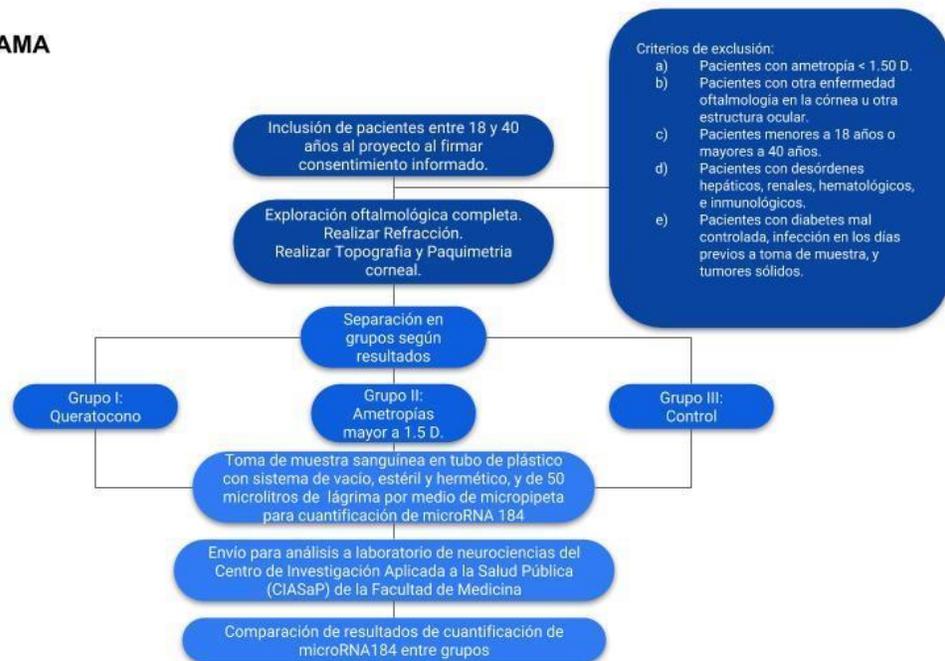
Recursos Materiales:

- Pago de consulta de primera vez por parte de los pacientes \$150.00
- Evaluación con lámpara de hendidura \$0.00
- Topografía corneal \$ 200.00
- Análisis de RNA: \$ 0.00
- Encuestas impresas en papel \$100.00

Recursos de Infraestructura:

Instalaciones del servicio de Oftalmología del Hospital Civil de Culiacán – CIDOCS y laboratorio de Genética y Biología molecular UAS.

FLUJOGRAMA



CAPITULO X.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	OCT	NOV	DI C	E N E	F E B	M A R	A B R	M A Y	J U N	J U L	A G O	S E P	O C T	N O V	DI C	E N E	F E B
ENTREGA DEL PROTOCOLO	■																
REVISION POR EL COMITÉ DE INVESTIGACION Y BIOETICA		■	■	■													
AJUSTES DEL PROTOCOLO					■												
RECOLECCION DE LOS DATOS						■	■	■	■								
PROCESAR LOS DATOS										■							
ANALISIS DE LA INFORMACION											■						
ELABORACION DEL INFORME PARCIAL FINAL												■	■				
ELABORACION DEL INFORME FINAL: RESULTADOS PRELIMINARES														■	■	■	
PRESENTACION DEL INFORME FINAL DE RESULTADOS PRELIMINARES (TESIS)																	■

CAPITULO XI.- RESULTADOS

Se tomó muestra de lagrima de 20 pacientes con Keratocono, 15 pacientes con ametropías y 15 pacientes del grupo control, siendo un total de 50 pacientes. No hubo una diferencia significativa entre la edad de los pacientes en cada uno de los grupos. El promedio de edad en el grupo control fue de 21.73 años siendo el mas joven de 18 años y el de mayor edad de 28 años. En el grupo de ametropias hubo un promedio de edad de 23.75 años con el paciente mas joven teniendo 18 años y el mayor de 26 años. Finalmente en el grupo de Queratocono se registro un promedio de edad de 26.85 años siendo el paciente mas joven de 22 años y el de mayor edad de 33 años. En cuanto al genero, no hubo una diferencia significativa en la cantidad de hombres por grupo, sin embargo en el grupo de Queratocono se ve un aumento en el porcentaje de mujeres(Tabla 1).

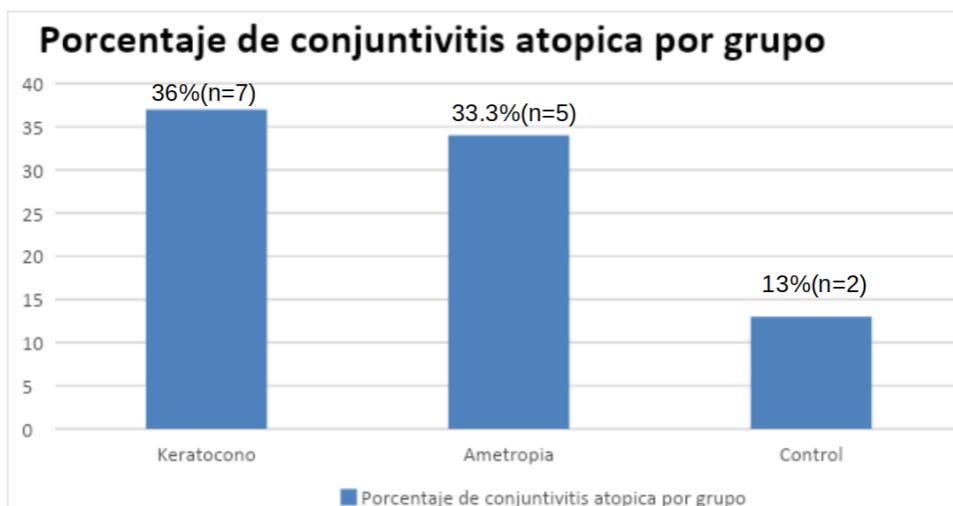
Tabla 1.- Características demográficas de los

pacientes por grupo

Características demográficas			
	Grupo control	Grupo de Ametropias	Grupo de Keratocono
Numero	15 (30%)	15 (30%)	20 (40%)
Genero	M:8 (53%) H:7 (46%)	M:11 (73%). H:4 (26%)	M:9 (45%) H:11 (55%)
Edad	21.73±3.02	23.75± 2.55	26.85± 2.78

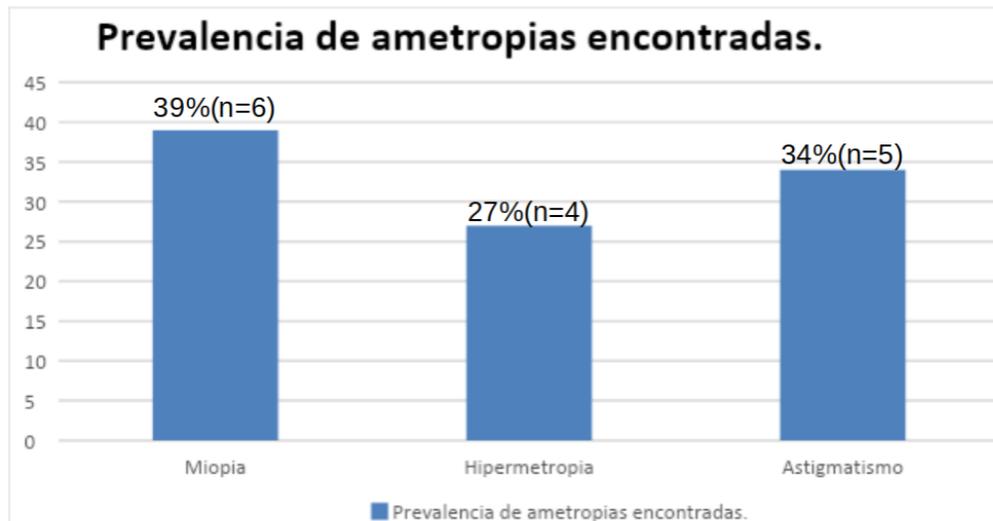
Se observó un aumento en la frecuencia de conjuntivitis alérgica en los pacientes con ametropías siendo el 33.3%(n=5) del grupo y Keratocono siendo el 36%(n=7) del grupo comparado con los pacientes del grupo control 13%(n=2), lo cual refuerza la creencia de que la conjuntivitis alérgica esta relacionada a estas patologías, probablemente secundarias a la fricción frecuente contra los párpados. (Figura 1.)

Figura 1.- Porcentaje de conjuntivitis atopica por grupo



La ametropía mas prevalente ha sido la miopía en un 39%(n=6), seguida del astigmatismo en un 34%(n=5) y por ultimo la hipermetropía en un 27%(n=4) (Figura 2.), lo cual va conforme a lo descrito en nuestra zona geográfica, sin embargo al haber en nuestro estudio mayor numero de pacientes con conjuntivitis alérgica, se esperaron un aumento en la prevalencia de astigmatismo corneal por la fricción frecuente contra la cornea.

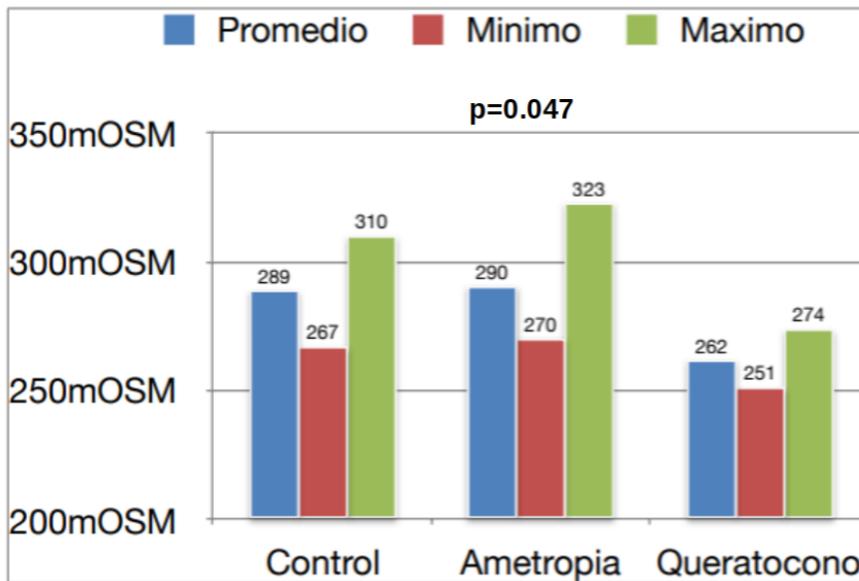
Figura 2.- Prevalencia de ametropías encontradas por grupo



En cuanto a la osmolaridad en lagrima en pacientes con Queratocono, se encontró una diferencia estadísticamente significativa comparado con los otros

grupos con una $p=0.047$. Esta fue de 258 mOSM en promedio, con un mínimo de 251 mOSM y un máximo de 271 mOSM. La osmolaridad en lagrime de pacientes con Ametropias fue de 290.2 en promedio, con un mínimo de 270 mOSM y un máximo de 323 mOSM. Y finalmente la osmolaridad en lagrime de los pacientes en el grupo control fue de 288.66 mOSM en promedio, con un mínimo de 267 mOSM y un máximo de 310 mOSM (Figura 3.)

Figura 3.- Osmolaridad medida en lagrime en cada grupo



Finalmente, al realizar la cuantificación relativa del microRNA184 en los tres grupos, se encontró una tasa de cambio del micro RNA184 de 1.667 ± 1.691 en el grupo de ametropias, 1.149 ± 0.724 en el grupo control, y de 2.446 ± 1.456 en el grupo de Queratocono (Tabla 2). Esto demuestra una mayor tasa de cambio en el grupo de Queratocono comparado con el grupo control y el grupo de Ametropias, sin embargo esta relacion no fue estadísticamente significativa ($p=0.12$) (Figura4). Pero al relacionar el resultado de la tasa de cambio en pacientes con Queratocono y pacientes del grupo control si se observa un resultado estadísticamente significativo ($p=0.0389$), indicando una mayor tasa de cambio en pacientes con Queratocono comparada con el grupo control. Por ultimo, al comparar el grupo de Ametropias con el grupo control no nos da un resultado estadísticamente significativo ($p=0.45$).

estudiado

Figura 4.- Tasa de cambio del micro RNA184 en cada grupo

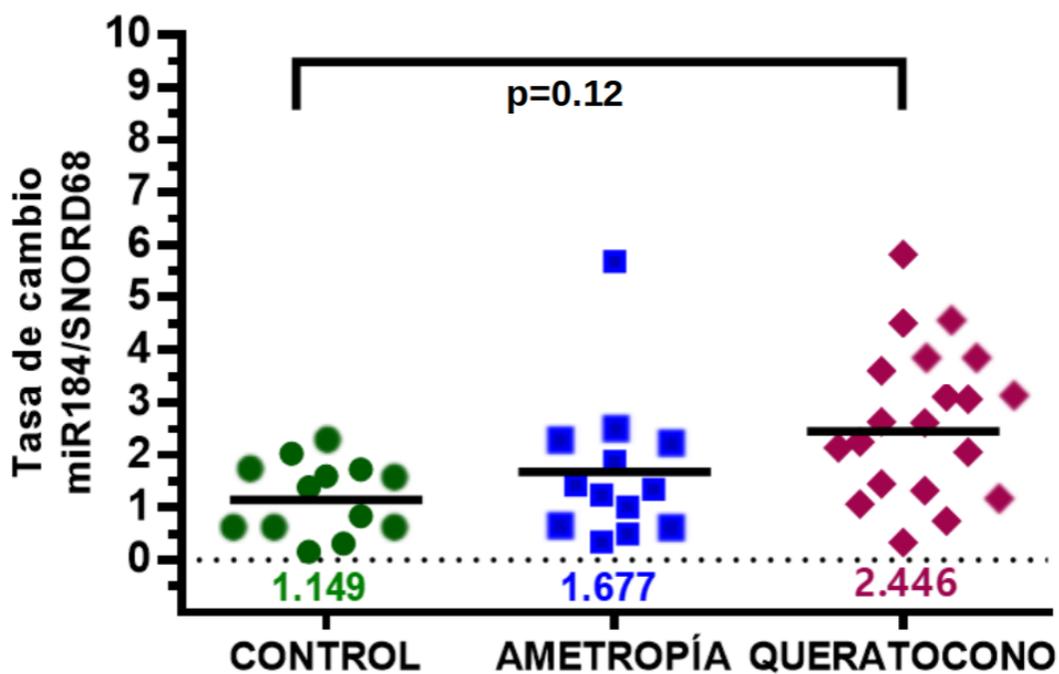


Tabla 2.- Tasa de cambio y desviación estandar del microRNA184

Población	Tasa de cambio miRNA184	Desviación estándar
CONTROL	1.149	0.7245
AMETROPÍA	1.677	1.691
QUERATOCONO	2.446	1.456

CAPITULO XII.- DISCUSION

El queratocono esta considerado como un desorden multifactorial, en el cual tanto factores genéticos y ambientales se encuentran involucrados. Su relación con otros padecimientos oftalmológicos se ha estudiado previamente en multiples ocasiones.

Recientemente el Doctor Anibal Cruz Becerril y colaboradores del Instituto Politécnico Nacional, estudiaron la prevalencia de errores refractivos en pacientes mexicanos con Queratocono, encontrando al astigmatismo mioptico como el error refractivo mas común en pacientes con Queratocono (26). Los resultados encontrados en nuestro estudio son compatibles con otros estudios realizados anteriormente en cuanto a la prevalencia de conjuntivitis atópica y la presencia de ametropías en pacientes con Queratocono(1)(7). Se ha descrito que la conjuntivitis alérgica, las ametropias y el Queratocono se encuentran relacionadas, siendo la conjuntivitis alérgica la causa de las otras dos patologías, ya que al causar prurito ocular, el paciente tiende a realizar fricción de sus pestañas lo cual ocasiona moldeado de la cornea, ocasionando secundariamente ametropias o Queratocono(17). En cuanto a la prevalencia de ametropias, nuestro estudio arrojo resultados compatibles con la prevalencia general de miopia, hipermetropía y astigmatismo, siendo la miopía mas prevalente (26). Sin embargo, en este estudio se esperaba observar un aumento en la

prevalencia de astigmatismo comparado con miopía e hipermetropía, pues el astigmatismo está relacionado a la conjuntivitis atópica y a los pacientes con Queratocono. Los resultados pueden estar relacionados al hecho de que algunos pacientes ya cuentan con tratamiento para dichas patologías, lo cual puede modificar los resultados.

Muchos estudios han mostrado daño en la superficie ocular y la presencia de citoquinas pro inflamatorias en pacientes con Queratocono y Conjuntivitis alérgica(27)(28)(29). El incremento en la osmolaridad de la lágrima está asociado a inflamación de la superficie ocular en ojo seco como lo demuestra Jacobi C y colaboradores en los resultados de su estudio al encontrar una osmolaridad promedio de 301 mOsm en el grupo control versus 320 mOsm en el grupo con ojo seco(30). Se ha evaluado la teoría de que la osmolaridad en lágrima se encuentra incrementada en pacientes con Queratocono y Conjuntivitis alérgica cuando es comparada con grupos control, sin embargo los resultados de estudios previos no han sido concluyentes al no encontrarse una diferencia significativa entre los diferentes grupos evaluados(31). Ruth Miyuki y colaboradores no encontraron diferencias en el promedio de osmolaridad entre pacientes con queratocono y pacientes con ojos sanos, así como

correlación entre escores OSDI y osmolaridad de la lagrimea(32).

Los resultados en nuestro estudio sugieren que en pacientes con Queratocono, la osmolaridad se encuentra disminuida en comparación con el grupo control y el grupo con ametropías, lo cual difiere de la hipótesis formulada por otros autores en el pasado(31)(32). Es posible que estos resultados se encuentren relacionados a las características particulares biogeográficas de la región en la cual nuestros pacientes habitan, así como al hecho de que algunos de estos pacientes se encuentran en tratamiento con medicamentos típicos así como lubricantes oculares, lo cual puede modificar los resultados arrojados, sin embargo es necesario realizar más estudios con un mayor número de pacientes y subgrupos de pacientes en tratamiento y sin tratamiento con el objetivo de apoyar o descartar estos resultados.

En este estudio se estudió también la tasa de cambio del microRNA184 en cada uno de los tres grupos incluidos para evaluar si puede existir una mayor tasa de cambio en el grupo con Queratocono y el grupo con ametropías. Los MicroRNAs son RNAs no codificados que regulan la expresión de genes al emparejarlos con mRNAs e

inhibiendo su translación o promocionando su degradación. Recientemente, una mutación c.57 C>U en el miR-184 localizada en 15q25.1 fue encontrada en los miembros afectados en la familia irlandesa del norte con un síndrome raro familiar de catarata polar anterior y keratocono(5). La misma mutación fue encontrada posteriormente identificada en una familia con síndrome de EDICT, un síndrome autosómico dominante de disgenesia del segmento anterior que se caracteriza por distrofia endotelial, hipoplasia Viridiana, catarata congénita, y adelgazamiento estromal(19). Yelena Bykhovskaya y colaboradores describieron la misma mutación en miembros de la misma familia por 5 generaciones originados en Galicia, España con catarata congénita y anomalías corneales que incluyen adelgazamiento corneal no ectático y keratocono severo de inicio temprano(4).

Judith Lechner y colaboradores encontraron dos mutaciones en MIR184 en dos pacientes con keratocono: miR-184(+8C>A) y miR-184(+3A>G)(25).

Khaled K. Abu-Amero y colaboradores compararon la cantidad de miR/184 versus miR/205 en corneas normales, encontrando una expresión elevada de miR-184 lo cual implica un posible rol de este en el desarrollo de enfermedades de la cornea(15).

En nuestro estudio al comparar los resultados obtenidos entre el grupo control y el grupo de Ametropías no se observa una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.45$), lo cual podría estar ocasionado por el tamaño de muestra en cada grupo. Sin embargo al comparar el

grupo control con el grupo de Queratocono si se observa una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.038$) lo cual nos sugiere que hay un aumento en la tasa de cambio del micro RNA184 en los pacientes con Queratocono comparado con los pacientes del grupo control, siendo en el grupo control de 1.149 contra el grupo de Queratocono con resultado de 2.446. Finalmente, al realizar una comparación entre los tres grupos se observa una tasa de cambio mayor en el grupo de Queratocono comparado con los otros dos grupos, sin embargo este resultado no fue estadísticamente significativo al resultar un $p=0.12$, lo cual puede ser causado por un menor número de pacientes en el grupo control y de Ametropias. Estos resultados sugieren que el microRNA 184 puede encontrarse alterado en pacientes con Queratocono, sin embargo es necesario realizar más estudios con un número mayor de pacientes para confirmar estos resultados.

La ventaja de nuestro estudio es que es el primer estudio que compara la cantidad de micro RNA 184 encontrado en lagrима en pacientes con Queratocono, pacientes con ametropias y pacientes con ojos sanos. Anteriormente se han realizado estudios en los cuales evalúan las mutaciones en este microRNA en estos pacientes, sin embargo hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio que evalúe la tasa de cambio del microRNA184 encontrada en los pacientes con Queratocono comparada con pacientes con ametropias y pacientes

con ojos sanos. Otra ventaja es que solo existe un estudio aparte del nuestro en el cual evalúan la osmolaridad en lagrimea de los pacientes con Queratocono comparada con los otros dos grupos, lo cual puede ser un marcador de riesgo para el desarrollo de la misma(32). Los resultados obtenidos pueden abrir una puerta a mas estudios en los cuales se concentren en este marcador, y así pueda ser utilizado como otro metodo diagnostico en el futuro.

Sin embargo nuestro estudio tiene limitaciones. Una de ellas es que el numero de muestra es pequeño en cada grupo lo cual puede ocasionar que la significancia estadística sea menor. Otra limitación es que no realizamos subgrupos de pacientes con conjuntivitis atopica, subgrupos de pacientes bajo tratamiento, y pacientes que utilizan lubricantes oculares, así como el tipo de lubricante, lo cual podría modificar los resultados obtenidos.

CAPITULO XIII.- CONCLUSIONES

Nuestro estudio arrojo resultados similares a lo descrito por otros autores, pero también resultados que difieren a lo señalado anteriormente en otros estudios. se observó un aumento en la frecuencia de conjuntivitis alérgica en los pacientes con ametropías y Queratocono comparado con los pacientes del grupo control, lo cual ya ha sido estudiado y se piensa que los errores de refracción y el Queratocono pueden ser secundarios a la conjuntivitis alérgica.

La ametropía más prevalente ha sido la miopía, sin embargo lo esperado en este tipo de pacientes es que el astigmatismo fuera mas prevalente al estar relacionado a padecimientos como el Queratocono.

La Osmolaridad en lágrima fue menor en pacientes con Queratocono, lo cual se esperaba fuera mas alta al ser una enfermedad que causa inflamación y daño en la superficie ocular, sin embargo puede haber otros factores modificando este resultado, como la zona geográfica, la cantidad de gotas o medicamentos típicos que los pacientes usan. Todo esto debería ser estudiado a mayor profundidad en futuros estudios.

En cuanto al microRNA184, se encontró una mayor tasa de cambio en los pacientes con Queratocono comparado con el grupo control y de Ametropias, lo cual sugiere que dicho micro RNA puede encontrarse alterado en estos pacientes. Sin embargo este es el primer estudio en evaluar esto, y otros estudios con mayor numero de pacientes son necesarios para poder confirmar o descartar estos resultados.

CAPITULO XIV.- GRAFICAS

Registro de pacientes en grupo control

REGISTRO	DIAGNOSTICO	SEXO	OSM(mOSM)
T001	Emetropia	Femenino	280
T002	Emetropia	Masculino	267
T003	Emetropia	Masculino	270
T004	Emetropia	Femenino	292
T005	Emetropia	Femenino	300
T006	Emetropia	Femenino	296
T007	Emetropia	Femenino	302
T008	Emetropia	Femenino	293
T009	Emetropia	Masculino	288
T010	Emetropia	Femenino	294
T011	Emetropia	Masculino	310
T012	Emetropia	Masculino	307
T013	Emetropia	Masculino	283
T014	Emetropia	Femenino	277
T015	Emetropia	Masculino	271

REGISTRO DE PACIENTES EN GRUPO DE AMETROPIAS

REGISTRO	DIAGNOSTICO	SEXO	OSM(mOSM)
M001	Ametropia	Femenino	270
M002	Ametropia	Femenino	273
M003	Ametropia	Femenino	286
M004	Ametropia	Femenino	276
M005	Ametropia	Femenino	280
M006	Ametropia	Masculino	279
M007	Ametropia	Masculino	301
M008	Ametropia	Femenino	297
M009	Ametropia	Femenino	323
M010	Ametropia	Femenino	283
M011	Ametropia	Masculino	299
M012	Ametropia	Femenino	307
M013	Ametropia	Masculino	271
M014	Ametropia	Femenino	285
M015	Ametropia	Femenino	306

REGISTRO DE PACIENTES EN GRUPO DE QUERATOCONO

REGISTRO	DIAGNOSTICO	SEXO	OSM(mOSM)
N001	Queratocono	Masculino	258
N002	Queratocono	Masculino	260
N003	Queratocono	Femenino	251
N004	Queratocono	Masculino	257
N005	Queratocono	Femenino	262
N006	Queratocono	Masculino	254
N007	Queratocono	Masculino	264
N008	Queratocono	Femenino	255
N009	Queratocono	Femenino	271
N010	Queratocono	Masculino	259
N011	Queratocono	Femenino	262
N012	Queratocono	Femenino	253
N013	Queratocono	Masculino	256
N014	Queratocono	Femenino	274
N015	Queratocono	Masculino	261
N016	Queratocono	Masculino	269

N017	Queratocono	Femenino	270
N018	Queratocono	Femenino	258
N019	Queratocono	Masculino	272
N020	Queratocono	Masculino	266

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) Godefrooij DA, Wit GAD, Uiterwaal CS, Imhof SM, Wisse RP. Age-specific Incidence and Prevalence of Keratoconus: A Nationwide Registration Study. *American Journal of Ophthalmology*. 2017;175:169–72.
- (2) Elahi E, Farzadfard A, Nassiri N, Moghadam T, Paylakhi S. Screening for MIR184 mutations in Iranian patients with keratoconus. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*. 2016;11(1):3.
- (3) Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, et al. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids. *Clinical Chemistry*. 2010;56(11):1733–41.
- (4) Bykhovskaya Y, Canedo ALC, Wright KW, Rabinowitz YS. C.57 C > T Mutation in MIR 184 is Responsible for Congenital Cataracts and Corneal Abnormalities in a Five-generation Family from Galicia, Spain. *Ophthalmic Genetics*. 2013;36(3):244–7.

- (5) Bykhovskaya Y, Seldin MF, Liu Y, Ransom M, Li X, Rabinowitz YS. Independent Origin of c.57 C > T Mutation in MIR184 Associated with Inherited Corneal and Lens Abnormalities. *Ophthalmic Genetics*. 2014Jun;36(1):95–7.
- (6) Beneteau C, Landais E, Doco-Fenzy M, Gavazzi C, Philippe C, Beri-Dexheimer M, et al. Microtriplication of 11q24.1: a highly recognisable phenotype with short stature, distinctive facial features, keratoconus, overweight, and intellectual disability. *Journal of Medical Genetics*. 2011;48(9):635–9.
- (7) Burdon KP, Vincent AL. Insights into keratoconus from a genetic perspective. *Clinical and Experimental Optometry*. 2013Jun;96(2):146–54.
- (8) Belin M, Duncan J. Keratoconus: The ABCD Grading System. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2016;233(06):701–7.
- (9) Duncan JK, Belin MW, Borgstrom M. Assessing progression of keratoconus: novel tomographic determinants. *Eye and Vision*. 2016Nov;3(1).

- (10) Gokul A, Vellara HR, Patel DV. Advanced anterior segment imaging in keratoconus: a review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2017;46(2): 122–32.
- (11) Mohammadpour M, Heidari Z, Hashemi H. Updates on Managements for Keratoconus. *Journal of Current Ophthalmology*. 2018;30(2):110–24.
- (12) Nowak DM, Gajecka M. Nonrandom Distribution of miRNAs Genes and Single Nucleotide Variants in Keratoconus Loci. *Plos One*. 2015;10(7).
- (13) Moschos MM, Droutsas K, Sioziou A, Dettoraki M, Gazouli M. Mutational Analysis of Pre-miR-184 and hsa-mir-568 in Greek Patients With Sporadic Keratoconus. *Cornea*. 2016;35(5):631–3.
- (14) Lim L, Lim EWL. A Review of Corneal Collagen Cross-linking – Current Trends in Practice Applications. *The Open Ophthalmology Journal*. 2018;12(Suppl-1, M7):181–213.
- (15) Abu-Amero KK, Helwa I, Al-Muammar A, Strickland S, Hauser MA, Allingham RR, et al. Screening of the Seed Region ofMIR184in Keratoconus Patients from Saudi Arabia. *BioMed Research International*. 2015;2015:1–7.
- (16) Sanctis UD, Aragno V, Dalmaso P, Brusasco L, Grignolo F. Diagnosis of Subclinical Keratoconus Using Posterior Elevation Measured With 2 Different Methods. *Cornea*. 2013;32(7):911–5.
- (17) Gordon-Shaag A, Millodot M, Shneor E, Liu Y. The Genetic and Environmental Factors for

Keratoconus. *BioMed Research International*. 2015;2015:1–19.

- (18) Barsam A, Petrushkin H, Brennan N, Bunce C, Xing W, Foot B, et al. Acute corneal hydrops in keratoconus: a national prospective study of incidence and management. *Eye*. 2015;29(4):469–74.
- (19) Hughes AE, Bradley DT, Campbell M, Lechner J, Dash DP, Simpson DA, et al. Mutation Altering the miR-184 Seed Region Causes Familial Keratoconus with Cataract. *The American Journal of Human Genetics*. 2011;89(5):628–33.

- (20) Hao X-D, Chen P, Chen Z-L, Li S-X, Wang Y. Evaluating the Association between Keratoconus and Reported Genetic Loci in a Han Chinese Population. *Ophthalmic Genetics*. 2015Dec;36(2):132–6.
- (21) Abu-Amero KK, Helwa I, Al-Muammar A, Strickland S, Hauser MA, Allingham RR, et al. Case-control association between CCT-associated variants and keratoconus in a Saudi Arabian population. *Journal of Negative Results in BioMedicine*. 2015Apr;14(1).
- (22) Drewry M, Helwa I, Allingham RR, Hauser MA, Liu Y. miRNA Profile in Three Different Normal Human Ocular Tissues by miRNA-Seq. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2016;57(8):3731.
- (23) Teng Y, Wong HK, Jhanji V, Chen JH, Young AL, Zhang M, et al. Signature microRNAs in human cornea limbal epithelium. *Functional & Integrative Genomics*. 2014Jul;15(3):277–94.
- (24) Iliff BW, Riazuddin SA, Gottsch JD. A Single-Base Substitution in the Seed Region of miR-184 Causes EDICT Syndrome. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012;53(1):348.
- (25) Lechner J, Bae HA, Guduric-Fuchs J, Rice A, Govindarajan G, Siddiqui S, et al. Mutational Analysis ofMIR184in Sporadic Keratoconus and Myopia. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013May;54(8):5266.
- (26) Cruz-Becerril, A., Valdivia, A., Peralta, R., Dominguez-Fernandez, R. and Castro-Reyes, M.

- (2015). Prevalence of refractive errors in Mexican patients with keratoconus. *Clinical Optometry*, p.39.
- (27) Cook, E. (2004). Tear cytokines in acute and chronic ocular allergic inflammation. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 4(5), pp.441-445.
- (28) Mimura, T., Usui, T., Yamagami, S., Miyai, T. and Amano, S. (2012). Relation Between Total Tear IgE and Severity of Acute Seasonal Allergic Conjunctivitis. *Current Eye Research*, 37(10), pp.864-870.
- (29) Acar, N., Toker, E. and Kazokoğlu, H. (2003). Tear and Serum Eosinophil Cationic Protein Levels in Seasonal Allergic Conjunctivitis. *European Journal of Ophthalmology*, 13(8), pp.671-675.
- (30) Jacobi, C., Jacobi, A., Kruse, F. and Cursiefen, C. (2011). Tear Film Osmolarity Measurements in Dry Eye Disease Using Electrical Impedance Technology. *Cornea*, 30(12), pp.1289-1292.
- (31) Abusharha, A., AlShehri, T., Hakami, A., Alsaqr, A., Fagehi, R., Alanazi, S. and Masmali, A. (2018). Analysis of basal and reflex human tear osmolarity in normal subjects: assessment of tear osmolarity. *Therapeutic Advances in Ophthalmology*, 10, p.251584141879488.
- (32) Ruth Miyuki Santo; Joyce Hisae Yamamoto Takiuti; Fábio Fernandes Morato Castro. Tear osmolarity in keratoconus and allergic patients in

Southern Brazil. Investigative Ophthalmology &
Visual Science June 2015, Vol.56, 3059