

Medicina regenerativa y superficie ocular

Regenerative medicine and ocular surface

Dra. Taimi Cárdenas Díaz, Dr. Armando Capote Cabrera, Dra. María del Carmen Benítez Merino, Dr. Justo L Noriega Martínez, Dr. Eric Montero Díaz, Dra. Iraisí F Hormigó Puertas

Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". La Habana, Cuba.

RESUMEN

En los últimos años se ha producido un extraordinario avance en los conocimientos relacionados con diferentes ramas biomédicas, entre ellas, la biología celular. Esto ha dado un notable impulso a una nueva rama de la medicina denominada medicina regenerativa. Esta nueva disciplina médica se basa fundamentalmente en los nuevos conocimientos sobre las células madre y en su capacidad de convertirse en células de diferentes tejidos. Una de las estructuras que tiene más interés, desde el punto de vista de la medicina regenerativa, es la superficie ocular. Por esto, se ha logrado notables progresos en la reconstrucción de la superficie ocular mediante la aplicación de procedimientos regenerativos. Los cultivos de células del epitelio corneal humano están siendo utilizados en el tratamiento de la insuficiencia limbar. Esto permite disminuir la incidencia de opacidades tipo *Haze* tras queratectomía fotorrefractiva, acelerar la curación y evitar la aparición de leucomas en pacientes con defectos epiteliales persistentes e intentar disminuir la incidencia de opacidades corneales en pacientes sometidos a queratectomía fototerapéutica por diferentes distrofias corneales.

Palabras clave: Medicina regenerativa, células madre, superficie ocular.

ABSTRACT

In the last few years, an extraordinary advance has taken place in the knowledge about several biomedical branches as is the case of cellular biology, which has remarkably encouraged the development of a new medical branch called regenerative medicine. This medical discipline is fundamentally based on the new knowledge on the

stem cells and their capacity to become cells for different tissues. One of the most interesting structures for the regenerative medicine is the ocular surface. In the last few years, significant advances have been achieved in the field of the ocular surface reconstruction with regenerative procedures. Some cell cultures of the human corneal epithelium are being used to treat limber insufficiency, to reduce the incidence of haze-type opacities after photorefractive keratectomy, to speed up the curing process and avoid the occurrence of leukomas in patients with persistent epithelial defects, and to decrease the incidence of corneal opacities in patients undergoing photorefractive keratectomy due to different corneal dystrophies.

Key words: Regenerative medicine, stem cells, ocular surface.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha producido un extraordinario avance en los conocimientos relacionados con diferentes ramas biomédicas, entre ellas la biología celular. Esto ha dado un notable impulso a una nueva rama de la medicina denominada medicina regenerativa. Esta disciplina médica se basa fundamentalmente en los conocimientos sobre las células madre y en su capacidad de convertirse en células de diferentes tejidos.¹⁻³ Una célula madre o más adecuado denominada troncal, es aquella capaz de dividirse indefinidamente y diferenciarse a distintos tipos de células especializadas, no solo morfológicamente, sino también de forma funcional.⁴

Las células madre fueron definidas por *Potteny Loeffler* como células⁵ indiferenciadas capaces de proliferar, automantenerse, dar lugar a una gran progenie celular diferenciada, regenerar los tejidos tras un daño y poseer gran flexibilidad en cada una de estas capacidades.⁶ Las características principales de las células madre son el estar pobremente diferenciadas con un citoplasma primitivo, tener una alta capacidad de autorrenovación sin errores, una larga esperanza de vida, un ciclo celular largo y el ser capaces de llevar a cabo divisiones simétricas o asimétricas, y activarse su proliferación por la cicatrización o por ser puesta en cultivo.⁷

Estas células permanecen relativamente quiescentes, pero tienen un gran potencial para la división celular clonogénica y son responsables de la proliferación y la diferenciación celular. Las células madre pueden llevar a cabo divisiones celulares asimétricas, es decir, originando una célula hija que permanece indiferenciada; otra destinada a la diferenciación y división celular, las células amplificadoras transitorias (células TAC). Estas células, por mitosis, aumentan el número de células, diferenciándose en células postmitóticas. Las células madre y las células TAC constituyen el compartimento proliferativo del tejido, y se diferencian en su ciclo vital y en la actividad mitótica.⁷ Las células TAC tienen un potencial proliferativo limitado, se dividen con más frecuencia y dan lugar a células diferenciadas incapaces de dividirse.⁵

Las células madre se pueden clasificar según su capacidad de diferenciarse a distintos tipos de tejidos, o lo que es lo mismo según su potencialidad. Las células madre totipotenciales son aquellas capaces de producir tanto tejido embrionario, es decir un embrión completo como extraembrionario (placenta y anejos placentarios). En sentido estricto, solamente los estadios iniciales del cigoto constituirían células madre

totipotenciales. Las células madre pluripotenciales tienen la capacidad de diferenciarse a cualquiera de los tejidos existentes en un organismo adulto y por tanto, tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias, incluyendo las células germinales. Por último, las células madre multipotenciales serán capaces de diferenciarse a distintos tipos celulares, pero siempre restringiendo su potencial a tejidos derivados de una única capa embrionaria, es decir, tejidos derivados mesodérmicos, ectodérmicos o endodérmicos.⁸

Al analizar su origen, dividimos a las células troncales en embrionarias (derivan del embrión, ya sea del blastocisto o de la cresta gonadal) y adultas (de alguno de los tejidos adultos).⁴ Se han obtenido importantes logros en el estudio y aplicación de las células madre adultas. Estas muestran notables ventajas sobre las embrionarias: su manipulación resulta más simple, pueden ser autólogas, no ocasionan trastornos inmunológicos, no presentan limitantes éticas ni legales, tampoco se ha comprobado que produzcan neoplasias. Todo esto contrasta con las características de las células embrionarias, cuya obtención y expansión son más complejas, tienen potencial inmunogénico por ser alogénicas, enfrentan problemas éticos y legales, y tienen capacidad tumorigénica in vivo.³

Un aspecto que se debe destacar y que conforma el elemento básico de este tipo de medicina, es que se apoya en los mismos factores intracelulares e intercelulares que el organismo emplea para su autorreparación.⁹ Prácticamente todos los sitios del organismo resultan en la actualidad de interés para la investigación relacionada con la medicina regenerativa. Una de estas estructuras es la superficie ocular.

Para el desarrollo del tema se revisó 150 bibliografías que incluyeron textos de la especialidad y artículos de revistas. Fueron consultados en la biblioteca del Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer" y a través de sitios como HINARI, SECIMED, MEDLINE, LILACS.

DESARROLLO

La superficie ocular está compuesta por tres epitelios distintos: corneal, limbar y conjuntival. Estos son epitelios estratificados, escamosos y no queratinizados procedentes de la superficie ectodérmica. Sin embargo, difieren en sus características y funciones. Estas están reflejadas en sus patrones únicos de expresión genética.⁷

Uno de los mayores avances de la biología molecular en la superficie ocular fue el hallazgo de *Sun* y otros en 1986, quienes al utilizar anticuerpos monoclonales contra queratina K3 (específica de córnea), demostraron que las células progenitoras del epitelio corneal o *Stem Cell* (SC) se localizan en la región basal limbar.¹⁰ Esto implica que en caso de una herida del epitelio corneal, la capacidad de regeneración depende del buen estado de las SC y su microambiente limbar.¹¹

La diferenciación terminal del epitelio de la superficie ocular, empieza con el paso de las SC a células amplificadoras transitorias. Estos dos tipos de células constituyen el compartimento proliferativo, poseen características diferentes y están separadas anatómicamente. Estas células basales, dan paso a las células suprabasales del compartimento diferenciativo: las células postmitóticas (PMC, *post-mitotic cells*) y las células terminales diferenciadas (TDC, *terminally differentiated cells*). La localización limbar de las SC es la razón de que las neoplasias y displasias tengan preferencia por esa localización.¹²

Las células madre limbocorneales no se encuentran en igual proporción en los distintos cuadrantes, siendo su proporción mayor en la córnea superior e inferior en comparación con los cuadrantes temporal y nasal.¹³

El epitelio corneal tiene una tasa de autorrenovación que tarda en completarse de 5 a 7 días. Esto ocurre por la capacidad proliferativa de las células progenitoras corneales (*stem cells*) situadas en el limbo esclerocorneal según se acepta actualmente.¹⁴⁻¹⁶

Existe una hipótesis propuesta por *Thoft* que explica la renovación del epitelio corneal por medio de tres ejes. El X, que consiste en la proliferación de las células basales. El Y, para la proliferación y migración centripeta de las células limbares. El Z, relacionado con la pérdida de células epiteliales de la superficie corneal.¹⁷

El mantenimiento del epitelio corneal por tanto puede definirse por medio de la ecuación: $X + Y = Z$; esta representa que para mantener el epitelio corneal, la pérdida celular debe estar en equilibrio con el reemplazo celular. El componente Y es un movimiento celular centripeto que ocurre incluso en ausencia de un defecto agudo. Es importante no confundir Y con otro fenómeno, el movimiento rápido de las células periféricas en respuesta a un defecto central agudo.¹⁷ Utilizando esta hipótesis es posible clasificar tanto las enfermedades como los tratamientos según el componente específico implicado (X, Y o Z).¹³

La disfunción o destrucción de estas *stem cells* traería una incapacidad de mantener el equilibrio dinámico del epitelio corneal. Esto provocaría defectos epiteliales persistentes, una invasión del epitelio conjuntival sobre la córnea o ambos. Este proceso patológico se define como insuficiencia del limbo y se puede clasificar según las causas que lo producen. En primaria, si existe una disfunción progresiva de las *stem cells*. En secundarias, cuando existe una destrucción de las mismas por parte de un agente exógeno o endógeno conocido.^{18, 19} Según la extensión de la córnea que afectan se clasifican en insuficiencias límbicas parciales o totales.^{6, 14}

Causas de insuficiencia límbica:

I. Primarias (asociadas a hipofunción o disfunción de las *stem cells*):

- 1 Aniridia.
- 2 Queratitis asociada a déficits endocrinos múltiples.
- 3 Inflamaciones periféricas (limbitis crónica).
- 4 Queratitis neurotrófica.
- 5 Isquemia límbica.
- 6 Displasia intraepitelial corneal.

II. Secundarias (pérdida del número de *stem cells*):

- 1 Daño químico.
- 2 Daño térmico.
- 3 Queratopatía inducida por lentes de contacto.
- 4 Crioterapia o cirugías límbicas repetidas.
- 5 Enfermedades inmunológicas (Síndrome de *Stevens-Johnson*, penfigoide ocular cicatricial).
- 6 Queratopatía postradioterapia.
- 7 Queratopatía postquimioterapia^{18,19}

El diagnóstico es clínico y se realiza exploración biomicroscópica incluida la tinción con fluoresceína y la citología de impresión. La citología confirma el diagnóstico, aunque no es práctico, ni necesario realizarla en cada paciente con posible déficit limbar,

siempre que exista una causa conocida y el paciente muestre los signos clínicos característicos.²⁰

El tratamiento de todos estos trastornos cuando las técnicas más conservadoras fracasan, o cuando la insuficiencia límica es total, es el trasplante limbar. Antes de plantearse un trasplante de limbo deben tratarse todos los aspectos de la superficie ocular que pudieran afectar el resultado. Es necesario emplear un abordaje escalonado mediante la eliminación de los factores desencadenantes o agravantes (inflamación o infección), la lubricación, y el tratamiento quirúrgico de las anomalías palpebrales (triquiasis, simbléfaron, ectropión, entropión, entre otras).²⁰

Los tipos de trasplante según la procedencia del injerto son:²⁰

1. Autoinjerto: Mismo individuo, del mismo ojo o del ojo contralateral.
2. Isoinjerto: Otro individuo, de igual especie e idéntica carga genética.
3. Homoinjerto o Aloinjerto: Igual especie pero de distinta carga genética.

- Aloinjerto de cadáver.
- Aloinjerto de donante vivo.

El trasplante limbar desde el ojo contralateral utiliza la conjuntiva adyacente como el tejido de transporte. Publicado por primera vez por *Kenyon y Tseng* en 1989, el autoinjerto de limbo ha llegado a ser la opción más difundida en el tratamiento del déficit limbar unilateral.²⁰

El autoinjerto implica el trasplante de tejido limbar desde el ojo sano hasta el ojo afectado del paciente, de este modo solo se realiza en el contexto de una lesión unilateral. Hay que tener cuidado de que el ojo donante sea realmente sano, aspecto que en ocasiones es difícil de determinar. Un ojo puede parecer normal pero tener un recuento de células progenitoras en el límite.²⁰

Si ambos ojos están afectados es necesario un aloinjerto de limbo. En este, el tejido limbar es obtenido de un cadáver o de un familiar del paciente. No existe consenso sobre qué tipo de aloinjerto, familiar vivo o de cadáver, es superior. Existen ventajas y desventajas en cada uno de ellos.²⁰

El uso de tejido de cadáver se asocia teóricamente a un mayor riesgo de rechazo porque en general, no es práctico encontrar un tejido de cadáver que proporcione una compatibilidad HLA (*human leukocyte antigen*) con el paciente. Sin embargo, el tejido de cadáver está disponible más fácilmente que el de un familiar vivo. Además, cuando se usa tejido de cadáver pueden ser extraídos 360 grados de tejido limbar para ser colocados en el lecho receptor. Esto proporciona más células progenitoras y teóricamente se crea un efecto barrera a la migración de tejido conjuntival.²⁰

En un donante vivo se necesita encontrar un familiar que tenga un razonable grado histocompatibilidad HLA con el paciente. El empleo de este tejido se asocia teóricamente a una menor incidencia de rechazo, así se reduce la dependencia de inmunosupresores sistémicos. Además, el grado de células muertas es teóricamente limitado por la rapidez del trasplante del donante al receptor y por la pronta vascularización del material trasplantado. Sin embargo, puede que no haya un familiar vivo disponible o no esté dispuesto a la donación. Por último, el hecho de intervenir el ojo de un individuo sano supone un inconveniente adicional.²⁰

En todas las técnicas el ojo receptor debe prepararse mediante la resección de todo el tejido fibrovascular que recubre la córnea, el limbo y la esclera perilímica.²¹ El éxito de estas técnicas, que se valora con la consecución de una superficie corneal

correctamente epitelizada y mantenida durante un año por lo menos (lo cual supone una viabilidad de las *stem cells* trasplantadas y no solo de las células amplificadoras transitorias), es muy variable según los autores y depende en gran medida de la patología subyacente.²¹

Por ejemplo según *Tsubota* y otros, en casos de síndrome de *Stevens-Johnson* o penfigoide ocular el éxito no superaría el 40 %, mientras que en agresiones químicas o térmicas el éxito puede llegar a 70 % al año de seguimiento.²² El porcentaje de éxito (superficie ocular estable) disminuiría con los años a pesar de mantenerse un tratamiento farmacológico inmunosupresor sistémico.²³

El diagnóstico de la insuficiencia limbar es importante, porque estos pacientes son malos candidatos para trasplante de cornea.²⁰ El epitelio del donante acaba siendo reemplazado por el del receptor en un 100 % de los casos al contener la córnea donante solamente células amplificadoras transitorias, células postmitóticas y células corneales diferenciadas por tratarse de tejido corneal central. Por tanto, si el limbo receptor es anómalo acabará en problemas de epitelización a nivel del injerto donante, vascularización, infiltración de células inflamatorias y finalmente rechazo.^{24,25} En la córnea donante solo van células amplificadoras de vida corta que proporcionan un reemplazo temporal del epitelio, pero en ningún caso reponen la función limbar. Además debido a la vascularización previa que existe en estos casos, se incrementa el riesgo de rechazo.²⁰

Cuando el trasplante de limbo debe asociarse a queratoplastia penetrante para restaurar la transparencia corneal, hay autores que recomiendan practicarlas en un solo tiempo quirúrgico, mientras otros aconsejan realizar la cirugía en dos tiempos. En primer lugar se realizaría el trasplante límbico para restaurar la superficie ocular y a los tres meses aproximadamente el trasplante corneal.²⁵⁻²⁷

Recientes descubrimientos genéticos y de biología molecular han agrupado las distrofias corneales como la de *Reis-Bückler*, *Thiel-Benke*, granular, reticular y de *Avellino* en un mismo grupo etiopatogénico. Estas presentan la misma mutación del gen *BIGH3* ubicado en el brazo largo del cromosoma 5 que condiciona depósitos de queratoepitelina, una proteína cuyo origen parece epitelial aunque acaba acumulándose en el estroma corneal. Las frecuentes recidivas a largo plazo de estas distrofias tras queratoplastia penetrante pueden actualmente atribuirse a la sustitución que sufre el epitelio donante por parte del receptor en todos los casos. La aportación de células límbicas libres de mutación mediante un trasplante de limbo podría disminuir esta incidencia. No hay todavía datos concluyentes en este sentido.²⁵

En los últimos años, se han logrado notables avances en el campo de la reconstrucción de la superficie ocular mediante la aplicación de procedimientos regenerativos. En la actualidad, cultivos de células del epitelio corneal humano están siendo utilizados en el tratamiento de enfermedades de la superficie ocular como en la insuficiencia limbar. Para evitar los riesgos en los ojos sanos donantes, se introduce la utilización de trasplantes de células limbares (*stem cells*) cultivadas. El tejido del donante puede proceder del ojo contralateral (autotrasplante) cuando éste está sano, o de un donante (alotrasplante) si la afectación es bilateral. Se necesita un soporte tisular para trasplantar las células porque éstas no pueden trasplantarse de forma aislada. Están descritos diferentes soportes para el cultivo celular, el más frecuente es la membrana amniótica;²⁸⁻³⁰ pero también se han usado otros como el colágeno³¹ o el gel de fibrina.³²

El procedimiento se inicia con la extracción de 1 mm² de epitelio límbico autólogo en el ojo donante, después se deposita sobre un sustrato de membrana amniótica, se sumerge en un medio de cultivo durante 2 semanas y finalmente permanece en

condiciones aeróbicas por 1 a 2 semanas más para que el epitelio se estratifique. El resultado es un epitelio estratificado de 4 o 5 capas muy parecido al epitelio corneal diferenciado y de una extensión suficiente para recubrir toda la superficie de la córnea. Normalmente se implanta en el ojo receptor sobre un sustrato de membrana amniótica.^{28, 30, 33-35}

También se están realizando trasplantes de epitelio autólogo cultivado para disminuir la incidencia de opacidades tipo *Haze* tras queratectomía fotorrefractiva, acelerar la curación y evitar la aparición de leucomas en pacientes con defectos epiteliales persistentes y para intentar disminuir la incidencia de opacidades corneales en pacientes sometidos a queratectomía fototerapéutica por diferentes distrofias corneales.³⁶ Se están utilizando cultivos de células epiteliales para realizar los ensayos de toxicidad de algunas soluciones de conservación de lentes de contacto.³⁷

También es importante para la farmacología,³⁷ porque permite valorar la toxicidad debida al principio activo y a los conservantes de diferentes productos farmacológicos.³⁸ Permite estudiar la biocompatibilidad de polímeros que pueden emplearse como agentes viscoelásticos, o con los que se elaboren los implantes empleados en la cirugía ocular, o que constituyan las matrices con las que se fabriquen equivalentes corneales organotípicos.³⁹

Recientemente se ha logrado la reconstrucción de la córnea mediante células autólogas procedentes de la mucosa oral. Pocos días después de este proceder, las córneas recuperaron su transparencia y mejoró notablemente la agudeza visual sin existencia de complicaciones.⁴⁰

Dentro de la medicina regenerativa existen dos conceptos básicos: ingeniería tisular y equivalentes tisulares. Ingeniería tisular, término acuñado durante una reunión de la Fundación Nacional de Ciencias de Estados Unidos en 1987, se trata de un área científica interdisciplinaria cuyo objetivo es la construcción de tejidos biológicos artificiales y la utilización, con fines médicos, de los mismos para restaurar, sustituir o incrementar las actividades funcionales de tejidos y órganos enfermos. Los tejidos artificiales así fabricados son los llamados equivalentes tisulares.^{41, 42}

En la actualidad, múltiples son los grupos de investigación que trabajan en la elaboración de sustitutos corneales mediante ingeniería tisular. Numerosos y rápidos son los avances en este campo,⁴³⁻⁴⁷ porque los equivalentes corneales constituyen una alternativa a la queratoplastia penetrante y otros tipos de queratoplastia así como queratoprótesis.⁴⁸

La queratoplastia penetrante constituye la técnica quirúrgica empleada con mayor frecuencia en el tratamiento de la patología corneal grave, no obstante presenta varios inconvenientes:⁴⁹

A) *Disponibilidad de córneas para trasplantes:* A pesar de los esfuerzos de las autoridades de salud y la conciencia de la población, hoy la disponibilidad de órganos y tejidos para trasplantes es menor que la demanda existente. Esto se traduce en listas de espera cada vez más extensas. El trasplante de córnea no constituye una excepción a esta realidad. Además, la expansión que está teniendo la cirugía refractiva corneal, puede empeorar aún más esta situación en un futuro relativamente próximo, porque las córneas sometidas a este tipo de tratamiento no son aptas para trasplantes.⁵⁰

B) *Posibilidad de rechazo del injerto:* El origen heterólogo de los implantes corneales es causa de una de las complicaciones más frecuentes y graves de la queratoplastia penetrante, el rechazo inmunológico del injerto. Este es resultado de una reacción

inmunológica dirigida frente a los antígenos del complejo HLA presentes en los tres tipos de células de la córnea. El rechazo puede ser epitelial, frente a los queratocitos estromales, o endotelial. Este último es el más grave de los tres porque ocasiona una pérdida de células endoteliales que al ser irreversible, y dada la baja tasa de proliferación de las células endoteliales en el humano adulto, puede provocar un edema cónico del injerto y por tanto su fracaso.⁵¹

C) Posibilidad de transmisión de enfermedades del donante: Aunque los protocolos de los diferentes bancos de tejidos y órganos incluyen la realización de serologías y de reacción en cadena de la polimerasa frente a distintas enfermedades infecciosas de los donantes, existen infecciones que pueden asociarse al trasplante de córnea y cuya detección, en ocasiones, escapa a este control. Al revisar la literatura publicada sobre esta cuestión, se encuentran casos de transmisión de diferentes virus como son, virus de la inmunodeficiencia humana adquirida,⁵² virus de la hepatitis B y C,⁵³ virus de la rabia⁵⁴ y virus del herpes simple;⁵⁵ de diferentes parasitosis, como la enfermedad de *Chagas*,⁵⁶ y de bacterias y hongos acantonados en la córnea.^{57,58} También es posible la transmisión de enfermedades no infecciosas al receptor, como es el caso de degeneraciones y distrofias corneales en etapas iniciales⁵⁹ y de ciertos tumores oculares que afectan a la superficie ocular o al segmento anterior.⁶⁰ Diferentes estudios, con córneas procedentes de pacientes con melanomas coroideos primarios confinados al segmento posterior, o con tumores extraoculares sin evidencia de actividad metastásica a nivel orbitario, no han mostrado que exista riesgo de transmisión de dichas neoplasias al receptor.^{61,62}

Pero este no es el único motivo que apoya esta disciplina de la ingeniería tisular. Si ya es difícil obtener córneas para trasplante, aún más difícil es conseguirlas para la experimentación. Los equivalentes corneales podrían ser empleados para estudiar in vitro, eficacia, toxicidad, penetración en los tejidos oculares de diferentes fármacos sin necesidad de utilizar córneas humanas aptas para trasplante.^{45,63,64}

Entre los retos para el futuro se encuentra el cultivo de células endoteliales humanas. Aunque algunos autores han conseguido realizar el cultivo del endotelio corneal humano, estas células presentan un bajo índice de proliferación lo que hace que sean muy difíciles de mantener en cultivo e impide, por el momento, la elaboración de sustitutos corneales humanos de espesor completo. Sin embargo, los equivalentes corneales generados por ingeniería genética, en lo referente a la práctica clínica, no son aptos para la realización de queratoplastias penetrantes ni lamelares posteriores por carecer de endotelio. Estos podrían emplearse en las queratoplastias lamelares anteriores, en los casos en que el ojo sano permita la realización de una biopsia para obtener células autólogas a partir de las cuales elaborar un sustituto corneal a la medida del paciente.⁶⁵⁻⁶⁷

CONCLUSIONES

Las aplicaciones clínicas de estos conocimientos no se han hecho esperar y procedimientos como los trasplantes de limbo y de membrana amniótica, van ganando a pasos agigantados su lugar en el arsenal oftalmológico. En los últimos años se han logrado notables avances en el campo de la reconstrucción de la superficie ocular mediante la aplicación de procedimientos regenerativos. En la actualidad cultivos de células del epitelio corneal humano están siendo utilizados en el tratamiento de la insuficiencia limbar, para disminuir la incidencia de opacidades tipo *Haze* tras queratectomía fotorrefractiva, para acelerar la curación y evitar la aparición de leucomas en pacientes con defectos epiteliales persistentes y para intentar disminuir la incidencia de opacidades corneales en pacientes sometidos a

queratectomía fototerapéutica por diferentes distrofias corneales; así como tienen gran importancia en la farmacología.

La posibilidad de elaborar tejidos autólogos a demanda, generados por ingeniería tisular a partir de células extraídas del propio paciente mediante pequeñas biopsias, acabaría con las listas de espera para recibir un trasplante. También con los rechazos inmunológicos puesto que habría identidad inmunológica total entre donante y receptor, y con la posibilidad de transmitir cualquier tipo de enfermedad infecciosa o no al receptor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mironow V, Visconti RP, Markwald RR. What is regenerative medicine? Emergence of applied stem cell and developmental biology. *Expert Opin Biol Ther*. 2004 [citado 2010 ene 15]; 4(6). Disponible en: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/14712598.4.6.773>
2. Verfaillie CM, Pera MF, Lansdorp PM. Stem cells: Hype and reality. *Hematology*. 2002 [citado 2010 ene 15]; 2002(1). Disponible en: <http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2002/1/369.full.pdf+html>
3. Hernández P, Dorticós E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2004 [citado 2010 ene 15]; 20(3). Disponible en: <http://www.sld.cu/sitios/medregenerativa/temas.php?idv=13084>
4. Gavira JJ, Herreros J, Rábago G, Luquin R, Prósper F, Moreno J, et al. Trasplante celular y terapia regenerativa con células madre. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 2006 [citado 2010 ene 15]; 29(2). Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2116819>
5. Potten CS, Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*. 1990 [citado 2010 ene 15]; 110(4). Disponible en: <http://dev.biologists.org/content/110/4/1001.short>
6. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol*. 2000 [citado 2010 ene 15]; 44(5). Disponible en: [http://www.surveyophthalmol.com/article/S0039-6257\(00\)00109-0/abstract](http://www.surveyophthalmol.com/article/S0039-6257(00)00109-0/abstract)
7. García M, Echeveste J, Fernández A, Moreno J, Prósper F. Regeneración de la superficie ocular: stem cells/células madre y técnicas reconstructivas. *An Sist Navar*. 2008 [citado 2010 ene 15]; 31(1). Disponible en: <http://en.scientificcommons.org/34574843>
8. Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001 [citado 2010 ene 15]; 17. Disponible en: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.cellbio.17.1.387>
9. Hernández P. Medicina regenerativa II. Aplicaciones, realidad y perspectivas de la terapia celular. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2006 [citado 2010 ene 15]; 22(1). Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol22_1_06/hih02106.htm

10. Schermer A, Galvin S, Sun T. Differentiation-related expression of a major 64 K corneal Keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *J Cell Biol.* 1986 [citado 2010 ene 15]; 103(1). Disponible en: <http://jcb.rupress.org/content/103/1/49.abstract>
11. Bohórquez Rodríguez P, Benítez del Castillo JM, Ragai N, Chen Y-T. Principios de biología molecular de la superficie ocular. *Studium.* 2000 [citado 2010 ene 15]; 18(2). Disponible en: <http://www.oftalmo.com/studium/studium1999/stud99-2/99b01.htm>
12. Tseng SCG. Concept and application of limbal stem cells. *Eye.* 1989 [citado 2010 ene 15]; 3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2695347>
13. Boulton M, Albon J. Stem cells in the eye. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004 [citado 2010 ene 15]; 36(4). Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TCH-4B8K9BR-1&_user=10&_coverDate=04%2F30%2F2004&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1698387380&_rerunOrigin=scholar.google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=c36a83213882755de2f2acdceb86d3b0&searchtype=a
14. Tseng SC, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. *Am J Ophthalmol.* 1997 [citado 2010 ene 15]; 124(4). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9402829>
15. Schultz GS. Modulation of corneal wound healing. En: Krachmer JH, Maunis MJ, Holland EJ, editores. *Cornea.* St Louis: Mosby; 1997. p. 183-98.
16. Kruse FE, Völcker HE. Stem cells, wound healing, growth factors and angiogenesis in the cornea. *Current Opinion in Ophthalmol.* 1997 [citado 2010 ene 15]; 8(4). Disponible en: http://journals.lww.com/co-ophthalmology/Abstract/1997/08000/Stem_cells_wound_healing_growth_factors_a nd.7.aspx
17. Davanger M, Evensen A. Role of the pericorneal papillary structure in renewal of corneal epithelium. *Nature.* 1971 [citado 2010 ene 15]; 229(5286). Disponible en: <http://www.nature.com/nature/journal/v229/n5286/abs/229560a0.html>
18. Puangsricharern V, Tseng SCG. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology.* 1995 [citado 2010 ene 15]; 102(10). Disponible en: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=3695452>
19. Ellies P, Andersson DF, Topuhanmi A, Tseng SCG. Limbal stem cell deficiency arising from systemic chemotherapy. *Br J Ophthalmol.* 2001 [citado 2010 ene 15]; 85(3). Disponible en: <http://bjo.bmj.com/content/85/3/371.4.extract>
20. Toro A., Ruiz C, Castellón L. Trasplante de limbo corneal. En: Actualizaciones en Trasplantes. 2004 [citado 2010 ene 15]. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/trasplante/tejidos04-3.pdf>
21. Sedó S, Torras J. La superficie ocular (2ª parte). *Annals d´Oftalmologia.* 2001 [citado 2010 ene 15]; 9(4). Disponible en: http://www.nexusediciones.com/pdf/ao2001_4/of-9-3-002.pdf
22. Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimmura S, Bissen-Miyajima H, et al. Treatment of severe ocular surface disorders with corneal stem-cells

transplantation. N Engl J Med. 1999 [citado 2010 ene 15]; 340(22). Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199906033402201>

23. Anderson DF, Ellies P, Pires RTF, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. Br J Ophthalmol. 2001 [citado 2010 ene 15]; 85(5). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1723950/pdf/v085p00567.pdf>

24. Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. Ophthalmology. 1989 [citado 2010 ene 15]; 96(5). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2748125>

25. Dunaief J, Goldberg M. Corneal dystrophies of epithelial genesis. The possible therapeutic use of limbal stem cell transplantation. Arch Ophthalmol. 2001 [citado 2010 ene 15]; 119(1). Disponible en: <http://archophth.ama-assn.org/cgi/content/short/119/1/120>

26. Rodríguez MJ, Martín BF, Arteaga HV, Abreu RJ, Aguilar EJ, González De La RM. Transplante de Limbo en patología de la superficie ocular. Arch Soc Canar Oftal. 2003 [citado 2010 ene 15]; (14). Disponible en: <http://www.oftalmo.com/sco/revista-14/14sco12.htm>

27. Tsubota K, Toda I, Saito H, Shinozaki N, Shimazaki J. Reconstruction of the corneal epithelium by limbal allograft transplantation for severe ocular surface disorders. Ophthalmology. 1995 [citado 2010 ene 15]; 35(4). Disponible en: http://journals.lww.com/international-ophthalmology/Citation/1995/03540/Reconstruction_of_Corneal_Epithelium_by_Limbal.39.aspx

28. Tsai RJ, Li LM, Chen JK. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. N Engl J Med. 2000 [citado 2010 ene 15]; 343: 86-93. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM200007133430202>

29. Schwab IR, Reyes M, Isseroff RR. Successful transplantation of bioengineered tissue replacements in patients with ocular surface disease. Cornea. 2000 [citado 2010 ene 15]; 19(4). Disponible en: http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/2000/07000/Successful_Transplantation_of_Bioengineered_Tissue.3.aspx

30. Koizumi N, Inatomi T, Suzuki T, Sotozono C, Kinoshita S. Cultivated corneal epithelial stem cell transplantation in ocular surface disorders. Ophthalmology. 2001 [citado 2010 ene 15]; 108(9). Disponible en: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=14077499>

31. He YG, Alizadeh H, Kinoshita K, McCulley JP. Experimental transplantation of cultured human limbal and amniotic epithelial cells onto the corneal surface. Cornea. 1999 [citado 2010 ene 15]; 18(5). Disponible en: http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/1999/09000/Experimental_Transplantation_of_Cultured_Human.10.aspx

32. Rama P, Bonini S, Lambiase A, Golisano O, Paterna P, De Luca M, et al. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. Transplantation. 2001 [citado 2010 ene 15]; 72(9). Disponible en: http://journals.lww.com/transplantjournal/Abstract/2001/11150/Autologous_Fibrin_Cultured_Limbal_Stem_Cells.2.aspx

33. Koizumi N, Inatomi T, Suzuki T. Cultivated corneal epithelial transplantation for ocular surface reconstruction in acute phase of Stevens-Johnson syndrome. Arch Ophthalmol. 2001 [citado 2010 ene 15]; 119(2):298-300. Disponible en: <http://archophth.ama-assn.org/cgi/content/full/119/2/298>
34. Kim MK, Heo JW, Lee JL, Wee WR, Lee JH. Adhesion complex in cultivated limbal epithelium on amniotic membrane after in vivo transplantation. Curr Eye Res. 2005 [citado 2010 ene 15]; 30(8). Disponible en: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/02713680590968277>
35. Ma DH, Yao JY, Yeh LK, Lian ST, See LC, Chen HT, et al. In vitro antiangiogenic activity in ex vivo expanded human limbal corneal epithelial cells cultivated on human amniotic membrane. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004 [citado 2010 ene 15]; 45(8). Disponible en: <http://www.iovs.org/content/45/8/2586.short>
36. Hayashida Y, Nishida K, Yamato M, Yang J, Sujiyama H, Watanabe K, et al. Transplantation of tissue-engineered epithelial cell sheets after Excimer laser photoablation reduces postoperative corneal haze. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006 [citado 2010 ene 15]; 47(2):552-7. Disponible en: <http://www.iovs.org/content/47/2/552.short>
37. McCanna DJ, Harrington KL, Driot JY, Ward KW, Tchao R. Use of a human corneal epithelial cell line for screening the safety of contact lens care solutions in vitro. Eye Contact Lens. 2008 [citado 2010 ene 15]; 34(1). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18180675>
38. Dutot M, Pouzaud F, Larosche I, Brinole-Baudouin F, Warnet JM, Rat P. Fluoroquinolone eye drop-induced cytotoxicity: role of preservative in P2X7 cell death receptor activation and apoptosis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006 [citado 2010 ene 15]; 47(7). Disponible en: <http://www.iovs.org/content/47/7/2812.short>
39. Huhtala A, Pohjonen T, Salminen L, Salminen A, Kaarniranta H, Uusitalo H, et al. In Vitro biocompatibility of degradable biopolymers in cell line cultures from various ocular tissues: direct contact studies. J Biomed Mater Res. 2007 [citado 2010 ene 15]; 83(2):407-13. Disponible en: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.a.31319/abstract?systemMessage=Wiley+Online+Library+will+be+disrupted+2nd+Apr+from+10-12+BST+for+monthly+maintenance](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.a.31319/abstract?systemMessage= Wiley+Online+Library+will+be+disrupted+2nd+Apr+from+10-12+BST+for+monthly+maintenance)
40. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Yamamoto K, Adachi E, et al. Corneal reconstruction with tissue _ engineered cell sheets composed of autologous oral mucosa epithelium. N Engl J Med. 2004 [citado 2010 ene 15]; 351:1187-96. Disponible en: <http://journal.shouxi.net/qikan/article.php?id=210047>
41. Campos A. Cuerpo, Histología y Medicina. De la descripción microscópica a la Ingeniería Tisular. Discurso de Ingreso en la Real Academia Nacional de medicina. Madrid 2004 [citado 2010 ene 15]. Disponible en: <http://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=zJUqDieftIEC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Cuerpo,+Fisiolog%C3%ADa+y+Medicina.+De+la+descripci%C3%B3n+microsc%C3%B3pica+a+la+Ingenier%C3%ADa+Tisular.+Discurso+de+Ingreso+en+la+Real+Academia+Nacional+de+medicina.&ots=dtUIBa2VII&sig=zeSBnyVbion8gVV0vJ83-VyfDBE#>
42. Nerem RM, Sambanis A. Tissue engineering: From biology to biological substitutes. Tissue Eng. 1995 [citado 2010 ene 15]; 1(1). Disponible en: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ten.1995.1.3>
-

43. Minami Y, Sigihara H, Oono S. Reconstruction of cornea in three-dimensional collagen gel matrix culture. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1993 [citado 2010 ene 15]; 34(7). Disponible en: <http://www.iovs.org/content/34/7/2316.short>
44. Orwin EJ, Hubel A. In Vitro culture characteristics of corneal epithelial, endothelial and keratocyte cells in a native collagen matrix. Tissue Eng. 2000 [citado 2010 ene 15]; 6(4). Disponible en: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/107632700418038>
45. Reichl S, Müller-Goymann CC. The use of a porcine organotypic cornea construct for permeation studies from formulations containing befunolol hydrochloride. Int J Pharm. 2003 [citado 2010 ene 15]; 250(1). Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T7W-478RNXS-2&_user=10&_coverDate=01%2F02%2F2003&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1698441877&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=9fb97165324572fc4446be64b1c968d3&searchtype=a
46. Schneider AI, Maier-Reif K, Graeve T. Constructing an in Vitro cornea from cultures of the three specific corneal cell types. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 1999 [citado 2010 ene 15]; 35(9). Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/b150005vj8823v31/>
47. Zieske JD, Mason VS, Wasson ME, Meunier SF, Nolte CJ, Fukai N, et al. Basement membrane assembly and differentiation of cultures corneal cells: importance of culture environment and endothelial cell interaction. Exp Cell Res. 1994 [citado 2010 ene 15]; 214(2). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7523155>
48. Duan D, Klenkler BJ, Sheardown H. Progress in the development of a corneal replacement: keratoprotheses and tissue-engineered corneas. Expert Rev Med Devices. 2006 [citado 2010 ene 15]; 3(1). Disponible en: <http://www.ingentaconnect.com/content/ftd/erd/2006/00000003/00000001/art00009>
49. Borene ML, Barocas VH, Hubel A. Mechanical and cellular changes during compaction of a collagen-sponge-based corneal stromal equivalent. Ann Biomed Eng. 2004 [citado 2010 ene 15]; 32(2). Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/x53057nh135u915h/>
50. Ousley PJ, Terry MA. Objective screening methods for prior refractive surgery in donor tissue. Cornea. 2002 [citado 2010 ene 15]; 21(2). Disponible en: http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/2002/03000/Objective_Screening_Methods_for_Prior_Refractive.11.aspx
51. Coster DJ, Willians KA. The impact of corneal allograft rejection on the long-term outcome of corneal transplantation. Am J Ophthalmol. 2005 [citado 2010 ene 15]; 140(6). Disponible en: [http://www.ajo.com/article/S0002-9394\(05\)00795-6/abstract](http://www.ajo.com/article/S0002-9394(05)00795-6/abstract)
52. Caron MJ, Wilson R. Review of the risk of HIV infection through corneal transplantation in the United States. J Am Optom Assoc. 1994 [citado 2010 ene 15]; 65(3). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8201168>
53. Hoft RH, Pflugfelder SC, Foster RK, Ullman S, Polack FM, Schiff ER. Clinical evidence for hepatitis B transmission resulting from corneal transplantation. Cornea. 1997 [citado 2010 ene 15]; 16(2). Disponible en:

http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/1997/03000/Clinical_Evidence_for_Hepatitis_B_Transmission.3.aspx

54. Houff SA, Burton RC, Wilson RW, Henson TE, London WT, Baer GM, et al. Human-to-human transmission of rabies virus by corneal transplant. *N Engl J Med*. 1979 [citado 2010 ene 15]; 300(11). Disponible en:

<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM197903153001105>

55. Robert PY, Adenis JP, Pleyer U. How "safe" is corneal transplantation? A contribution on the risk of HSV-transmission due to corneal transplantation. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2005 [citado 2010 ene 15]; 222(11). Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16308818>

56. Herrera L, Martínez C, Carrasco H, Hansen AM, Urdaneta-Morales S, et al. Cornea as a tissue reservoir of *Tripanosoma cruzi*. *Parasitol Res*. 2007 [citado 2010 ene 15]; 100(6). Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/g6820812643w15q/>

57. Hassan SS, Wilhelmus KR, Dahl P, Davis GC, Roberts RT, Ross KW, et al. Infectious disease risk factors of corneal graft donors. *Arch Ophthalmol*. 2008 [citado 2010 ene 15]; 126(2). Disponible en: <http://archophth.ama-assn.org/cgi/content/abstract/126/2/235>

58. Schotveld JH, Raijmakers AJ, Ype H, Zaal MJ. Donor-to-host transmitted *Candida* endophthalmitis after penetrating keratoplasty. *Cornea*. 2005 [citado 2010 ene 15]; 24(7). Disponible en:

http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/2005/10000/Donor_to_Host_Transmitted_Candida_Endophthalmitis.26.aspx

59. Borderie VM, Sabolic V, Touzeau O, Scheer S, Carvajal-Gonzalez S, Laroche L. Screening human donor corneas during organ culture for the presence of guttae. *Br J Ophthalmol*. 2001 [citado 2010 ene 15]; 85(3). Disponible en:

<http://bjo.bmj.com/content/85/3/272.abstract>

60. McGeorge AJ, Vote BJ, Elliot DA. Papillary adenocarcinoma of the iris transmitted by corneal transplantation. *Arch Ophthalmol*. 2002 [citado 2010 ene 15]; 120(10). Disponible en: <http://archophth.ama-assn.org/cgi/content/full/120/10/1379>

61. Harrison DA, Hodge DO, Bourne WN. Outcome of corneal grafting with donor tissue from eyes with primary choroidal melanomas. A retrospective cohort comparison. *Arch Ophthalmol*. 1995 [citado 2010 ene 15]; 113(6). Disponible en: <http://archophth.ama-assn.org/cgi/content/abstract/113/6/753>

62. Salame N, Viel JF, Arveux P, Bernard D. Cancer transmission through corneal transplantation. *Cornea*. 2001 [citado 2010 ene 15]; 20(7). Disponible en: http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/2001/10000/Cancer_Transmission_Through_Corneal.2.aspx

63. Reichl S, Bednarz J, Müller-Goymann CC. Human corneal equivalents as cell culture model for in Vitro drug permeation studies. *Br J Ophthalmol*. 2004 [citado 2010 ene 15]; 88(4). Disponible en: <http://bjo.bmj.com/content/88/4/560.abstract>

64. Tegtmeyer S, Papantoniou I, Müller-Goymann CC. Reconstruction of an in Vitro cornea and its use for drug permeation studies from different formulations containing pilocarpine hydrochloride. *Eur J Pharm Biopharm*. 2001 [citado 2010 ene 15]; 51(2). Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6C-

[42D82H03&_user=10&_coverDate=03%2F31%2F2001&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1698459519&_rerunOrigin=scholar.google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=3ece11717ba680bc7b236ba65d45f6d5&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TBT-4840MKY-7&_user=10&_coverDate=03%2F31%2F2001&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1698459519&_rerunOrigin=scholar.google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=3ece11717ba680bc7b236ba65d45f6d5&searchtype=a)

65. Joyce NC. Proliferative capacity of the corneal endothelium. *Progr Retin Eyes Res.* 2003 [citado 2010 ene 15]; 22(3). Disponible en:

http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TBT-4840MKY-7&_user=10&_coverDate=05%2F31%2F2003&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1698462316&_rerunOrigin=scholar.google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=7978e052e3a5a3dea448677e15c230c5&searchtype=a

66. Sumide T, Nishida K, Yamato M, Takeshi I, Hayashida Y, Watanabe K, et al. Functional human corneal endothelial cell sheets harvested from temperature-responsive culture surfaces. *FASEB J.* 2006 [citado 2010 ene 15]; 20(2). Disponible en: <http://www.fasebj.org/content/20/2/392.full.pdf>

67. Gascón Ginel MI. Desarrollo del sistema de cohesión intercelular en el epitelio corneal humano generado por ingeniería tisular. Estudio genético o histológico [Tesis]. Granada: Facultad de Medicina, Universidad de Granada; 2008 [citado 2010 ene 15]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10481/1890>

Recibido: 20 de septiembre de 2010.

Aprobado: 14 de septiembre de 2011.

Dra. *Taimi Cárdenas Díaz*. Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". Ave. 76 No. 3104 entre 31 y 41 Marianao, La Habana, Cuba. Correo electrónico: taimicar@infomed.sld.cu