



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

TESIS DOCTORAL



**ESTUDIO DE LA PIGMENTACIÓN CORNEAL EN PERROS DE RAZA PUG.
COMPARACIÓN DE DOS TRATAMIENTOS TÓPICOS:
TACROLIMUS Y SIROLIMUS**

Diana Sarmiento Quintana

Arucas, 2017

D. ALBERTO ARENCIBIA ESPINOSA, SECRETARIO DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,

CERTIFICA,

Que la Comisión de Asesoramiento Docente del programa de Doctorado en Clínica Veterinaria e Investigación Terapéutica de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria en su sesión de fecha 6 de junio de 2017, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación a la tesis doctoral titulada “Estudio de la pigmentación corneal en perros de raza pug. Comparación de dos tratamientos tópicos: Tacrolimus y Sirolimus” presentada por la doctoranda D^a. Diana Sarmiento Quintana y dirigida por los Doctores D^a. Inmaculada Morales Fariña y D. Juan Alberto Corbera Sánchez.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 6 del Reglamento para la elaboración, defensa, tribunal y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firma la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 6 de junio de dos mil diecisiete.

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y
Tecnología de los Alimentos

PROGRAMA DE DOCTORADO EN
CLÍNICA VETERINARIA E INVESTIGACIÓN TERAPÉUTICA

FACULTAD DE VETERINARIA

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LA PIGMENTACIÓN CORNEAL EN PERROS DE RAZA PUG.
COMPARACIÓN DE DOS TRATAMIENTOS TÓPICOS:
TACROLIMUS Y SIROLIMUS**

Presentada por D. ^a DIANA SARMIENTO QUINTANA

Dirigida por la Dra. D. ^a INMACULADA MORALES FARIÑA

Codirigida por el Dr. D. JUAN ALBERTO CORBERA SÁNCHEZ

La Directora

El Codirector

La Doctoranda

Arucas, 2017

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS

Tengo la fortuna de tener muchas personas a las que agradecer todo lo que me han enseñado a lo largo del camino hasta aquí y seguramente no estarán todas nombradas.

Primero por supuesto a mi familia, a mis padres, Antonio Sarmiento García y Teresa Quintana González, a los que le debo todo lo que soy como persona y como profesional.

A mi hermana, Mónica Sarmiento Quintana a la que adoro, y a Adrián Batista Trenzado, mi otro “hermano”, por estar ahí siempre en los buenos y malos momentos.

A mis dos sobrinas, Adriana y Nira Batista Sarmiento que me ayudan a olvidar los problemas y a recordar las cosas simples y maravillosas que tiene la vida.

A Javier Padrón Fontes que, aunque lleve poco tiempo en mi vida se ha ganado un sitio aquí.

A todos aquellos profesionales que me han enseñado algo entre ellos Rita Rodríguez Ramos, Alejandro Rodríguez Rivera y en especial a Sonia Peina Ruiz, Raquel Martín Sosa y María José Sarmiento Santana.

A mis compañeras y amigas oftalmológicas Sara Artilles Saiz, por el mes en Barcelona y Jessica González Pérez por sus ideas y consejos para la realización de esta tesis y todos los trabajos que emprendo.

A mis amigas que se mezclan entre las profesionales Dunia Santana Ortigosa y Olivia Márquez Peña.

A Juan Alberto Corbera Sánchez por ayudarme con todos estos números.

Y por supuesto en mayúsculas, por ser siempre tan generosa, tanto en lo profesional como en lo personal, a mi maestra, a la que admiro, Inmaculada Morales Fariña.

Gracias.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

- ANOVA: Análisis de varianza.
 - BID: Dos veces al día (*Bis in die*).
 - BK: Queratopatía bullosa (*Bullous keratopathy*).
 - BUT: Tiempo de ruptura de la película lagrimal (*Break-up Time*).
 - CCT: Espesor corneal central (*Central corneal thickness*).
 - CHV-1: Herpesvirus canino tipo 1 (*Canine herpesvirus-1*).
 - CO₂: Dióxido de carbono.
 - CP: Pigmentación corneal (*Corneal pigmentation*).
 - CpN: Ciclofilina.
 - CsA: Ciclosporina A.
 - CSK: Queratitis superficial crónica (*Chronic superficial keratitis*).
 - CTT: Umbral de contacto corneal (*Corneal touch threshold*).
 - DBD: Desbridamiento con fresa de diamante (*Diamond burr debridement*).
 - EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.
 - ERU: Uveítis recurrente equina (*Equine recurrent uveítis*).
 - FDA: Administración de Medicamentos y Alimentos (*Food and Drug Administration*).
 - FKBP-12: FK *Binding Protein* tipo 12.
 - HAZ: Zona acelular hialina (*Hyaline acellular zone*).
 - IC: Intervalo de confianza.
 - IL-1,2,3,4,6,12: Interleucina-1,2,3,4,6,12.
 - IVCM: Microscopía cofocal *in vivo* (*In Vivo Confocal Microscopy*).
 - KCS: Queratoconjuntivitis seca (*Keratoconjunctivitis sicca*).
 - LM: Melanoma del limbo (*Limbal melanoma*).
 - LSCD: Deficiencia de las células madres del limbo (*Limbal stem cells deficiency*).
 - mTOR: Diana de rapamicina en células de mamífero (*Mammalian Target of Rapamycin*).
 - MU: Unidades de meibometría (*Meibometer units*).
 - NF-AT: Factor de Activación Nuclear de las células T (*Nuclear factor of activated T-cells*).
-

GLOSARIO DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

- OCT: Tomografía de coherencia óptica (*Optical coherence tomography*).
 - OD: Ojo derecho (*Oculus dexter*).
 - OR: Razón de probabilidades (*Odds Ratio*).
 - OS: Ojo izquierdo (*Oculus sinister*).
 - OU: Ambos ojos (*Oculi uterque*).
 - PK: Queratitis pigmentaria (*Keratitis pigmentary*).
 - PNT: Procedimiento normalizado de trabajo.
 - PPMs: Membranas pupilares persistentes (*Persistent pupillary membranes*).
 - PRT: Prueba del hilo rojo fenol (*Phenol red thread test*).
 - SCC: Carcinoma de células escamosas (*Squamous cell carcinoma*).
 - SCCEDs: Defectos espontáneos crónicos del epitelio corneal (*Spontaneous chronic corneal epithelial defects*).
 - SCP: Pigmento corneal superficial (*Superficial corneal pigment*).
 - SPK: Queratitis punteada superficial (*Superficial punctate keratitis*).
 - STT: Test de Schirmer (*Schirmer tear test*).
 - STT1: Test de Schirmer tipo 1.
 - STT2: Test de Schirmer tipo 2.
 - TFT: Test de Ferning (*Tear ferning test*).
 - TID: Tres veces al día (*Ter in die*).
 - UV: Radiación ultravioleta (*ultraviolet radiation*).
-

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

Figuras:

Figura 1. Material básico utilizado para la exploración.

Figura 2. Kowa SL-15®.

Figura 3. Euribléfaron, entropion nasal inferior, triquiasis y PK en el ojo derecho de un Pug.

Figura 4. PK muy leve.

Figura 5. PK leve

Figura 6. PK moderada.

Figura 7. PK severa.

Figura 8. Hipoplasia de iris.

Figura 9. Membranas pupilares persistentes tipo II.

Figura 10. TFT Tipo I.

Figura 11. TFT Tipo II.

Figura 12. TFT Tipo III.

Figura 13. TFT Tipo IV.

Figura 14. Extensión de la lágrima en la realización del test de Ferning.

Figura 15. Material utilizado para la sensibilidad corneal.

Figura 16. Estensimetría cualitativa fina.

Figura 17. Gráfico de la córnea, puntos de medida de la paquimetría lateral y medial.

Figura 18. Paquímetro ultrasónico PACHETTE 3, DGH *Technology* INC.

Figura 19. Presentación de los productos.

Figura 20. Pigmento en esclera avanzado.

Figura 21. Ejemplos de línea transparente.

Figura 22. Antes del inicio del tratamiento.

Figura 23. Pigmento aclarado, después del inicio del tratamiento.

Figura 24. Úlcera simple.

Figura 25. Úlcera complicada.

Figura 26. Paciente x al inicio del estudio.

Figura 27. Paciente x a los 6 meses con tacrolimus.

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

Gráficos:

Gráfico 1. Edad.

Gráfico 2. Grupos de edad.

Gráfico 3. Sexo.

Gráfico 4. Fertilidad.

Gráfico 5. Capas.

Gráfico 6. Grupos de capas.

Gráfico 7. Animales tratados.

Gráfico 8. Grupos de tratamiento.

Gráfico 9. Productos y grupos de edad.

Gráfico 10. Productos y sexo.

Gráfico 11. Productos y fertilidad.

Gráfico 12. Productos y grupos de capas.

Gráfico 13. Productos y severidad.

Gráfico 14. Prevalencia de queratitis pigmentaria.

Gráfico 15. Clasificación de la severidad de la PK.

Gráfico 16. Enfermedades oculares previas.

Gráfico 17. Clasificación de enfermedades oculares.

Gráfico 18. Tratamientos anteriores.

Gráfico 19. Enfermedades sistémicas.

Gráfico 20. Clasificación de enfermedades sistémicas.

Gráfico 21. Vasos corneales.

Gráfico 22. Alteraciones palpebrales.

Gráfico 23. Alteraciones del iris.

Gráfico 24. Test de Ferning.

Gráfico 25. Sensibilidad corneal cualitativa.

Gráfico 26. Queratitis pigmentaria y test de Schirmer.

Gráfico 27. Queratitis pigmentaria y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Gráfico 28 y 29. Queratitis pigmentaria y paquimetría medial (izqda.) y lateral (dcha.).

Gráfico 30. Recta de regresión de paquimetría.

Gráfico 31. Severidad y test de Schirmer.

Gráfico 32. Severidad y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Gráfico 33. Severidad y paquimetría medial.

Gráfico 34. Severidad y paquimetría lateral.

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

Gráfico 35. Casos de úlceras corneales.

Gráfico 36. Tipos de úlceras corneales.

Gráfico 37. Blefaroespasma.

Gráfico 38. Hiperemia.

Gráfico 39. Prurito.

Gráfico 40. Edema corneal.

Gráfico 41. Vasos corneales.

Gráfico 42. Infiltrado inflamatorio.

Gráfico 43. Pigmento en esclera.

Gráfico 44. Descarga ocular.

Gráfico 45. Línea transparente.

Gráfico 46. Pigmento aclarado.

Gráfico 47. Recuperación de transparencia.

Histogramas:

Histograma 1. Test de Schirmer.

Histograma 2. Tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Ilustraciones:

Ilustración 1. Esquema de la cantoplastia nasal.

Ilustración 2. Corrección del pliegue nasal.

Ilustración 3. Queratectomía superficial.

Tablas:

Tabla 1. Diferencias en el mecanismo de acción entre los productos.

Tabla 2. Resumen de la encuesta epidemiológica.

Tabla 3. Productos y grupos de edad.

Tabla 4. Productos y sexo.

Tabla 5. Productos y fertilidad.

Tabla 6. Productos y grupos de capas.

Tabla 7. Productos y severidad

Tabla 8. Prevalencia de queratitis pigmentaria.

Tabla 9. Prevalencia PK en OD y OS.

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla 10. Frecuencias y porcentajes de la clasificación de la severidad.

Tabla 11. Enfermedades oculares previas.

Tabla 12. Tratamientos quirúrgicos anteriores.

Tabla 13. Tratamientos médicos anteriores.

Tabla 14. Enfermedades sistémicas.

Tabla 15. Vasos corneales.

Tabla 16. Alteraciones palpebrales.

Tabla 17. Hipoplasia de iris.

Tabla 18. Membranas pupilares persistentes.

Tabla 19. Test de Schirmer.

Tabla 20. Test de Ferning.

Tabla 21. Tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Tabla 22. Sensibilidad fina.

Tabla 23. Sensibilidad gruesa.

Tabla 24. Paquimetría ultrasónica.

Tabla 25. Queratitis pigmentaria y grupos de edad.

Tabla 26. Chi-cuadrado de Pearson y estimación de riesgo.

Tabla 27. Queratitis pigmentaria y sexo.

Tabla 28. Queratitis pigmentaria y fertilidad.

Tabla 29. Queratitis pigmentaria y grupos de capas.

Tabla 30. Queratitis pigmentaria y enfermedades oculares previas.

Tabla 31. Queratitis pigmentaria y enfermedades sistémicas.

Tabla 32. Queratitis pigmentaria y vasos corneales.

Tabla 33. Triquiasis del pliegue nasal.

Tabla 34. Distiquias.

Tabla 35. Entropion nasal superior.

Tabla 36. Entropion nasal inferior.

Tabla 37. Triquiasis de la carúncula.

Tabla 38. Euribléfaron.

Tabla 39. Hipoplasia de iris

Tabla 40. Membranas pupilares persistentes.

Tabla 41. Relación entre hipoplasia de iris y PPMs.

Tabla 42. Queratitis pigmentaria y test de Schirmer.

Tabla 43. Queratitis pigmentaria y test de Ferning.

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla 44. Queratitis pigmentaria y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Tabla 45. Queratitis pigmentaria y sensibilidad fina.

Tabla 46. Queratitis pigmentaria y sensibilidad gruesa.

Tabla 47. Queratitis pigmentaria y paquimetría.

Tabla 48. Severidad y edad.

Tabla 49. Severidad y sexo.

Tabla 50. Severidad y fertilidad.

Tabla 51. Severidad y grupos de capas.

Tabla 52. Severidad y enfermedades oculares previas.

Tabla 53. Severidad y enfermedades sistémicas.

Tabla 54. Severidad y vasos corneales.

Tabla 55. Severidad y triquiasis del pliegue nasal.

Tabla 56. Severidad y distiquias.

Tabla 57. Severidad y entropion nasal superior.

Tabla 58. Severidad y entropion nasal inferior.

Tabla 59. Severidad y euribléfaron.

Tabla 60. Severidad y triquiasis de la carúncula.

Tabla 61. Severidad e hipoplasia de iris.

Tabla 62. Severidad y PPMs.

Tabla 63. Severidad y test de Schirmer.

Tabla 64. Severidad y test de Ferning.

Tabla 65. Máxima severidad y tipos de test de Ferning.

Tabla 66. Severidad y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Tabla 67. Severidad y sensibilidad fina.

Tabla 68. Severidad y sensibilidad gruesa.

Tabla 69. Severidad y paquimetría.

Tabla 70. Acontecimientos durante los 6 meses del estudio.

Tabla 71. Test de Schirmer.

Tabla 72. Test de Ferning.

Tabla 73. Tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Tabla 74. Paquimetría ultrasónica.

Tabla 75. Casos de úlceras corneales.

Tabla 76. Tipos de úlceras corneales.

Tabla 77. Blefaroespasma.

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla 78. Hiperemia.

Tabla 79. Prurito.

Tabla 80. Edema corneal.

Tabla 81. Vasos corneales.

Tabla 82. Infiltrado inflamatorio.

Tabla 83. Pigmento en esclera.

Tabla 84. Descarga ocular.

Tabla 85. Línea transparente.

Tabla 86. Pigmento aclarado.

Tabla 87. Recuperación de transparencia.

ÍNDICE



1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	21
1.1. Introducción	21
1.2. Objetivos	22
1.2.1. Objetivo general	22
1.2.2. Objetivos específicos	22
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	25
2.1. La córnea.....	25
2.1.1. Epitelio	26
2.1.2. Estroma.....	26
2.1.3. Membrana de Descemet	26
2.1.4. Endotelio.....	27
2.2. El limbo.....	27
2.3. Reacciones corneales a la enfermedad.....	28
2.4. Clasificación de las patologías más frecuentes.....	28
2.4.1. Enfermedades corneales congénitas.....	28
2.4.1.1. Microcórnea	28
2.4.1.2. Megalocórnea	29
2.4.1.3. Dermoide.....	29
2.4.1.4. Opacidades corneales congénitas	29
2.4.1.5. Distrofia corneal infantil (distrofia corneal geográfica subepitelial congénita)	29
2.4.1.6. Membranas pupilares persistentes (PPMs)	30
2.4.1.7. Coloboma y estafilomas del limbo.....	30
2.4.2. Enfermedades corneales adquiridas	31
2.4.2.1. Queratopatías inflamatorias.....	31
2.4.2.1.1. Queratitis ulcerativas: según la causa.....	31
2.4.2.1.1.1. Queratitis bacterianas.....	31
2.4.2.1.1.2. Queratitis vírica.....	32
2.4.2.1.1.3. Queratitis micótica	32
2.4.2.1.1.4. Queratitis químicas	33
2.4.2.1.1.5. Queratomalacia	33
2.4.2.1.1.6. Secuestro corneal	34
2.4.2.1.2. Queratitis ulcerativa: según la profundidad	35
2.4.2.1.2.1. Úlceras corneales superficiales	35

2.4.2.1.2.2. Defectos espontáneos crónicos del epitelio corneal (SCCEDs) ..	35
2.4.2.1.2.3. Úlcera estromal	36
2.4.2.1.2.4. Descemetocele y perforación corneal	36
2.4.2.1.3. Queratitis no ulcerativas	37
2.4.2.1.3.1. Queratitis pigmentaria (PK).....	37
2.4.2.1.3.2. Queratitis superficial crónica (CSK) o pannus	37
2.4.2.1.3.3. Queratitis neurogénica	38
2.4.2.1.3.4. Absceso corneal	39
2.4.2.1.3.5. Queratitis por parásitos	39
2.4.2.1.3.6. Queratitis punteada superficial (SPK)	40
2.4.2.1.3.7. Queratoconjuntivitis seca (KCS)	40
2.4.2.1.3.8. Queratopatía bullosa (BK)	41
2.4.2.2. Queratopatías no inflamatorias.....	42
2.4.2.2.1. Opacidad corneal por depósito de cristales	42
2.4.2.2.1.1. Distrofia corneal	42
2.4.2.2.1.2. Queratopatía lipídica.....	43
2.4.2.2.1.3. Degeneración corneal	43
2.4.2.2.2. Opacidades no cristalinas	44
2.4.2.2.2.1. Distrofia endotelial corneal.....	44
2.4.2.2.2.2. Queratopatía de Florida	44
2.4.2.2.2.3. Depósitos y opacidades corneales farmacológicas	45
2.4.2.3. Masas y neoplasias corneoeslerales	46
2.4.2.3.1. Quiste de inclusión epitelial corneal	46
2.4.2.3.2. Carcinoma de células escamosas (SCC)	46
2.4.2.3.3. Papiloma.....	47
2.4.2.3.4. Linfosarcoma.....	47
2.4.2.3.5. Melanoma del limbo (LM)	47
2.4.2.3.6. Otras neoplasias.....	48
2.5. Queratitis pigmentaria.....	49
2.5.1. Definición	49
2.5.2. Tipos de pigmentación según el origen	51
2.5.3. Razas predispuestas	51
2.5.1. Prevalencia.....	52

2.5.2.	Signos clínicos	52
2.5.2.1.	Pigmentación corneal	52
2.5.2.2.	Vascularización corneal	54
2.5.2.3.	Infiltración de células inflamatorias	54
2.5.2.4.	Edema corneal	55
2.5.2.5.	Tejido de granulación	55
2.5.2.6.	Pérdida de visión	55
2.5.2.7.	Descarga ocular	56
2.5.3.	Clasificación	56
2.5.4.	Síndrome ocular braquiocefálico	57
2.5.5.	Factores predisponentes	58
2.5.6.	Posibles etiologías	60
2.5.7.	Diagnóstico	61
2.5.7.1.	Valoración de la película lagrimal	62
2.5.7.1.1.	Pruebas de producción de la lágrima	62
2.5.7.1.1.1.	Test de Schirmer (STT)	62
2.5.7.1.1.2.	Prueba del hilo rojo fenol (PRT)	63
2.5.7.1.2.	Pruebas de estabilidad de la lágrima	63
2.5.7.1.2.1.	Tiempo de ruptura de la película lagrimal o <i>Break-up Time</i> (BUT)	63
2.5.7.1.2.2.	Test de Ferning (TFT)	64
2.5.7.1.2.3.	Otras técnicas	65
2.5.7.2.	Test de fluoresceína	65
2.5.7.3.	Valoración del nervio facial, nervio trigémino y nervio abducente ..	66
2.5.7.3.1.	Reflejo palpebral	66
2.5.7.3.2.	Reflejo corneal-sensibilidad corneal	67
2.5.7.4.	Biomicroscopio con lámpara de hendidura	68
2.5.7.5.	Citología corneal	68
2.5.7.6.	Paquimetría	69
2.5.8.	Tratamientos	70
2.5.8.1.	Tratamientos quirúrgicos	70
2.5.8.2.	Tratamientos médicos	77
2.5.8.2.1.	Inmunosupresores y lacrimoestimulantes	77
2.5.8.2.1.1.	Ciclosporina (CsA)	78

ÍNDICE

2.5.8.2.1.2. Tacrolimus	81
2.5.8.2.1.3. Pimecrolimus	83
2.5.8.2.1.4. Sirolimus	84
2.5.8.2.1.5. Everolimus	86
2.5.8.2.1.6. Clasificación según los mecanismos de acción	87
2.5.8.2.2. Lacrimomiméticos (lágrimas artificiales)	89
2.5.8.2.3. Antibióticos	90
3. MATERIALES Y MÉTODOS	93
3.1. Generalidades.....	93
3.1.1. Aclaración de los términos utilizados.....	93
3.2. Encuesta epidemiológica	93
3.2.1. Procedimiento de toma de datos epidemiológicos	93
3.2.2. Modelo y datos de la encuesta.....	94
3.3. Estadística descriptiva de la población y muestras estudiadas en la primera fase	94
3.4. Exploración oftalmológica.....	98
3.4.1. Visualización directa y magnificación	98
3.4.1.1. Alteraciones palpebrales	99
3.4.1.2. Pigmentación corneal	99
3.4.1.3. Vasos corneales	100
3.4.1.4. Alteraciones del iris.....	100
3.4.2. Lágrima.....	101
3.4.3. Test de fluoresceína	103
3.4.4. Sensibilidad corneal.....	103
3.4.5. Paquimetría ultrasónica	104
3.5. Criterios de inclusión y exclusión para la segunda fase	105
3.6. Estadística descriptiva de la población y muestras estudiadas en la segunda fase	105
3.7. Información al propietario	112
3.8. Descripción de los tratamientos objeto de estudio.....	112
3.9. Revisiones	113
3.9.1. Signos clínicos	113
3.9.2. Indicadores de efectividad	114
3.9.3. Test fluoresceína.....	115

3.10.	Análisis estadístico de los resultados	116
4.	RESULTADOS	121
4.1.	PRIMERA FASE	121
4.1.1.	Resultados generales-factores predisponentes.....	121
4.1.1.1.	Prevalencia de la queratitis pigmentaria.....	121
4.1.1.2.	Severidad de la queratitis pigmentaria	122
4.1.1.3.	Enfermedades anteriores	122
4.1.1.3.1.	Enfermedades oculares.....	123
4.1.1.3.1.1.	Tratamientos anteriores.....	124
4.1.1.3.2.	Enfermedades sistémicas.....	125
4.1.1.4.	Pigmento en esclera.....	126
4.1.1.5.	Vasos corneales	126
4.1.1.6.	Alteraciones palpebrales	127
4.1.1.7.	Alteraciones del iris.....	129
4.1.1.8.	Lágrima	130
4.1.1.8.1.	Test de Schirmer.....	130
4.1.1.8.2.	Test de Ferning.....	131
4.1.1.8.3.	Tiempo de ruptura de la película lagrimal	132
4.1.1.9.	Sensibilidad corneal	133
4.1.1.10.	Paquimetría ultrasónica	135
4.1.2.	Relación de la presencia de queratitis pigmentaria con los factores predisponentes.....	136
4.1.2.1.	Edad.....	136
4.1.2.2.	Género	137
4.1.2.3.	Capa.....	138
4.1.2.4.	Enfermedades oculares.....	138
4.1.2.5.	Enfermedades sistémicas.....	139
4.1.2.6.	Vasos corneales	139
4.1.2.7.	Alteraciones palpebrales	140
4.1.2.8.	Alteraciones del iris.....	143
4.1.2.9.	Lágrima	145
4.1.2.9.1.	Test de Schirmer.....	145
4.1.2.9.2.	Test de Ferning.....	146
4.1.2.9.3.	Tiempo de ruptura de la película lagrimal	146

4.1.2.10.	Sensibilidad corneal	147
4.1.2.11.	Paquimetría ultrasónica	148
4.1.3.	Relación de la severidad de la queratitis pigmentaria con los factores predisponentes	150
4.1.3.1.	Edad.....	150
4.1.3.2.	Género	151
4.1.3.3.	Capa.....	152
4.1.3.4.	Enfermedades oculares.....	152
4.1.3.5.	Enfermedades sistémicas.....	153
4.1.3.6.	Vasos corneales	154
4.1.3.7.	Alteraciones palpebrales	155
4.1.3.8.	Alteraciones del iris.....	157
4.1.3.9.	Lágrima	158
4.1.3.9.1.	Test de Schirmer.....	158
4.1.3.9.2.	Test de Ferning.....	159
4.1.3.9.3.	Tiempo de ruptura de la película lagrimal	161
4.1.3.10.	Sensibilidad corneal	162
4.1.3.11.	Paquimetría ultrasónica	163
4.2.	SEGUNDA FASE.....	165
4.2.1.	Posibles efectos secundarios.....	165
4.2.2.	Parámetros medidos en las revisiones	166
4.2.2.1.	Lágrima	166
4.2.2.1.1.	Test de Schirmer.....	166
4.2.2.1.2.	Test de Ferning.....	168
4.2.2.1.3.	Tiempo de ruptura de la película lagrimal	169
4.2.2.1.	Paquimetría ultrasónica	170
4.2.2.2.	Test de fluoresceína.....	172
4.2.2.2.1.	Tipos de úlcera	173
4.2.2.3.	Signos clínicos.....	173
4.2.2.3.1.	Blefaroespasma	173
4.2.2.3.2.	Hiperemia	175
4.2.2.3.3.	Prurito.....	176
4.2.2.3.4.	Edema corneal	177
4.2.2.3.5.	Vasos corneales	178

4.2.2.3.6. Infiltrado inflamatorio	179
4.2.2.3.7. Pigmento en esclera.....	180
4.2.2.3.8. Descarga ocular	181
4.2.2.4. Indicadores de efectividad.....	182
4.2.2.4.1. Línea transparente	182
4.2.2.4.2. Pigmento aclarado	183
4.2.2.4.3. Recuperación de transparencia.....	184
5. DISCUSIÓN.....	189
5.1. PRIMERA FASE.....	189
5.1.1. Factores predisponentes.....	189
5.1.1.1. Prevalencia de la queratitis pigmentaria.....	189
5.1.1.2. Severidad de la queratitis pigmentaria	189
5.1.1.3. Edad.....	190
5.1.1.4. Enfermedades anteriores	191
5.1.1.4.1. Enfermedades oculares.....	191
5.1.1.4.2. Enfermedades sistémicas.....	192
5.1.1.5. Vasos corneales	192
5.1.1.6. Alteraciones palpebrales	194
5.1.1.7. Alteraciones del iris.....	195
5.1.1.8. Sensibilidad corneal	196
5.1.1.9. Lágrima	197
5.1.1.10. Paquimetría ultrasónica.....	200
5.1.1.11. Género	201
5.1.1.12. Capa.....	202
5.2. SEGUNDA FASE.....	203
5.2.1. Lágrima.....	205
5.2.2. Paquimetría ultrasónica	206
5.2.3. Signos clínicos.....	207
5.2.3.1. Blefaroespasma	208
5.2.3.2. Hiperemia	208
5.2.3.3. Prurito.....	208
5.2.3.4. Edema corneal	209
5.2.3.5. Vasos corneales	209

ÍNDICE

5.2.3.6.	Infiltrado inflamatorio	210
5.2.3.7.	Pigmento en esclera.....	210
5.2.3.8.	Descarga ocular	210
5.2.4.	Indicadores de efectividad	211
5.2.4.1.	Línea transparente	211
5.2.4.2.	Pigmento aclarado	211
5.2.4.3.	Recuperación de transparencia.....	211
5.2.5.	Precauciones	212
6.	CONCLUSIONES	215
7.	RESUMEN.....	221
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	225
9.	ANEXOS.....	243

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS



1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1. Introducción

La córnea forma la parte frontal de la túnica fibrosa externa del ojo, además es la superficie refractiva de mayor potencia óptica. Esta propiedad depende de que se mantenga transparente, avascular y con la curvatura adecuada; es por ello que, cualquier daño que produzca cambios en su conformación, pueden afectar la capacidad visual del animal.

Las enfermedades de la córnea se pueden clasificar en inflamatorias y no inflamatorias. La inflamación crónica de la córnea puede provocar un acúmulo de pigmento (Ledbetter *et al.* 2013). Esta pigmentación corneal la podemos observar en trastornos inmunológicos como la queratitis superficial crónica o pannus pigmentario, en la queratoconjuntivitis seca, la queratitis ulcerativa crónica y en el síndrome de queratitis pigmentaria en razas braquiocefálicas (Gelatt, 2014).

La queratitis pigmentaria (PK) es una patología en la que el pigmento invade la córnea. Suele comenzar en la córnea nasal y después progresa sobre la superficie ocular, lo cual puede evolucionar a pérdida de visión. Aunque puede ser una respuesta inespecífica a la queratitis crónica en cualquier raza canina; algunas razas braquiocefálicas como el Pug (en español Doguillo, según la Federación Cinológica internacional), el Shih Tzu, el Lhasa Apso, el Pekinés y el Boston Terrier son propensas a una marcada y rápida pigmentación corneal.

En perros de raza Pug se ha descrito una prevalencia muy alta de la presencia de PK (Labelle *et al.* 2013; Krecny *et al.* 2015, Vallone *et al.* 2016); sin embargo, a pesar de estos estudios recientes, esta patología no está bien entendida en cuanto a su fisiopatología, se desconoce su etiología exacta, por ser compleja y multifactorial y con respecto al tratamiento tampoco está bien definido.

El presente estudio se justifica por la importancia clínica de la misma, ya que la córnea es una de las estructuras más importantes para la visión y sus respuestas patológicas generalmente se asocian a una pérdida de su transparencia (Gelatt, 2003) y, por consiguiente, de visión, tal y como ocurre en el síndrome de queratitis pigmentaria en razas braquiocefálicas.

Las razas braquiocefálicas tienen predisposición a presentar patologías corneales motivado por la exposición corneal crónica, y causada por una órbita aplanada y poco profunda, alteraciones cuantitativas y cualitativas de la película lagrimal, sensibilidad corneal disminuida y por irritaciones por fricción producidas por alteraciones palpebrales. Además, al ser de las razas más populares actualmente en Canarias, el número de individuos que pueden ser objeto de estudio, ha facilitado la realización del presente trabajo.

Dentro de estas razas braquiocefálicas hemos elegido el Pug porque se ha descrito una alta prevalencia de la patología en otras partes del mundo y porque se conjetura que podría ser una entidad nosológica distinta la que afecta a esta raza en concreto (Labelle *et al.* 2013).

Para completar el presente estudio, se exploraron perros de raza Pug en el Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC para determinar si padecían o no esta patología. Se estudiaron sus factores predisponentes, si estos influyen o no en la presencia de la patología y en su severidad. De forma paralela se evaluó la eficacia y seguridad de dos tratamientos inmunosupresores tópicos tacrolimus y sirolimus.

1.2. Objetivos

Atendiendo a las consideraciones expuestas, los objetivos planteados en la presente tesis doctoral fueron los siguientes:

1.2.1. Objetivo general

Estudiar la queratitis pigmentaria para llegar a entender más su fisiopatología, etiología y posibles tratamientos médicos a aplicar.

Para ello se concretaron los siguientes

1.2.2. Objetivos específicos

1. Describir la prevalencia de la queratitis pigmentaria en perros de raza Pug en nuestro entorno.
2. Evaluar los posibles factores predisponentes y su relación con la presencia y severidad de la queratitis pigmentaria en perros de raza Pug.
3. Estudio individualizado de la eficacia y seguridad de dos tratamientos inmunosupresores tópicos con distintas vías de actuación: el tacrolimus, inhibidor de la calcineurina y el sirolimus, inhibidor de mTOR, en el tratamiento de la PK en perros de raza Pug.
4. Estudio comparativo de la eficacia y seguridad del tacrolimus y sirolimus en el tratamiento de la PK en perros de raza Pug.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. La córnea

La túnica fibrosa del ojo canino está constituida por la esclerótica y la córnea. El limbo es la región de transición entre estas dos estructuras (Gelatt, 2014). La córnea es la parte transparente de la túnica fibrosa del globo ocular tiene forma elíptica y un diámetro horizontal mayor que la vertical (Maggs, 2009). Las funciones de la córnea incluyen el soporte de los contenidos intraoculares, la refracción y la transmisión de la luz. Se nutre tanto del humor acuoso como de la lágrima. El grosor de la córnea varía de una especie a otra, de una raza a otra y de un individuo a otro. En el perro, tiene un espesor de 0,45-0,55 mm en el centro y de 0,50-0,65 mm de espesor en la periferia. El grosor medio aumenta significativamente con la edad (Samuelson, 2013).

La inervación corneal procede de las fibras del nervio ciliar largo que deriva de la rama oftálmica del nervio trigémino, las terminaciones nerviosas penetran en la córnea a nivel del estroma y se dirigen hacia el epitelio donde terminan en forma de plexo.

Los factores anatómicos que contribuyen a esta transparencia son:

1. Ausencia de vasos sanguíneos.
2. Epitelio superficial no queratinizado.
3. Ausencia de pigmentación.
4. Tamaño y organización de las fibrillas del colágeno estromal.
5. Mantenimiento de un estado relativamente deshidratado.
6. Superficie óptica lisa proporcionada por la película lagrimal.

Desde el exterior y hacia el interior, las capas corneales son: el epitelio y su membrana basal, el estroma, la membrana de Descemet (membrana basal del endotelio) y el endotelio (Slatter, 1992; Maggs, 2013).

La capa de Bowman no se observa en la mayoría de los animales como se describe en los primates, esta capa no se detectó usando la reacción de ácido peryódico de Schiff y en general existe un desacuerdo sobre la existencia de la misma en los animales domésticos (Nautscher *et al.* 2016).

2.1.1. Epitelio

El epitelio corneal cubre la superficie corneal anterior, es un epitelio estratificado escamoso no queratinizado. Con un espesor aproximadamente de 25-40 μm en los carnívoros domésticos (Samuelson, 2013). Desde su zona más profunda a la más superficial se compone de la membrana basal, las células basales epiteliales, las células aladas y las células escamosas superficiales (Maggs, 2009). Las células basales se unen firmemente a la lámina basal de la membrana basal por hemidesmosomas, anclaje de fibrillas de colágeno y la glicoproteína laminina. A medida que las células basales se dividen se desplazan a la superficie, aplanándose y transformándose en células aladas que gradualmente pierden muchas de sus organelas.

Las células escamosas superficiales poseen pequeñas proyecciones vellosas que aseguran la capa mucoide profunda de la película lagrimal precorneal.

La mayor población de células madre epiteliales corneales se encuentran en el limbo corneoescleral, sufren mitosis de modo continuo y emigran centrípetamente. Por lo tanto, la regeneración y maduración de las células epiteliales corneales ocurren simultáneamente de periféricas a axiales y de profundas a superficiales (Slatter, 1992).

2.1.2. Estroma

El estroma corneal (sustancia propia) consta principalmente de fibrillas de colágeno, queratocitos, nervios y glicosaminoglicanos, constituye el 90% del espesor corneal (Maggs, 2009; Samuelson, 2013). Las fibrillas de colágeno paralelas forman hojas entrelazadas o laminillas, con ocasionales linfocitos, macrófagos y neutrófilos diseminados. El espacio regular de las fibrillas de colágeno estromal mantiene la transparencia corneal y diferencia el estroma corneal del colágeno del tejido cicatricial y de la esclera. Los queratocitos son capaces de sintetizar colágeno, glucosaminoglicanos y la mucoproteína de la sustancia propia (Slatter, 1992).

2.1.3. Membrana de Descemet

La membrana de Descemet es una membrana acelular homogénea que forma un límite protector interno dentro de la córnea (Samuelson, 2013). Se localiza entre el estroma posterior y el endotelio. En realidad, es la membrana basal del endotelio, se produce y regenera por las células endoteliales a lo largo de toda la vida, formando así una membrana más gruesa a medida que el animal envejece (Gelatt, 2014). Es muy elástica, pero puede romperse si el globo sufre estiramiento o lesiones penetrantes, si se

corta o se rompe, tiende a enrollarse por los bordes. Esta membrana se extiende hasta el ápice de la malla trabecular de la región limbal y en cierto modo, su composición es similar a las trabéculas del ángulo iridocorneal. Esta membrana basal contiene una serie de tipos de colágeno (I, III, IV, V, VI, VIII), laminina, fibronectina y heparán-sulfato (Slatter, 1992).

2.1.4. Endotelio

Es una capa monocelular de células hexagonales que recubren la córnea interna, su función es bombear los iones desde el estroma hacia el humor acuoso lo que provoca un movimiento de agua que asegura que el estroma corneal permanezca relativamente deshidratado jugando un papel importante en su transparencia (Maggs, 2009).

Existe cierta controversia con respecto a la capacidad regenerativa del endotelio, y, de hecho, puede variar con la especie y la edad. En general, la mitosis activa se produce principalmente en los animales jóvenes. En éstos, la densidad endotelial es aproximadamente 3600 células/mm² en perros de menos de 1 año de edad (Kafarnik *et al.* 2007; Samuelson, 2013). A medida que los animales envejecen, la densidad puede disminuir gradualmente hasta el 50% o menos. Por lo tanto, una disminución produce cambios en el grosor corneal general.

La descompensación corneal y la incapacidad de eliminar agua del estroma tiene lugar cuando la densidad de las células endoteliales disminuye entre 500-800 células/mm² (Maggs, 2009).

2.2. El limbo

El limbo es la zona de transición que existe entre la córnea y la esclera, la anatomía de esta área es muy poco conocida en medicina veterinaria (Patruno *et al.* 2017). En cambio, en medicina humana se conoce que existen células madres limbares cruciales en el mantenimiento normal del epitelio corneal y en la cicatrización de las heridas (Tseng, 1989).

Estas células poseen una alta actividad mitótica con capacidad de división celular asimétrica, ya que unas células se destinan a regenerar la reserva de células madres, mientras que otras, se diferencian hacia una célula amplificadora transitoria destinada a regenerar el epitelio corneal (Schermer *et al.* 1986).

El agotamiento parcial o completo de estas células madre dará lugar a erosiones corneales recurrentes, dolor, cicatrización de la córnea, neovascularización y a la aparición de las células caliciformes.

2.3. Reacciones corneales a la enfermedad

La mayoría de las lesiones corneales con impacto clínico manifiestan una de las siguientes reacciones principales:

- 1-Edema.
- 2- Vascularización.
- 3- Fibrosis corneal.
- 4- Pigmentación.
- 5- Infiltrado celular.
- 6- Acumulación de sustancias anormales en el interior de la córnea (lípidos y minerales).
- 7- Malacia estromal.

2.4. Clasificación de las patologías más frecuentes

2.4.1. Enfermedades corneales congénitas.

2.4.1.1. Microcórnea

El tamaño normal de la córnea es aproximadamente 16-18 mm de diámetro. En la microcórnea el diámetro horizontal es menor de 12 mm, en un globo ocular de tamaño normal, suele presentarse de forma unilateral (Maggs, 2009), es una característica de la disgenesia ocular de Merle (Douglas, 2015; Bauer *et al.* 2015). Las razas predispuestas son el Pastor Australiano, el Teckel, los Collie, el Caniche, el Schnauzer miniatura, el Pastor Inglés y el San Bernardo (Gelatt, 2014). También puede ocurrir en perros con el síndrome Ehlers-Danlos, trastorno sistémico del tejido conectivo.

Puede estar asociada con goniodisgenesia y membranas pupilares persistentes (PPMs) (Ledbetter *et al.* 2013).

2.4.1.2. Megalocórnea

En la megalocórnea la córnea es de mayor tamaño que 16-18 mm de diámetro. Es una anomalía poco frecuente en el perro y se asocia con glaucoma congénito, buftalmia o megaloftalmía (Gelatt, 2014).

2.4.1.3. Dermoide

Es una formación cutánea histológicamente normal en una localización anómala (Balland *et al.* 2015), se le llama también coristoma. Pueden contener epitelio queratinizado, vello, vasos sanguíneos, tejido fibroso, grasa, nervios, glándulas, músculo liso y cartílago (Ledbetter *et al.* 2013). Ocurren más comúnmente en el limbo temporal y pueden incluir los párpados, la conjuntiva, la esclerótica, la córnea o una combinación de estas estructuras (Kalpravidh *et al.* 2009). Raramente pueden estar situados en la córnea central en perros. Las razas predispuestas son el Teckel, el Doberman, el Golden Retriever, el Pastor Alemán, el Bulldog Francés, el Dálmata y el San Bernardo. En esta última, la presencia de un dermoide se cree que se asocia con otras anomalías del desarrollo, tales como colobomas en los párpados (Brudenall *et al.* 2007).

2.4.1.4. Opacidades corneales congénitas

Las opacidades corneales se clasifican comúnmente por el grado de opacidad y se describen como:

- Nubécula: es una opacidad difusa, con bordes indistintos.
- Mácula: es una opacidad moderadamente densa con un borde circunscrito.
- Leucoma: es una opacidad densa y blanca.

Cuando el tejido del iris se adhiere a la superficie posterior de la córnea debajo de un área de opacidad corneal, la condición se describe como un leucoma adherente (Maggs, 2009; Gelatt, 2014).

2.4.1.5. Distrofia corneal infantil (distrofia corneal geográfica subepitelial congénita)

También llamada queratopatía del cachorro, es un cuadro transitorio que se observa como una opacidad corneal superficial, difusa, en mosaico o geográficas (Maggs, 2009) en la fisura interpalpebral de cachorros menores de 10 semanas. Es congénita pero no hereditaria. Ocurre en muchos cachorros de razas de perros, pero es más común en el Bichon de pelo rizado, los Collie, el Springer Spaniel Inglés, el Caniche miniatura, el

Pastor de Shetland y el Yorkshire Terrier (Gilger *et al.* 2007). La enfermedad se resuelve lentamente, en la mayoría de los casos a las 12-16 semanas de edad. No hay interferencia con la visión y es indolora, por lo que no es necesario el tratamiento (Ledbetter *et al.* 2013).

2.4.1.6. Membranas pupilares persistentes (PPMs)

Se tratan de una regresión incompleta de la vascularización perilenticular (membranas pupilares y membranas de la túnica vasculosa lentis) durante el desarrollo embriológico o postnatal inmediato. Los filamentos de tejido pupilar persistentes surgen del collarete del iris y por lo general, no interfieren con la visión, a menos que sean extensas. Pueden extenderse desde una sección de iris a otra, sin producir ninguna alteración; desde el iris hasta la córnea y producir un leucoma adherente o desde el iris hasta la cápsula anterior del cristalino, lo que provoca la formación de una catarata cortical anterior (Gelatt, 2003). Los perros con PPMs heredadas no deben ser criados (Grahn *et al.* 2004; Maggs, 2009).

El diagnóstico diferencial incluye atrofia de iris y sinequias anteriores o posteriores. La atrofia del iris se diferencia de las PPMs por la apariencia, la historia y la edad del paciente, ya que ésta es una condición adquirida. La edad de inicio suele ser de mediana edad, las hebras con atrofia no se unen al endotelio corneal o la cápsula del cristalino. Las sinequias anterior y posterior se diferencian de las PPMs por su aspecto e implican mayores secciones de iris, generalmente son secuelas comunes de uveítis (Grahn *et al.* 2004).

2.4.1.7. Coloboma y estafilomas del limbo

El coloboma es una ausencia de tejido que normalmente está presente. Puede afectar a los párpados, la conjuntiva, la córnea, la esclerótica, la úvea, la retina y/o al nervio óptico (Grahn *et al.* 2013).

Un estafiloma es una alteración en el que protruye el tejido uveal a través de la córnea o la esclera (Gelatt, 2003) por tanto son lesiones que se caracterizan por un adelgazamiento (ectasia) de la túnica fibrosa del globo, revestidas por el tejido uveal y aparecen como una masa elevada, gris o azul cubierta por conjuntiva, que pueden producir estrabismo y son poco frecuentes en el perro. Puede ser congénitos o adquiridos (secundarios a inflamación, a glaucoma, a neoplasia, a traumatismo o a cirugía) (Ledbetter *et al.* 2013). Los congénitos, no inflamatorios y los estafilomas del limbo o

esclerótica ocurren más frecuentemente en la raza Teckel miniatura y con la anomalía del ojo de Collie y, en otras razas con múltiples anomalías oculares (Gelatt, 2014).

2.4.2. Enfermedades corneales adquiridas

Las enfermedades corneales se clasifican en inflamatorias y no inflamatorias. Los trastornos inflamatorios se clasifican en queratitis ulcerativa y no ulcerativa.

2.4.2.1. Queratopatías inflamatorias

2.4.2.1.1. Queratitis ulcerativas: según la causa

Las causas comunes de la queratitis ulcerosa incluyen infecciones bacterianas, virales y fúngicas, e infrecuentemente quemaduras químicas.

2.4.2.1.1.1. Queratitis bacterianas

Las úlceras corneales suelen ser de origen traumático sin embargo las infecciones bacterianas oportunistas son comunes (Gilger *et al.* 2007). La córnea canina es muy resistente a la infección bacteriana, pero si las defensas anatómicas y fisiológicas de la córnea están comprometidas puede ocurrir una invasión. La queratitis bacteriana es el tipo más común de infección corneal encontrada en el perro, la mayoría de las bacterias que se originan en las superficies conjuntivales son: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. y *Pseudomonas aeruginosa*, aunque también participan otras bacterias Gram-positivas y bacterias aerobias Gram-negativas.

Los pasos fisiopatológicos básicos son:

- 1- Adherencia bacteriana a la superficie corneal dañada.
- 2- Invasión bacteriana del epitelio corneal y estroma subyacente.
- 3- Multiplicación bacteriana.
- 4- Elaboración de exotoxinas bacterianas, endotoxinas y proteasas.
- 5- Entrada de leucocitos y mediadores inflamatorios solubles con daño tisular adicional.

La pérdida del estroma y la profundización de la úlcera es a menudo rápida y atribuible a las toxinas y a las proteasas (Gelatt, 2014).

2.4.2.1.1.2. Queratitis vírica

El herpesvirus canino-1 (CHV-1) es un herpesvirus alfa con una gama de huéspedes restringidos a los cánidos, ha sido reconocida recientemente como una causa de queratitis ulcerativa o no ulcerativa en perros de todas las edades. Puede producir úlceras corneales puntiformes, dendríticas o geográficas. Suelen permanecer superficiales a menos que se compliquen con una infección bacteriana secundaria (Gelatt, 2014). Después de la resolución de la queratitis, los perros siguen en riesgo de episodios recurrentes de infección asociados con la reactivación de CHV-1 latente. Se pueden observar durante una variedad de situaciones y en asociación con diferentes estímulos virales de reactivación, incluyendo la administración de productos farmacéuticos inmunosupresores (Ledbetter, 2013).

2.4.2.1.1.3. Queratitis micótica

La queratitis micótica se considera rara en el perro, pero son cada vez más los casos que se informa en la literatura. Los hongos de la especie *Aspergillus* spp. son los que se aíslan con más frecuencia. Otros incluyen: *Acremonium*, *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Alternaria*, *Scedosporium*, *Pseudoallescheria*, *Curvularia*, *Hormographiella aspergillata*, *Penicillium*, *Phialemonium*, *Chrysosporium* y *Cladosporium*. Se puede presentar como lesiones ulcerativas o no, aunque son generalmente de naturaleza ulcerativa, se cree que ocurre cuando los hongos ambientales de la superficie ocular se adhieren al estroma corneal expuesto después de la pérdida del epitelio corneal o por inoculación de hongos a través de un cuerpo extraño vegetal (Gelatt, 2014, Nevile *et al.* 2016b.).

2.4.2.1.1.4. Queratitis químicas

Las quemaduras químicas en la córnea no son muy frecuentes en el perro. Existen dos tipos generales de quemaduras químicas: ácidas y alcalinas.

-Quemaduras ácidas: los productos químicos ácidos que pueden producir quemaduras en la córnea incluyen el ácido sulfúrico, el ácido sulfuroso, el ácido clorhídrico, el ácido nítrico, el ácido acético, el ácido crómico y el ácido fluorhídrico. Las baterías de automóviles, que contienen ácido sulfúrico, son la causa más común de quemaduras ácidas en los seres humanos (Gelatt, 2014).

-Quemaduras alcalinas: son más comunes en los perros que las ácidas y tienden a ser más severas. Los productos químicos alcalinos incluyen el hidróxido de amonio, el hidróxido de potasio, el hidróxido de sodio, el hidróxido de calcio y el hidróxido de magnesio (Gelatt, 2014).

Los síntomas de las quemaduras químicas son dolor ocular, ulceración de la córnea, déficit lagrimal, edema y neovascularización corneal marcada (Christmas, 1991). Las complicaciones a largo plazo incluyen la ptisis bulbi, cicatrices en los párpados, daño de las glándulas de Meibomio, la formación de simbléfaron, conjuntivalización de la córnea, vascularización, pigmentación y fibrosis corneal. El pronóstico para la visión es reservado (Busse *et al.* 2015).

2.4.2.1.1.5. Queratomalacia

La queratomalacia o úlcera *melting* es una condición grave que presenta un alto riesgo de pérdida de visión permanente y se produce por factores infecciosos o no infecciosos. No son un grupo específico, sino una complicación de las úlceras corneales, que se produce con relativa frecuencia, especialmente en las razas predispuestas como las braquiocefálicas. Es producida por la liberación de enzimas colagenolíticas endógenas y exógenas y un desequilibrio entre estas enzimas proteolíticas y los inhibidores de proteasa, presentes en la córnea y la película lagrimal precorneal. Esta liberación de colagenasas puede ser causada por enfermedades primarias de la superficie ocular (baja sensibilidad corneal, deficiencias de la película lagrimal, queratitis por exposición,

traumatismos, anomalías palpebrales, etc.), medicamentos tópicos, enfermedades sistémicas inmunomediadas e infecciones secundarias de la córnea, bacterianas o fúngicas. Hay pocos patógenos de la córnea que están asociados con infecciones corneales primarias, ocurre normalmente debido a infecciones secundarias. Generalmente se sospecha de las infecciones microbianas como responsables de conducir al estado inflamatorio que produce la úlcera *melting*, pero no siempre se puede demostrar.

Con la queratomalacia, el estroma de la córnea asume un aspecto gelatinoso y puede desplazarse anteriormente de sus límites anatómicos normales. Si no se controla, puede conducir a la completa desintegración estructural de la córnea, perforación y pérdida del ojo (Pot *et al.* 2014; Famose, 2014).

2.4.2.1.1.6. Secuestro corneal

Es una patología que ocurre más frecuentemente en la especie felina, aunque ha sido descrita en el caballo y en el perro. Se trata de una placa o depósito de color marrón-negro en el estroma que se sitúa central o paracentral. Las lesiones suelen ser dolorosas y cursan con epífora y blefaroespasmos. A menudo se acompañan de vascularización, edema e infiltración estromal por leucocitos debido a la reacción de cuerpo extraño estimulada por el tejido necrótico (Maggs, 2009). En los perros, los hongos dematiáceos pueden infectar la córnea y causar una lesión negra centralizada con edema y vascularización, que se asemeja clínicamente a un secuestro corneal, pero se diferencia fácilmente en el estudio histológico. Dubin *et al.* (2013) describieron un caso de secuestro corneal canino e histopatológicamente parece ser similar al felino: “*Una placa superficial compuesta de colágeno desnaturalizado con evidencia de apoptosis de queratocitos no inflamatorios, queratitis activa crónica subyacente, neovascularización y fibrosis*”.

En cambio, Gelatt (2014) describe que las lesiones corneales corresponden histopatológicamente con una capa acelular de estroma corneal rodeada de vascularización y leucocitos sin presencia de melanina.

2.4.2.1.2. Queratitis ulcerativa: según la profundidad

2.4.2.1.2.1. Úlceras corneales superficiales

Son úlceras corneales simples no complicadas que, con un tratamiento adecuado, localización y eliminación de la causa primaria, curan en un periodo de tiempo entre 2 y 6 días.

Suelen ser secundarias a un traumatismo leve, a alteraciones anatómicas o a alteraciones de la película lagrimal.

Si no curan, deberían ser revaluadas por si existiera algún factor subyacente no detectado o factor contribuyente (Gelatt, 2003).

2.4.2.1.2.2. Defectos espontáneos crónicos del epitelio corneal (SCCEDs)

Los SCCEDs son ulceraciones superficiales que no afectan al estroma corneal y se asocian característicamente con un borde epitelial no adherente circundante (Wooff *et al.* 2015). Se usan una variedad de términos para describir esta entidad: úlcera del Boxer, úlcera tórpida, úlcera recurrente, úlcera corneal refractaria, úlcera corneal idiopática y úlcera persistente (Gelatt, 2014). Aunque originalmente se conoce como úlcera de Boxer debido a una predisposición en los perros de raza Boxer, se encuentran en perros de mediana edad de una amplia variedad de razas presentando además diferentes grados de blefaroespasmó (Spertus *et al.* 2017). El inicio de un SCCED en perros es probablemente un traumatismo superficial de la córnea que, sin un tratamiento adecuado, puede persistir durante meses. La fisiopatología no está completamente entendida, sin embargo, se describen varias anomalías morfológicas y funcionales en perros con esta afección. Las características histopatológicas incluyen un epitelio no adherido, displásico adyacente a la región ulcerada, pérdida de la membrana basal epitelial, la presencia de una zona acelular hialina (HAZ) en el estroma superficial y un plexo nervioso anormal en el estroma anterior que rodea a la erosión (Gosling *et al.* 2013). La HAZ podría ser responsable de la defectuosa adherencia del epitelio corneal en los SCCEDs, es posible que la eliminación o una reducción de su espesor pueden ser responsables de la mejora de las tasas de cicatrización de la córnea descritos con desbridamiento en fresa de diamante (DBD) (Dawson *et al.* 2017).

2.4.2.1.2.3. Úlcera estromal

La queratitis ulcerosa que se extiende al estroma corneal suele implicar una infección microbiana secundaria que inicia la destrucción estromal. Menos comúnmente, las lesiones traumáticas pueden dar lugar a una herida que se extienda en el estroma más profundo. Generalmente, cualquier defecto visible en la superficie corneal sugiere una afectación estromal, ya que la mayoría de las úlceras que afectan sólo al epitelio no son fácilmente visibles (excepto, posiblemente en los SCCEDs) y requieren tinción con fluoresceína para el diagnóstico definitivo. En cualquier úlcera con un defecto estromal sospechoso se debe realizar un examen citológico y un cultivo para determinar la etiología subyacente, debido a la alta probabilidad de una infección microbiana, antes de la instilación de fluoresceína y de otras sustancias tópicas. Las úlceras estromales pueden dividirse en dos tipos progresivas y no progresivas. Las úlceras no progresivas se pueden manejar con tratamiento médico, similar a las úlceras superficiales, dirigido por los resultados de la citología y del cultivo. En cambio, las úlceras progresivas del estroma profundo en el perro son potencialmente amenazadoras para la visión y el globo ocular, y la terapia debe ser agresiva, tanto médica como quirúrgica (Gelatt, 2003, 2014).

2.4.2.1.2.4. Descemetocele y perforación corneal

Es una lesión corneal profunda con exposición de la membrana de Descemet, en la que el epitelio corneal y el estroma están completamente destruidos, puede desarrollarse a partir de la progresión de úlceras corneales profundas o de un traumatismo. En este tipo de lesión las paredes de la úlcera (estroma) serán positivas a la fluoresceína, pero la base (membrana de Descemet) no absorberá la tinción, formando un anillo característico o “*donut*”. La membrana de Descemet es una membrana dura y elástica con sólo 3-12 μm de espesor y por lo tanto se rompe fácilmente. Cuando se rompe se produce una lesión de espesor completo, se pierde humor acuoso y puede producirse un prolapso del iris por perforación corneal. Debido a la naturaleza frágil de los descemetoceles, así como la posible perforación e infección, se consideran una urgencia ocular y requieren tratamiento quirúrgico inmediato (Crispin, 2002; Gelatt, 2003; Maggs, 2013).

2.4.2.1.3. Queratitis no ulcerativas**2.4.2.1.3.1. Queratitis pigmentaria (PK)**

Se desarrolla secundariamente a la irritación corneal crónica en el perro. La pigmentación corneal puede ser una respuesta inespecífica a la queratitis crónica en cualquier raza canina, pero en las razas braquiocefálicas, por ejemplo, el Pug, el Shih Tzu, el Lhasa Apso, el Pekinés y el Boston Terrier parecen propensas a una marcada y rápida pigmentación corneal. El término queratitis pigmentaria se utiliza a menudo para describir específicamente este síndrome clínico en perros braquiocefálicos. La pigmentación corneal focal comienza a menudo en la córnea nasal y progresa sobre la superficie ocular.

La pigmentación se asocia frecuentemente con una queratitis crónica y vascularización corneal.

La queratitis pigmentaria es a menudo una condición multifactorial. Las causas más comunes incluyen una irritación crónica producida por: distiquiasis, distiquiasis, triquiasis del pliegue nasal, entropion, ectropion, queratoconjuntivitis seca y/o exposición crónica resultante de la fisura macropalpebral (Gelatt, 2014).

2.4.2.1.3.2. Queratitis superficial crónica (CSK) o pannus

La CSK es una inflamación inmunomediada de la córnea, generalmente bilateral, pero a menudo con manifestación no simétrica y progresiva.

Otros términos empleados son el pannus del Pastor Alemán, el síndrome de Überreiter y el pannus degenerativo. Al principio de la enfermedad, la vascularización y la pigmentación ocurren en la córnea temporal, pero a medida que la enfermedad progresa, se propaga como una lesión carnosa y bien vascularizada hacia la córnea central. Además, como ocurre con muchas enfermedades corneales que implican vascularización superficial, se produce una invasión de pigmento melanocítico limbal.

Algunos perros con CSK también desarrollan engrosamiento y pigmentación concurrentes de la superficie palpebral de la membrana nictitante llamado plasmoma. Aunque se observa predilección por las razas de cruces de Pastores y Galgos (como los Pastores Alemanes y los Greyhound) puede ocurrir en cualquier raza canina.

Se han discutido otras causas etiológicas a parte de la inmunomediada, la córnea posee antígenos tisulares específicos que pueden modificarse por factores externos, como la radiación ultravioleta (UV), lo que produce una inflamación mediada por células. Una sobreexpresión de las metaloproteinasas de matriz en la córnea de los perros afectados inducidos por la exposición UV puede estar relacionado con los cambios en la córnea. Hasta la fecha, tampoco se ha demostrado la presencia de una enfermedad infecciosa subyacente en la CSK. Por otro lado, tanto la incidencia como la gravedad de la patología aumentan a mayores altitudes (> 4000 pies). Los perros que viven en lugares poco elevados con CSK tienden a responder más favorablemente y con una terapia tópica menos intensiva que los animales que viven en elevaciones más altas. La edad de inicio y la raza del animal afectado son de valor pronóstico en esta condición. En los Pastores Alemanes afectados a una edad bastante joven (es decir, 1-4 años), la afección suele ser progresiva y severa. Sin embargo, en aquellos animales afectados por primera vez en la vida ente los 4 y 6 años, las lesiones parecen ser menos severas y progresan más lentamente. El Greyhound se afecta en edades más jóvenes, generalmente menos de 2 o 3 años, pero exhibe lesiones relativamente leves.

No se ha determinado un tratamiento estándar para CSK y no existe una cura. El retraso de la progresión se considera un éxito terapéutico. En los casos leves esto se puede conseguir mediante la aplicación tópica de corticosteroides solos o en combinación con ciclosporina A. En los casos que no responden positivamente a inmunosupresores tópicos se ha descrito técnicas más invasivas como la queratectomía superficial, la radioterapia o la criocirugía (Gelatt, 2003; Maggs, 2009; Denk *et al.* 2011; Drahovska *et al.* 2014).

2.4.2.1.3.3. Queratitis neurogénica

Es un término general que engloba, por un lado, a la queratitis neurotrófica, debido a la pérdida de inervación sensorial de la córnea asociada con lesiones del nervio trigémino y, por otro lado, a la queratitis neuroparalítica, que resulta de la falta de inervación motora, lesiones del nervio facial, del músculo *orbicularis oculi* de los párpados con parálisis facial. También puede existir atrofia asociada de los músculos masticadores y enoftalmia. Existe una variedad de etiologías en el perro, incluyendo el traumatismo orbital, secuelas de proptosis (Spiess *et al.* 2013) o el síndrome del seno cavernoso. La queratitis neuroparalítica producida por la pérdida del movimiento del párpado a menudo resulta en una queratitis ulcerativa severa de exposición y una posible

pérdida de la visión. En las etapas iniciales de estas enfermedades, se produce degeneración del epitelio corneal y edema estromal. Las lesiones más avanzadas consisten en la desecación y en la opacificación corneal debidas a la vascularización y a la melanosis (Maggs, 2009; Ledbetter *et al.* 2013).

2.4.2.1.3.4. Absceso corneal

Es una acumulación de restos de células inflamatorias en el estroma superficial o profundo. Los ojos afectados son intensamente dolorosos y tienen una opacidad estromal corneal elevada de color amarilla-blanca, esta alteración parece ser menos común en el perro que en el caballo. Se proponen varias causas, una infecciosa, donde las bacterias y los hongos entran al estroma por pequeñas heridas corneales y luego el epitelio cura rápidamente sobre esta lesión, dejando a los organismos secuestrados en la córnea, pudiendo replicarse y provocar una respuesta inflamatoria. Y otra causa presumiblemente estéril, porque tras hacer cultivo, citología o examen histológico no se ha encontrado ningún agente infeccioso, aunque no está claro, en este caso el absceso se define como estéril y se propone una causa traumática o inmunomediada (Maggs 2013; Gelatt, 2014).

2.4.2.1.3.5. Queratitis por parásitos

Se ha encontrado como causas de lesiones corneales a numerosos parásitos:

-Las lesiones corneales asociadas con leishmaniosis se distribuyen comúnmente adyacentes al limbo e incluyen edema corneal localizado, infiltrados de leucocitos, vascularización y nódulos corneales elevados. La inflamación histopatológica, granulomatosa o linfoplasmocitaria con organismos de *leishmania* spp. se detecta en la córnea de perros infectados. Se ha intentado demostrar la asociación de *leishmania* spp. y *Acanthamoeba* spp. (Karakuş *et al.* 2016).

-*Onchocerca* spp. Son nematodos filarios que producen con mayor frecuencia inflamación periorbitaria o nódulos subconjuntivales en perros, pero también puede estar asociada con queratitis concurrente, vascularización corneal, tejido de granulación estromal, edema corneal, úlceras epiteliales y granulomas límbicos. Se ha extraído *Onchocerca* spp. madura viable de la córnea canina quirúrgicamente (Gelatt, 2014).

-La queratitis por *Toxoplasma gondii* se describió en un perro con queratoconjuntivitis seca y queratitis pigmentaria que presentaba una masa corneal vascular rosa y elevada. (Swinger *et al.* 2009).

-*Thelazia callipaeda* ha sido documentado como agente infeccioso ocular, en varios países europeos. Ambos estadios del parásito, adultos y larvas, son responsables de síntomas que van desde leves, como lagrimeo y secreción ocular, a graves, por ejemplo, conjuntivitis, queratitis o úlceras corneales (Otranto *et al.* 2016).

2.4.2.1.3.6. Queratitis punteada superficial (SPK)

Se trata de una alteración bilateral y normalmente simétrica que se manifiesta con opacidades corneales múltiples, punteadas o circulares, grises, superficiales, que pueden o no estar ulceradas. Las úlceras corneales son típicamente recurrentes y las lesiones pueden progresar a edema corneal difuso, pigmentación, depósitos de cristales y pérdida de visión. Se observa con mayor frecuencia, en las razas: Pastor de Shetland y Teckel de pelo largo (Gelatt, 2014). Se desconoce la patogénesis, pero se ha sugerido que es una enfermedad corneal inmunomediada o distrófica y puede ser heredado como una queratopatía primaria o deberse a una deficiencia cualitativa de película lagrimal (probablemente deficiencia de mucina). El SPK no debe confundirse con otras queratopatías puntuales no recurrentes y no hereditarias inducidas por daños corneales como la exposición durante la anestesia general, la queratitis herpética, el ojo seco en fases tempranas o las lesiones que ocurren por el uso de anestésicos tópicos y la aplicación de otros fármacos epiteliotóxicos como los antivirales (Maggs, 2013).

2.4.2.1.3.7. Queratoconjuntivitis seca (KCS)

Es una patología del aparato lagrimal secretor y una enfermedad ocular común en el perro, se debe a la deficiencia de uno o varios elementos de la película lagrimal (Dodi, 2015).

La lágrima está formada por tres capas diferentes, una capa más interna en contacto con la córnea que es la parte mucosa, una capa intermedia o acuosa y una capa externa o lipídica, si hay un déficit en la parte acuosa la KCS se clasifica como cuantitativa, sin embargo si el déficit se encuentra en las otras dos partes se clasifica como KCS cualitativa, ambos déficit ocasionan una inflamación progresiva de la conjuntiva y la córnea, dolor ocular y reducción de la visión (Barachetti *et al.* 2015).

Su etiología es variada:

- Congénitas:** agenesia o hipoplasia de la glándula lagrimal.
- Tóxicas:** puede ocurrir en la terapia sistémica con sulfamidas, administración tópica de atropina (Hollingsworth *et al.* 1992) y ciertos fármacos antiinflamatorios no esteroideos, como el etodolaco.
- Inmunomediadas:** es la causa más común, normalmente asociada con una condición autoinmune (Herrera *et al.* 2007).
- Sistémicas:** **endocrinas**, principalmente diabetes mellitus, hipotiroidismo e hiperadrenocorticismo (Williams *et al.* 2007), e **infecciosas:** virus del moquillo canino, leishmania, blefaritis crónicas y otras infecciones de la superficie ocular.
- Irradiación local:** en el tratamiento de neoplasias craneales.
- Iatrogénicas:** exéresis de la glándula accesoria y evisceración.
- Neurogénicas:** la pérdida de la inervación parasimpática de las glándulas (nervio facial) o pérdida de inervación sensorial corneal (nervio trigémino) pueden ocurrir por traumatismos y otitis.

Existe una predisposición racial y de género, el mayor riesgo se encuentra en las razas: Bulldog Inglés, West Highland White Terrier y Pug. Otras con un riesgo elevado son: el Yorkshire Terrier, el American Cocker Spaniel, el Pekinés, el Schnauzer miniatura, el Springer Spaniel Inglés. Además, se han añadido: el Boston Terrier, el Cavalier King Charles Spaniel, el Lhasa Apso, el Chien de Saint Hubert y el Samoyedo como razas de alto riesgo adicionales. En la raza West Highland White Terrier están predispuestas las hembras.

El diagnóstico de la KCS se basa en la presencia de signos clínicos compatibles y medición del test de Schirmer con valores por debajo de 15 mm/min (Giuliano, 2013).

2.4.2.1.3.8. Queratopatía bullosa (BK)

La BK ocurre como una secuela del edema corneal severo o crónico. La disfunción de las células endoteliales ya sea por degeneración o por distrofia y el edema corneal resultante provoca la formación de bullas intraepiteliales o subepiteliales.

Estas bullas predisponen a la ulceración de la córnea por debilitamiento estructural de la misma o las bullas pueden romperse espontáneamente, dando lugar a la

formación de úlceras corneales superficiales. Estas úlceras corneales tienden a retrasarse en cicatrizar y su recurrencia es común (Ledbetter *et al.* 2006).

Diversas enfermedades congénitas o adquiridas pueden dar lugar a BK en los perros como, la distrofia endotelial, la uveítis anterior, la endotelitis, el glaucoma, una lesión tóxica del endotelio, traumatismos, úlceras *melting*, y la degeneración endotelial relacionada con la edad, por alterar la función de la bomba endotelial. Existe una BK pseudofáquica que ocurre como una complicación grave de la cirugía de cataratas, en oftalmología humana, ésta no ha sido descrita en perros, pero muchos cirujanos oftálmicos veterinarios han informado de un edema corneal crónica después de la cirugía de cataratas (Famose, 2016).

La BK puede producir ceguera y ser difícil de controlar tanto con tratamiento médico como con tratamiento quirúrgico. Se ha descrito que el colágeno corneal de entrecruzamiento puede ser una alternativa exitosa de tratamiento para los perros con queratopatía bullosa (Pot *et al.* 2015).

2.4.2.2. Queratopatías no inflamatorias

2.4.2.2.1. Opacidad corneal por depósito de cristales

2.4.2.2.1.1. Distrofia corneal

Una distrofia corneal es cualquier alteración de la córnea primaria, bilateral, casi simétrica, hereditaria, que no va acompañada de inflamación corneal o enfermedad sistémica. Para justificar el término "distrofia", la condición debe ser de herencia probada.

Clínicamente son opacidades cristalinas o metálicas de color gris-blanco o plata, situadas en la córnea central o paracentral. La distrofia corneal puede afectar al epitelio, al estroma o al endotelio corneal. Existen formas particulares de distrofias corneales que afectan a razas específicas: Beagle, Husky Siberiano, Pastor de Shetland, Cavalier King Charles Spaniel, Airedale Terrier y Collie de pelo largo. Las variaciones en tamaño y densidad pueden representar diferentes etapas de progresión. La distrofia corneal no se asocia con la vascularización corneal; Sin embargo, a medida que se cronifica se puede acumular lípidos que puede provocar la muerte celular e inducir inflamación con posterior desarrollo de vascularización (Crispin, 2002; Gelatt, 2014).

2.4.2.2.1.2. Queratopatía lipídica

La queratopatía lipídica en el perro se ha asociado con alteraciones lipídicas sistémicas, como el hipotiroidismo, la pancreatitis, la diabetes mellitus, la hiperlipoproteinemia espontánea y las elevaciones de lípidos plasmáticos en el período posprandial. Se caracteriza por la aparición de opacidades cristalinas periféricas y centrales de la córnea. Puede ser unilateral o bilateral, y no existe vascularización sobre todo en las primeras etapas del proceso, pero al cronificarse se convierte en una degeneración corneal, y esto se asocia con vascularización. Las razas como el Airedale Terrier, los Collie, el Pastor de Shetland, el Husky Siberiano, el Beagle, el Teckel, el Lebrél Afgano, el Cavalier King Charles Spaniel y el Pastor Alemán parecen susceptibles.

Se cree que el depósito de lípidos en la córnea, ocurre mediante los vasos sanguíneos perilimbales o por el depósito *in situ* de lípidos. La mayoría de las queratopatías lipídicas parecen ser alteraciones metabólicas locales, ya que la hiperlipidemia no suele estar presente. El uso tópico de corticosteroides también puede predisponer a muchos pacientes a la deposición de lípidos corneales (Martin, 2010; Gelatt, 2014).

2.4.2.2.1.3. Degeneración corneal

Las degeneraciones corneales son opacidades corneales cristalinas secundarias a cambios patológicos dentro de la córnea, pueden consistir en lípidos, colesterol o calcio. La degeneración corneal puede ocurrir en la distrofia corneal crónica o en la queratopatía lipídica crónica. Se cree que se desarrollan secundariamente a otras enfermedades ocular (KCS, uveítis, glaucoma, lesiones corneales, ptisis bulbi etc.) o sistémica (hipercalcemia, hipofosfatemia, uremia, hipervitaminosis D etc.) La vascularización es la característica clínica de la degeneración corneal, que no se observa típicamente en la distrofia corneal primaria o en la queratopatía lipídica. Clínicamente, la degeneración corneal tiene una apariencia muy variable. Las lesiones pueden ser densas de color gris-blanca y cristalina, con bordes bien delimitados. Pueden ocurrir en cualquier área de la córnea, pero generalmente, son axiales o paraxiales. Puede ser unilateral o bilateralmente asimétrica, la inflamación o melanosís están generalmente presentes junto a la vascularización y preceden a la degeneración de la córnea. La ruptura epitelial con la vascularización es común, y los depósitos de colesterol y calcio se producen a medida que avanza la

degeneración. En algunos perros, la presencia de calcio puede contribuir al retraso de la cicatrización corneal. El tratamiento está indicado cuando existen molestias, úlceras corneales refractarias o cuando interfiere con la visión. Diversos tratamientos se han utilizado para eliminar los depósitos de calcio de la córnea y ayudar a la curación incluyendo la queratectomía superficial, soluciones de EDTA tópica y DBD (Ledbetter *et al.* 2013; Nevile *et al.* 2016a.).

2.4.2.2.2. Opacidades no cristalinas

2.4.2.2.2.1. Distrofia endotelial corneal

La distrofia endotelial es una enfermedad en la que ocurre un edema corneal espontáneo y progresivo que resulta de células endoteliales distróficas anormales. Al igual que con las otras distrofias corneales, puede ser difícil distinguir la distrofia endotelial verdadera de la enfermedad endotelial adquirida. Suele ser permanente y no dolorosa, a no ser que se formen bullas y se rompan, o se pierda el epitelio corneal. En la verdadera, se cree que la afección se hereda y da como resultado una pérdida prematura de las células endoteliales de la córnea por debajo del umbral, lo que produce un edema corneal clínicamente observable. En el perro, esta condición es más frecuente en el Boston Terrier, el Chihuahua, el Caniche, el Boxer y el Teckel, además, ocurre más en hembras. Una alteración similar ocurre en perros geriátricos de raza Fox Terrier y el Basset Hound, es similar también a la distrofia de Fuchs, en seres humanos. En el Boston Terrier con distrofia endotelial temprana, la lesión inicial, se localiza temporalmente y progresa lentamente, durante varios meses o años, para involucrar finalmente a toda la córnea. (Crispin, 2002; Dubielzig *et al.* 2010; Maggs, 2013; Gelatt, 2014).

2.4.2.2.2.2. Queratopatía de Florida

Son opacidades corneales multifocales, redondas, de un color grisáceo-blanquecino parecidas a algodón de tamaño variable que ocurren a diferentes niveles del estroma corneal, la mayoría en el estroma anterior. Pueden ser unilaterales o bilaterales descritas en perros y gatos que viven en climas tropicales y subtropicales.

Se le denomina de muchas formas: queratopatía de Florida, manchas de Florida, hongos de Florida y queratopatía tropical.

La etiología es desconocida, se le ha relacionado con organismos fúngicos (*Rhinosporidium* spp.), micobacterias, con insectos (como hormigas, basada en la correlación entre el rango geográfico de las hormigas y la distribución geográfica de la queratopatía) y con reptiles comunes en estos climas tropicales.

La condición parece ser autolimitante, no responde a los corticosteroides tópicos ni antifúngicos y como los animales afectados no presentan signos de malestar ocular, no hay indicios de inflamación y el epitelio está intacto, no hay necesidad de proporcionar tratamiento empírico (Moraes *et al.* 1997; Crispin, 2002; Dubielzig *et al.* 2010; Martin, 2010; Ledbetter *et al.* 2013; Maggs, 2013).

2.4.2.2.2.3. Depósitos y opacidades corneales farmacológicas

Pueden ocurrir por deposición directa de fármacos o por reacciones tóxicas secundarias. Los productos farmacéuticos aplicados tópicamente y administrados sistémicamente pueden acceder a la córnea a través de la película lagrimal, la vascularización límbica o el humor acuoso. Es poco frecuente en perros.

Se han descrito a veces anecdóticamente durante la administración tópica a largo plazo de acetato de prednisolona y de fosfato sódico de dexametasona. También en la administración sistémica de fármacos antiarrítmicos como la amiodarona y la tocainida, medicaciones antineoplásicas e inmunosupresoras como la capecitabina y la fluoropirimidina, en agentes hipolipidémicos como la ansamicina, la lortalamina, un antidepresivo no tricíclico y un inhibidor selectivo de la reabsorción de noradrenalina, y de forma similar en dosis altas del agente simpaticomimético experimental fluorometano-sulfonanilida.

De manera general, se ha descrito que estos medicamentos producen: opacidades corneales como depósitos cristalinos, queratitis ulcerativa, pigmentación, neovascularización y edema corneal difuso (Ledbetter *et al.* 2013).

2.4.2.3. Masas y neoplasias corneoeslerales

2.4.2.3.1. Quiste de inclusión epitelial corneal

Los quistes de inclusión epitelial corneal, son lesiones corneales elevadas, benignas, que se presentan como masas corneales solitarias unilaterales de color blanco rosáceo. Generalmente son crónicos, no dolorosos y pueden perjudicar significativamente la visión dependiendo de la ubicación y tamaño. Aunque la etiología exacta no se conoce, las causas documentadas en perros incluyen: enfermedad congénita, traumatismo quirúrgico y lesión corneal externa. Se defiende que el epitelio se deposita traumáticamente en la córnea más profunda, se replican las células epiteliales, y se forma un quiste, con material proteináceo central y células descamadas. Se deben considerar como diagnóstico diferencial en masas que afectan a la córnea y debe diferenciarse a su vez de la queratopatía bullosa, absceso corneal, la neoplasia corneal, el dermoide, el prolapso del iris y la formación de estafiloma. No hay descrita una predisposición racial (Simonazzi *et al.* 2009; Choi *et al.* 2010; Lebbetter *et al.* 2013).

2.4.2.3.2. Carcinoma de células escamosas (SCC)

El SCC primario es una enfermedad rara en los perros sin la participación de la conjuntiva o el limbo, éste es más común en el ganado vacuno y en el caballo. Se origina a partir de células epiteliales escamosas y se clasifica como una neoplasia intraepitelial corneal (carcinoma *in situ*) debido a que la membrana basal está intacta. Se presenta como una masa blanca rosácea y rugosa (Crispin, 2002). La edad media de los perros en el momento del diagnóstico en un estudio realizado por Dreyfus *et al.* (2011) fue de 9,6 años (rango 6-14,5 años).

Las posibles etiologías en el perro, incluyen deficiencias de la película lagrimal, pérdida de inervación, queratitis crónica y traumatismo superficial. Se describe con más frecuencia en perros braquiocefálicos con historia de queratitis crónica producida por queratitis pigmentaria, queratoconjuntivitis seca, entropion y distiquiasis. La terapia inmunosupresora tópica, como la ciclosporina o el tacrolimus, también se teoriza que desempeñan un papel en el desarrollo de tumores (Dreyfus *et al.* 2011).

La exposición a radiación ultravioleta puede ser un factor de riesgo adicional, en el caballo y ganado vacuno poco pigmentados, también las personas expuestas a altos niveles de UV tienen un mayor riesgo. En los perros, sin embargo, estos factores no se han demostrado.

El tratamiento en el perro ha consistido en la escisión quirúrgica sola o con terapia adyuvante con crioterapia, irradiación o quimioterapia tópica. Además, recientemente se ha descrito el tratamiento con 5-fluorouracilo tópico en Pug, siendo una opción viable rentable y con efectos secundarios mínimos (Overton *et al.* 2015; Dorbandt *et al.* 2016).

2.4.2.3.3. Papiloma

Los papilomas son tumores primarios de la córnea que ocurren comúnmente en perros jóvenes y se asemejan a los observados en la boca y los párpados (Crispin, 2002; Gelatt, 2014). Pueden ser el resultado de infección por papilomavirus o queratitis crónica, como la queratitis pigmentaria (Bernays *et al.* 1999). La mayoría de los papilomas responden bien a la queratectomía superficial. La recidiva puede disminuirse mediante criocirugía o con irradiación beta (Ledbetter *et al.* 2013).

2.4.2.3.4. Linfosarcoma

Ocurre asociado a un linfoma sistémico en fase avanzada, grado 5, si ya existe afectación ocular. Puede invadir la córnea y parecer un infiltrado celular de color rosado-blanco. Estas lesiones pueden ser intrastromales, esclerales o epiesclerales y generalmente no son dolorosas a menos que la córnea se ulcere. El pronóstico para estos perros es pobre, y el tratamiento se dirige a la quimioterapia para el linfoma sistémico (Ledbetter *et al.* 2013).

2.4.2.3.5. Melanoma del limbo (LM)

Los tumores melanocíticos, representan los tumores oculares más comunes en pequeños animales. El LM o epibulbares representa el 10% de todos los tumores caninos de origen melanocítico. Son normalmente neoplasias benignas, pero pueden invadir la córnea y otras estructuras intraoculares. Normalmente son lesiones lisas y pigmentadas, aunque ocasionalmente pueden presentarse sin pigmento (amelanóticos).

El LM se puede desarrollar en cualquier parte del limbo, pero el cuadrante dorsolateral es el sitio más frecuente. Existe una alta incidencia de este tumor en el Pastor Alemán, Labrador Retriever y Golden Retriever, además los perros más pigmentados parecen estar más predispuestos. El análisis del pedigrí sugiere que los melanomas limbales tienen al menos una base hereditaria parcial en los Golden y Labrador Retriever. La diferencia en la incidencia de LM entre sexos se considera actualmente no significativa. Los melanomas limbares primarios deben diferenciarse de la extensión externa de los melanomas uveales intraoculares. Se deben realizar exámenes intraoculares

completos, gonioscopia y ultrasonografía de alta resolución para diferenciar entre tumores intraoculares primarios de aquellos que provienen de la esclerótica.

Antes se mencionaba que los LM ocurrían en dos grupos de edad. En el grupo más joven (es decir, 2-4 años), los tumores tienden a ser invasivos, con una historia de crecimiento rápido. En cambio, en el grupo de más edad (es decir, 8-11 años), los tumores tienen más probabilidades de estar estacionarios o encontrarse accidentalmente en el examen físico.

Por lo tanto, la cirugía era recomendada en perros jóvenes, mientras que en los perros mayores la vigilancia periódica se consideraba satisfactoria. Esta práctica se basa en dos estudios retrospectivos en los que los melanomas limbares tenían un comportamiento biológico diferente en las distintas edades. Pero un informe más reciente demostró que la tasa de crecimiento de los melanomas limbares es más rápida en los animales de edad avanzada en comparación con los más jóvenes (Donaldson *et al.* 2006). Esto ha llevado a un cambio en las recomendaciones clínicas actuales, lo que sugiere que un plan de tratamiento quirúrgico más agresivo debe llevarse a cabo con independencia de la edad del animal (Gelatt, 2014; Andreani *et al.* 2017).

2.4.2.3.6. Otras neoplasias

Se han descrito otros tumores en la córnea canina, aunque no son muy frecuentes como los hemangiomas, los hemangiosarcomas y los adenocarcinomas (Gelatt, 2014).

2.5. Queratitis pigmentaria

Aunque se ha definido de forma resumida anteriormente nos extenderemos en ella, a continuación.

2.5.1. Definición

El pigmento corneal superficial (SCP) en el perro ha sido históricamente definido de manera ambigua en la literatura veterinaria (Vallone *et al.* 2016).

Existe varios términos que debemos diferenciar:

a) Las opacidades pigmentadas en la córnea como **signo clínico**:

-Melanosis corneal: es un signo de irritación corneal crónica que se debe a múltiples causas inespecíficas: exposición ocular, irritación por fricción, anomalías de la película lagrimal o estimulación inmunológica crónica, cada una con un tratamiento y pronóstico diferente (Maggs, 2009, 2013). Sólo se debe utilizar para indicar condiciones en las que el pigmento de la córnea se ha identificado histológicamente como melanina, este término ignora el hecho de que otros pigmentos distintos a la melanina como la hemoglobina o el pigmento soluble del secuestro corneal puedan producir opacidad corneal.

Existen variaciones entre las especies en la tendencia al desarrollo de la melanosis corneal, siendo las aves extremadamente resistentes, los caballos y los gatos moderadamente resistentes y los perros muy susceptibles (Maggs, 2013).

-Pigmentación corneal (CP): la pigmentación de la córnea es una respuesta biológica no específica a diversos estímulos, incluyendo: abrasión mecánica, queratitis inmunomediada, traumatismo y trastornos de la película lagrimal (Labelle *et al.* 2013). El depósito de pigmentos sobre la córnea se puede producir en el caso de inflamación crónica, como ocurre en la queratitis superficial crónica, el síndrome de queratitis pigmentaria en razas braquiocefálicas, la queratoconjuntivitis seca y la queratitis ulcerativa crónica, es un signo clínico, no un diagnóstico, y por su presencia se debe realizar un examen ocular completo (Gelatt, 2003).

b) Las opacidades pigmentadas en la córnea que indican un **diagnóstico**:

-Queratitis pigmentaria (PK) o queratitis superficial pigmentaria: el término “queratitis” significa inflamación de la córnea. En general la queratitis pigmentaria en los perros aparece como resultado de la producción de pigmento en el epitelio corneal y en el estroma subepitelial debido a irritaciones crónicas (Ledbetter *et al.* 2003).

La queratitis pigmentaria es, por tanto, una reacción de la córnea frente a la irritación crónica. El término queratitis pigmentaria se utiliza a menudo para describir específicamente el síndrome clínico en el perro braquicefálico (Gelatt, 2013).

En cambio, para algunos autores es un término usado de forma incorrecta porque piensan que la inflamación no es parte intrínseca de esta reacción (Maggs, 2009; Wilcock, 2013).

-Queratopatía pigmentaria: el término “queratopatía” significa enfermedad no inflamatoria de la córnea. Este término fue propuesto por Labelle *et al.* (2013), para definir la pigmentación corneal específicamente en perros de raza Pug al entender que probablemente en esta raza sea una patología distinta. Estos autores la definían de esta forma: “*Pigmentación de la córnea que se originó en la cara nasal del limbo corneal con diversas cantidades de fibrosis corneal y vascularización.*”

En un estudio más reciente, Vallone *et al.* (2016) demostraron las características microscópicas confocales *in vivo* de la SCP en dos grupos de perros braquicefálicos no tratados: Pug y razas de perro braquicefálicos no Pug. Cuando el SCP estuvo presente, ambos grupos de perros demostraron evidencia microscópica de melanina corneal con patología inflamatoria asociada, apoyando el uso continuado del término queratitis pigmentaria para describir esta condición.

La presencia significativa de estos marcadores celulares inflamatorios apoya la nomenclatura de PK utilizada para denominar con precisión la patología inflamatoria crónica subyacente de este síndrome.

2.5.2. Tipos de pigmentación según el origen

Las fuentes de pigmentación en la córnea pueden clasificarse de origen endógeno o exógeno según Martin (2010):

-La pigmentación corneal superficial:

Es el resultado de la migración de los melanocitos límbicos a lo largo de la neovascularización corneal. Alternativamente, los melanocitos latentes o amelanóticos pueden estar en la córnea y activarse por neovascularización o el pigmento epitelial puede surgir de la estimulación de las células madre del limbo.

-La pigmentación corneal profunda:

Puede ocurrir como resultado de:

- Origen uveal: tales como PPMs, sinequias anteriores o quistes de iris rotos.
- Cuerpo extraño: metales como hierro, cobre, oro y plata pueden manchar la córnea. Otros compuestos que pueden producir opacidades pigmentadas en las córneas son adrenocromos y hemocromos (Labelle *et al.* 2013).
- Cauterización de la córnea con nitrato de plata: se puede teñir la córnea como complicación del procedimiento.
- Medicamentos tópicos y sistémicos: por ejemplo, la epinefrina tópica usada a largo plazo, la amiodarona (antiarrítmico) en seres humanos también puede manchar la córnea y aunque, los perros parecen resistentes se recomienda usar con prudencia.
- Hongos dematiáceos: también producirán una córnea pigmentada.

2.5.3. Razas predispuestas

La pigmentación corneal superficial puede ocurrir en cualquier raza canina, pero algunas razas braquiocefálicas parecen propensas a una marcada y rápida pigmentación corneal. En estas razas se desarrolla SCP fácilmente y sin estímulos identificables. Estas investigaciones incluyen el Pug, el Boston Terrier, el Lhasa Apso, el Pekinés y el Shih Tzu (Christmas, 1992; Dreyfus, 2011; Ledbetter *et al.* 2013).

Por otro lado, Martin (2010) describe que razas como el Pug, el Pastor de Shetland y el Teckel responden a la inflamación corneal con una mayor pigmentación corneal que otras razas.

2.5.1. Prevalencia

La prevalencia de SCP ha sido descrita en las razas braquiocefálicas nombradas anteriormente. Además, estudios recientes han revelado la alta prevalencia que tiene el SCP específicamente en la raza Pug.

En el estudio realizado por Labelle *et al.* (2013), publicaron prevalencias de un 82,4% de los 295 pacientes evaluados. Por otro lado, con una prevalencia menos alta, pero también relevante, Krecny *et al.* (2015) registraron SCP en 101 ojos de los 285 estudiados (39,14%).

En los resultados publicados por Vallone *et al.* (2016), los perros de raza Pug (n=32) mostraron mayor frecuencia de SCP con respecto a las razas braquiocefálicas no Pug (n=25) (71,8% frente a 40%) y, además, concluyeron que a menudo tenían mayor severidad de SCP (puntuación media 2,2 en ojo derecho (OD), 2,1 en ojo izquierdo (OS) frente 1,77 OD, 1,66 OS) comparado con las razas no Pug.

En un estudio específico sobre la salud de los perros de raza Pug en Inglaterra, realizado por O'Neill *et al.* (2016) observaron que, de 1009 perros explorados durante 2013, 688 (68,19%) tenían al menos una patología registrada. Las patologías más comunes fueron: problemas de sobrepeso/obesidad (13,18%), lesiones en la superficie ocular (8,72%) e infecciones del oído (7,53%). Las alteraciones de la córnea cubren un amplio espectro de presentaciones, incluyendo la pigmentación, la opacidad, la vascularización, la cicatrización, la erosión, la ulceración y la perforación.

2.5.2. Signos clínicos

2.5.2.1. Pigmentación corneal

La queratitis pigmentaria se caracteriza por un acúmulo de pigmentación corneal que suele comenzar en la córnea nasal y que después progresa sobre la superficie ocular (Labelle *et al.* 2013). Esta pigmentación corneal parece estar formada por melanina. Diversos autores, como Labelle *et al.* (2013), creen que el pigmento corneal en perros de raza Pug puede ser la melanina. También Stiles *et al.* (1995) en un estudio realizado sobre un perro Pug con signos clínicos compatibles con la patología de PK, describieron mediante un examen histológico de los ojos, que la opacidad de la córnea probablemente este producida por depósitos de melanina. Al igual que Vallone *et al.* (2016) que demostraron evidencias microscópicas de melanina en su estudio.

Por lo general, puede identificarse fácilmente por su coloración de marrón oscuro a negro, bordes diferentes y no delimitados. Cuanto más melanótico sea el limbo, más probable y más densa será la melanosis corneal. Quizás por esta razón, los perros de raza Pug parecen especialmente predispuestos (Maggs, 2013).

El examen histológico de las córneas de los Pugs con esta condición se justifica para identificar el pigmento corneal.

¿Cómo entra el pigmento en la córnea?

La manera en la que el pigmento se deposita en la córnea no está clara, se atribuye a varias causas:

Los resultados de McCracken *et al.* (1976), indican que los melanocitos migran del limbo en las heridas de la córnea y causa SCP. La SCP aparece morfológicamente como una migración corneal centripeta de características microanatómicas normalmente confinadas a la región perilimbal de la córnea (Vallone *et al.* 2016).

Otro autor Wilcock (2013) describe que la pigmentación corneal es frecuentemente el resultado del crecimiento interno de las células epiteliales conjuntivales pigmentadas en respuesta a la lesión epitelial corneal persistente que ha superado las capacidades regenerativas de las células epiteliales corneales residentes. Dependiendo de la gravedad de la lesión, ese crecimiento puede ir acompañado de angiogénesis y fibroplasia. La conjuntiva bulbar es la localización habitual para el reservorio replicativo permanente de células epiteliales corneales. En circunstancias normales estas células pierden su pigmento y se convierten en verdaderas células "corneales" cuando migran a la propia córnea. No se sabe por qué bajo circunstancias de irritación persistente, conservan su carácter conjuntival o al menos su pigmento.

Otros signos de queratitis activa, como la vascularización corneal, la infiltración de células inflamatorias en el estroma y la formación de tejido de granulación, suelen acompañar al pigmento. Dependiendo de la etapa de desarrollo y de la causa del pigmento, pueden estar presentes signos adicionales de dolor y descarga ocular (Martin, 2010).

2.5.2.2. Vascularización corneal

La presencia y asociación de la vascularización y la pigmentación corneal de la queratitis pigmentaria no está clara. Por un lado, la vascularización de la córnea está asociada frecuentemente con la pigmentación corneal presente en la queratoconjuntivitis seca y en la queratitis superficial crónica (Slatter, 1977; Kaswan, 1989), pero, por otro lado, en un estudio realizado por Labelle *et al.* (2013), sobre la queratitis pigmentaria en perros de raza Pug, identificaron con biomicroscopía con lámpara de hendidura que, aproximadamente la mitad de los Pugs estudiados con SCP no tenían vascularización corneal. Este hallazgo sugirió que la producción de pigmento por las células locales pueda ser la causa de la SCP en lugar de la entrada de melanocitos por vía hematogena. Aunque la presencia de la SCP no estaba asociada a la vascularización, la severidad de la SCP sí que se asoció de forma significativa con la presencia y gravedad de la vascularización corneal en este estudio.

Otros autores como Krecny *et al.* (2015), examinaron 130 Pugs (258 ojos) también con biomicroscopía con lámpara de hendidura y encontraron pigmentación corneal en 101 ojos y vascularización sólo en 35.

En otro estudio reciente sobre la SCP realizado por Vallone *et al.* (2016), en el que se realizó microscopía cofocal *in vivo* (IVCM), se detectaron más patologías oculares utilizando IVCM que mediante biomicroscopía con lámpara de hendidura, incluida la vascularización de la córnea, que a menudo no se apreció con la biomicroscopía de lámpara de hendidura y sí por IVCM. De forma más concreta, se observó vascularización corneal en 30 ojos por IVCM (n = 14 OD, 16 OS), en cambio sólo se describió en 16 ojos por biomicroscopía con lámpara de hendidura (n = 5 OD, 11 OS). Esto quizás explica la baja presencia de vascularización detectada por Labelle *et al.* (2013) y Krecny *et al.* (2015), que utilizaron como medio de exploración la biomicroscopía con lámpara de hendidura.

2.5.2.3. Infiltración de células inflamatorias

Este infiltrado inflamatorio se observa con frecuencia acompañando al pigmento como signo de queratitis activa. Como la pigmentación corneal ocurre como consecuencia de una inflamación crónica, muchas veces existe también infiltrado de células inflamatorias; estas células inflamatorias mononucleares incluyen macrófagos, linfocitos y células plasmáticas que se infiltran en el tejido corneal como mecanismo de defensa,

por lo tanto, la inflamación crónica es el resultado final de una respuesta del huésped a un estímulo incitador. Esta respuesta se caracteriza por la formación de tejido conectivo fibroso en el área de inflamación, la cual puede llevar a la reparación que tiene lugar en días o semanas (Carmichael, 2010).

2.5.2.4. Edema corneal

Con independencia de su etiología, el edema corneal se presenta como una opacidad de color azul nebuloso y puede ser localizado o difuso. El endotelio y el epitelio son las principales barreras que evitan el edema. La disfunción de cualquiera de estas capas celulares se acompaña de edema estromal y pérdida de transparencia (Maggs, 2009).

Es frecuente observar edema corneal en la PK, ya que el edema está relacionado con una gran variedad de causas entre las que se incluyen neovascularización y úlceras (Ledbetter *et al.* 2013) las cuales podemos encontrar frecuentemente relacionadas con la PK.

En el estudio realizado por Krecny *et al.* (2015), se describe el edema como signo clínico; concretamente, examinaron un total de 258 ojos (130 perros de raza Pug) de ellos 42 ojos presentaban opacidad corneal incluyendo edema corneal, fibrosis y pigmentación.

2.5.2.5. Tejido de granulación

El tejido de granulación lo podemos encontrar en la córnea como resultado de la cicatrización vascular de heridas corneales, y también acompañando al pigmento como signo de queratitis activa (Ledbetter *et al.* 2013).

2.5.2.6. Pérdida de visión

El avance de la pigmentación corneal reduce la visión del paciente hasta perderla totalmente en los casos más severos. Esta pérdida de visión ocurre de manera gradual acompañando al avance del pigmento en la córnea a medida que progresa desde una pigmentación muy leve a severa. La condición puede ser unilateral o bilateral. La pérdida de visión es común cuando la condición es bilateral y difusa (Martin, 2010).

2.5.2.7. Descarga ocular

Puede estar presente dependiendo de la causa de el pigmento, por ejemplo, en la KCS suele haber descarga ocular, bien por una infección bacteriana secundaria o bien por que haya glóbulos blancos en la superficie ocular simplemente como resultado de la inflamación asociada (Martin, 2010; Miller, 2013).

2.5.3. Clasificación

Martin (2010) clasifica la queratitis pigmentaria en focal no progresiva y difusa progresiva.

- La queratitis pigmentaria focal no progresiva: es común en razas braquiocefálicas y se produce por irritación mecánica a largo plazo o por una úlcera estromal que ha tardado en cicatrizar. Estos focos a menudo toman la forma de una cuña de pigmento en la córnea medial que apunta a la córnea axial.
- La queratitis pigmentaria difusa progresiva: suele ser insidiosa y progresa hasta casi completar la superficie de la córnea. La causa subyacente puede ser KCS, lagofltalmo o queratitis inmunomediadas.

Para la PK se ha descrito un sistema de clasificación según el grado de extensión del pigmento corneal visible por biomicroscopía con lámpara de hendidura. Los primeros fueron Labelle *et al.* (2013), que determinaron que la pigmentación corneal estaba: **ausente**, **muy leve** (<2 mm de diámetro de SCP originado en la cara nasal del limbo corneal), **leve** (<25% de superficie corneal afectada), **moderada** (25% a 50% de superficie corneal afectada) y **severa** (> 50% de superficie corneal afectada).

Basándose en esta clasificación, Vallone *et al.* (2016), proponen un sistema que tiene en cuenta el porcentaje de córnea afectada, definiendo la siguiente clasificación: **ausente**, **leve** (<25% de superficie corneal afectada), **moderada** (25-75% de superficie corneal afectadas) y **severa** (> 75% de superficie corneal afectada).

Para entender la PK hay que tener en cuenta que ésta, forma parte de un síndrome, el síndrome ocular braquiocefálico.

2.5.4. Síndrome ocular braquiocefálico

En los perros braquiocefálicos, se observa un síndrome de lesiones palpebrales, conjuntivales y corneales. Este síndrome ocular braquiocefálico consiste en cualquier combinación de las siguientes características:

- Entropion nasal inferior: inversión o enrollamiento hacia dentro del párpado inferior medialmente.
- Exoftalmia: protusión anormal del ojo (ya que estas razas poseen una órbita poco profunda).
- Fisura macropalpebral-euribléfaron: agrandamiento horizontal de la hendidura palpebral debido a una longitud excesiva del párpado, evidente por una exposición excesiva de la conjuntiva bulbar y de la esclera.
- Lagofタルmo: cierre palpebral incompleto.
- Triquiasis caruncular: la carúncula medial o lagrimal es una prominencia nodular, profunda dentro del canto medial en la unión mucocutánea. Tiene algunas características de la piel y algunas de la conjuntiva y normalmente presenta pelos, estos en la mayoría de los animales no llegan a la córnea, pero en las razas braquiocefálicas, los pelos pueden ser muy largos y tocar la córnea, donde actúan como irritantes.
- Triquiasis de pliegue nasal: patología en la cual los pelos de la piel del pliegue nasal alcanzan e irritan la superficie corneoconjuntival.
- Queratitis pigmentaria
- Epífora: desbordamiento de la lágrima debido a un drenaje defectuoso producido por "plegamiento" de los canalículos nasolagrimales y oclusión de los puntos nasolagrimales debido a la anatomía propia de estas razas.

El síndrome ocular braquiocefálico se exagera a veces por distiquias (enfermedad en la que un pelo sale de uno o más orificios de las glándulas de Meibomio) y por una disminución de la producción o baja calidad de la lágrima (Maggs, 2009, 2013).

2.5.5. Factores predisponentes

Los siguientes factores han sido relacionados con la SCP:

-Exposición corneal crónica: como hemos descrito anteriormente, debido a la presencia de una órbita aplanada y poco profunda; así como, euribléfaron y/o lagofalmo.

Van der Woerdt (2004), describe que la fisura palpebral grande se ha asociado con el desarrollo de SCP. Asimismo, otros autores (Magg, 2009; Gilger, 2007) sugirieron que la conformación del párpado es uno de los principales contribuyentes a la patogénesis de la SCP en los perros braquiocefálicos.

-Irritaciones por fricción: éstas ocurren en los casos que se identifica alguna de las siguientes patologías: entropion, triquiasis, distiquiasis o distriquiasis, cilios ectópicos y triquiasis del pliegue nasal (Azoulay, 2014).

Aunque la conformación de los párpados y sus alteraciones se han relacionado con la presencia de pigmentación corneal en varias razas, en los estudios realizados a perros de raza Pug por Labelle *et al.* (2013) se concluye que no influye en la presencia de la SCP. Esos resultados sugieren que estos factores pueden no producir la SCP en los Pugs. Asimismo, tampoco se detectaron diferencias significativas en la gravedad de lagofalmo y entropion entre los Pugs con SCP y los que no tienen SCP en este estudio.

-Alteraciones cuantitativas y cualitativas de la película lagrimal: la KCS es frecuente en muchas razas de perros braquiocefálicos incluida la raza Pug. Además, en razas braquiocefálicas se produce una mayor evaporación y una mala distribución de la lágrima por un parpadeo ineficaz y menos frecuente, debido a la sensibilidad corneal disminuida que presentan estas razas.

La KCS da lugar a trastornos corneales concurrentes este resultado es corroborado por varios estudios, que informan de patologías corneales como la vascularización, la pigmentación y la ulceración corneal (William, 2008; Westermeyer *et al.* 2009).

Además, Kaswan *et al.* (1989), Gilger, (2007), Maggs, (2009), Ledbetter *et al.* (2013) y Azoulay (2014) lo atribuyen como uno de los principales contribuyentes de la SCP en perros braquiocefálicos. Pero se ha discutido si realmente existe o no una asociación con la SCP porque, aunque la KCS produce una irritación crónica que causa pigmentación corneal, no está clara la asociación de ésta con la queratitis pigmentaria.

Krecny *et al.* (2015), concluyeron en un estudio de 130 (258 ojos) perros de raza Pug que un número elevado de Pug mostró SCP (n=61) y ulceración corneal en ausencia de KCS. Este resultado sugiere una influencia de factores aún no determinados en el desarrollo de la SCP y ulceración corneal.

Labelle *et al.* (2013) también observaron que, aunque los Pugs con SCP severa tenían baja producción de lágrima y la ruptura de la película lagrimal (BUT) ocurría en pocos segundos, los Pugs con SCP muy leve, leve y moderada, no tenían significativamente menor producción de lágrima o inferiores valores de BUT, en comparación con los Pugs sin SCP. Este hallazgo sugiere que la producción lagrimal baja y el bajo BUT pueden haber sido producidas por una enfermedad corneal crónica y no es probablemente la causa de dicha enfermedad. Los Pugs del presente estudio tenían un valor medio del test de Schirmer (STT) (OD: 22 mm/min; OS: 23 mm/min) que fue similar a los valores publicados anteriormente para perros de otras razas, pero los valores BUT (OD: 8 s; OS: 9 s) fueron inferiores a los valores publicados anteriormente para las razas mesocefálicas, pero coincidieron con los valores de las razas braquiocefálicas.

Los resultados de este estudio sugieren que la producción de la lágrima no disminuye durante las primeras etapas de la enfermedad en los Pugs.

Por lo tanto, no influye en la presencia de SCP, pero si se ha observado que la disminución de la cantidad de la lágrima inflúa en la severidad, siendo peor y más agresiva la SCP en ojos con menos cantidad de lágrima.

En este mismo estudio realizado exclusivamente a perros de raza Pug estudiaron otros posibles factores predisponentes: la sensibilidad corneal, el sexo, la edad y la capa.

-Sensibilidad corneal: los valores del umbral de contacto corneal (CTT) fueron significativamente mayores en los Pugs con SCP severa que en los Pugs con SCP moderada en los ojos derechos, aunque no, en los ojos izquierdos.

Además, los valores medios de CTT en los Pugs fueron inferiores (OD: 1 cm; OS: 1 cm) a los publicados previamente en razas mesocefálicas, pero coinciden con los valores de razas braquiocefálicas según los resultados de Labelle *et al.* (2013).

-Sexo: en cuanto al sexo, las hembras esterilizadas presentan menos incidencia y severidad de la SCP. Este hallazgo puede haber sido atribuible a influencias hormonales, aunque habría que realizar investigaciones adicionales para determinar su importancia (Labelle *et al.* 2013). En cambio, para otros autores (Krecny *et al.* 2015; Vallone *et al.* 2016) no existió diferencias estadísticamente significativas en cuanto al género y la presencia de SCP.

-Edad: la edad no fue un factor que influyera significativamente en la presencia de SCP, ni tampoco en la severidad de esta alteración. Pero si se describe que los perros jóvenes pueden no tener síntomas clínicos de la enfermedad (Labelle *et al.* 2013).

Coincide con Krecny *et al.* (2015) y Vallone *et al.* (2016) que concluyen que no hubo diferencias significativas entre los perros con SCP y los perros sin SCP en la distribución de edad.

-Capa: el color del pelo, lo clasificaron en negro y beige. Este factor no influía en la presencia de la SCP, pero si en su severidad siendo peor en capas beige (Labelle *et al.* 2013).

2.5.6. Posibles etiologías

Genética

Existe la hipótesis de que la pigmentación corneal en los Pugs puede ser una enfermedad genética en lugar de una enfermedad que se produce por la conformación de los anejos o alteraciones de la película lagrimal. Y que su gravedad pueda ser exacerbada por las siguientes condiciones: entropion, baja producción de lágrima y/o trauma de la córnea (Labelle *et al.* 2013).

Deficiencia de células madres limbares

En algunos estados patológicos la córnea es capaz de regenerarse gracias a la presencia de unas células madre presentes a nivel de la zona de transición entre la córnea y la esclerótica (limbo). En medicina veterinaria existe poco conocimiento sobre la anatomía de esta área límbica (Patruno *et al.* 2017).

Se conoce que el epitelio de la córnea se renueva constantemente durante toda la vida para mantener la claridad y la integridad de la misma. Estas células madre limbares de auto-renovación juegan un papel crucial en la regeneración del epitelio corneal, tanto

en condiciones normales como después de una lesión. La córnea normalmente no está pigmentada, excepto en la periferia.

La queratitis pigmentaria se ha asociado con una anomalía en la función o con un número bajo de células madre del limbo y con alteraciones de los melanocitos (Labelle *et al.* 2013).

El limbo contiene unas zonas con una rica vascularización e inervación en las que se encuentra una capa de células basales cuboides, que son células madres de diferenciación epitelial (Tseng, 1989). Estas células poseen una alta actividad mitótica con capacidad de división celular asimétrica, es decir, en la mitosis se produce una célula destinada a la regeneración de la reserva de células madres, mientras que la otra célula se diferencia hacia una célula amplificadora transitoria destinada a regenerar el epitelio corneal (Schermer *et al.* 1986).

La deficiencia de las células madre del limbo (LSCD) es un estado de mal funcionamiento o pérdida de células madre epiteliales del limbo que puede conducir a la epitelización, inflamación estromal crónica, vascularización corneal, y crecimiento epitelial conjuntival, si progresa puede conducir a la ceguera. Puede ser idiopática, hereditaria o adquirida debido a lesiones químicas o térmicas, lentes de contacto y a la inflamación crónica (Afsharkhamseh, 2016).

Según Sánchez *et al.* (2016) la pérdida de visión producida en el gato por el herpesvirus felino, la queratitis superficial crónica o la queratitis pigmentaria del Pug se beneficiaría de una mejor comprensión de esta estructura.

2.5.7. Diagnóstico

La evaluación de la superficie ocular está directamente involucrada en el diagnóstico y el tratamiento de diversas enfermedades basadas en esta región. Al ser la PK una patología de la superficie ocular hace necesario valorar ésta mediante:

2.5.7.1. Valoración de la película lagrimal

La lágrima se puede evaluar de manera cuantitativa con el test de Schirmer y con la prueba del hilo rojo fenol y de manera cualitativa con el tiempo de ruptura de la película lagrimal y con el test de Ferning (Barabino *et al.* 2004).

2.5.7.1.1. Pruebas de producción de la lágrima

2.5.7.1.1.1. Test de Schirmer (STT)

La prueba cuantitativa más utilizada es el STT tipo 1 (STT1), que mide la formación basal y refleja de la lágrima acuosa.

Las tiras estandarizadas comerciales tienen una escala milimétrica y se pueden impregnar con colorante azul en el punto de 5 mm para resaltar la migración del fluido lagrimal. El STT1 debe realizarse al inicio del examen oftálmico para minimizar el efecto reflejo de la manipulación de los párpados y antes de aplicar cualquier tipo de solución tópica para evitar falsas elevaciones (Maggs, 2009).

La tira debe doblarse ligeramente en la muesca antes de retirarla del paquete y colocarse en la mitad lateral del saco conjuntival inferior. Los párpados pueden estar abiertos o mantenerse cerrados. La tira se deja durante 1 minuto y la lágrima se mide inmediatamente después de la retirada de la tira del ojo. Los valores de STT1 en el perro adulto normal varían de $18,64 \pm 4,47$ mm/min a $23,90 \pm 5,12$ mm/min. En el perro, se considera que los valores de menos de 5 mm/min son diagnósticos de KCS, y valores de menos de 10 mm/min son sospechosos, si se combinan con signos clínicos característicos (Gelatt, 2014).

El STT tipo 2 (STT2), sólo mide la lágrima basal y no la refleja ya que antes de colocar la tira se ha instilado anestésico tópico.

Para algunos autores (Kaswan *et al.* 1989; Ledbetter *et al.* 2013) la producción de lágrima debe evaluarse frecuentemente en estos perros debido a que la queratoconjuntivitis seca es una causa común contribuyente de la queratitis pigmentaria difusa.

Igualmente, Maggs (2013) también considera que los animales con melanosis corneal deben ser evaluados con el STT.

2.5.7.1.1.2. Prueba del hilo rojo fenol (PRT)

La prueba del hilo rojo fenol es un método alternativo para cuantificar la producción del componente acuoso de la película lagrimal. Se trata de un hilo de algodón de 75 mm de largo con un pliegue de 3 mm en un extremo. El extremo plegado se coloca en el fórnix conjuntival inferior durante 15 segundos, a medida que la lágrima, ligeramente alcalina, se desliza por el hilo, el hilo cambia de color de amarillo pálido a naranja y se registra la longitud de ese cambio. Los valores medios de PRT son de $34,15 \pm 4,45$ mm/15s en el perro.

Se ha evaluado si existe diferencias estadísticamente significativas usando o no anestésico tópico, concluyendo que no existen tales diferencias entre las medias de la PRT con o sin anestésico tópico (Brown *et al.* 1996).

La principal ventaja de la PRT en oftalmología veterinaria es que, el hilo es más pequeño y mejor tolerado que una tira STT y puede evaluarse durante un período más corto. Además, muestran menos variación que el STT. Estas diferencias pueden ser ventajosas en especies exóticas pequeñas (Crispin, 2002; Maggs, 2013; Gelatt, 2014).

2.5.7.1.2. Pruebas de estabilidad de la lágrima

2.5.7.1.2.1. Tiempo de ruptura de la película lagrimal o *Break-up Time* (BUT)

El BUT valora la estabilidad de la película lagrimal precorneal. El BUT evalúa indirectamente las capas de mucina y lípidos de la película lagrimal midiendo el tiempo que tarda el colorante de fluoresceína y, por tanto, la película lagrimal, en disociarse de la superficie corneal. Para realizar esta prueba, se aplica una gota de fluoresceína en el ojo, se deja que el animal parpadee y luego se mantienen los párpados abiertos y se registra el tiempo que tarda la película lagrimal en “romperse”. La observación se facilita mediante la biomicroscopía con lámpara de hendidura utilizando un filtro de color azul cobalto. En el perro, la media de BUT oscila entre $19,7 \pm 5$ s y $21,53 \pm 7,42$ s (Maggs, 2009; Gelatt, 2014).

2.5.7.1.2.2. Test de Ferning (TFT)

Cuando una muestra de fluido corporal, como la película lagrimal o la saliva, se seca en un portaobjetos de microscopio de vidrio, se produce un patrón de cristalización, en forma de helechito. Este fenómeno puede ocurrir con muchos fluidos corporales y sigue un proceso de formación característica.

Se ha utilizado en medicina humana para evaluar la calidad de la lágrima y recientemente en caballos (Silva *et al.* 2016).

Según el tamaño, el aspecto y la densidad de los helechitos observados, Rolando *et al.* (1984) presentó un sistema de clasificación, que se ha convertido en una herramienta diagnóstica útil. Se ha clasificado en cuatro categorías cualitativas, conocidos como Tipo I, II, III y IV.

Se encontró que los tipos I y II eran comunes dentro de los ojos sanos y los tipos III y IV eran comunes dentro de los ojos con queratoconjuntivitis seca.

- 1- Patrón de tipo I: con abundantes helechitos y muy juntos.
- 2- Patrón tipo II: abundantes helechitos, pero con espacios entre ellos.
- 3- Patrón tipo III: helechitos escasos o individuales.
- 4- Patrón tipo IV: ausencia de helechitos.

(Sharanjeet-Kaur, 2016).

Recientemente, una nueva escala de clasificación se ha desarrollado para superar algunas de las limitaciones asociadas con la escala Rolando, tales como la superposición entre los grados. Fue desarrollada por Masmali *et al.* (2014), es una escala de calificaciones del TFT de cinco puntos:

- 1- Grado 0: patrón de helechito, sin espacios ni huecos entre los helechitos y ramas.
- 2- Grado 1: la densidad de helechitos y ramas disminuye con la aparición de pequeños espacios y huecos entre los helechitos y ramas.
- 3- Grado 2: estos helechitos y ramas se reducen siendo gruesos y grandes, con la presencia de espacios vacíos y claros.

- 4- Grado 3: los espacios vacíos se incrementan sin heleichos, pero con la presencia de grandes cristales.
- 5- Grado 4: el fenómeno de patrón de heleicho está totalmente ausente.

Por lo tanto, el test de Ferning es una evaluación rápida y de bajo costo que refleja indirectamente la osmolaridad y la calidad de la lágrima. Se cree que está relacionado con la producción de mucinas, con alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de ojo seco en los seres humanos. En su uso en caballos concluyen que es un método adicional para evaluar la superficie ocular fácil de realizar y sin riesgos para el paciente (Silva *et al.* 2016).

2.5.7.1.2.3. Otras técnicas

El STT y PRT son relativamente invasivas y modifican el parámetro a medir. Las pruebas no invasivas o mínimamente invasivas pretenden superar este problema y proporcionar datos más objetivos. Se han desarrollado extensamente en medicina humana y están empezando a ser adoptados en medicina veterinaria. Las técnicas recientes han incluido:

-La meniscometría: evaluación indirecta del volumen lagrimal por medición del radio de menisco lagrimal.

-La interferometría: evaluación del espesor de la película lagrimal y análisis de la capa lipídica.

-La meibometría: cuantificación de la cantidad de lípidos meibomianos en el margen del párpado (Ofri *et al.* 2007; Gelatt, 2014).

2.5.7.2. Test de fluoresceína

La fluoresceína es un tinte naranja que cambia a verde en condiciones alcalinas tales como el contacto con solución salina o la película lagrimal. Es altamente lipofóbico e hidrófilo. Por lo tanto, se retiene por estructuras hidrófilas, pero no hidrófobas.

El uso más común es para la detección de úlceras corneales. También se utiliza para detectar defectos epiteliales conjuntivales, pérdida de humor acuoso (test de Seidel), anomalías cualitativas de la película lagrimal (tiempo de ruptura de la película lagrimal)

explicado anteriormente y para evaluar el drenaje normal del sistema nasolagrimal (test de Jones).

Pero el ejemplo clásico de su uso está en la identificación de una úlcera corneal, en la cual la fluoresceína es retenida por el estroma hidrofílico donde quiera que esté expuesto por pérdida del epitelio hidrófobo. Existen tiras de papel impregnadas, monodosis y colirios multidosis. Son más recomendables las tiras de papel impregnadas o las monodosis. Ya que los colirios multidosis pueden contaminarse con bacterias como la *Pseudomona aeruginosa*.

Para utilizarlo la tira se retira del paquete, se humedece con una o dos gotas de solución salina estéril y se toca la conjuntiva bulbar dorsal o ventral, pero no la córnea para evitar artefactos. El colorante excesivo se enjuaga con solución salina estéril o se permite que la lágrima la distribuya sobre la superficie ocular sin necesidad de aclarar.

Después de la dispersión o enjuague, el ojo debe ser examinado con aumentos y un filtro de color azul cobalto. Los defectos en el epitelio corneal aparecen como zonas verdes brillantes. Sin embargo, diversos tipos de úlceras demuestran patrones de tinción diferentes y característicos, estos patrones ayudan en gran medida a diferenciar las úlceras simples de las complicadas. La tinción corneal es transitoria (aproximadamente 15-30 min), aunque en las córneas desvitalizadas puede persistir durante varias horas (Martin, 2010; Maggs, 2013; Gelatt, 2014).

La aplicación de tinción de fluoresceína debe realizarse en animales con melanosis corneal según Maggs, (2013).

2.5.7.3. Valoración del nervio facial, nervio trigémino y nervio abducente

2.5.7.3.1. Reflejo palpebral

El reflejo palpebral consiste en el cierre parcial o completo de los párpados cuando se toca la piel del canto medial y lateral del ojo. La vía aferente es el nervio trigémino (V) y la vía eferente las fibras motoras del nervio facial (VII) y los músculos encargados del cierre palpebral. Una parálisis facial causaría una irritación crónica que predispone a la acumulación de pigmento. Maggs (2009, 2013) recomienda valorar siempre el reflejo palpebral en los casos de melanosis corneal. Las razones físicas que pueden reducir el

cierre de los párpados son la buftalmia, la exoftalmia y la lagoftalmía, común en razas braquiocefálicas (Featherstone *et al.* 2013).

2.5.7.3.2. Reflejo corneal-sensibilidad corneal

El reflejo corneal es uno de los reflejos más sensibles del cuerpo y su propósito es proteger el ojo. El reflejo corneal produce una retracción del globo (indicada por la protrusión de la membrana nictitante) y el cierre de los párpados. El estímulo se aplica a la córnea periférica para evitar provocar una respuesta de amenaza. La vía aferente del reflejo corneal es la rama oftálmica del nervio trigémino (V), y la vía eferente los nervios craneales abducente (VI) (retracción del globo) y facial (VII) (cierre del párpado) (Montiani-Ferreira *et al.* 2002; Featherstone *et al.* 2013).

Se puede examinar de manera subjetiva tocando la córnea periférica con una punta de hisopo estéril o mechón de algodón o de forma más objetiva con un estesiómetro.

La estensimetría corneal utiliza el reflejo corneal para evaluar cuantitativamente la sensibilidad corneal, e indirectamente evalúa la inervación corneal. Existen diferentes tipos de estensiómetros:

- Estensiómetros de contacto: Cochet-Bonnet y Larson-Millodot.
- Estensiómetro de no contacto: *Air jet esthesiometers* (Rahman *et al.* 2015).

El más utilizado en oftalmología veterinaria es el estensiómetro de Cochet-Bonnet, el cual consta de un filamento de nylon de 0,12 mm de diámetro y una longitud variable de 0,5-6 cm. Un cambio en la longitud del filamento dará lugar a un cambio en la presión ejercida sobre la córnea; longitudes más cortas de filamento aplican más presión a la córnea y viceversa. El instrumento se mantiene perpendicular a la córnea con el filamento extendido hasta su máxima longitud, y se hace avanzar hasta que el filamento toque la córnea, creando una ligera flexión de la fibra de nylon. Se toca varias veces con el objetivo de provocar una reacción.

El umbral de contacto corneal (CTT) es el grado de estimulación corneal que se requiere para provocar un reflejo de parpadeo. La sensibilidad corneal y CTT son inversamente proporcionales, un CTT superior se correlaciona con una menor sensibilidad. Los CTT se definen como la presión a la que la mayoría de los estímulos táctiles provocan un parpadeo. Por ejemplo, cuando más del 50% de los intentos resultan en un reflejo de parpadeo, el filamento se acorta disminuyendo 0,5 cm. El CTT se

determina usando una tabla de conversión proporcionada por el fabricante del estesiómetro (Gelatt, 2014).

En un estudio realizado por Wieser *et al.* (2013), el CCT medio en los perros fue $2,16 \pm 1,40$ g/mm².

La sensibilidad puede evaluarse en diferentes regiones: central, dorsal, temporal, ventral y nasal.

La sensibilidad corneal es mayor en perros con cráneo dolicocefálico que en perros con cráneo mesocefálico o braquiocefálico los cuales tienen la córnea menos sensible. En general, la región de la córnea central es más sensible, seguido por las región nasal, temporal, dorsal y ventral (Barrett *et al.* 1991).

2.5.7.4. Biomicroscopio con lámpara de hendidura

El biomicroscopio con lámpara de hendidura es la herramienta diagnóstica más versátil e importante para el oftalmólogo veterinario, permite examinar el segmento anterior y los anejos, combinando magnificación (al menos 10X) con iluminación focalizada brillante y una selección de haces completos o de hendidura, que permiten un examen tridimensional de la córnea, la cámara anterior, el cristalino y el vítreo anterior (Mould, 2002). En la PK se utiliza para observar la presencia o ausencia de la pigmentación corneal, la vascularización, el edema, el tejido de granulación y valorar las posibles alteraciones palpebrales como el euribléfaron, el entropion, descartar la presencia de triquiasis, distiquiasis o pestañas ectópicas muy frecuentes en las razas braquiocefálicas (Maggs, 2013).

2.5.7.5. Citología corneal

La citología corneal está indicada cuando existan lesiones tipo masa o placa en la córnea como las observadas en el pannus (Maggs, 2009, 2013). Es un método rápido y sencillo para caracterizar y, en algunos casos, diagnosticar el proceso de la enfermedad que involucra la superficie ocular se realiza normalmente después de aplicar una gota de anestésico tópico. Los instrumentos utilizados pueden ser: un hisopo, el extremo romo de un bisturí estéril, un *cytobrush* o una espátula de Kimura (Martin, 2010; Featherstone *et al.* 2013). Es útil también para diferenciar si la presencia de descarga ocular es de origen infeccioso o no (Miller, 2013).

2.5.7.6. Paquimetría

La capacidad de medir con precisión el espesor corneal es esencial en oftalmología y en la ciencia de la visión. Clínicamente, esta información puede utilizarse para ayudar en la planificación quirúrgica, controlar la progresión de la enfermedad y evaluar la respuesta al tratamiento (Alario *et al.* 2014).

Se dispone de varias tecnologías para medir el espesor corneal *in vivo*, ya que *ex vivo* sufre demasiadas modificaciones, incluyendo:

- 1- Paquimetría ultrasónica
- 2- Microscopía confocal *in vivo* (IVCM)
- 3- Biometría óptica
- 4- Tomografía de coherencia óptica (OCT)
- 5- Paquimetría de coherencia óptica

Los sistemas ópticos (paquimetría óptica, microscopía especular y OCT) requieren reflexiones corneales claras y por lo tanto son de uso limitado en casos de edema corneal, fibrosis o infiltrados. Por el contrario, la paquimetría ultrasónica utiliza la energía ultrasónica reflejada por las interfaces de los diferentes índices de refracción para medir el espesor corneal. Las sondas pueden variar de 20-65 MHz y medir desde la película lagrimal anterior a la superficie posterior del endotelio. La distancia entre las reflexiones se calcula entonces basándose en la velocidad del ultrasonido a través de la córnea (1550-1639 m/s, dependiendo de la especie). Esta tecnología puede utilizarse frente a la opacidad corneal concurrente (Gelatt, 2014).

El espesor medio de la córnea en el perro medido por la paquimetría ultrasónica y la microscopía confocal *in vivo*, es de $562 \pm 6.2 \mu\text{m}$ y $585 \pm 79 \mu\text{m}$, respectivamente (Gilger *et al.* 1991; Kafarnik *et al.* 2007).

La córnea periférica es más gruesa que la córnea central, también se ha descrito que es más delgada en las hembras que en los machos y su espesor aumenta significativamente con la edad (Gilger *et al.* 1991). En los cachorros neonatales, hay una disminución en el espesor corneal hasta aproximadamente 6 semanas de edad, entonces aumenta con la edad hasta aproximadamente las 30 semanas (Montiani-Ferreira *et al.* 2003).

2.5.8. Tratamientos

Maggs (2013) describe que, la melanosis corneal en sí misma no se trata normalmente a menos que sea de progresión rápida en razas susceptibles (por ejemplo, en perros de raza Pug) o está interfiriendo en la visión. Sin embargo, la detección de la melanosis corneal siempre debe estimular una investigación diagnóstica exhaustiva y el tratamiento de la causa subyacente de la irritación. En estos trastornos, la eliminación del estímulo generalmente evita o retarda la progresión de la melanosis, pero no puede hacerla retroceder.

En cambio, Martin (2010) opina que las causas mecánicas como entropion medial en razas braquiocefálicas deben ser corregidas si la queratitis está en la fase de desarrollo. Aunque los pacientes se presentan a menudo una vez que la condición se establece y la cirugía no cambiará el pigmento. En las formas progresivas, la terapia se dirige a la causa (por ejemplo, KCS) o a la inflamación subyacente (por ejemplo, inflamación inmunomediada). Si la inflamación es controlada, la mayoría de los animales conservarán la visión a pesar de la presencia de la pigmentación difusa.

El tratamiento de la SCP en los Pugs no está bien descrito en la literatura. Habitualmente se trata la SCP a través de la administración tópica de fármacos inmunomoduladores y con tratamientos quirúrgicos que corrijan las alteraciones palpebrales. Se necesitan más estudios para determinar la eficacia de tales tratamientos para los Pugs con SCP (Labelle *et al.* 2013).

2.5.8.1. Tratamientos quirúrgicos

Los objetivos de los tratamientos quirúrgicos son corregir los posibles factores predisponentes y retirar el pigmento ya existente.

Debido a los estándares de las razas, casi todos los ojos de las razas de ojos prominentes presentan una irritación crónica y tienen enfermedad corneal (por lo general pigmentación). En la mayoría de los pacientes, se encuentra alteraciones combinadas como: entropion nasal, triquiasis de la carúncula, euribléfaron, lagoftalmo y oclusión lagrimal. Estas razas a menudo desarrollan neovascularización corneal y en casos graves, úlceras corneales (Maggs 2013; Gelatt, 2014).

Por lo tanto, los anejos requieren con frecuencia una intervención quirúrgica para tratar la enfermedad subyacente o como una ayuda auxiliar al tratamiento médico de la enfermedad de la córnea (Lackner, 2001).

1) Corrección de las alteraciones palpebrales en el síndrome ocular braquiocefálico:

Aunque existen técnicas que corrigen estas alteraciones por separado normalmente en las razas braquiocefálicas con pigmentación corneal se realiza la siguiente técnica que es capaz de corregir varias alteraciones a la vez.

-La cantoplastia medial: proporciona una manera de corregir correctamente muchas de las características que contribuyen al síndrome ocular braquiocefálico. Reduce el tamaño de la fisura palpebral, elimina la triquiasis caruncular y evita el entropion medial inferior, reduciendo así la exposición corneal, la irritación por fricción de la triquiasis y la obstrucción funcional del aparato nasolagrimal. Por lo tanto, se recomienda para perros con esta combinación de signos, especialmente cuando se asocian con melanosis corneal progresiva (Maggs, 2013).

En la ilustración 1 se observa un diagrama esquemático que muestra la técnica de cantoplastia medial utilizado en Yi *et al.* (2006):

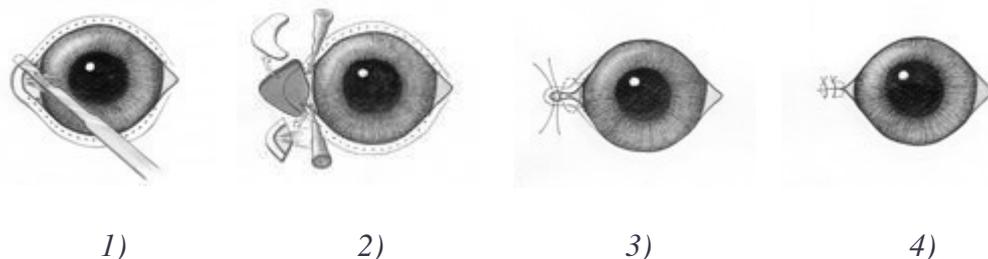


Ilustración 1. Esquema de la cantoplastia medial.

- 1) Se hace una incisión desde el centro del canto medial al punto lagrimal a lo largo del margen del párpado, superficial a las aberturas de las glándulas de Meibomio (puntos negros).
- 2) Una pieza en forma de flecha de la piel se reseca, y se elimina la mucosa de pelo de la carúncula. Además, se colocan unas cánulas en los puntos lagrimales para evitar dañarlos.
- 3) La herida se cierra con un punto en ocho y con suturas simples adicionales en la piel.
- 4) Cantoplastia medial completa, con acortamiento de la fisura palpebral.

Otra característica conformacional potencialmente relevante en perros braquiocefálicos es un pliegue nasal. Esta característica se encuentra en varias razas donde la piel que recubre el hocico corto no se reduce en proporción al esqueleto facial, lo que resulta en una arruga. El pliegue, o los pelos que crecen desde el pliegue nasal, puede contactar con la córnea produciendo queratitis traumática dolorosa y ulceración, se denomina “triquiasis del pliegue nasal” (Packer *et al.* 2015).

-Eliminación de los pliegues nasales: para el tratamiento de la triquiasis del pliegue nasal, estos pliegues pueden ser simplemente eliminados. En esta cirugía, el pliegue se eleva y se elimina cuidadosamente con unas tijeras de mayo curvadas. Los bordes de la herida se cierran con suturas absorbibles de 5-0 a 6-0. Las primeras suturas se colocan en los extremos superior e inferior y en el canto medial y después se cierra el resto de la herida dividiendo por la mitad los intervalos. Como observamos en la ilustración 2.

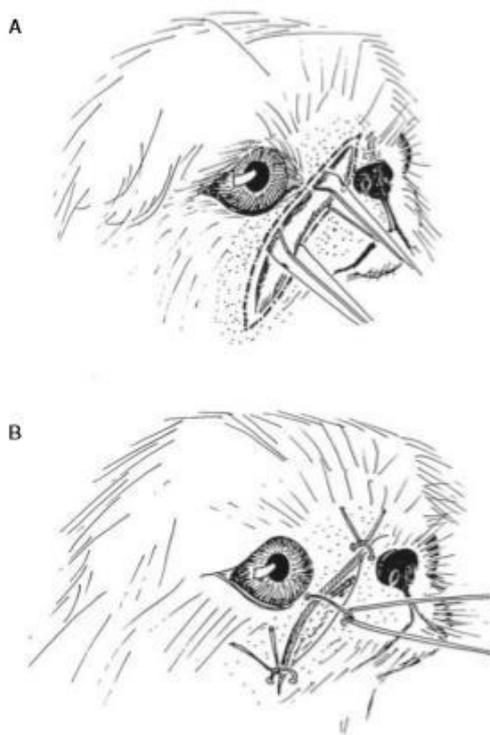


Ilustración 2. Corrección del pliegue nasal.

La eliminación de la parte (superior) o de todos los pliegues nasales suele ser beneficiosa, aunque la pigmentación corneal a menudo persiste (Gelatt, 2014).

Las distiquias

Como se comentó anteriormente el síndrome ocular braquiocefálico se exagera a veces por distiquias (Maggs, 2013). Cuando las distiquias están causando problemas clínicos, generalmente se indica un procedimiento quirúrgico para destruir o retirar los folículos (Petersen-Jones, 2002).

-Depilación mecánica: se requiere una buena pinza de depilación, sin dientes con buena aposición. Los propietarios deben ser advertidos de que el o los pelos probablemente volverán a crecer, es sólo una medida temporal. Sin embargo, es útil para determinar si los pelos son responsables de los signos clínicos, antes de realizar la cirugía definitiva.

Cirugías definitivas:

Existen varios métodos, los cuales deben ser realizados con ayuda de magnificación para ser precisos. Cada método tiene sus propias ventajas y la mayoría también tienen desventajas significativas como por ejemplo despigmentación, cicatrices, distorsión del párpado etc.

-Electrólisis: es una vieja terapia para quitar pelos indeseados, se realiza utilizando una unidad comercial de electrodepilación. Se trata de pasar una aguja fina en cada folículo piloso individual para destruir el folículo con una corriente eléctrica (Martin, 2010).

-Criocirugía: se realiza utilizando una pequeña sonda de óxido nitroso o de nitrógeno líquido, que se coloca en el lado conjuntival sobre el área de las glándulas de Meibomio. El párpado se congela durante varios segundos hasta que la “bola de hielo” alcanza el margen del párpado. Se utilizan dos ciclos rápidos de congelación-descongelación lenta. Después de la descongelación completa de la segunda congelación, todos los cilios visibles se depilan manualmente (Maggs, 2013).

-Escisión quirúrgica: se han desarrollado varias técnicas quirúrgicas para extirpar los folículos de los que se originan las distiquias, por ejemplo “en cuña”, se realizan incisiones paralelas muy precisas, de aproximadamente 5 mm de profundidad, se hacen anteriores y posteriores a los conductos meibomianos implicados. Una cuña de tejido tarsal se elimina junto con los folículos pilosos; sin embargo, la localización del folículo debe ser asumida más que observada. El margen del párpado posterior se deja intacto; por lo tanto, se evita la distorsión del párpado postoperatorio.

-Resección de Celsus-Hotz: se trata de una simple eliminación de una elipse de piel (cerca del borde palpebral) que luego se sutura y se produce un ectropion ligero para rotar

las distiquias y dirigir los pelos lejos de la córnea. Se utiliza cuando el párpado está afectado en toda su extensión (Petersen-Jones, 2002; Gelatt, 2014).

-Diatermia o electrocauterio: se cauteriza desde el lado conjuntival paralelo al margen del párpado, permitiendo que el pelo sea fácilmente eliminado. La recidiva es frecuente (Martin, 2010). Hay autores que no la recomiendan ya que puede resultar en un daño excesivo al tejido (Petersen-Jones, 2002).

-Láser de dióxido de carbono (CO₂): se ha utilizado para la eliminación de distiquias, pero es muy tedioso de usar y tiene un potencial de daño excesivo de los tejidos (Martin, 2010).

-Separación de los párpados: este método suele dividir la piel completa del párpado y el músculo orbicular del ojo desde el tarso y la conjuntiva palpebral desde el sitio de la extirpación del folículo de la distiquia hasta el fórnix conjuntival. El tarso adyacente y la conjuntiva palpebral se deslizan a continuación para cubrir el defecto quirúrgico en el margen del párpado (Gelatt *et al.* 2011).

-Resección parcial del cartílago tarsal distal: es la extracción de la placa tarsal involucrada, incluyendo las glándulas meibomianas, se realizan incisiones muy precisas de aproximadamente 4 mm de profundidad, fuera de los conductos meibomianos involucrados y justo detrás de la base de las glándulas, y después se retira la placa tarsal (Bedford, 1973).

-Disección conjuntival transpalpebral: el área afectada del párpado es sostenida por una pinza chalazión. En el tarso y la conjuntiva palpebral se realiza una incisión de 1 mm y 3-4 mm posterior al borde del párpado. El bloque tarsoconjuntival y el folículo de la distiquia es cuidadosamente diseccionado sin implicar el margen del párpado. El defecto quirúrgico se deja curar por segunda intención (Gelatt *et al.* 2011).

2) Eliminación del pigmento ya depositado en córnea

La queratitis pigmentaria difusa y progresiva es muy frustrante para el propietario y el clínico, ya que la progresión es insidiosa.

La crioterapia y la terapia de radiación beta se han utilizado para dispersar la pigmentación cuando ésta es grave. También una queratectomía superficial se puede utilizar para eliminar el pigmento. Sin embargo, dado que la deposición de pigmento se repite en condiciones inmunomediadas, la queratectomía no se recomienda en la mayoría de los pacientes.

Las complicaciones posquirúrgicas como la infección y las úlceras *melting* son comunes en las razas braquiocefálicas si la córnea no está bien protegida o lubricada (Martin, 2010).

-Crioterapia: dada la sensibilidad de los melanocitos al frío, la crioterapia puede ser una técnica alternativa para disminuir la pigmentación corneal. Se ha utilizado nitrógeno líquido, dimetiléter, isobutano y propano.

Con nitrógeno líquido, se observó que después de la intervención, todos los ojos sufrieron daño epitelial y desarrollaron edema corneal, pero, después de 3 semanas estas alteraciones se corregían casi por completo y en todos los casos, se reducía el pigmento corneal y mejoraba la visión (Holmberg *et al.* 1986).

Mediante la combinación de dimetiléter, isobutano y propano, los resultados han demostrado que la mayoría del pigmento había desaparecido entre los 5 y los 15 días después de la cirugía, los efectos secundarios, eran parecidas al anterior: edema corneal e inflamación incluso úlceras en algunos casos. Todos se resolvían en aproximadamente un mes. Pero, tras un seguimiento de 3 meses, hubo una repigmentación total o parcial, cuando la enfermedad subyacente no se controló.

La crioterapia, es un tratamiento viable para la pigmentación corneal crónica, pero el tratamiento etiológico, continúa siendo necesario para prevenir que la pigmentación, vuelva a aparecer con rapidez (Azoulay, 2014).

-Queratectomía superficial: consiste en, la eliminación de parte de las capas superficiales de la córnea que estén alteradas como observamos en la ilustración 3 (Gelatt *et al.* 2011). Se ha utilizado en el tratamiento de queratitis pigmentaria combinada con ciclosporina (Stiles *et al.* 1995).

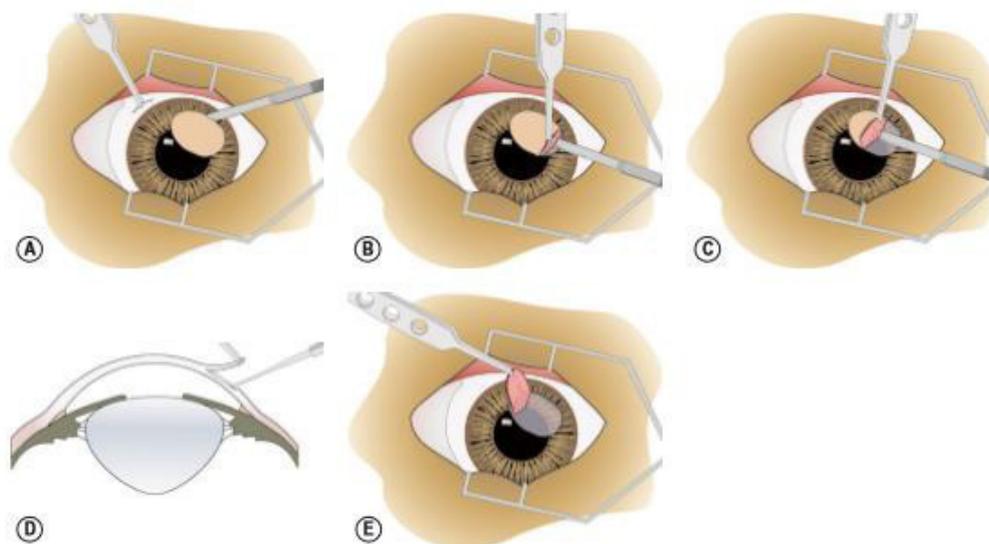


Ilustración 3. Queratectomía superficial.

-**Terapia de radiación beta:** en un estudio realizado por Höcht *et al.* (2002) en perros con pannus pigmentario utilizando radioterapia con estroncio 90, combinada con una terapia medica de ciclosporina y prednisolona. Concluyeron que el pannus responde a la radioterapia y que puede lograr un beneficio a largo plazo. Además, los efectos secundarios son mínimos, aunque la secuencia óptima de la terapia y la dosis todavía tiene que ser estudiadas.

- **Técnica de desbridamiento con fresa de diamante o *diamond burr debridement (DBD)*:** se ha usado en el tratamiento de lesiones de la córnea en humana desde 1983 pero, es una modalidad relativamente nueva, en veterinaria. Se ha descrito su uso con éxito, en el tratamiento de los SCCEDs teniendo como ventaja, un mínimo riesgo de lesión en las capas más profundas de la córnea y no requiere una amplia formación especializada del cirujano. Sin embargo, poco se sabe, en cuanto a su mecanismo de acción. Se ha documentado además su uso asociado con cantoplastia medial y la terapia inmunosupresora con tacrolimus colirio al 0,03% en el tratamiento de la PK, concluyendo que, es un método prometedor, además de ser un procedimiento más económico y menos agresivo, que las técnicas quirúrgicas tradicionales (Gradilone *et al.* 2012).

2.5.8.2. Tratamientos médicos

En la bibliografía encontramos una serie de medicamentos que se suelen utilizar con frecuencia en el tratamiento de la queratitis pigmentaria como son: la ciclosporina, los corticosteroides y el tacrolimus tópico (Martin, 2010; Ledbetter *et al.* 2013). Pero en realidad no se conocen bien los mecanismos de acción en la retirada de pigmento, se utilizan porque aporta una serie de beneficios que mejoran los signos clínicos ya que ayudan en la inflamación, reducen la vascularización y estimulan la producción de la lágrima.

Además, tienen un efecto potencial en la retirada de pigmento de la PK, ya que encontramos patologías donde también está implicada la pigmentación corneal como en la CSK en la que se ha demostrado que son eficaces para el tratamiento y para la pigmentación corneal asociada (Nell *et al.* 2005). De la misma forma ocurre en la KCS en fases crónicas hay un acúmulo de pigmento que mejora al ser tratada por estos inmunosupresores. También se ha demostrado que la ciclosporina inhibe la proliferación celular y la melanogénesis en melanocitos humanos cultivados (Lee *et al.* 2003). Por lo tanto, potencialmente se pueden usar cualquier tipo de inmunosupresor o lacrimoestimulante, pero no existen aún estudios concretos, que conozcamos, que analicen la eficacia de estos productos en la retirada de la pigmentación corneal concretamente en la queratitis pigmentaria.

2.5.8.2.1. Inmunosupresores y lacrimoestimulantes

-Inmunosupresores:

Los medicamentos inmunosupresores son fármacos que inhiben las vías de transducción de señales específicas que conducen a la activación de los linfocitos T.

-Lacrimoestimulantes o lacrimógenos:

Son medicamentos que estimulan la producción de la lágrima e incluyen a los inmunomoduladores que son en un sentido amplio todos aquellos que modifican la respuesta inmunitaria, esta estimulación puede consistir en estimular, inhibir o redirigir esta respuesta hacia dianas de interés preventivo o terapéutico (Martínez-Naves *et al.* 2008).

Son la ciclosporina, el tacrolimus, el pimecrolimus, el sirolimus y su derivado el everolimus.

2.5.8.2.1.1. Ciclosporina (CsA)

¿Qué es?

La CsA es un metabolito fúngico natural, un polipéptido cíclico, que se aisló del hongo *Tolyocladium inflatum* en 1972 (Rankin, 2013; Herring, 2013; Gilger, 2013; Ambroziak *et al.* 2016).

Usos

Entre sus indicaciones terapéuticas encontramos numerosos usos: trasplante de órganos sólidos, transplante de médula ósea y tratamientos de enfermedades autoinmunes: psoriasis, síndrome nefrótico, artritis reumatoide y dermatitis atópica (Martínez-Naves *et al.* 2008). En oftalmología la ciclosporina es un potente fármaco inmunosupresor utilizado frecuentemente para el tratamiento de las enfermedades oculares inmunomediadas (Maggs, 2013).

El uso más común en la medicina veterinaria es para el tratamiento de la KCS y se ha extendido a otras patologías como la CSK y la conjuntivitis nicotínica plasmocítica. Puede ser una alternativa a la terapia con glucocorticoides en queratoconjuntivitis eosinofílica, episcleritis, escleritis y queratitis puntiforme superficial. También algunas formas de queratitis equina y queratouveitis responden favorablemente a la ciclosporina tópica (Rankin, 2013).

Formulación para uso oftalmológico

-Tópica:

La ciclosporina está actualmente disponible comercialmente como una pomada oftálmica al 0,2%, (Optimune®).

En seres humanos, se ha aprobado una emulsión oftálmica al 0,05%, (Restasis®) para el tratamiento del ojo seco crónico (Ofri *et al.* 2009).

Se pueden encontrar también soluciones compuestas en aceite al 1 o al 2% para su uso tópico (Hendrix *et al.* 2011, Giuliano, 2013; Maggs, 2013).

En un estudio realizado en conejos con KCS inducida, se utilizó preparaciones de ciclosporina diluido en aceite de oliva y en aceite de linaza. Ambas diluciones fueron eficaces en el tratamiento de KCS, aunque tenía mejor eficacia cuando se diluían en aceite

de linaza. El aceite de linaza presenta una mayor eficacia asociada o no, que el aceite de oliva. Estos resultados pueden contribuir al desarrollo de nuevas formulaciones oftálmicas tópicas para el tratamiento de KCS en el futuro (Parrilha *et al.* 2015).

Hay que tener en cuenta que la ciclosporina cuando se aplica tópicamente, alcanza altos niveles en la córnea, la conjuntiva, la esclerótica y los tejidos lagrimales, pero no en el humor acuoso, en los tejidos uveales o en el humor vítreo.

-Implantes:

Se han evaluado recientemente los implantes de ciclosporina epiesclerales y supracoroidales para su uso en especies veterinarias, para el control a largo plazo de la uveítis recurrente equina (ERU) y para la KCS en el perro (Rankin, 2013; Gilger, 2013; Barachetti *et al.* 2015).

-Oral:

La ciclosporina oral, (Atopica®) se comercializa para problemas dermatológicos inmunomediados en veterinaria, pero también puede considerarse su uso en episcleritis, blefaritis y polimiositis extraocular (Rankin, 2013; Maggs, 2013).

Efectos en la lágrima

La ciclosporina **aumenta la producción de la lágrima** dentro de 2-3 semanas, esto suele ser evidente en el primer mes de tratamiento y si se interrumpe, puede disminuir en 12-24 horas. La aplicación tópica en colirio al 1% o 2% y el ungüento al 0,2% aumenta la producción de la lágrima en aproximadamente el 80% de los casos de KCS canina. Sin embargo, en casos severos (STT entre 0 y 2 mm/min), la tasa de éxito baja al 60%. De manera general se caracteriza por un aumento de al menos 5 mm en el STT.

Puede conducir a la **regeneración de lóbulos acinares lacrimales** atrofiados en la glándula de la membrana nictitante en perros con KCS. Además, se ha demostrado que **mejora la calidad de la lágrima** ya que aumenta la producción de mucina en perros con KCS independiente de los efectos lacrimogénicos (Rankin, 2013).

Otros efectos beneficiosos

Además de sus marcados efectos lacrimoestimulantes, la CsA tópica también tiene propiedades antiinflamatorias beneficiosas, como la reducción de infiltrados inflamatorios corneales y la reducción de la vascularización corneal en perros con queratitis crónica de causas distintas de KCS.

Tanto la administración tópica como sistémica de ciclosporina disminuye la angiogénesis corneal. El mecanismo exacto de este fenómeno es desconocido, pero puede implicar la inhibición de linfoquinas particularmente interleucina-2 (IL-2).

Se ha descrito también, la mejoría en la pigmentación corneal en 60 perros con KCS tratados con ciclosporina tópica. La pigmentación corneal disminuyó en 45 de 67 ojos (Morgan *et al.* 1991).

La reducción de la vascularización corneal y la pigmentación pueden tardar varios meses en hacerse evidente. Disminuye también la descarga mucopurulenta, y todo esto puede ocurrir, sin que aumente la producción de la lágrima.

Otra característica interesante es que el uso de CsA parece ser seguro en presencia de ulceración corneal y no altera la flora de la superficie ocular (Giuliano, 2013; Rankin, 2013; Herring, 2013).

Efectos secundarios

El efecto secundario más común es una **leve irritación local** con presencia de blefaroespasmos e hiperemia conjuntival, puede estar relacionado con la formulación de la ciclosporina. La irritación periocular se observa en el 2%-10% de los perros que reciben ciclosporina oral diluida en un vehículo de aceite (Rankin, 2013).

Herring (2013) describe también según su experiencia, que la irritación ocular parece ser más común con preparaciones a base de aceite que los productos comerciales, aunque, en ocasiones tampoco toleran estos. A menudo mejoran con el tratamiento continuado.

La **absorción sistémica** de ciclosporina después de la aplicación tópica ha sido publicada en conejos (Bellot *et al.* 1992) en personas (Small *et al.* 2004) y en perros. En perros, en un estudio realizado por Gilger *et al.* (1995) se demostró que la ciclosporina tópica al 2% produce una supresión de la proliferación de linfocitos después de 1-3 meses

de uso. Los efectos adversos o el significado clínico de este nivel de inmunosupresión no están determinados. Sin embargo, Williams, (2010) no encontró cambios en el índice de estimulación de los linfocitos, ni en los niveles sanguíneos, después de la administración tópica de ciclosporina al 0,2% o al 2%.

La terapia inmunosupresora tópica puede ser también un factor de **riesgo para desarrollar SCC** en perros con KCS crónica (Dreyfus *et al.* 2011).

2.5.8.2.1.2. Tacrolimus

¿Qué es?

El tacrolimus, anteriormente denominado FK506 es un antibiótico macrólido aislado de *Streptomyces tsukubaensis*, que comparte una acción inmunomoduladora similar con la CsA (Rankin, 2013; Giuliano, 2013) pero se ha informado que es de 10 a 100 veces más potente (Hendrix *et al.* 2011; Miller, 2013).

Usos

El tacrolimus se ha utilizado en una variedad de trasplantes de órganos y enfermedades autoinmunes en modelos animales y en pacientes humanos (Martínez-Naves *et al.* 2008; Berdoulay *et al.* 2005).

La utilización sistémica y tópica de tacrolimus se estableció en tratamientos oftalmológicos de enfermedades inmunomediadas como: la uveítis, la enfermedad de injerto contra huésped, los trasplantes de córnea y el penfigoide ocular.

El tacrolimus tópico al 0,02% dos veces al día (BID) puede ser una alternativa prometedora a la ciclosporina para el tratamiento de KCS canino y puede ser beneficioso en pacientes que no responden adecuadamente a la ciclosporina tópica (Berdoulay *et al.* 2005). A la misma concentración se ha publicado su uso en el tratamiento de CSK en Pastores Alemanes (Balicki *et al.* 2010).

-Tópico:

En la medicina veterinaria, la suspensión acuosa de tacrolimus tópico es un tratamiento bien establecido para la KCS en los perros. En los seres humanos, se describe

para blefaroconjuntivitis atópica, la queratitis punteada superficial de Thygeson, y la queratitis numular adenoviral (Kilmartin *et al.* 1998; Reinhard *et al.* 2002).

-Sistémico:

En los seres humanos, el tacrolimus sistémico se ha utilizado en estudios piloto para el tratamiento de la uveítis posterior endógena, en el ojo seco presentando una mejora fortuita en los signos en dos pacientes que recibieron tacrolimus sistémico para la enfermedad de injerto contra huésped crónica después del trasplante de células madre hematopoyéticas.

En ratones se redujo significativamente la infiltración linfocítica de las glándulas lagrimales y los signos clínicos del síndrome de Sjögren, una condición que comparte características similares con la KCS canina (Yang *et al.* 1999).

En los casos de KCS avanzada canina, la eficacia de tacrolimus puede ser más alta que la de la ciclosporina (Radziejewski *et al.* 2016).

Formulación para uso oftalmológico

El tacrolimus se puede combinar en una solución acuosa al 0,02% o 0,03% o en ungüento. Una solución de tacrolimus al 0,03% en aceite de oliva aplicada dos veces al día durante 14 días fue segura en perros normales y dio resultados clínicos similares a los observados con ciclosporina tópica al 2 % en perros con KCS (Rankin, 2013).

Efectos en la lágrima

Se ha demostrado que el tacrolimus tópico al 0,02% aumenta significativamente la producción de la lágrima y mejora los signos clínicos en perros con KCS, incluso en algunos animales que no responden al tratamiento tópico con ciclosporina (Berdoulay *et al.* 2005).

También el tacrolimus colirio al 0,03 % mejoró la estabilidad de la lágrima y el estado de la superficie ocular en casos de inflamación o KCS (Moscovici *et al.* 2015).

Efectos secundarios

En el año 2005 la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) publicó un aviso de los posibles **efectos cancerígenos** del uso del tacrolimus dérmico cuando se utiliza en los seres humanos. Este aviso recomienda que el tacrolimus sólo se utilice como

un agente de segunda línea en un periodo corto de tiempo y de uso intermitente (Maggs, 2013). Esta advertencia se basa en un pequeño número de pacientes, y las extrapolaciones a los perros en tratamiento con tacrolimus tópico para KCS no se conocen (Hendrix *et al.* 2011). También en un estudio de Dreyfus *et al.* (2011) se ha descrito el SCC en la córnea en perros con queratitis crónica. Los autores concluyeron que puede haber una posible asociación entre la inflamación corneal crónica y la terapia inmunosupresora tópica en el desarrollo de SCC en perros (Rankin, 2013; Herring, 2013).

2.5.8.2.1.3. Pimecrolimus

¿Qué es?

Es un derivado de la ascomicina macrolactámico que puede inhibir la transcripción y liberación de citocinas pro-inflamatorias en las células T a concentraciones nanomolares. El fármaco ha demostrado ser 10 veces más eficaz que CsA en la inhibición de la producción de citoquinas por las células T *in vitro* (Ofri *et al.* 2009; Yingfang *et al.* 2016).

Usos

In vivo, pimecrolimus se ha demostrado que inhiben la dermatitis de contacto alérgica mediada por células T en roedores y cerdos domésticos (Meingassner *et al.* 1997).

Se usa de manera tópica y oral para pacientes con enfermedades autoinmunes de la piel como la dermatitis atópica y la psoriasis (Eichenfield *et al.* 2003; Rappersberger *et al.* 2002).

Aunque el uso clínico de pimecrolimus no esta tan extendido como el tacrolimus como una alternativa a la ciclosporina, dos estudios lo han evaluado para el tratamiento de KCS canina.

Nell *et al.* (2005) en un estudio sugirieron que el pimecrolimus tópico al 1% puede ser un tratamiento nuevo y eficaz para la KCS y la CSK en los perros.

Ofri *et al.* (2009) realizaron un estudio en el que se comparaba la ciclosporina pomada al 0,2% y el pimecrolimus colirio al 1%. El pimecrolimus mostró superioridad sobre ésta en el control de los signos clínicos de la conjuntiva y la inflamación corneal en perros con KCS después de 8 semanas de tratamiento. La mejor eficacia del pimecrolimus

puede ser el resultado de la concentración del fármaco más alta utilizada en este estudio, de una mayor potencia intrínseca, por una mejor penetración del compuesto en los tejidos oculares lesionados o por una combinación de estos factores.

Efectos secundarios

Su seguridad a largo plazo es desconocida (Miller, 2013).

2.5.8.2.1.4. Sirolimus

¿Qué es?

El sirolimus (rapamicina, RAPA) es un antibiótico macrólido formado por un anillo con un grupo lactónico y otro lactámico con propiedades inmunosupresoras es producido en la fermentación del organismo, *Streptomyces hygroscopicus* (Rankin, 2013; Gilger, 2013).

Los estudios *in vitro* han demostrado que el sirolimus es hasta 100 veces más potente que la ciclosporina.

Usos

El sirolimus es un fármaco usado como inmunosupresor en el trasplante renal, para mejorar el diámetro luminal de las coronarias en pacientes con enfermedad cardíaca también se ha usado para prevenir el rechazo del aloinjerto de la córnea, para el tratamiento de la uveítis crónica en seres humanos y en caballos y para el ojo seco en humana y en perros (Ambroziak *et al.* 2016).

Se han estudiado diferentes vías:

-Sistémica:

El sirolimus sistémico ha demostrado ser eficaz para el tratamiento de la uveítis en humana (Shanmuganathan *et al.* 2005).

-Tópica:

Buech *et al.* (2007) en córneas porcinas, realizaron una formulación de sirolimus colirio para evitar los efectos secundarios del sirolimus sistémicos, concluyendo que el sirolimus colirio pueden ser una herramienta terapéutica prometedora para el tratamiento

de los trastornos de la superficie ocular, tales como KCS, conjuntivitis vernal, o blefaritis atópica. Pero no son adecuados para alcanzar concentraciones terapéuticas en el humor acuoso de pacientes con la córnea intacta.

-Subconjuntival:

Se ha evaluado la seguridad y eficacia de la inyección subconjuntival de sirolimus en 143 pacientes humanos con ojo seco. Los sujetos fueron asignados al azar para recibir sirolimus a dosis de 220, 440 y 880 microgramos o placebo (controles) durante 28 días.

Los resultados confirmaron un excelente perfil de seguridad y tolerancia sin observación de acontecimientos sistémicos adversos, y demostraron su bioactividad como un agente inmunomodulador, lo que disminuye la necesidad de usar corticosteroides (Colligris *et al.* 2014).

Linares-Alba *et al.* (2016) desarrollaron un producto subconjuntival para el tratamiento de KCS canina, obteniendo resultados prometedores ya que se observó mejoría clínica en la producción de la lágrima y en los signos clínicos.

-Intravítrea:

Se ha demostrado que no es tóxico cuando se inyecta por vía intravítrea en conejos (Shanmuganathan *et al.* 2005; Shi *et al.* 2006). La inyección intravítrea de sirolimus en caballos normales, tampoco mostró signos de toxicidad y se detectó sirolimus tanto en el humor acuoso como en el humor vítreo (Douglas *et al.* 2008). Se necesitan más estudios para determinar la eficacia de las inyecciones de sirolimus intravítrea en caballos afectados con ERU.

Según Gilger, (2013) el sirolimus intravítreo o subconjuntival pueden ser un tratamiento efectivo para la ERU.

-Implantes intraoculares:

La administración intraocular de sirolimus es una ruta potencial para el tratamiento de la uveítis posterior, evitando los efectos secundarios asociados con la administración sistémica. Trabajos recientes han estudiado el uso de implantes intraoculares que liberen sirolimus, demostrando una buena compatibilidad ocular y capacidad de liberar el sirolimus, pero la cinética de liberación parece estar limitado a aproximadamente a un mes (Lance *et al.* 2015).

-Intramuscular:

La administración intramuscular de sirolimus en dosis extremadamente altas de 10 mg/kg inhibió significativamente la uveítis inducida por endotoxina en conejos (Ohia *et al.* 1992).

Efectos en la lágrima

La producción de la lágrima se duplicó en perros con KCS a los que se le administró sirolimus subconjuntival a dosis de 1 mg/ml durante un mes y medio (Linares-Alba *et al.* 2016).

2.5.8.2.1.5. Everolimus

¿Qué es?

El everolimus es un macrólido antiproliferativo, un péptido aislado de la bacteria *Streptomyces hygroscopicus*. El everolimus deriva de sirolimus y tiene una alta biodisponibilidad.

Usos

El everolimus ha sido aprobado para el tratamiento del carcinoma de células renales, tumores neuroendocrinos, angiomiolipoma renal, esclerosis tuberosa y trasplante renal por la FDA (Çakmak *et al.* 2016).

En un estudio realizado por Heiligenhaus *et al.* (2013) se utilizó para uveítis crónica grave, refractaria a la ciclosporina en pacientes humanos consiguiendo una inactividad de la uveítis a los 3 meses del tratamiento.

En el futuro, se debe investigar la permeabilidad ocular del everolimus. Éste se desarrolló para superar la baja biodisponibilidad de sirolimus y tiene una solubilidad ocho veces mayor que éste en el agua (Buech *et al.* 2007).

2.5.8.2.1.6. Clasificación según los mecanismos de acción

Todos los medicamentos descritos anteriormente son fármacos inmunosupresores que inhiben las vías de transducción de las señales específicas que conducen a la activación de los linfocitos T.

Los efectos de estos compuestos en la señalización de células T dependen de sus interacciones con dos receptores citoplasmáticos diferentes, denominados inmunofilinas (Rankin, 2013).

- INHIBIDORES DE LA CALCINEURINA

En los últimos años, hay evidencia creciente de que el objetivo intracelular de estos complejos es la calcineurina.

¿Qué es la calcineurina?

La calcineurina a veces llamada fosfatasa 2B, es una enzima, fosfatasa dependiente de calcio, limitante de la velocidad de la transducción de señales de células T a través de su efecto sobre la forma citosólica del Factor de Activación Nuclear de las células T (NF-AT) que es inhibida por estos complejos de inmunofilina-ligando (Giuliano, 2013; Rankin, 2013).

Tacrolimus, ciclosporina y pimecrolimus

La ciclosporina y el tacrolimus inhiben la síntesis de IL-2 y otras citoquinas, dando lugar a un bloqueo temprano de la activación de las células T entre las fases G0 y G1 del ciclo celular, ya que tanto la ciclosporina como el tacrolimus son inhibidores, aunque no homónimos de la calcineurina, que como hemos comentado anteriormente es una proteína que desfosforila al NF-AT facilitando la entrada de este factor en el núcleo, el cual activa la transcripción de los genes de las citoquinas. Por lo tanto, su bloqueo suprime la proliferación de células T y la función inmunológica normal. Así que, se utilizan como inmunosupresores. La manera de inhibir la calcineurina es uniéndose a unos receptores citosólicos denominados inmunofilinas intracelulares y formando complejos que posteriormente se unen e inhiben la calcineurina.

En el caso de la ciclosporina, se une intracelularmente a una inmunofilina específica conocida como ciclofilina (CpN). Y en el caso del tacrolimus se une a una

inmunofilinas llamadas FK506-proteínas de unión también denominada FK *Binding Protein* tipo 12 (FKBP-12).

El pimecrolimus a nivel molecular se une también a FKBP-12 e inhibe la calcineurina. Como consecuencia, se evita la transcripción y la liberación tanto de las células T helper de tipo 1 y de citoquinas inflamatorias de las células T helper de tipo 2, así como la proliferación de células T. La inhibición de las moléculas y la expresión de IL-2 receptor en las células T co-estimuladoras puede contribuir a la activación alterada y la proliferación de células T (Nell *et al.* 2005).

- INHIBIDOR DE mTOR

Aunque el sirolimus es similar en estructura al tacrolimus y a la ciclosporina, no es un inhibidor de la calcineurina. El complejo de proteína de unión a rapamicina FK conduce a la supresión de la activación y proliferación de linfocitos T a través de la inhibición de la progresión del ciclo celular (Rankin, 2013; Gilger, 2013).

¿Qué es mTOR?

Es una proteína denominada mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*), que se ha revelado como un importante centro de regulación de la síntesis de proteínas necesarias para la progresión del ciclo celular. La inhibición de mTOR evita por lo tanto que el ciclo celular progrese de G1 a la fase S, lo que conduce a la supresión de la activación y la proliferación de los linfocitos T (Gilger, 2013).

Sirolimus y everolimus

El sirolimus es un fármaco innovador porque posee un mecanismo de acción diferente al resto de inmunosupresores. Se une también a la misma inmunofilina que el tacrolimus, el FKBP-12, a partir de la cual se desencadena una cascada de reacciones, que da lugar a la detención del ciclo celular, inhibiendo a mTOR.

El sirolimus inhibe la proliferación celular mediada por una gran variedad de citoquinas y factores de crecimiento: IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-12, factores estimulantes de colonias, factor de crecimiento derivado de plaquetas, insulina, factor de crecimiento de fibroblastos y factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

El everolimus se une también al receptor FKBP-12 e inhibe mTOR, actúa en una fase posterior del ciclo celular, bloqueando la señal de proliferación proporcionada por estos factores de crecimiento y previenen que las células entren en la fase S (Çakmak *et al.* 2016).

Tabla 1. Diferencias en el mecanismo de acción entre los productos.

Fármaco	Proteína de unión: inmunofilina	Efecto en ciclo celular	Efecto sobre las citoquinas	Proteína inhibida
Ciclosporina	Ciclofilina (CpN)	Principio de la fase G1	Inhibe la síntesis de citoquinas	Calcineurina
Tacrolimus	(FKBP-12)	Principio de la fase G1	Inhibe la síntesis de citoquinas	Calcineurina
Pimecrolimus	(FKBP-12)	Principio de la fase G1	Inhibe la síntesis de citoquinas	Calcineurina
Sirolimus	(FKBP-12)	Final de la fase G1	Inhibe la proliferación celular mediada por citoquinas	mTOR
Everolimus	(FKBP-12)	Final de la fase G1	Inhibe la proliferación celular mediada por citoquinas	mTOR

2.5.8.2.2. Lacrimomiméticos (lágrimas artificiales)

Los lacrimomiméticos son sustitutos de la lágrima que intentan complementar todas o algunas de las tres capas de la película lagrimal (acuosa, mucosa y lipídica). No deben confundirse con los agentes lacrimoestimulante, descritos anteriormente.

Se recomiendan como terapia adyuvante en la terapia lacrimoestimuladora. Esta sustitución lagrimal está indicada en los procesos siguientes:

- Para la KCS.
- Para el tratamiento de la queratitis de exposición.

- En pacientes con un tiempo anormal de la ruptura de la película lagrimal.
- En pacientes con enfermedad corneal primaria.

Las clases más habituales de preparaciones lacrimomiméticas, agrupadas de acuerdo con el agente de viscosidad utilizado son, de forma resumida: el alcohol polivinil, soluciones de celulosa, combinaciones de polímeros, pomadas de vaselina, productos viscoelásticos y productos de glicerina, están disponibles como soluciones, geles y ungüentos.

Los objetivos primarios de la terapia lacrimomimética son minimizar la desecación de la superficie ocular y la muerte de las células epiteliales y mejorar la comodidad del animal. Para alcanzar estos objetivos terapéuticos la lágrima artificial se debe seleccionar de forma apropiada, según la naturaleza de la anomalía de la lágrima y el cumplimiento por el propietario, teniendo en cuenta los electrolitos, la presencia o ausencia de conservantes y el tipo de agente de viscosidad, antes de recomendar una solución o ungüento (Grahn *et al.* 2004; Maggs, 2013).

2.5.8.2.3. Antibióticos

En la queratitis pigmentaria nos podemos encontrar, como ya hemos comentado anteriormente, descarga ocular como signo clínico, este signo no significa que necesariamente exista una infección bacteriana secundaria, ya que en ocasiones pueden estar presentes glóbulos blancos en la superficie ocular simplemente como resultado de la inflamación asociada, sobre todo si está complicada con una KCS, pero a veces sí significa que está presente esta infección y debemos tratarla.

Para tratar esta posible infección secundaria un examen citológico de la conjuntiva puede ser una guía útil para determinar si la secreción es estéril o séptica y si se requieren antibióticos tópicos o no.

En general, si se observan cocos citológicamente, un antibiótico como la neomicina-bacitracina-polimixina B es una elección inicial razonable y si se observan bacilos, la gentamicina, tobramicina o ciprofloxacino tópicos son buenas opciones terapéuticas (Miller, 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Generalidades

La presente tesis doctoral consiste en un estudio prospectivo, en la que se quiso estudiar la queratitis pigmentaria en perros de raza Pug. En una primera fase se realizó un estudio observacional, en la que nos limitamos a observar y describir la presencia de la enfermedad y las alteraciones del segmento anterior ocular, para ello se realizó una exploración oftalmológica a todos los perros de raza Pug que quisieran participar en este estudio desde marzo de 2014 a mayo del mismo año a los 20 primeros Pugs y desde febrero de 2015 hasta febrero de 2016 al resto. Para conseguir una población adecuada y no sesgada, se informó a la Facultad de Veterinaria de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria y al Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Las Palmas, para que a su vez informara a los veterinarios colegiados de Las Palmas, de la existencia del estudio (anexo I). En una segunda fase se realizó un ensayo clínico a perros de raza Pug seleccionados de la primera fase, para evaluar la seguridad y eficacia de dos tratamientos inmunosupresores tópicos: tacrolimus y sirolimus, en el control de la enfermedad.

3.1.1. Aclaración de los términos utilizados

En la presente tesis hemos elegido el término “queratitis pigmentaria” para designar la patología presente en los Pugs estudiados. Como hemos podido observar en la revisión bibliográfica del presente escrito, en la literatura existe cierta controversia con este concepto. Es por ello, que a lo largo de esta tesis se encuentren otros términos para referirse a dicha patología según cual sea el autor que describe esta alteración.

3.2. Encuesta epidemiológica

3.2.1. Procedimiento de toma de datos epidemiológicos

Los datos sobre cada Pug se obtuvieron mediante entrevista personal con el propietario o cuidador. En primer lugar, cada individuo fue identificado anotando su nombre y número de microchip, si lo presentaba.

3.2.2. Modelo y datos de la encuesta

Para cada animal explorado se tomaron los datos de la encuesta epidemiológica (anexo II), representada de forma resumida en la tabla 2. La información recopilada fue: la edad, el sexo, el estado de fertilidad y el color de la capa, clasificado en plata, albaricoque, leonado y negro; según se define en el estándar de la raza en la Federación Cinológica Internacional. Se les preguntaba sobre los antecedentes clínicos relativos a enfermedades oculares previas y si se habían sometido a tratamientos médicos o quirúrgicos anteriores (cuáles y desde cuándo). Se recopilaba, de forma especial, si habían utilizado inmunosupresores tópicos o si se les habían realizado cirugía correctora de los párpados. También si padecían o habían padecido alguna enfermedad sistémica.

Además, se le preguntaba al propietario si sería capaz de poner gotas tres veces al día durante 6 meses y tenía disponibilidad para traer al animal a revisión cada 2 meses.

Tabla 2. Resumen de la encuesta epidemiológica.

RESEÑA	ANTECEDENTES CLINICOS			
Nombre	OCULARES	Enfermedades anteriores	OD	Sí/No ¿Cuál?
Identificación			OS	Sí/No ¿Cuál?
Propietario/ teléfono		Tratamientos anteriores		Médicos
Sexo/Estado de fertilidad		¿Cuales?		Quirúrgicos
Fecha de nacimiento		¿Cuándo?		
Capa	SISTÉMICAS	Sí		
		No		

3.3. Estadística descriptiva de la población y muestras estudiadas en la primera fase

Para la realización del presente estudio se realizó una exploración oftalmológica del segmento anterior y anejos oculares a 110 perros de raza Pug. Sin embargo, el estudio describe un total de 219 ojos debido a que uno de los animales fue objeto de enucleación de origen traumático y no relacionado con el estudio.

1- Edad

La edad del animal se refiere a la que presentaba el paciente en el momento de la exploración oftalmológica. Se estudiaron animales, desde 1 a 13 años ($6,58 \pm 2,48$ años de media).

a. Distribución por edad

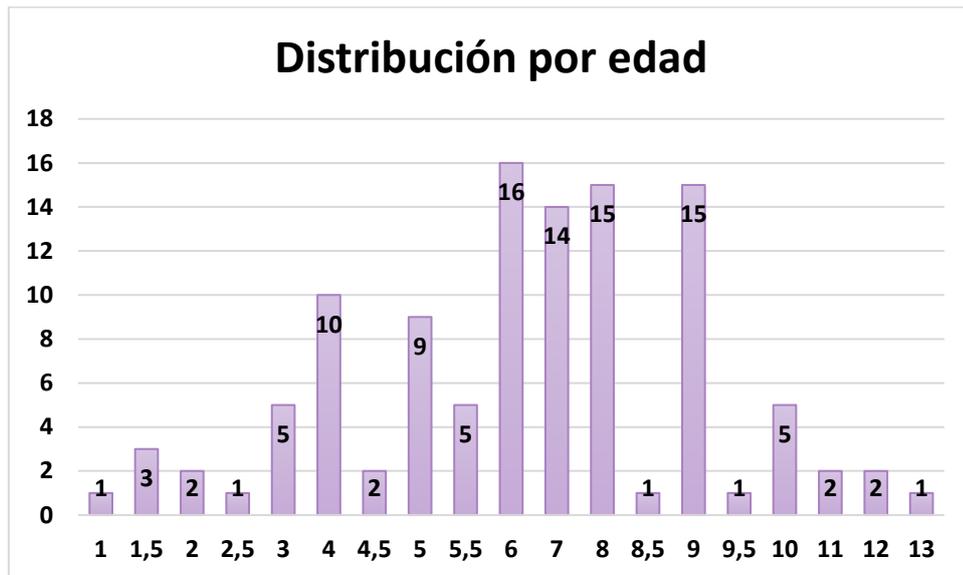


Gráfico 1. Edad.

b. Distribución por grupos de edad.

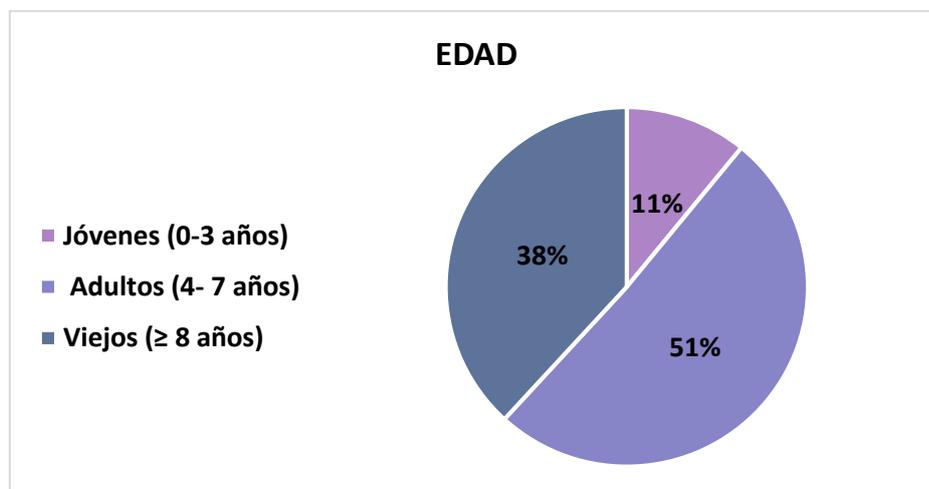


Gráfico 2. Grupos de edad.

2- Género

En cuanto a la distribución por sexo, nuestro estudio incluye un total de 51 hembras (46,40%) y 59 machos (53,60%). Se determinó también su estado de fertilidad, resultando que 33 estaban esterilizados (30 %) y 77 enteros (70 %).

a. Distribución por género

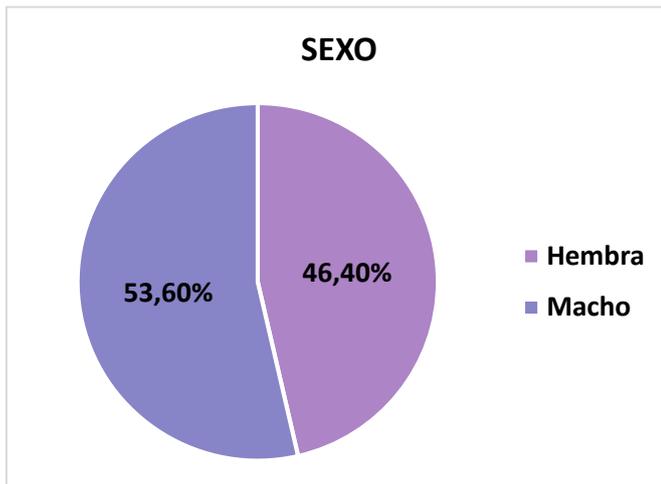


Gráfico 3. Sexo.

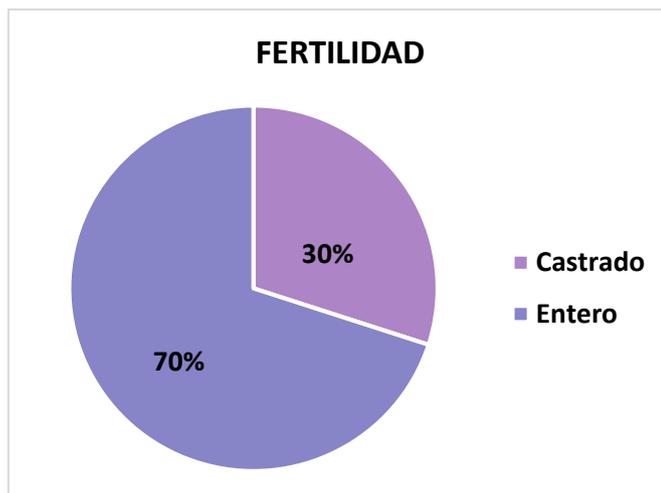


Gráfico 4. Fertilidad.

3- Capa

Las capas de los animales fueron clasificadas como: plata, albaricoque, leonado y negro. Con la finalidad de estudiar si el color de la capa puede o no ser un factor predisponente de esta patología, estas capas fueron agrupadas en dos categorías: **capas claras**, que incluían a los: plata, albaricoque y leonado; y, en **capas oscuras**, que incluían sólo a los negros.

a. Distribución por capas

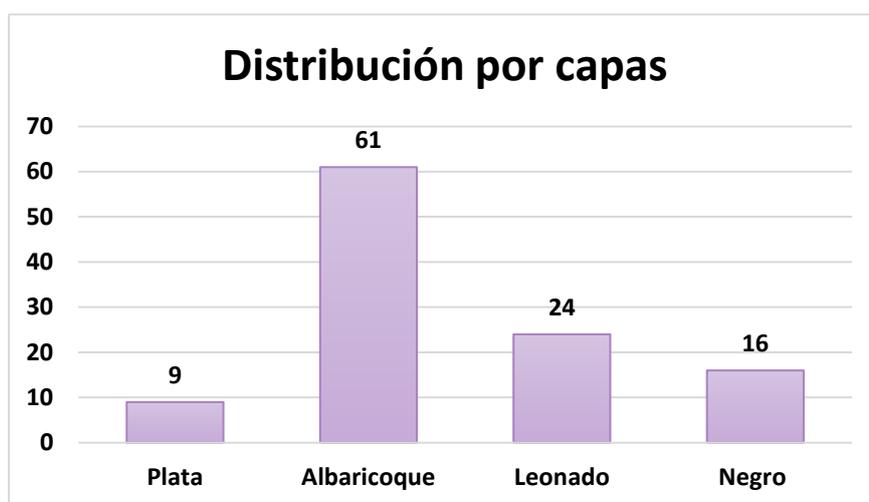


Gráfico 5. Capas.

b. Distribución por grupos de capa

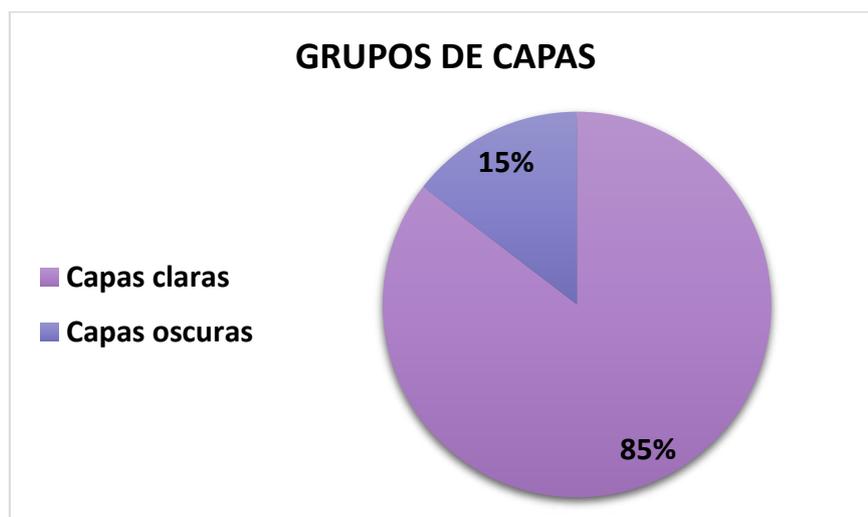


Gráfico 6. Grupos de capas.

3.4. Exploración oftalmológica

Se realizó una exploración del segmento anterior ocular a todos los perros de raza Pug que se incluyeron en el estudio. Además, se tomaban fotografías de los animales y de cada ojo, utilizando una cámara fotográfica Canon EOS 550 D con un objetivo de 58 mm.



Figura 1. Material básico utilizado para la exploración.

3.4.1. Visualización directa y magnificación

Como métodos de exploración se utilizó la visualización directa y, como medio de magnificación, un biomicroscopio con lámpara de hendidura (modelo Kowa SL-15®).



Figura 2. Kowa SL-15®.

3.4.1.1. Alteraciones palpebrales

Entre las alteraciones palpebrales se registró si los animales presentaban euribléfaron, triquiasis de la carúncula, triquiasis del pliegue nasal, distiquiasis y entropion nasal superior e inferior.



Figura 3. Euribléfaron, entropion nasal inferior, triquiasis y PK en el ojo derecho de un Pug.

3.4.1.2. Pigmentación corneal

En los registros se incluía la existencia, o no, de pigmentación en la córnea de cada ojo. En el caso de que el paciente presentara pigmentación corneal, ésta se dibujaba y se clasificaba según la clasificación de Labelle *et al.* (2013):

1. Muy leve: cuando el pigmento ocupa <2 mm del limbo corneal.
2. Leve: cuando el pigmento ocupa <20% de la superficie de la córnea.
3. Moderada: cuando ocupa de un 20 a un 50% de la superficie corneal.
4. Severa: cuando ocupa > 50% de la superficie de la misma.

Como observamos en los ejemplos siguientes:

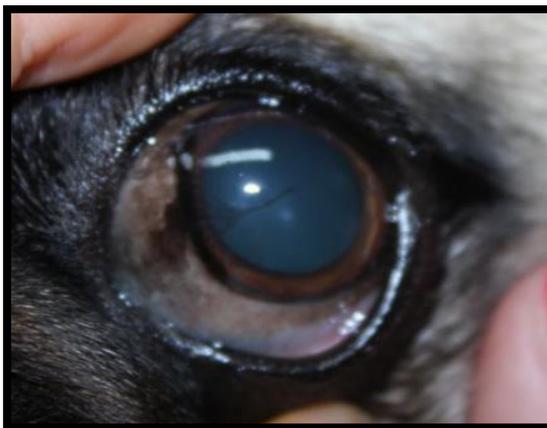


Figura 4. PK muy leve.



Figura 5. PK leve.



Figura 6. PK moderada.



Figura 7. PK severa.

3.4.1.3. Vasos corneales

Se registró si se observaba la presencia o no de vascularización corneal en cada ojo.

3.4.1.4. Alteraciones del iris

A partir de los 20 primeros animales se estudió la existencia de hipoplasia de iris y membranas pupilares persistentes (PPMs) y se clasificaban en: tipo I, si existía pigmento en cristalino, tipo II, si la membrana se encontraba de iris a iris, tipo III, si iba de iris a córnea y tipo IV, si iba de iris a cristalino (Gelatt, 2003).

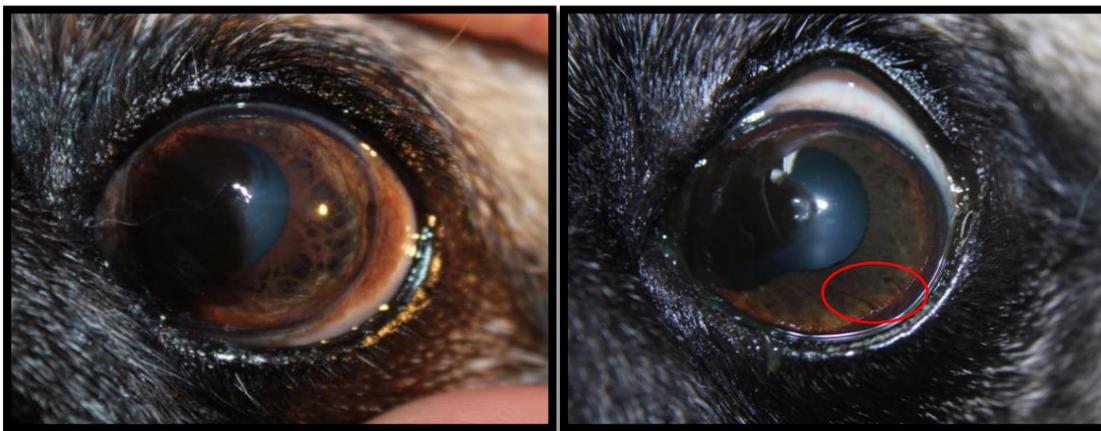


Figura 8. Hipoplasia de iris.

Figura 9. Membranas pupilares persistentes tipo II.

3.4.2. Lágrima

Se evaluó la película lagrimal de manera cuantitativa con el test de Schirmer (STT), Eickemeyer® y de forma cualitativa, con el tiempo de ruptura de la película lagrimal (BUT), utilizando Fluorescein Sodium Ophthalmic Strips U.S.P® y con el test de Ferning (TFT). Para realizar este último, se obtuvieron muestras de lágrimas del saco conjuntival inferior de ambos ojos utilizando tubos de micro-hematocrito (vidrio neutro, vitrex medical A/S). Las lágrimas se dejaron secar sobre portaobjetos de vidrio (Knittel Glass), durante aproximadamente 10 min en condiciones normales (temperatura ambiente alrededor de 23 °C y la humedad del aire sobre el 80%). Los portaobjetos se observaron inmediatamente bajo un microscopio óptico (Olympus CH20, Japón), con un aumento de 10x. Los patrones de helecho obtenidos fueron clasificados de acuerdo a la escala de calificaciones de Rolando (1984):

1. Tipo I: con abundantes helechos y muy juntos.
2. Tipo II: abundantes helechos, pero con espacios entre ellos.
3. Tipo III: helechos escasos o individuales.
4. Tipo IV: ausencia de helechos.

Los tipos I y II se consideraban de buena calidad-normales y los tipos III y IV de baja calidad-anormales.

Se muestra en las figuras de a continuación:



Figura 10. TFT Tipo I.



Figura 11. TFT Tipo II.

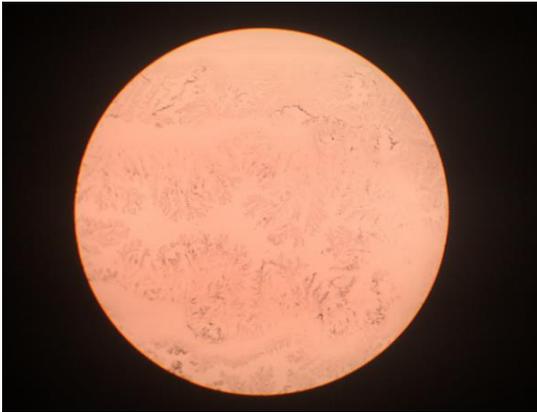


Figura 12. TFT Tipo III.

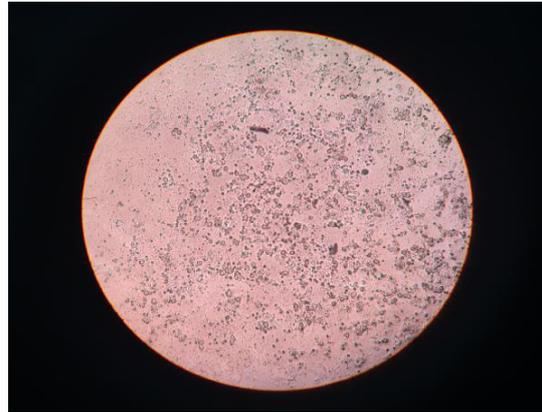


Figura 13. TFT Tipo IV.

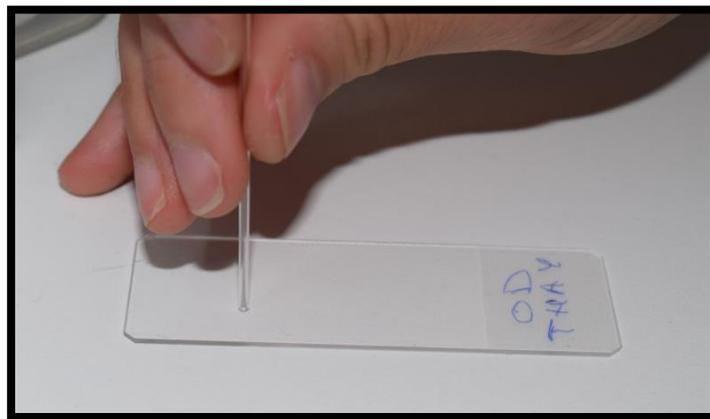


Figura 14. Extensión de la lágrima en la realización del test de Ferning.

3.4.3. Test de fluoresceína

Tras realizar el BUT se lavaba con suero fisiológico y se comprobaba si existía fijación de fluoresceína en la córnea, dando un resultado positivo o negativo.

3.4.4. Sensibilidad corneal

Se comprobó el grado de sensibilidad corneal que presentaba cada paciente mediante una estensimetría cualitativa, que se dividió en sensibilidad fina, usando un filamento de 0,2 mm (monosyn 4/0) y sensibilidad gruesa, usando un algodón de aproximadamente un 1 mm. Se realizaban 3 toques y según la respuesta se clasificaba a su vez en negativa, disminuida o positiva (definida como un parpadeo rápido).

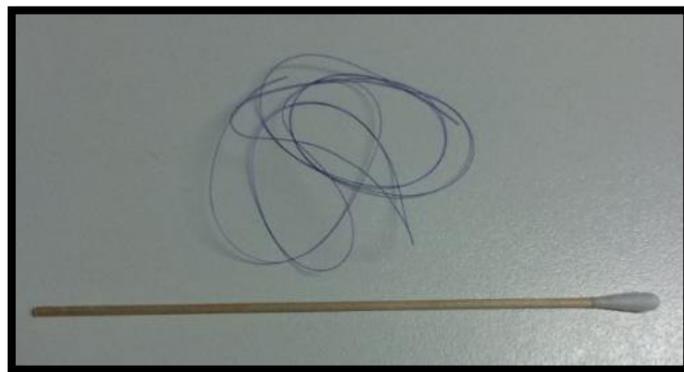


Figura 15. Material utilizado para la sensibilidad corneal.

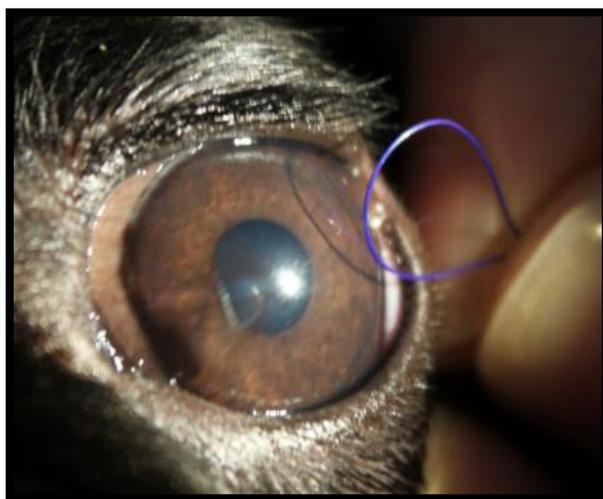


Figura 16. Estensimetría cualitativa fina.

3.4.5. Paquimetría ultrasónica

El espesor corneal se evaluó mediante paquimetría ultrasónica. En la zona lateral y medial de la córnea, la paquimetría lateral, se tomaba en un punto central y lateral de la córnea, y la paquimetría medial, sobre el pigmento corneal que presentaba el paciente si tenía PK y en el centro-medial si no presentaba PK, como observamos en la figura 17, con un paquímetro ultrasónico PACHETTE 3, DGH Technology INC. el cual realiza 25 medidas dando una media y desviación estándar, después de la instilación tópica de xibuprocaína hidrocloreuro y tetracaína hidrocloreuro (Colircusi anestésico doble, 1 mg/ml + 4 mg/ml de ALCON CUSI S.A)

La paquimetría lateral pretendía medir el grosor corneal sin pigmentación corneal (en aquellos animales que no presentaban un grado severo de PK) y la paquimetría medial pretendía medir el grosor corneal que se alcanza con pigmentación corneal.

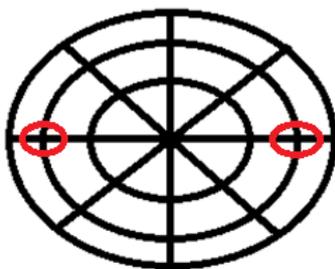


Figura 17. Gráfico de la córnea, puntos de medida de la paquimetría lateral y medial.



Figura 18. PACHETTE 3, DGH Technology INC.

3.5. Criterios de inclusión y exclusión para la segunda fase

Para la consecución de la segunda fase del presente estudio, se seleccionaron de los animales explorados de la primera fase según los siguientes criterios de inclusión y exclusión, con la finalidad de ser tratados de manera tópica con tacrolimus o sirolimus colirio.

-Los criterios de inclusión eran: perros de raza Pug, con edades comprendidas entre 5 y 10 años, que presentaran pigmentación corneal.

-Los criterios de exclusión eran: aquellos perros que en ese momento se estaban tratando con *fármacos inmunosupresores*, o hacia menos de 6 meses que se habían tratado. Los animales que se habían sometido a *intervenciones quirúrgicas destinadas a corregir alteraciones palpebrales* y aquellos animales que en ese momento padecían alguna *enfermedad sistémica* importante y se sospechaba de inmunosupresión. Se excluyeron, además, animales *menores de 5 y mayores de 10 años* de edad.

La aprobación del propietario para la participación en el estudio también fue determinante para la inclusión/exclusión en el mismo y su disponibilidad para administrar el tratamiento tópico y asistir a las revisiones. Asimismo, el factor económico fue también un limitante para nosotros en el número de animales a seleccionar en la segunda fase.

3.6. Estadística descriptiva de la población y muestras estudiadas en la segunda fase

Finalmente se seleccionaron 32 animales (63 ojos) que se dividieron en dos grupos aleatoriamente, el **grupo 1** fue tratado con *tacrolimus* colirio al 0,03% y el **grupo 2** con *sirolimus* colirio al 0,03% tres veces al día (TID) y durante 6 meses. Además, la primera semana del comienzo del ensayo clínico se trató a todos los animales con tobramicina tópica (Tobrex colirio®) ya que algunos animales presentaban una infección ocular previa.

a. Distribución de animales y ojos tratados

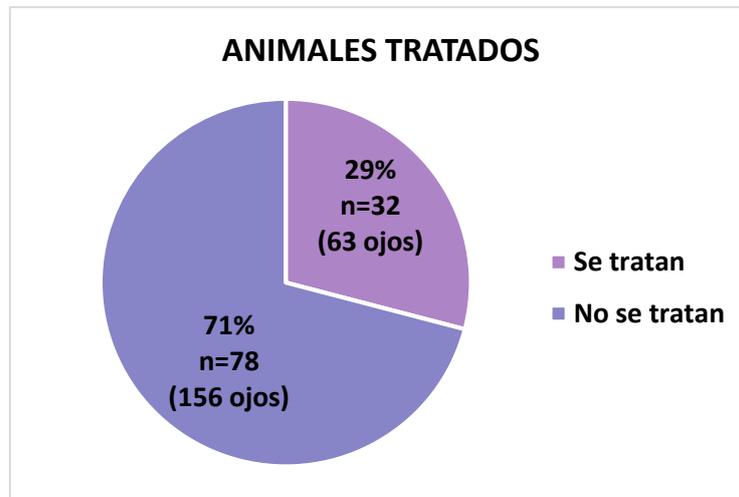


Gráfico 7. Animales tratados.

b. Distribución de animales y ojos por grupos de tratamiento

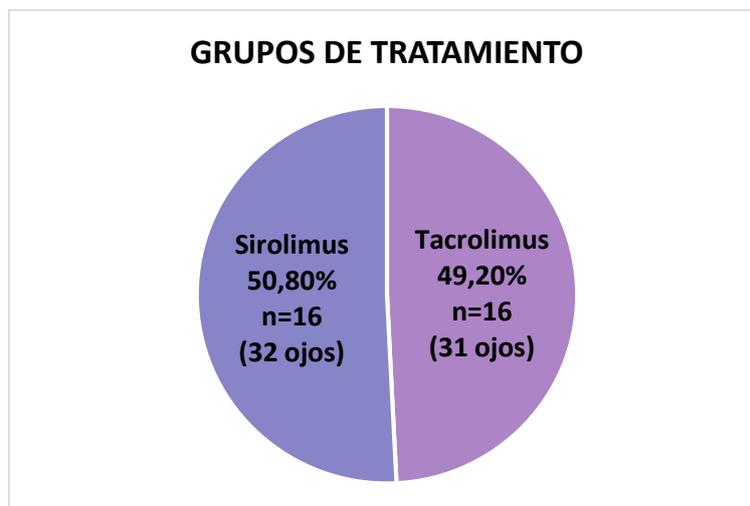


Gráfico 8. Grupos de tratamiento.

1- Edad

En la siguiente tabla se representa la distribución de los animales según la edad en los dos grupos estudiados. No se seleccionaron animales menores de 5 años ni mayores de 10 años con la intención de homogenizar la muestra. Por lo tanto, no se trata ningún animal de grupo joven (0-3 años), se trataron 40 ojos de animales del grupo adulto (4-7 años) y 23 ojos de animales del grupo viejo (\geq de 8 años).

- a. Distribución de ojos tratados por grupos de edad representada en tabla

Tabla 3. Productos y grupos de edad.

		PRODUCTOS		Total
		Tacrolimus	Sirolimus	
Grupos de edad	4-7 años	22 (n)	18 (n)	40 (n)
	≥ 8 años	9 (n)	14 (n)	23 (n)
Total		31 (n)	32 (n)	63 (n)

- b. Distribución de ojos tratados por grupos de edad representada en gráfico

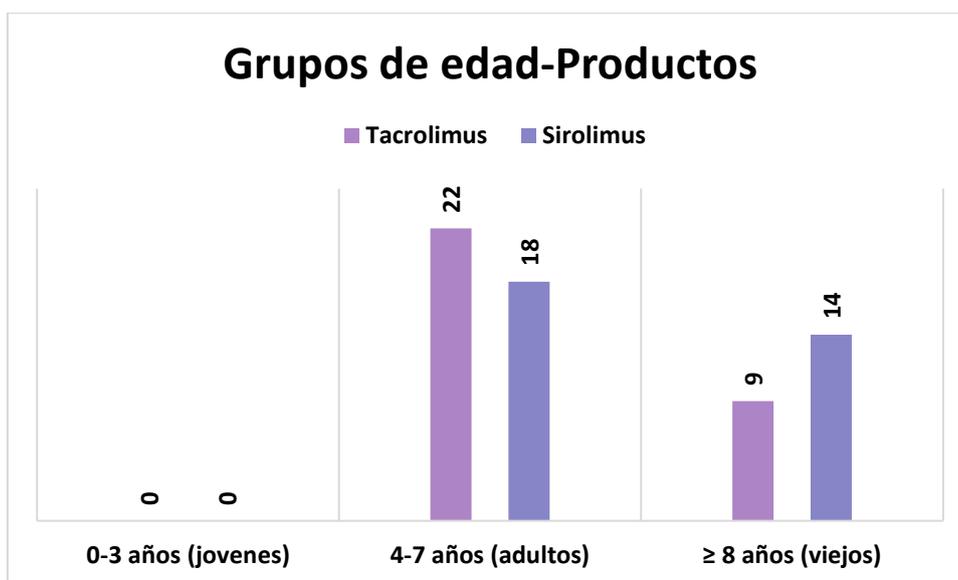


Gráfico 9. Productos y grupos de edad.

2- Género

En cuanto a la distribución por género, en el grupo 1 de tacrolimus se incluyeron 13 ojos de hembras y 18 ojos de machos, mientras que en el grupo 2 de sirolimus fueron 14 ojos de hembras y 18 ojos de machos.

- a. Distribución de ojos tratados por género representada en tablas

Tabla 4. Productos y sexo.

		PRODUCTOS		Total
		Tacrolimus	Sirolimus	
SEXO	Hembra	13 (n)	14 (n)	27 (n)
	Macho	18 (n)	18 (n)	36 (n)
Total		31 (n)	32 (n)	63 (n)

Tabla 5. Productos y fertilidad.

		PRODUCTOS		Total
		Tacrolimus	Sirolimus	
FERTILIDAD	Castrado	8 (n)	10 (n)	18 (n)
	Entero	23 (n)	22 (n)	45 (n)
Total		31 (n)	32 (n)	63 (n)

b. Distribución de ojos tratados por género representado en gráficos

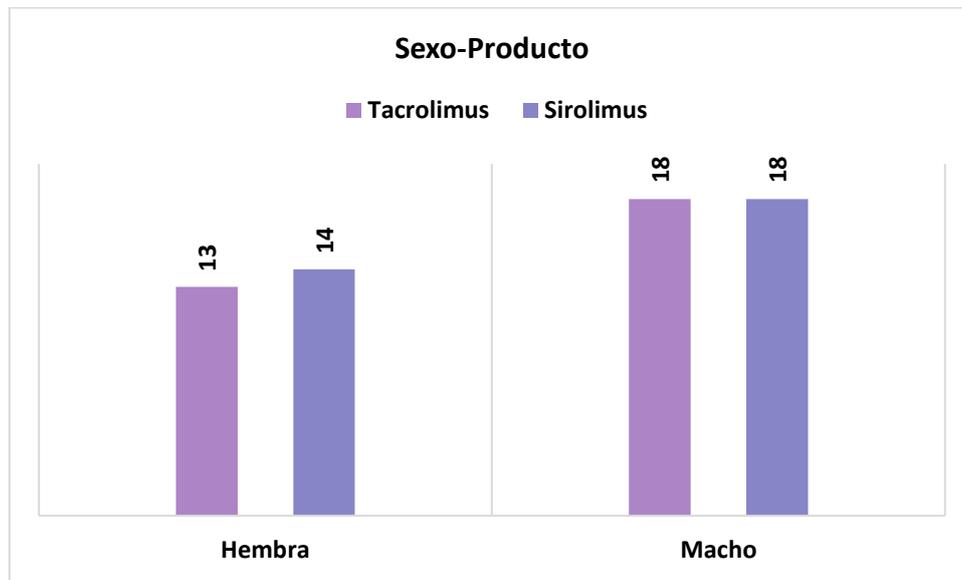


Gráfico 10. Productos y sexo.

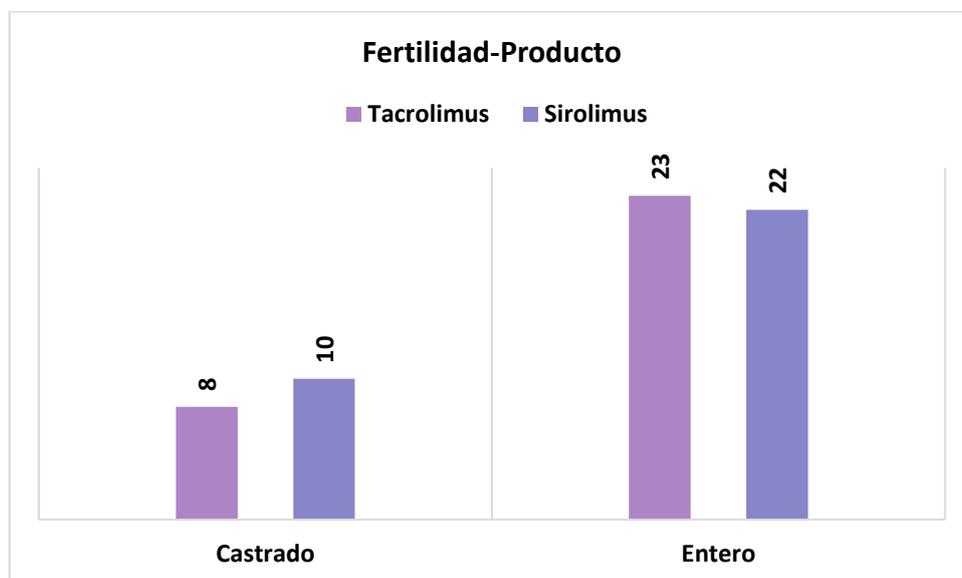


Gráfico 11. Productos y fertilidad.

4- Capa

Con la finalidad de estudiar si la capa es un factor predisponente de esta patología, la distribución de los animales en los dos grupos tratados y según los grupos de capa: claras y oscura, se muestra en la tabla siguiente.

- a. Distribución de ojos tratados por grupos de capas representada en tabla

Tabla 6. Productos y grupos de capas.

		PRODUCTOS		Total
		Tacrolimus	Sirolimus	
GRUPOS DE CAPAS	Oscura	8 (n)	4 (n)	12 (n)
	Claros	23 (n)	28 (n)	51 (n)
Total		31 (n)	32 (n)	63 (n)

- b. Distribución de ojos tratados por grupos de capas representada en gráfico

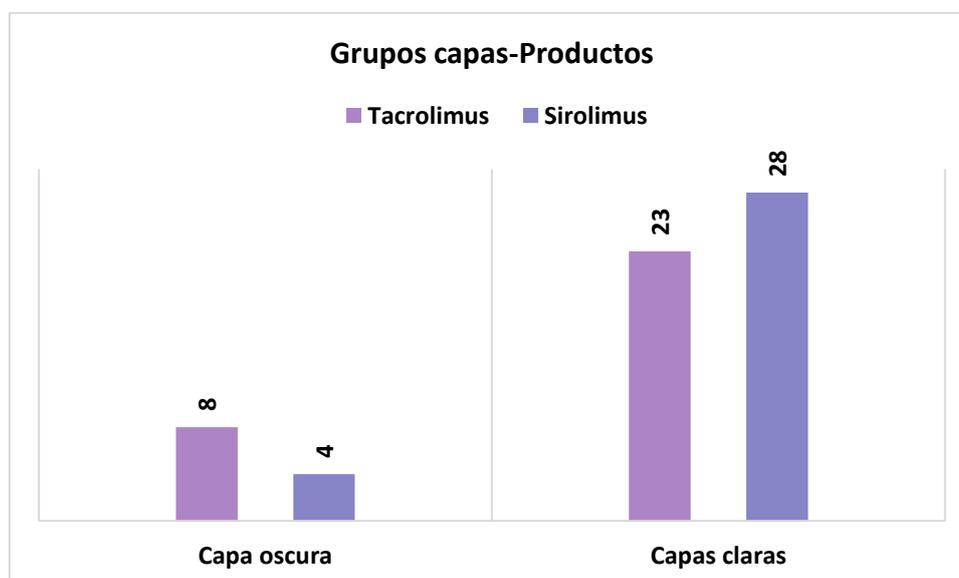


Gráfico 12. Productos y grupos de capas.

5- Severidad

La distribución de ojos tratados en cada grupo y según la severidad de la PK está representada en tabla 7 y gráfico 13:

a. Distribución de ojos tratados por severidad representada en tabla

Tabla 7. Productos y severidad.

		PRODUCTOS		Total
		Tacrolimus	Sirolimus	
SEVERIDAD	Muy leve	4 (n)	2 (n)	6 (n)
	Leve	7 (n)	4 (n)	11 (n)
	Moderada	14 (n)	12 (n)	26 (n)
	Severa	6 (n)	14 (n)	20 (n)
Total		31 (n)	32 (n)	63 (n)

b. Distribución de ojos tratados por severidad representada en gráfico

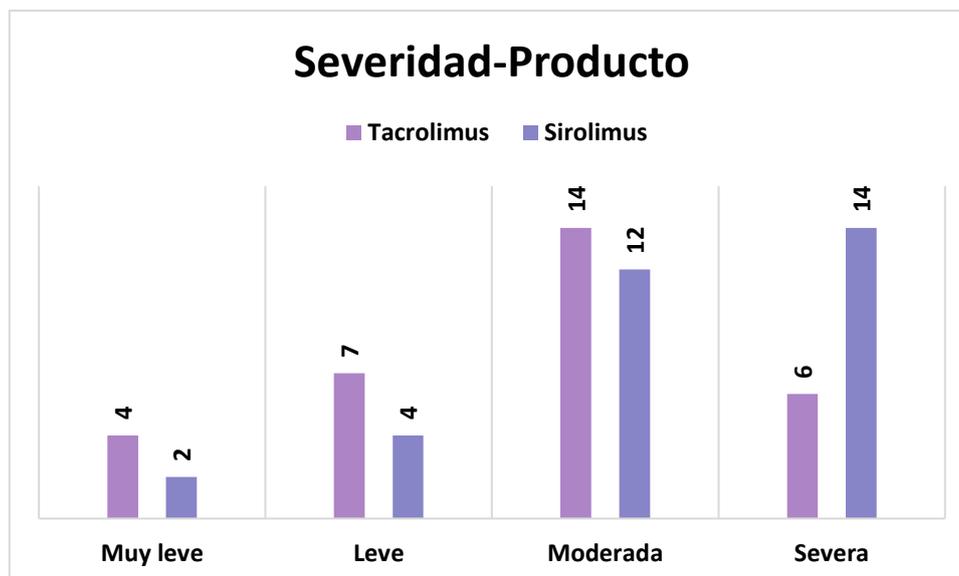


Gráfico 13. Productos y severidad.

3.7. Información al propietario

Los propietarios fueron informados por escrito sobre el estudio y firmaron un consentimiento para participar en él (anexo III). También se les explicó y se les dio por escrito la manera correcta de aplicar los tratamientos (anexo IV).

3.8. Descripción de los tratamientos objeto de estudio

Los fármacos tacrolimus y sirolimus utilizados en el estudio fueron fórmulas magistrales realizadas por la Farmacia Amenabar (AM PHARMA) mediante presentación en colirio al 0,03% de principio activo (tacrolimus o sirolimus) 3 mg y excipientes y conservantes en C.S.P. 10 ml.

La Fórmula magistral se define según el Real Decreto 175/2001, de 23 de febrero, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficinales, como: *“El medicamento destinado a un paciente individualizado, preparado por el farmacéutico, o bajo su dirección, para cumplimentar expresamente una prescripción facultativa detallada de las sustancias medicinales que incluye, según las normas técnicas y científicas del arte farmacéutico, dispensado en su farmacia o servicio farmacéutico y con la debida información al usuario”*.

Ambos productos se preparan según el Procedimiento Normalizado de Trabajo (PNT) de elaboración de soluciones estériles. Además, los dos principios activos están disueltos en la misma disolución, siendo ésta una disolución acuosa. Tanto el conservante como el estabilizante son también iguales. Es por ello, que se pueden considerar que es la misma fórmula magistral, pero variando el inmunomodulador (tacrolimus o sirolimus).

Cada producto viene etiquetado con su composición, vía de aplicación, modo de uso, fecha de elaboración y caducidad e instrucciones en su interior, todo dentro de un recipiente de plástico cilíndrico que no permite la entrada de luz.



Figura 19. Presentación de los productos.

3.9. Revisiones

Los pacientes seleccionados fueron tratados y revisados cada 2 meses y durante un periodo de 6 meses. En las revisiones se evaluaba de nuevo el estado de la película lagrimal con el test de Schirmer de manera cuantitativa y con el tiempo de ruptura de la película lagrimal y el test Ferning de forma cualitativa, los signos clínicos, la retirada de pigmento con los indicadores de efectividad y la integridad de la superficie corneal con test de fluoresceína, se tomaban fotografías y se repetía la paquimetría lateral y medial con ello se pretendía teóricamente evaluar la retirada del pigmento a medida que este se retirara de la córnea.

3.9.1. Signos clínicos

Se evaluaron los siguientes signos clínicos: blefaroespasmos, hiperemia, prurito, edema corneal, vascularización corneal, infiltrado inflamatorio y pigmento en esclera. Todos éstos parámetros se calificaron en una escala de 5 puntos (1 = ausencia, 2 = ligera, 3 = moderado, 4 = avanzado, 5 = grave). La descarga ocular se clasificó como: ausente, serosa, mucosa o purulenta.

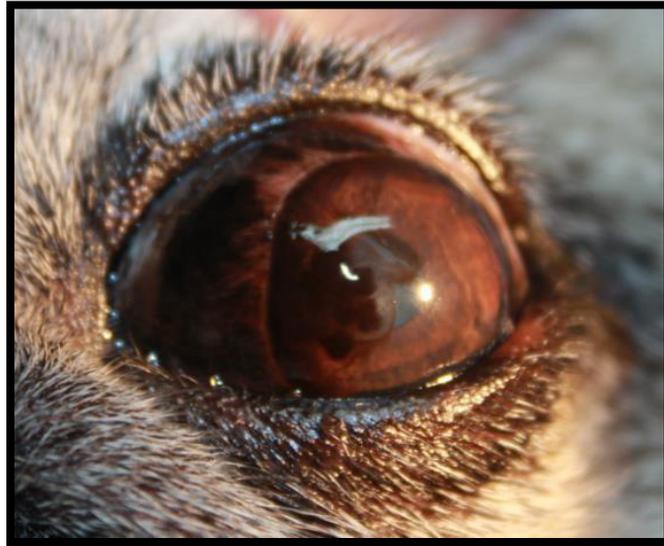


Figura 20. Pigmento en esclera avanzado.

3.9.2. Indicadores de efectividad

Además, se evaluaron los siguientes indicadores de efectividad:

- 1- Línea transparente: se definió la línea transparente a la línea que se forma cuando el pigmento se retira entre la pigmentación normal del limbo y la pigmentación corneal depositada en la córnea propia de la PK. Se clasificó en (1 = ausencia, 2 = leve, 3 = moderada, 4 = intensa).



Figura 21. Ejemplos de línea transparente.

- 2- Pigmento aclarado: se definió el pigmento aclarado como aquel pigmento que empieza a ser más translucido. Se calificaron en una escala de 5 puntos (1 = sin aclarado, 2 = aclarado leve, 3 = aclarado moderado, 4 = aclarado intenso) si el aclaramiento era gradual positivamente se seguía el orden numérico 2,3,4.



Figura 22. Antes del inicio del tratamiento. Figura 23. Pigmento aclarado, después del inicio del tratamiento.

- 3- Recuperación de transparencia: concepto que evalúa la sensación total a los 6 meses del tratamiento (1 = sin recuperación, 2 = leve, 3 = moderado, 4 = intenso).

3.9.3. Test fluoresceína

La ausencia o presencia de úlceras también fueron registradas y eran clasificadas en úlceras simples y úlceras complicadas. Las úlceras simples eran aquellas úlceras no infectadas, que se observaban de manera accidental en las revisiones cuando se teñía con fluoresceína sin presencia de ningún signo clínico y no eran motivo de exclusión del estudio y; sin embargo, las úlceras complicadas eran úlceras profundas que producían signos clínicos y sí eran motivo de interrupción del tratamiento.

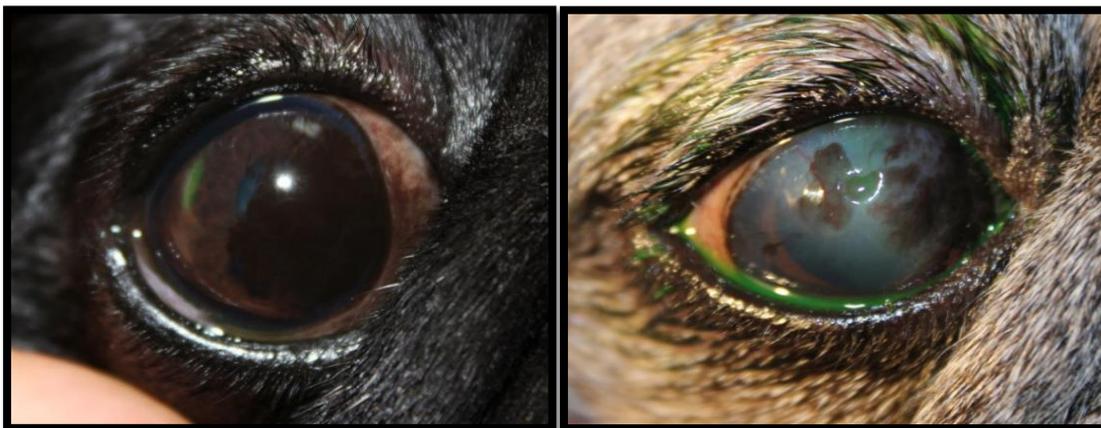


Figura 24. Úlcera simple.

Figura 25. Úlcera complicada.

3.10. Análisis estadístico de los resultados

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete informático IBM SPSS *Statistics* 23 para *Windows*.

Se consideraron valores estadísticamente significativos cuando el p-valor era inferior a 0,05.

Se dividió en cinco partes:

1º Estadístico descriptivo de los parámetros estudiados:

Se realizó un análisis de estadístico descriptivo para cada uno de los parámetros estudiados, se presenta los resultados de la frecuencia y los porcentajes válidos y en otras ocasiones la media, la desviación estándar, el máximo, el mínimo y el número “n” de los ojos o animales estudiados.

2º Relación de los factores predisponentes con la **presencia** de queratitis pigmentaria.

3º Relación de los factores predisponentes con la **severidad** de queratitis pigmentaria.

Para el estudio estadístico comparativo se utilizó la Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) cuando eran dos variables cualitativas, cuando el recuento era menor de 5 se utilizó la Prueba exacta de Fisher.

En el estudio de una variable cualitativa y otra cuantitativa se utilizó un análisis de la varianza (ANOVA). Se realizó una prueba de homogeneidad de la varianza

utilizando la Prueba de Levene para comparar la igualdad de las varianzas. En el caso de que los resultados fueran estadísticamente significativos se realizaba pruebas no paramétricas para muestras independientes mediante el contraste de hipótesis la U de Mann-Whittney y en otras ocasiones la Prueba de Kruskal-Wallis y tomar la decisión de si aceptar o rechazar la hipótesis nula.

Por otro lado, cuando existían diferencias estadísticamente significativas en los factores predisponentes estudiados, se determinó el riesgo mediante el cálculo de la *odds ratio* (OR) comparando el grupo severa de queratitis pigmentaria frente al resto de grupos.

Debemos aclarar que en muchos parámetros teníamos un recuento de 0. En estos casos no se realizaba el estudio estadístico ya que, al tener una prevalencia de la enfermedad muy alta, el análisis estadístico podría desvirtuar los resultados, a causa de un reducido número de ojos que no presentan queratitis pigmentaria. En estos casos se realizó solamente un análisis descriptivo.

4º Estudio **individualizado** de la eficacia del tacrolimus y el sirolimus

5º Estudio **comparativo** de la eficacia de tacrolimus y sirolimus

En el estudio de algunos parámetros se detectó mediante la Prueba Kolmogorov-Smirnov que tenían una distribución que no se ajustaba a la normalidad. Por lo tanto, para el estudio de medidas repetidas, variables cualitativas, se utilizó la Prueba de Friedman para determinar las puntuaciones clínicas subjetivas dentro del estudio de eficacia y para las variables cuantitativas, se usó la Prueba de Wilcoxon.

RESULTADOS



4. RESULTADOS

4.1. PRIMERA FASE

4.1.1. Resultados generales-factores predisponentes

4.1.1.1. Prevalencia de la queratitis pigmentaria

En la tabla 8 y gráfica 14 se muestran los resultados de la prevalencia de queratitis pigmentaria del presente estudio. De los 110 perros incluidos, se muestran resultados para 219 ojos, debido a que uno de los animales se le había realizado una enucleación no relacionado con el estudio. Analizados los resultados, se observaron que 207 ojos presentaban la enfermedad (94,50 %); por lo que sólo 12 ojos fueron considerados sanos (5,50 %). Además, la prevalencia de la PK en OD y OS fue la misma como observamos en la tabla 9:

Tabla 8 y gráfica 14. Prevalencia de queratitis pigmentaria.

QUERATITIS PIGMENTARIA		
	Frecuencia	Porcentaje
Sí	207 (n)	94,50%
No	12 (n)	5,50%
Total	219 (n)	100%

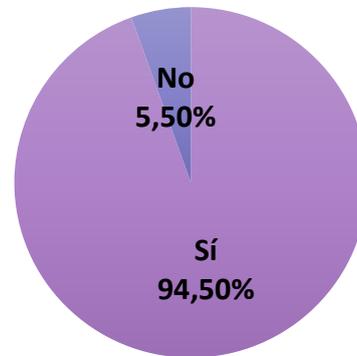


Tabla 9. Prevalencia PK en OD y OS.

		Queratitis pigmentaria		Total
		Sí	No	
OJOS	Ojos derechos	104 (n)	6 (n)	110 (n)
	Ojos Izquierdos	103 (n)	6 (n)	109 (n)
Total		207 (n)	12 (n)	219 (n)

4.1.1.2. Severidad de la queratitis pigmentaria

La severidad de la enfermedad se clasificó siguiendo la clasificación descrita por Labelle *et al.* (2013), en el presente estudio observamos que de los 207 ojos que presentaban la enfermedad, se distribuían según la gravedad de la queratitis pigmentaria tal y como hemos representado en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 10. Frecuencias y porcentajes de la clasificación de la severidad.

	Muy leve	Leve	Moderada	Severa	Total
Frecuencia	42 (n)	34 (n)	79 (n)	52 (n)	207 (n)
Porcentaje	20,30%	16,40%	38,20%	25,10%	100%

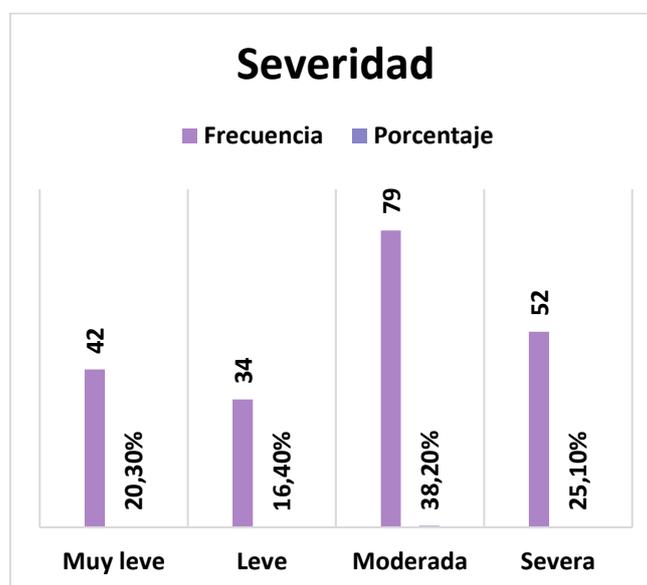


Gráfico 15. Clasificación de la severidad de la PK.

4.1.1.3. Enfermedades anteriores

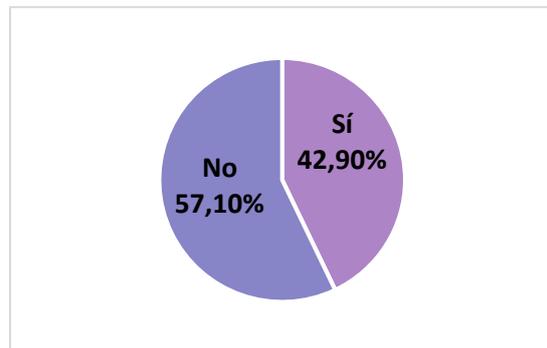
En los siguientes gráficos se representan los resultados obtenidos de la encuesta epidemiológica realizada a cada propietario o cuidador relativos a los antecedentes clínicos de cada animal. Por un lado, se representan los datos sobre si habían padecido enfermedades oculares anteriores y si éstas han sido tratadas de manera médica o quirúrgica y; por otro lado, si han padecido o padecen una enfermedad sistémica.

4.1.1.3.1. Enfermedades oculares

Del total de 219 ojos explorados en el presente estudio, n=94 (42,90%) habían padecido enfermedades oculares anteriores, mientras que n=125 (57,10%) no habían tenido problemas oculares nunca según el propietario o cuidador, como vemos representado en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 11 y gráfico 16. Enfermedades oculares previas.

ENFERMEDADES OCULARES		
	Frecuencia	Porcentaje
Sí	94 (n)	42,90%
No	125 (n)	57,10%
Total	219 (n)	100%



Las enfermedades más comunes descritas por el propietario o cuidador se representan en el gráfico 17:

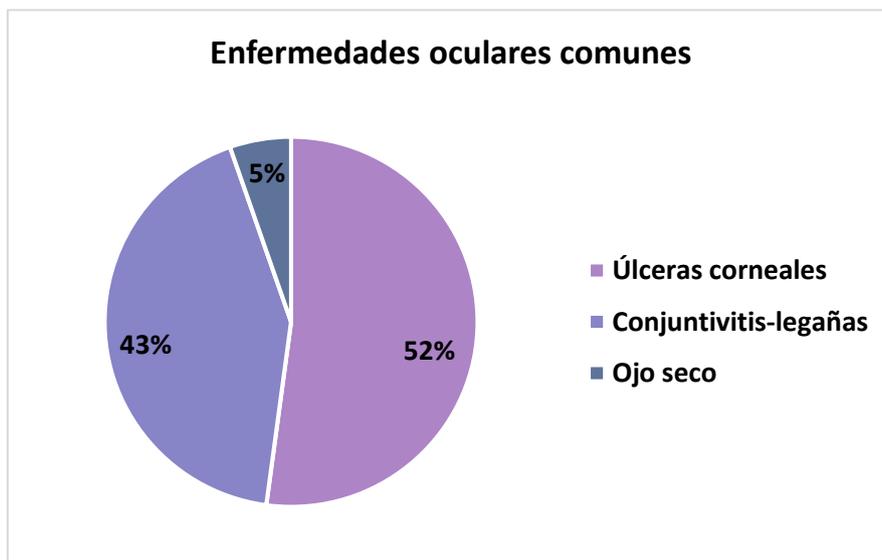


Gráfico 17 Clasificación de enfermedades oculares.

4.1.1.3.1.1. Tratamientos anteriores

Se tuvo especial atención a la existencia de tratamientos médicos utilizando inmunosupresores tópicos. La mayoría de la población de estudio, n=93 animales (84,50%) no se había tratado médicamente con inmunosupresores tópicos desde hace 6 meses. En cambio, n=17 animales (15,50%) estaban siendo tratados o habían sido tratados hace menos de 6 meses con inmunosupresores tópicos. Concretamente los fármacos empleados fueron ciclosporina o tacrolimus.

En un porcentaje similar encontramos la población de estudio tratada quirúrgicamente de alteraciones palpebrales (cantoplastia nasal), n=16 animales (14,50%). La mayoría de los animales estudiados, n=94 animales (85,50%) no habían sido tratados quirúrgicamente.

En las siguientes tablas y gráficos podemos observar la frecuencia y porcentaje de los tratamientos anteriores que los animales de estudio habían recibido anteriormente:

Tabla 12. Tratamientos quirúrgicos anteriores.

	TRATAMIENTOS MÉDICOS	
	Frecuencia	Porcentaje
Sí	17 (n)	15,50%
No	93 (n)	84,50%
Total	110 (n)	100%

Tabla 13. Tratamientos médicos anteriores.

	TRATAMIENTOS QUIRÚRGICOS	
	Frecuencia	Porcentaje
Sí	16 (n)	14,50%
No	94 (n)	85,50%
Total	110 (n)	100%

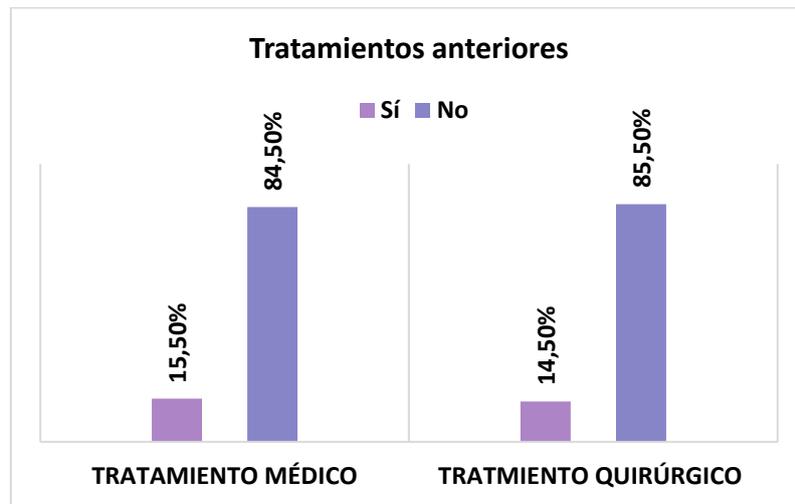


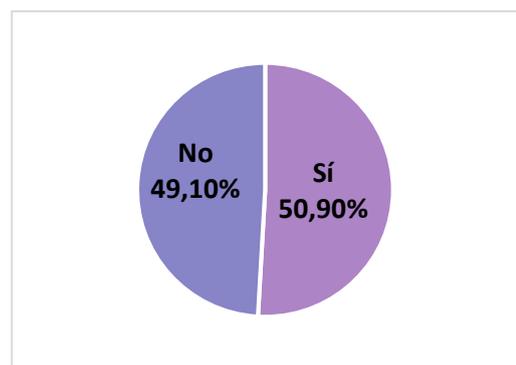
Gráfico 18. Tratamientos anteriores.

4.1.1.3.2. Enfermedades sistémicas

De los animales estudiados un 50,90% (n=56) había padecido o padecía una enfermedad sistémica como podemos observar en la tabla y gráfico que vemos a continuación:

Tabla 14 y gráfico 19. Enfermedades sistémicas.

ENFERMEDADES SISTÉMICAS		
	Frecuencia	Porcentaje
Sí	56 (n)	50,90%
No	54 (n)	49,10%
Total	110 (n)	100%



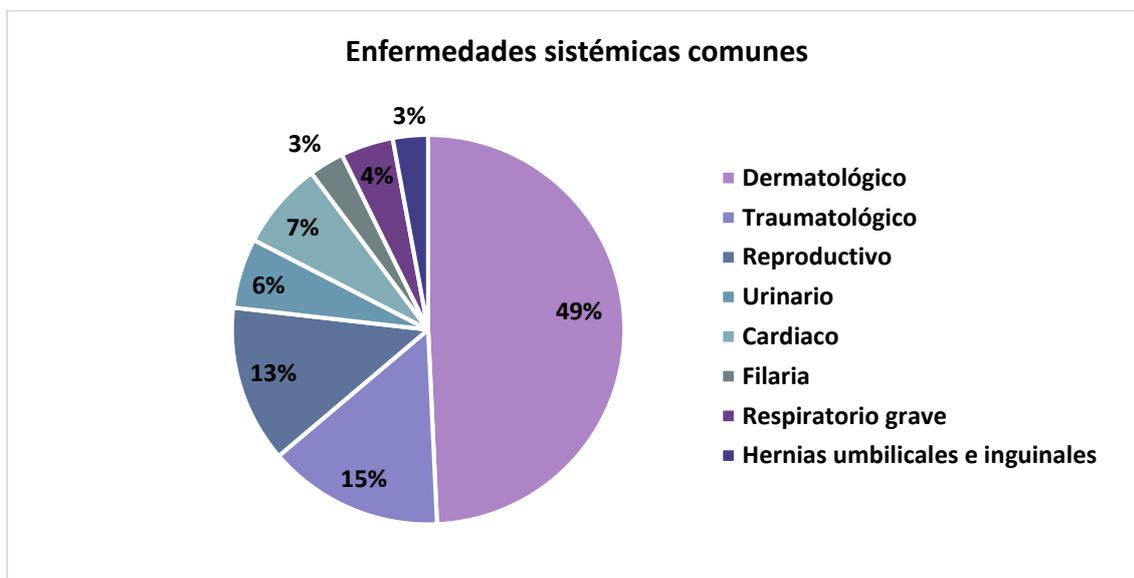


Gráfico 20. Clasificación de enfermedades sistémicas.

Las enfermedades sistémicas que se encontraron en los animales están representadas en el gráfico 20. Todos los animales presentaban dificultades respiratorias propias de la raza (síndrome respiratorio braquiocefálico) pero sólo se consideró enfermedad sistémica cuando dichas dificultades les impedía una vida normal, necesitando incluso cirugía correctora para dicho síndrome.

Los problemas dermatológicos eran los más frecuentes sobre todo las atopias y las otitis.

4.1.1.4. Pigmento en esclera

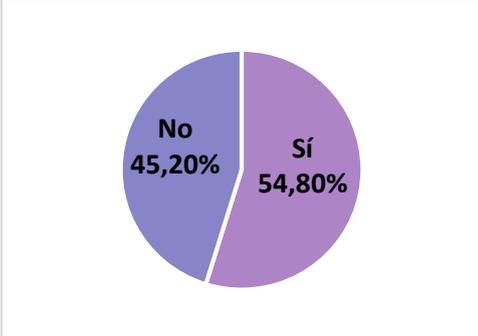
En el 100% de los animales explorados se observó pigmento en la esclera. Éste se encontraba en la zona medial y normalmente de forma más marcada en los animales que presentaban queratitis pigmentaria.

4.1.1.5. Vasos corneales

En la exploración oftalmológica realizada a la población de estudio se exploró y anotó si existía la presencia de vascularización en la córnea de cada ojo y resultó que, de 219 ojos explorados presentaban vascularización corneal $n=120$ ojos (54,80 %). Dichos datos están representados en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 15 y gráfico 21. Vasos corneales.

VASOS CORNEALES		
	Frecuencia	Porcentaje
Sí	120 (n)	54,80%
No	99 (n)	45,20%
Total	219 (n)	100%



4.1.1.6. Alteraciones palpebrales

En la exploración oftalmológica se estudió la presencia de las siguientes alteraciones palpebrales: euribléfaron, triquiasis del pliegue nasal, triquiasis de la carúncula, distiquiasis y entropion nasal superior e inferior.

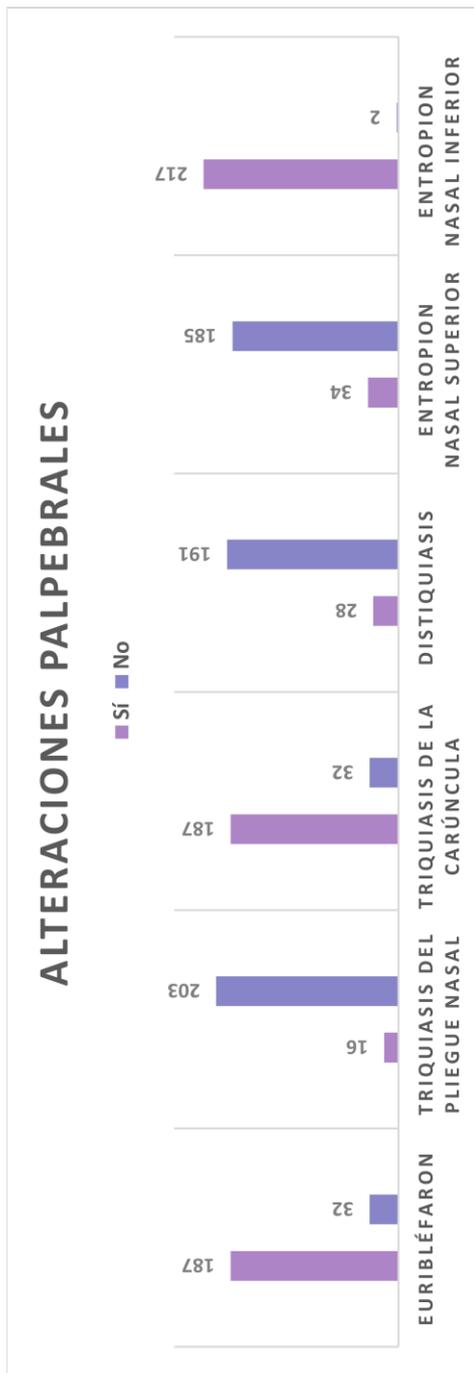
Todos los animales explorados presentaban euribléfaron y triquiasis de la carúncula con la excepción de los 16 animales (n=32 ojos) que habían sido tratados quirúrgicamente de dicha alteración. Además, sólo 1 animal (n=2 ojos) no presentaba entropion nasal inferior, el cual había sido sometido también a corrección quirúrgica, el resto n= 217 ojos (99,10%) presentaban entropión nasal inferior.

Las demás alteraciones las encontramos en n= 16 ojos (7,30%) la triquiasis del pliegue nasal, en n=28 ojos (12,80%) la presencia de distiquias y en n=34 ojos (15,50%) entropion nasal superior.

Los resultados de las alteraciones palpebrales están representados en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 16 y gráfico 22. Alteraciones palpebrales.

ALTERACIONES PALPEBRALES						
	Euribléfaron	Triquiasis del pliegue nasal	Triquiasis de la carúncula	Distiquiasis	Entropion nasal superior	Entropion nasal inferior
Sí	Frecuencia (n) Porcentaje	16 7,30%	187 85,40%	28 12,80%	34 15,50%	217 99,10%
No	Frecuencia (n) Porcentaje	203 92,70%	32 14,60%	191 87,20%	185 84,50%	2 0,9%
Totales	Total frecuencia (n) Total porcentaje	219 100%	219 100%	219 100%	219 100%	219 100%



4.1.1.7. Alteraciones del iris

Como parte de la exploración del segmento anterior ocular, se determinó la existencia de alteraciones del iris. Esto se realizó a todos los animales excepto a los primeros 20 animales.

La mayoría de las alteraciones del iris eran hipoplasias de iris y membranas pupilares persistentes. También se encontró de manera anecdótica discoria en uno de los animales explorados, un quiste de iris en otro y atrofas de iris en animales mayores, de forma bilateral en un animal y en dos animales de forma unilateral.

Como vemos representado se encontró hipoplasia de iris en n= 68 ojos (46,60%) y membranas pupilares persistentes en n= 84 ojos (57,50%) estas persistencias fueron clasificadas como tipo II ya que todas las bridas iban de iris a iris.

Los ojos perdidos, n=74, son la suma de aquellos que inicialmente no se les exploró el iris y aquellos que presentaba una queratitis pigmentaria tan severa, que el pigmento ocupaba el 100% de la córnea y no era posible explorar el segmento anterior con los métodos de exploración utilizados.

En las siguientes tablas y gráfico podemos observar las hipoplasias de iris y membranas pupilares persistentes observadas:

Tabla 17. Hipoplasia de iris.

HIPOPLASIA DE IRIS			
		Frecuencia	Porcentaje válido
Válido	Sí	68 (n)	46,60 (%)
	No	78 (n)	53,40 (%)
	Total	146 (n)	100,0 (%)
Perdidos	Sistema	74 (n)	
Total		220 (n)	

Tabla 18. Membranas pupilares persistentes.

MEMBRANAS PUPILARES PERSISTENTES			
		Frecuencia	Porcentaje válido
Válido	Sí	84 (n)	57,50 (n)
	No	62 (n)	42,50 (n)
	Total	146 (n)	100,0 (n)
Perdidos	Sistema	74 (n)	
Total		220 (n)	

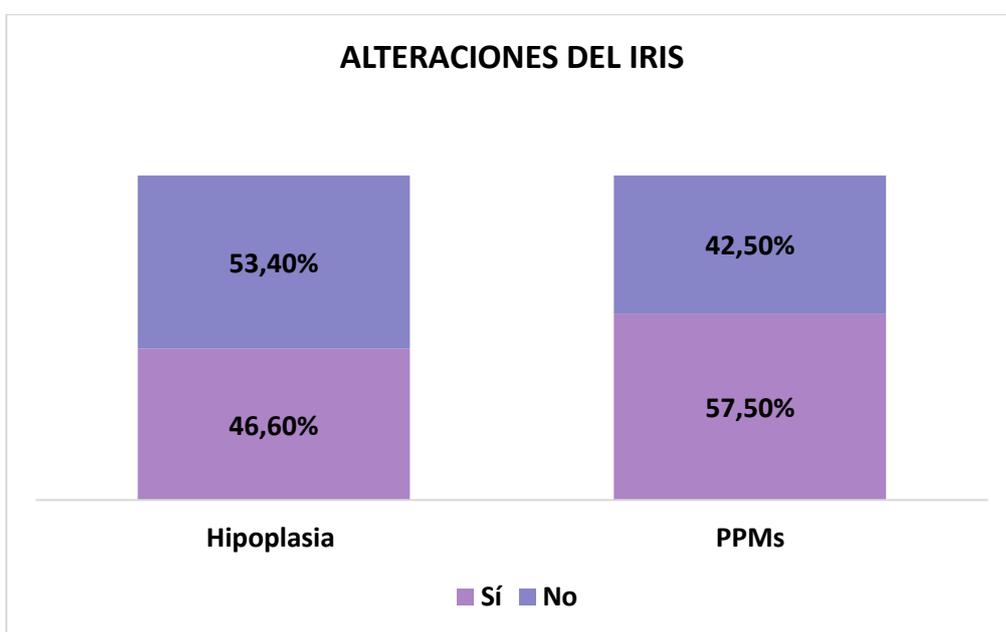


Gráfico 23. Alteraciones del iris.

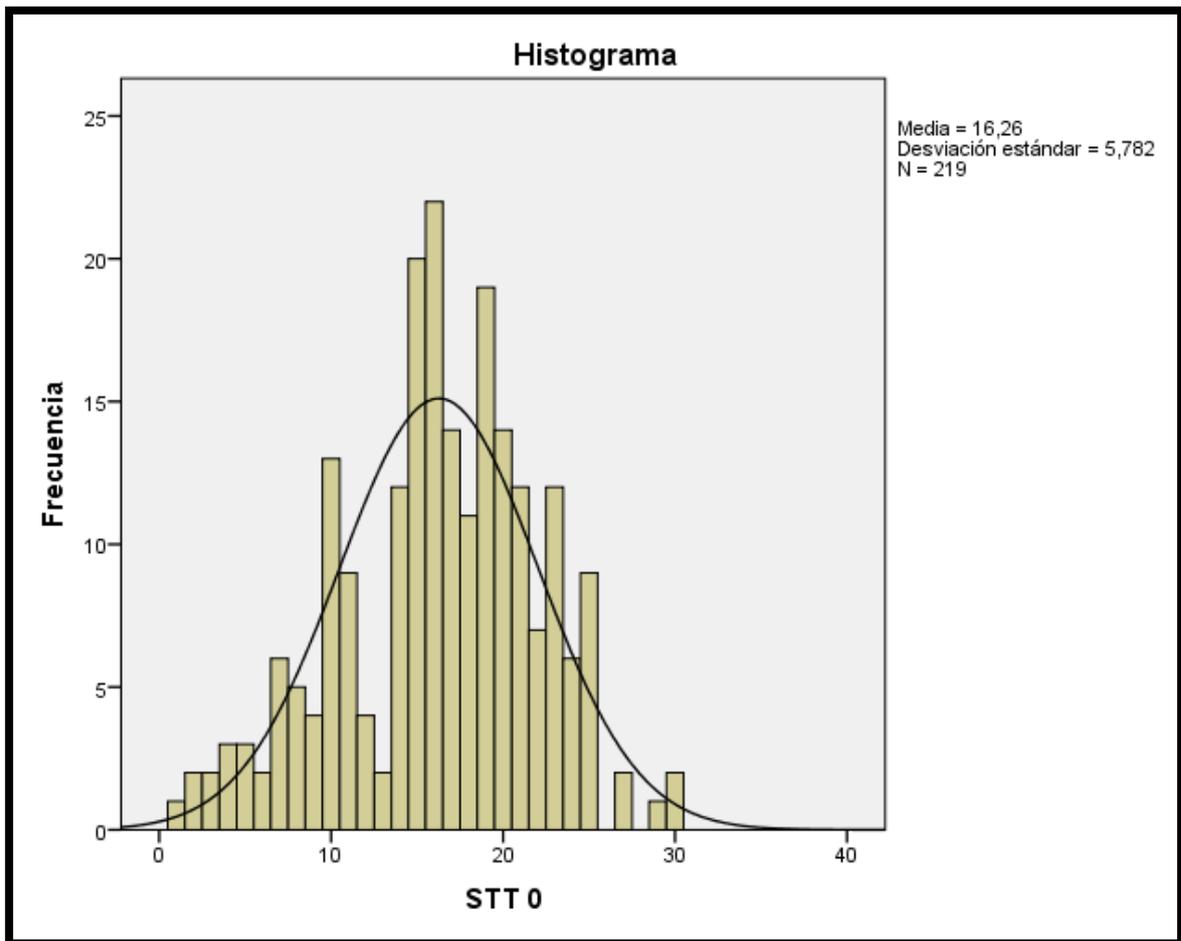
4.1.1.8. Lágrima

4.1.1.8.1. Test de Schirmer

Como parte de la exploración oftalmológica, a todos los animales del presente estudio se les determinó la cantidad de lágrima de cada ojo con el test de Schirmer. Los resultados obtenidos se expresan en la siguiente tabla e histograma:

Tabla 19. Test de Schirmer.

TEST DE SCHIRMER					
n	Media (mm/min)	Desviación estándar	Mínima	Máxima	Error estándar
219	16,26	5,782	1	30	0,391



Histograma 1. Test de Schirmer.

4.1.1.8.2. Test de Ferning

Siguiendo con el estudio de la lágrima, se midió la calidad de la misma de manera cualitativa mediante el test de Ferning en cada ojo del estudio excepto a los 20 primeros animales. Los resultados de esta prueba se clasificaron de acuerdo a la escala de Rolando (1984) en: tipo I, tipo II, tipo III y tipo IV.

La frecuencia y el porcentaje obtenido de este test de Ferning lo encontramos representado en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 20. Test de Ferning.

TEST DE FERNING			
		Frecuencia	Porcentaje válido
Válido	Tipo I	23 (n)	12,80 (%)
	Tipo II	69 (n)	38,50 (%)
	Tipo III	53 (n)	29,60 (%)
	Tipo IV	34 (n)	19,00 (%)
	Total	179 (n)	100,0 (%)
Perdidos	Sistema	41 (n)	
Total		220 (n)	

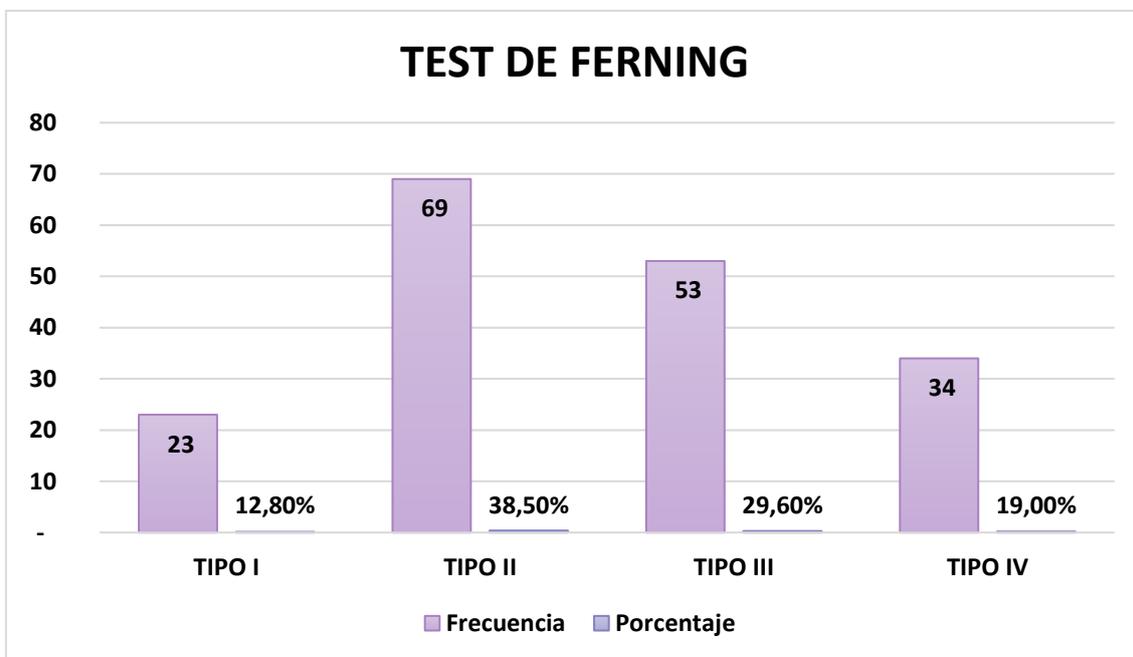


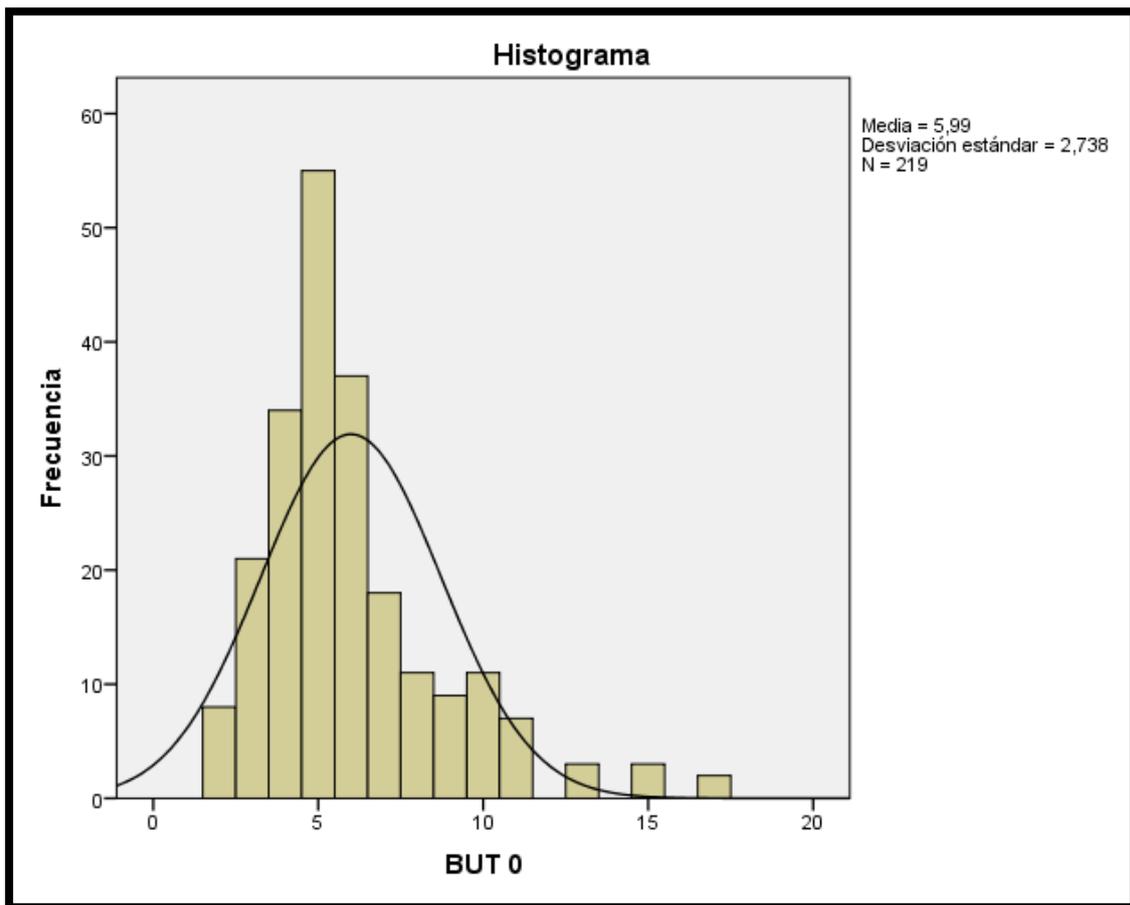
Gráfico 24. Test de Ferning.

4.1.1.8.3. Tiempo de ruptura de la película lagrimal

Se utilizó también el tiempo de ruptura de la película lagrimal, como método para determinar cualitativamente la lágrima de cada ojo. Los datos obtenidos de dicho valor expresados en segundos se detallan en la siguiente tabla e histograma:

Tabla 21. Tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Tiempo de ruptura de la película lagrimal					
n	Media (segundos)	Desviación estándar	Mínima	Máxima	Error estándar
219	5,99	2,738	2	17	0,185



Histograma 2. Tiempo de ruptura de la película lagrimal.

4.1.1.9. Sensibilidad corneal

Para evaluar la sensibilidad de la córnea se utilizó una estensimetría cualitativa dividida en fina y gruesa. Los resultados se expresaron mediante la clasificación siguiente: positiva, disminuida y negativa.

RESULTADOS

Como podemos observar en las siguientes tablas y gráfico, ningún animal presentaba una respuesta positiva a la sensibilidad fina, la mayoría presentaba una sensibilidad fina negativa $n=148$ ojos (67,60%) y disminuida sólo $n= 71$ ojos (32,40 %). En cuanto a la sensibilidad gruesa, sí existían ojos con sensibilidad positiva pero sólo $n=22$ (10%), el mismo número de ojos y porcentaje se clasificaba como negativa y la mayoría presentó una sensibilidad gruesa disminuida $n=175$ (79,90%).

Tabla 22. Sensibilidad fina.

SENSIBILIDAD FINA			
		Frecuencia	Porcentaje válido
Válido	Negativa	148 (n)	67,60 (%)
	Disminuida	71 (n)	32,40 (%)
	Total	219 (n)	100,0 (%)
Perdidos	Sistema	1 (n)	
Total		220 (n)	

Tabla 23. Sensibilidad gruesa.

SENSIBILIDAD GRUESA			
		Frecuencia	Porcentaje válido
Válido	Negativa	22 (n)	10,0 (%)
	Disminuida	175 (n)	79,90 (%)
	Positiva	22 (n)	10,0 (%)
	Total	219 (n)	100,0 (%)
Perdidos	Sistema	1 (n)	
Total		220 (n)	

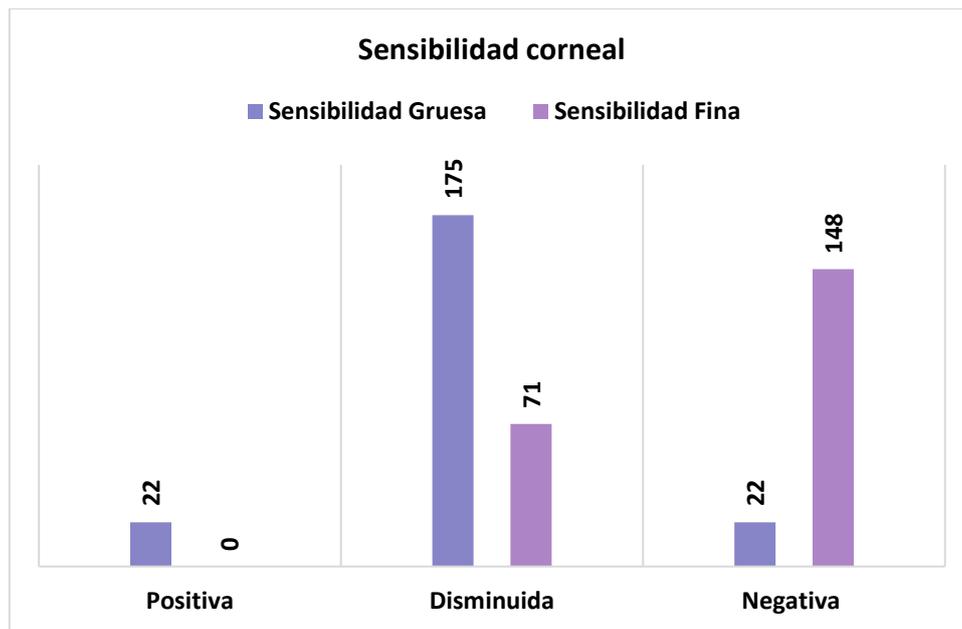


Gráfico 25. Sensibilidad corneal cualitativa.

4.1.1.10. Paquimetría ultrasónica

La paquimetría ultrasónica se determinó en 162 ojos en la córnea lateral y medial con la intención de evaluar el aumento del espesor corneal producido por el pigmento depositado en la córnea en aquellos animales que presentaban queratitis pigmentaria.

Los resultados están representados en la siguiente tabla:

Tabla 24. Paquimetría ultrasónica.

	n	Media (µm)	Desviación estándar	Mínima	Máxima	Error estándar
Paquimetría medial	162	761,98	144,778	508	1114	11,375
Paquimetría lateral	162	697,94	134,153	505	1100	10,540

4.1.2. Relación de la presencia de queratitis pigmentaria con los factores predisponentes

Con la finalidad de determinar la posible relación de los factores predisponentes con la presencia o no de queratitis pigmentaria se utilizó la Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) cuando ambas variables eran cualitativas y se calculó la Prueba exacta de Fisher cuando el recuento era <5 .

Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) cuando una variable era cuantitativa y la otra cualitativa. Además, se calculó la *Odds Ratio* (OR), también denominada razón de probabilidad o estimación de riesgo, cuando se obtenía una significación estadística en el factor estudiado.

4.1.2.1. Edad

El estudio de relación entre los distintos grupos de edad y la presencia de queratitis pigmentaria en los ojos de muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre grupos; es por lo que se calculó la OR.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que tiene un mayor riesgo de padecer PK los animales del grupo de edad ≥ 8 años (OR: 16,676 95% IC: 3,183-87,372) frente al grupo más joven de 0 a 3 años. Los animales entre 4 a 7 años tienen un riesgo también más alto (OR: 14,961 95% IC: 3,524-63,515) comparado con los animales menores de 0 a 3 años. En cambio, entre el grupo de 4 a 7 años y ≥ 8 años no existen diferencias estadísticamente significativo ($p=0,906$).

Lo vemos representado en las siguientes tablas:

Tabla 25. Queratitis pigmentaria y grupos de edad.

		Grupos de edad			Total
		0-3 años	4-7 años	≥ 8 años	
Queratitis pigmentaria	Sí	17 (n)	109 (n)	81 (n)	207 (n)
	No	7 (n)	3 (n)	2 (n)	12 (n)
Total		24 (n)	112 (n)	83 (n)	219 (n)
p < 0,001					
$\chi^2 = 29,207$					

Tabla 26. Chi-cuadrado de Pearson y estimación de riesgo.

Chi-cuadrado OR	0-3 años	4-7 años	≥ 8 años
0-3 años		$\chi^2 = 20,356$ (p<0,001) OR: 14,961 95% IC: (3,524-63,515)	$\chi^2 = 17,301$ (p<0,001) OR: 16,676 95% IC: (3,183- 87,372)
4-7 años			$\chi^2 = 0,014$ (p=0,906) No estadísticamente significativo.
≥ 8 años			

4.1.2.2. Género

Al estudiar la comparación de resultados entre géneros, nuestro estudio demuestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras (p= 0,383). Tampoco encontramos diferencias cuando se comparaba el estado de fertilidad con la presencia o no de queratitis pigmentaria (p= 0,690), como se observa representado en las tablas 27 y 28, a continuación:

Tabla 27. Queratitis pigmentaria y sexo.

		Sexo		Total
		Hembra	Macho	
Queratitis pigmentaria	Sí	94 (n)	113 (n)	207 (n)
	No	7 (n)	5 (n)	12 (n)
Total		101 (n)	118 (n)	219 (n)
p= 0,383. No estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 0,762$				

Tabla 28. Queratitis pigmentaria y fertilidad.

		Fertilidad		Total
		Castrado	Entero	
Queratitis pigmentaria	Sí	63 (n)	144 (n)	207 (n)
	No	3 (n)	9 (n)	12 (n)
Total		66 (n)	153 (n)	219 (n)
p= 0,690. No estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 0,159$				

4.1.2.3. Capa

Las capas se dividieron en dos grupos, capa oscura y capas claras, para poder estudiar su relación con la presencia de queratitis pigmentaria. Según los resultados obtenidos no existen diferencias estadísticamente significativas (p=0,836). Los resultados se expresan en la tabla siguiente:

Tabla 29. Queratitis pigmentaria y grupos de capas.

		Grupos de capas		Total
		Oscura	Claras	
Queratitis pigmentaria	Sí	30 (n)	177 (n)	207 (n)
	No	2 (n)	10 (n)	12 (n)
Total		32 (n)	187 (n)	219 (n)
p= 0,836. No estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 0,43$				

4.1.2.4. Enfermedades oculares

Por otro lado, al relacionar la presencia de enfermedades oculares previas con la presencia de queratitis pigmentaria, observamos que todos los animales que habían tenido una enfermedad ocular previa tenían queratitis pigmentaria, como está representado en la siguiente tabla:

Tabla 30. Queratitis pigmentaria y enfermedades oculares previas.

		Enfermedades oculares		Total
		Sí	No	
Queratitis pigmentaria	Sí	94 (n)	113 (n)	207 (n)
	No	0 (n)	12 (n)	12 (n)
Total		94 (n)	125 (n)	219 (n)

4.1.2.5. Enfermedades sistémicas

En cuanto a la presencia de enfermedades sistémicas, encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p=0,015$) cuando las relacionamos con la presencia de queratitis pigmentaria; es por ello que se calcula el riesgo. Según nuestros resultados, aquellos animales que tienen una enfermedad sistémica tienen un riesgo mayor ($OR= 5,56195\%$ IC: 1,189-26,006) de padecer queratitis pigmentaria. Los resultados detallados se expresan en la tabla:

Tabla 31. Queratitis pigmentaria y enfermedades sistémicas.

		Enfermedades sistémicas		Total
		Sí	No	
Queratitis pigmentaria	Sí	109 (n)	98 (n)	207 (n)
	No	2 (n)	10 (n)	12 (n)
Total		111 (n)	108 (n)	219 (n)
p= 0,015				
$\chi^2 = 5,878$				
(OR= 5,561 95% IC: 1,189-26,006)				

4.1.2.6. Vasos corneales

La presencia de vasos en la córnea es un hallazgo patológico. En el presente estudio todos los animales (100%) que presentaban vasos sanguíneos corneales presentaban queratitis pigmentaria como está representado en la siguiente tabla:

Tabla 32. Queratitis pigmentaria y vasos corneales.

		Vasos corneales		Total
		Sí	No	
Queratitis pigmentaria	Sí	120 (n)	87 (n)	207 (n)
	No	0 (n)	12 (n)	12 (n)
Total		120 (n)	99 (n)	219 (n)

4.1.2.7. Alteraciones palpebrales

En el estudio de las alteraciones palpebrales y su posible relación con la presencia de queratitis pigmentaria, se obtuvo como resultado que ninguna alteración era estadísticamente significativa, ni la triquiasis del pliegue nasal ($p=0,888$), ni la distiquias ($p=0,679$), ni el entropion superior ($p=0,479$). Como la triquiasis de la carúncula y el euribléfaron estaban presentes en todos los animales, excepto en los operados, no se realizó estudio estadístico de estos factores. De forma similar ocurre con el entropion nasal inferior que sólo no estaba presente en 1 animal (2 ojos) que además también se había sometido a cirugía correctora de esta patología.

Los resultados detallados se representan en las siguientes tablas:

Tabla 33. Triquiasis del pliegue nasal.

		Triquiasis del pliegue nasal		
		Sí	No	Total
Queratitis pigmentaria	Sí	15 (n)	192 (n)	207 (n)
	No	1 (n)	11 (n)	12 (n)
	Total	16 (n)	203 (n)	219 (n)
p= 0,888.No estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 0,20$				

Tabla 34. Distiquias.

		Distiquias		
		Sí	No	Total
Queratitis pigmentaria	Sí	26 (n)	181 (n)	207 (n)
	No	2 (n)	10 (n)	12 (n)
	Total	28 (n)	191 (n)	219 (n)
p=0,679. No estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 0,172$				

Tabla 35. Entropion nasal superior.

		Entropion nasal superior		
		Sí	No	Total
Queratitis pigmentaria	Sí	33 (n)	174 (n)	207 (n)
	No	1 (n)	11 (n)	12 (n)
	Total	34 (n)	185 (n)	219 (n)
p=0,479. No estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 0,501$				

Tabla 36. Entropion nasal inferior.

		Entropion nasal inferior		
		Sí	No	Total
Queratitis pigmentaria	Sí	205 (n)	2 (n)	207 (n)
	No	12 (n)	0* (n)	12 (n)
	Total	217 (n)	2 (n)	219 (n)
*No existen animales sin entropion nasal inferior y sin queratitis pigmentaria.				

Tabla 37. Triquiiasis de la carúncula.

		Triquiiasis de la carúncula		
		Sí	No	Total
Queratitis pigmentaria	Sí	175 (n)	32 (n)	207 (n)
	No	12 (n)	0*(n)	12 (n)
	Total	187 (n)	32 (n)	219 (n)

*No existen animales sin triquiiasis caruncular y sin queratitis pigmentaria.

Tabla 38. Euribléfaron.

		Euribléfaron		
		Sí	No	Total
Queratitis pigmentaria	Sí	175 (n)	32 (n)	207 (n)
	No	12 (n)	0* (n)	12 (n)
	Total	187 (n)	32 (n)	219 (n)

*No existen animales sin euribléfaron y sin queratitis pigmentaria.

4.1.2.8. Alteraciones del iris

En cuanto a la presencia de alteraciones del iris, cuando las relacionamos con la presencia de queratitis pigmentaria no encontramos diferencias estadísticamente significativas ni en la presencia de hipoplasia de iris ni en las PPMs ($p=0,208$); ($p= 0,056$) respectivamente. Se representa en las siguientes tablas:

Tabla 39. Hipoplasia de iris

		Hipoplasia de iris		Total
		Sí	No	
Queratitis pigmentaria	Sí	66 (n)	72 (n)	138 (n)
	No	2 (n)	6 (n)	8 (n)
Total		68 (n)	78 (n)	146 (n)
p= 0,208				
$\chi^2 = 1,583$				

Tabla 40. Membranas pupilares persistentes.

		Membranas pupilares persistentes		Total
		Sí	No	
Queratitis pigmentaria	Sí	82 (n)	56 (n)	138 (n)
	No	2 (n)	6 (n)	8 (n)
Total		84 (n)	62 (n)	146 (n)
p= 0,056				
$\chi^2 = 3,667$				

Además, con la intención de comprobar si según nuestros resultados estos hallazgos puedan pertenecer a un síndrome de disgenesia del segmento anterior se relacionó también la hipoplasia de iris con las PPMs, según nuestros resultados no es estadísticamente significativo ($p=0,118$) como está representado en la tabla 41:

Tabla 41. Relación entre hipoplasia de iris y PPMs.

		Membranas pupilares persistentes		Total
		Sí	No	
Hipoplasia de iris	Sí	43 (n)	24 (n)	67 (n)
	No	40 (n)	38 (n)	78 (n)
Total		83 (n)	62 (n)	145 (n)
p= 0,118				
$\chi^2 = 2,449$				

4.1.2.9. Lágrima

4.1.2.9.1. Test de Schirmer

Se estudió la relación existente entre la cantidad de lágrima mediante los valores de test de Schirmer y la presencia de queratitis pigmentaria.

Con el propósito de estudiar si el estado de la película lagrimal influye en la presencia de la queratitis pigmentaria.

Nuestros resultados demuestran que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,102$). Los resultados quedan detallados en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 42. Queratitis pigmentaria y test de Schirmer.

Queratitis pigmentaria	Media (mm/min)	N	Desviación estándar	Error estándar de la media
Sí	16,11	207	5,854	0,407
No	18,92	12	3,579	1,033
Total	16,26	219	5,782	0,391

$p= 0,102$. No es estadísticamente significativo.

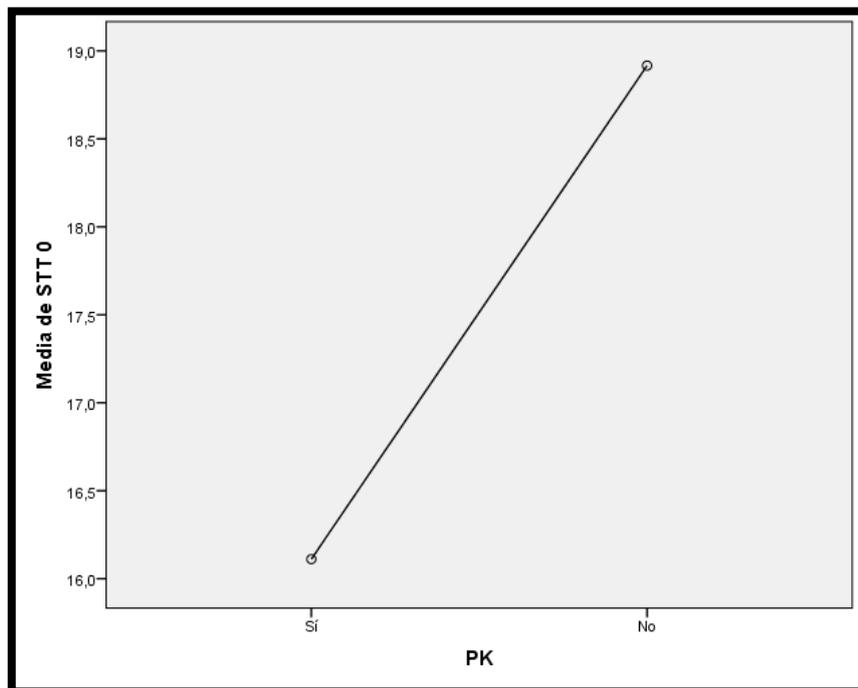


Gráfico 26. Queratitis pigmentaria y test de Schirmer.

4.1.2.9.2. Test de Ferning

Para evaluar si la calidad de la lágrima influye en la presencia de la queratitis pigmentaria se compararon los resultados del test de Ferning con la presencia de queratitis pigmentaria, obteniendo como resultado un valor no estadísticamente significativo ($p=0,408$). Sin embargo, tal y como se detalla en la siguiente tabla, no existe ningún ojo que no tenga queratitis pigmentaria y que tenga la calidad de la lágrima más baja, representada por el test de Ferning tipo IV.

Tabla 43. Queratitis pigmentaria y test de Ferning.

		TEST DE FERNING				Total
		Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV	
Queratitis pigmentaria	Sí	21 (n)	65 (n)	51 (n)	34 (n)	171 (n)
	No	2 (n)	4 (n)	2 (n)	0 (n)	8 (n)
Total		23 (n)	69 (n)	53 (n)	34 (n)	179 (n)
p= 0,408. No es estadísticamente significativo.						
$\chi^2 = 2,898$						

4.1.2.9.3. Tiempo de ruptura de la película lagrimal

Por otro lado, el estudio del tiempo de ruptura de la película lagrimal que también nos ayuda a evaluar la calidad de la lágrima, sí que demuestra diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,038$) en relación con la presencia de queratitis pigmentaria.

La media de BUT es mayor en aquellos animales que no tienen queratitis pigmentaria. Como se observa representado en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 44. Queratitis pigmentaria y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Queratitis pigmentaria	Media (segundos)	N	Desviación estándar	Error estándar de la media
Sí	5,90	207	2,742	0,191
No	7,58	12	2,193	0,633
Total	5,99	219	2,738	0,185
p= 0,038				

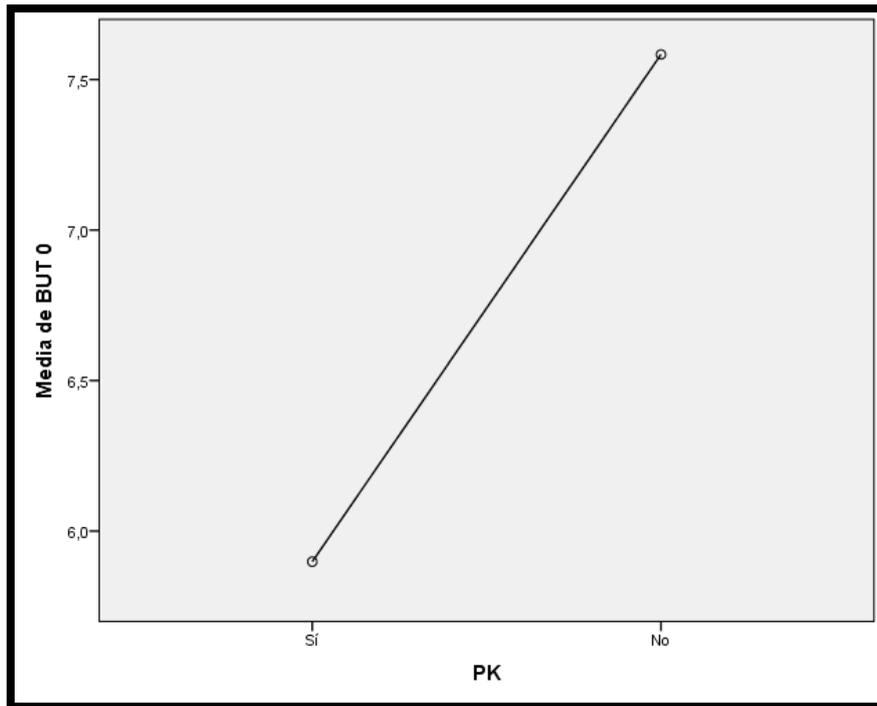


Gráfico 27. Queratitis pigmentaria y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

4.1.2.10. Sensibilidad corneal

Al estudiar la sensibilidad corneal, se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas ni en la sensibilidad fina ($p= 0,945$) ni en la gruesa ($p= 0,397$) como se detalla en las tablas 45 y 46:

Tabla 45. Queratitis pigmentaria y sensibilidad fina.

		Sensibilidad fina		Total
		Negativa	Disminuida	
Queratitis pigmentaria	Sí	140 (n)	67 (n)	207 (n)
	No	8 (n)	4 (n)	12 (n)
Total		148 (n)	71 (n)	219 (n)
p= 0,945. No estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 0,005$				

Tabla 46. Queratitis pigmentaria y sensibilidad gruesa.

		Sensibilidad gruesa			Total
		Negativa	Disminuida	Positiva	
Queratitis pigmentaria	Sí	22 (n)	165 (n)	20 (n)	207 (n)
	No	0 (n)	10 (n)	2 (n)	12 (n)
Total		22 (n)	175 (n)	22 (n)	219 (n)

p= 0,397. No estadísticamente significativo.

$\chi^2 = 1,848$

4.1.2.11. Paquimetría ultrasónica

En el estudio del espesor corneal realizado por la paquimetría ultrasónica para comprobar el cambio de espesor que sufre la córnea con el acúmulo de pigmento, nuestros resultados demuestran que existen diferencias estadísticamente significativas en la paquimetría medial (p= 0,001) y en la lateral (p= 0,014) cuanto comparamos a los grupos con y sin queratitis pigmentaria. Así mismo, nuestros resultados demuestran que el espesor corneal es mayor en las mediciones realizadas en el lado medial que en el lateral.

Como vemos representado en los gráficos y tabla siguiente:

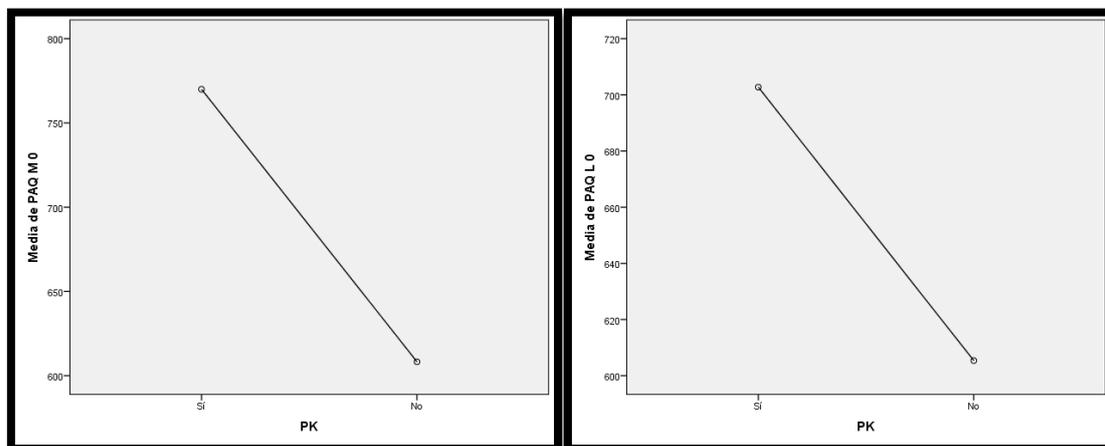


Gráfico 28 y 29. Queratitis pigmentaria y paquimetría medial (izqda.) y lateral (dcha.).

Tabla 47. Queratitis pigmentaria y paquimetría.

Queratitis pigmentaria		Paquimetría medial	Paquimetría lateral
Sí	Media (µm)	769,97	702,75
	N	154	154
	Desviación estándar	143,589	135,703
	Error estándar de la media	11,571	10,935
No	Media (µm)	608,25	605,38
	N	8	8
	Desviación estándar	55,110	33,573
	Error estándar de la media	19,484	11,870
Total	Media	761,98	697,94
	N	162	162
	Desviación estándar	144,778	134,153
	Error estándar de la media	11,375	10,540
p-valor		p = 0,001	p = 0,014

Para determinar si existe una correlación entre estas dos variables cuantitativas hemos calculado el coeficiente de regresión. Nuestros resultados demuestran que hay una correlación positiva entre ambas variables, con una recta de regresión:

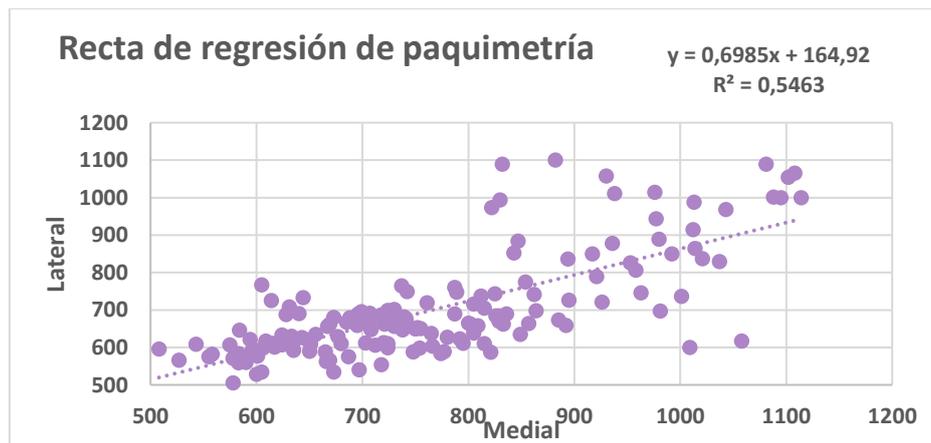


Gráfico 30. Recta de regresión de paquimetría.

4.1.3. Relación de la severidad de la queratitis pigmentaria con los factores predisponentes

Se evaluaron los mismos posibles factores predisponentes descritos anteriormente y se relacionaron con la severidad de la queratitis pigmentaria. Los resultados se expresan a continuación.

4.1.3.1. Edad

Nuestros resultados demuestran que cuanto mayor es la edad del animal, más severa es la queratitis pigmentaria que padecen nuestros pacientes. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Los resultados detallados se expresan a continuación en la tabla:

Tabla 48. Severidad y edad.

		GRUPOS DE EDAD			Total
		0-3 años	4-7 años	≥ 8 años	
Severidad	Muy leve	6 (n)	29 (n)	7 (n)	42 (n)
	Leve	4 (n)	21 (n)	9 (n)	34 (n)
	Moderada	7 (n)	41 (n)	31 (n)	79 (n)
	Severa	0 (n)	18 (n)	34 (n)	52 (n)
Total		17 (n)	109 (n)	81 (n)	207 (n)
p < 0,001					
$\chi^2 = 28,590$					

Con la finalidad de determinar el factor de riesgo relacionado con la edad del animal, comparamos nuestros resultados entre los grupos de animales jóvenes y adultos de manera conjunta (0 a 7 años) y el grupo de animales de mayor edad (≥ 8 años). Nuestros resultados demuestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos ($\chi^2 = 20,097$; $p < 0,001$) y se calculó el riesgo relacionado con la edad y el grupo severa de queratitis pigmentaria frente al resto resultando un OR= 4,340 95% IC: (2,230-8,449). Por lo tanto, según nuestros resultados los animales de edad más avanzada, tienen mayor riesgo de padecer una queratitis pigmentaria más severa.

4.1.3.2. Género

Por otro lado, se realizó el estudio de relación entre el sexo y el estado de fertilidad con la severidad de queratitis pigmentaria, demostrando que no existían diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,765$) y ($p= 0,103$) respectivamente. Los datos se detallan a continuación en las tablas 49 y 50:

Tabla 49. Severidad y sexo.

		SEXO		Total
		Hembra	Macho	
Severidad	Muy leve	19 (n)	23 (n)	42 (n)
	Leve	13 (n)	21 (n)	34 (n)
	Moderada	36 (n)	43 (n)	79 (n)
	Severa	26 (n)	26 (n)	52 (n)
Total		94 (n)	113 (n)	207 (n)
p= 0,765. No es estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 1,149$				

Tabla 50. Severidad y fertilidad.

		FERTILIDAD		Total
		Castrado	Entero	
Severidad	Muy leve	11 (n)	31 (n)	42 (n)
	Leve	5 (n)	29 (n)	34 (n)
	Moderada	28 (n)	51 (n)	79 (n)
	Severa	19 (n)	33 (n)	52 (n)
Total		63 (n)	144 (n)	207 (n)
p= 0,103. No es estadísticamente significativo.				
$\chi^2 = 6,181$				

Tampoco obtuvimos diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos el grupo severa de queratitis pigmentaria entre los dos sexos ($\chi^2 = 0,590$; $p=0,442$) ni entre los dos estados de fertilidad ($\chi^2 = 1,222$; $p=0,269$).

4.1.3.3. Capa

El estudio estadístico de nuestros resultados según las distintas capas estudiadas demostró diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,001$). Los resultados se describen en la siguiente tabla:

Tabla 51. Severidad y grupos de capas.

		GRUPOS DE CAPAS		Total
		Oscura	Claras	
Severidad	Muy leve	14 (n)	28 (n)	42 (n)
	Leve	6 (n)	28 (n)	34 (n)
	Moderada	5 (n)	74 (n)	79 (n)
	Severa	5 (n)	47 (n)	52 (n)
Total		30 (n)	177 (n)	207 (n)
p= 0,001				
$\chi^2 = 17,550$				

Sin embargo, al estudiar si existían diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de capas oscura y claras y el grupo severa de la PK no encontramos diferencias significativas ($\chi^2=1,333$; $p= 0,248$). Es por lo que, según nuestros resultados, la capa no es un factor de riesgo a pesar de los datos mostrados en la tabla 51.

4.1.3.4. Enfermedades oculares

Al estudiar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de severidad y la presencia de enfermedad ocular previa, nuestros resultados demuestran que sí existen diferencias ($p= 0,014$).

Además, calculando el riesgo estimado podemos decir que, si el animal ha tenido una enfermedad ocular previa, presenta un riesgo mayor de padecer una queratitis pigmentaria severa (OR= 2,400 95% IC: 1,260-4,572).

Los datos quedan representados en la siguiente tabla:

Tabla 52. Severidad y enfermedades oculares previas.

		ENFERMEDADES OCULARES		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	15 (n)	27 (n)	42 (n)
	Leve	10 (n)	24 (n)	34 (n)
	Moderada	37 (n)	42 (n)	79 (n)
	Severa*	32 (n)	20 (n)	52 (n)
Total		94 (n)	113 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 10,625$; $p= 0,014$				
*Se calculan las diferencias entre el grupo severa comparado con el resto ($\chi^2 = 7,287$; $p= 0,007$) , OR= 2,400 95% IC :(1,260-4,572)				

4.1.3.5. Enfermedades sistémicas

Según nuestros resultados existen diferencias estadísticamente significativas ($p=0,036$) entre grupos de severidad de la enfermedad y su relación con padecer una enfermedad sistémica. Sin embargo, al calcular si existían diferencias entre el grupo severa frente al resto de grupos, no obtuvimos diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2= 2,197$; $p= 0,138$).

La presencia de enfermedad sistémica no es un factor de riesgo según nuestros resultados.

Los datos se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 53. Severidad y enfermedades sistémicas.

		ENFERMEDADES SISTÉMICAS		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	14 (n)	28 (n)	42 (n)
	Leve	20 (n)	14 (n)	34 (n)
	Moderada	43 (n)	36 (n)	79 (n)
	Severa*	32 (n)	20 (n)	52 (n)
Total		109 (n)	98 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 8,555$; $p= 0,036$				
* No hay diferencias entre el grupo severa frente al resto ($\chi^2= 2,197$; $p= 0,138$).				

4.1.3.6. Vasos corneales

La presencia de vasos en córnea también demuestra diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) cuando comparamos los distintos grupos de severidad de la enfermedad. Si realizamos una comparación entre el grupo severa con el resto, obtenemos que sí existen diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 33,605$; $p < 0,001$) cuanto más severa es la queratitis pigmentaria mayor riesgo de presencia de vasos corneales y que según nuestros resultados sería $OR = 13,833$ 95% IC: (4,756- 40,238). Los resultados los encontramos representados en la siguiente tabla:

Tabla 54. Severidad y vasos corneales.

		VASOS CORNEALES		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	7 (n)	35 (n)	42 (n)
	Leve	7 (n)	27 (n)	34 (n)
	Moderada	58 (n)	21 (n)	79 (n)
	Severa*	48 (n)	4 (n)	52 (n)
Total		120 (n)	87 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 81,810$; $p < 0,001$				
*Se calculan las diferencias entre el grupo severa comparado con el resto ($\chi^2 = 33,605$; $p < 0,001$), $OR = 13,833$ 95% IC: (4,756-40,238).				

4.1.3.7. Alteraciones palpebrales

En cuanto a las alteraciones palpebrales, nuestros resultados muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas para ninguna de ellas, con la excepción de las distiquias; sin embargo, al realizar la comparación entre el grupo severa frente al resto, se demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=1,498$; $p=0,221$).

De igual forma que lo realizado anteriormente, para la triquiasis de la carúncula, el euribléfaron y el entropion inferior no se ha realizado el estudio estadístico.

Tabla 55. Severidad y triquiasis del pliegue nasal.

		TRIQUIASIS DEL PLIEGUE NASAL		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	3 (n)	39 (n)	42 (n)
	Leve	1 (n)	33 (n)	34 (n)
	Moderada	5 (n)	74 (n)	79 (n)
	Severa*	6 (n)	46 (n)	52 (n)
Total		15 (n)	192 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 2,462$; $p = 0,482$. No es estadísticamente significativo.				
* No hay diferencias entre el grupo severa frente al resto ($\chi^2=1,903$; $p=0,168$)				

Tabla 56. Severidad y distiquias.

		DISTIQUIASIS		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	11 (n)	31 (n)	42 (n)
	Leve	4 (n)	30 (n)	34 (n)
	Moderada	7 (n)	72 (n)	79 (n)
	Severa*	4 (n)	48 (n)	52 (n)
Total		26 (n)	181 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 9,231$; $p = 0,026$				
* No hay diferencias entre el grupo severa frente al resto ($\chi^2=1,498$; $p=0,221$)				

Tabla 57. Severidad y entropion nasal superior.

		ENTROPION NASAL SUPERIOR		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	4 (n)	38 (n)	42 (n)
	Leve	4 (n)	30 (n)	34 (n)
	Moderada	14 (n)	65 (n)	79 (n)
	Severa*	11 (n)	41 (n)	52 (n)
Total		33 (n)	174 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 2,975$; $p = 0,396$. No es estadísticamente significativo.				
* No hay diferencias entre el grupo severa frente al resto ($\chi^2=1,408$; $p=0,235$)				

Tabla 58. Severidad y entropion inferior.

		ENTROPION NASAL INFERIOR		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	42 (n)	0 (n)	42 (n)
	Leve	34 (n)	0 (n)	34 (n)
	Moderada	77 (n)	2 (n)	79 (n)
	Severa	52 (n)	0 (n)	52 (n)
Total		205 (n)	2 (n)	207 (n)

Tabla 59. Severidad y euribléfaron.

		EURIBLÉFARON		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	38 (n)	4 (n)	42 (n)
	Leve	29 (n)	5 (n)	34 (n)
	Moderada	64 (n)	15 (n)	79 (n)
	Severa	44 (n)	8 (n)	52 (n)
Total		175 (n)	32 (n)	207 (n)

Tabla 60. Severidad y triquiasis de la carúncula.

		TRIQUIASIS DE LA CARÚCULA		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	38 (n)	4 (n)	42 (n)
	Leve	29 (n)	5 (n)	34 (n)
	Moderada	64 (n)	15 (n)	79 (n)
	Severa	44 (n)	8 (n)	52 (n)
Total		175 (n)	32 (n)	207 (n)

4.1.3.8. Alteraciones del iris

En el estudio de la hipoplasia de iris y membranas pupilares persistentes según nuestros resultados no hay diferencias estadísticamente significativas ($p=0,366$); ($p=0,067$) respectivamente, ni tampoco al comparar con el grupo severa, para hipoplasia de iris ($p=0,145$) ni PPMs ($p= 0,529$). Esto queda reflejado en las tablas siguientes:

Tabla 61. Severidad e hipoplasia de iris.

		HIPOPLASIA DE IRIS		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	15 (n)	23 (n)	38 (n)
	Leve	13 (n)	15 (n)	28 (n)
	Moderada	31 (n)	31 (n)	62 (n)
	Severa*	7 (n)	3 (n)	10 (n)
Total		66 (n)	72 (n)	138 (n)

$\chi^2 = 3,172$; $p= 0,366$. No es estadísticamente significativo.

* No hay diferencias entre el grupo severa frente al resto ($\chi^2= 2,124$; $p=0,145$)

Tabla 62. Severidad y PPMs.

		MEMBRANAS PUPILARES PERSISTENTES		Total
		Sí	No	
Severidad	Muy leve	29 (n)	9 (n)	38 (n)
	Leve	17 (n)	11 (n)	28 (n)
	Moderada	31 (n)	31 (n)	62 (n)
	Severa*	5 (n)	5 (n)	10 (n)
Total		82 (n)	56 (n)	138 (n)
$\chi^2 = 7,168$; $p = 0,067$. No es estadísticamente significativo.				
* No hay diferencias entre el grupo severa frente al resto ($\chi^2 = 0,397$; $p = 0,529$)				

4.1.3.9. Lágrima

4.1.3.9.1. Test de Schirmer

Aunque el test de Schirmer no influyó en la presencia de la queratitis pigmentaria como se describió anteriormente, sí que hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) comparando los resultados del test de Schirmer y la severidad de la enfermedad en el presente estudio.

Como podemos observar en las medias de la tabla 63 y en la línea de tendencia decreciente del gráfico 31, el STT presenta un valor más bajo cuando la PK es más severa.

Para determinar si existe una tendencia, determinada por la línea obtenida según nuestros resultados, hemos realizado la Prueba de Mann-Kendall, obteniendo un $p = 0,083$; es por ello que, no se puede rechazar la hipótesis nula, o lo que es lo mismo no podemos afirmar que estadísticamente haya una tendencia en la serie.

Tabla 63. Severidad y test de Schirmer.

Severidad	Media (mm/min)	N	Desviación estándar	Error estándar de la media
Muy leve	19,83	42	4,265	0,658
Leve	19,21	34	4,657	0,799
Moderada	16,72	79	4,362	0,491
Severa	10,15	52	5,108	0,708
Total	16,11	207	5,854	0,407

p < 0,001

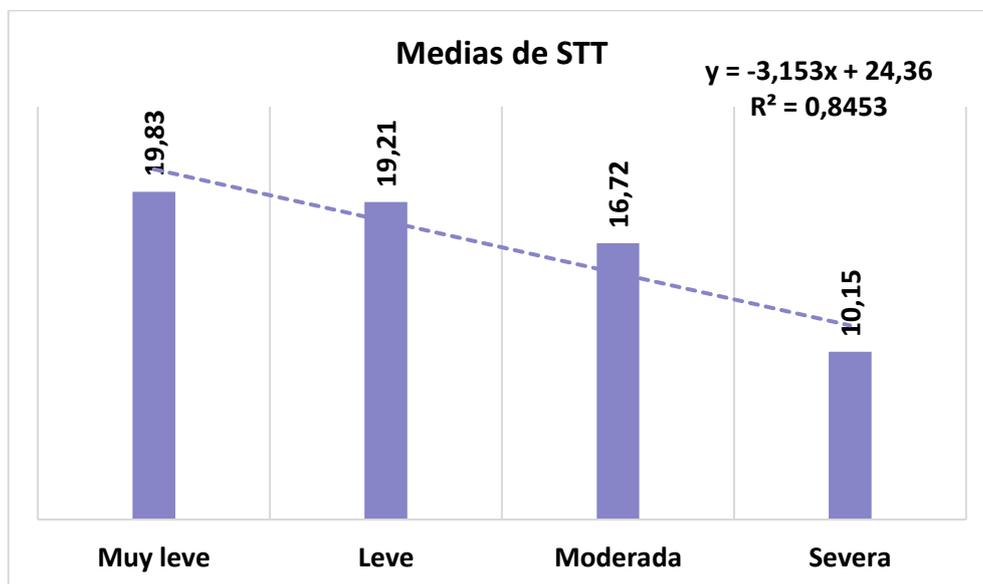


Gráfico 31. Severidad y test de Schirmer.

4.1.3.9.2. Test de Ferning

Al analizar los resultados del test de Ferning hemos encontrado que, aunque no hay diferencias estadísticamente significativas para la presencia de la enfermedad, éstas sí que existen cuando estudiamos los distintos grupos según severidad ($p=0,002$). Los resultados se expresan en la tabla 64:

Tabla 64. Severidad y test de Ferning.

		TEST DE FERNING				Total
		Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV	
Severidad	Muy leve	7 (n)	17 (n)	10 (n)	4 (n)	38 (n)
	Leve	4 (n)	13 (n)	7 (n)	4 (n)	28 (n)
	Moderada	4 (n)	29 (n)	21 (n)	8 (n)	62 (n)
	Severa	6 (n)	6 (n)	13 (n)	18 (n)	43 (n)
Total		21 (n)	65 (n)	51 (n)	34 (n)	171 (n)
p= 0,002						
$\chi^2 = 26,643$						

Con la finalidad de realizar un análisis más exhaustivo, realizamos una agrupación de los grupos de test de Ferning; para ello consideramos un grupo de baja calidad-anormal (tipo III y tipo IV) y otro grupo de buena calidad-normal (tipo I y tipo II) y de esta forma procedimos a realizar la comparación dicotómica estadística y determinar si existían diferencias entre el grupo severa frente al resto. Nuestros resultados muestran diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 11,515$; $p= 0,001$); por lo que procedimos a calcular el *Odds Ratio*: OR= 3,540 95% IC: (1,667-7,517). Cuanto peor es el resultado de test de Ferning mayor riesgo de severidad en la PK.

Podemos ver los resultados representados en la tabla a continuación:

Tabla 65. Máxima severidad y tipos de test de Ferning.

	Tipos de test de Ferning		Total
	Tipo III y IV (baja calidad)	Tipo I y II (buena calidad)	
Severa	31 (n)	12 (n)	43 (n)
Resto	54 (n)	74 (n)	128 (n)
Total	85 (n)	86 (n)	171 (n)
p= 0,001			
$\chi^2 = 11,515$			
OR= 3,540 95% IC: (1,667-7,517)			

4.1.3.9.3. Tiempo de ruptura de la película lagrimal

Nuestros resultados del BUT mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre los distintos grupos de severidad de la queratitis pigmentaria. Como vemos en la tabla 66 y gráfico 32, los resultados medios del BUT van disminuyendo a medida que aumenta la severidad. Estas disminuciones de los tiempos se representan gráficamente en la línea de tendencia decreciente que hemos calculado en la gráfica. Sin embargo, al calcular la Prueba de Mann-Kendall, obtenemos un $p = 0,083$; por lo tanto, no podemos afirmar que estadísticamente haya una tendencia en la serie.

Tabla 66. Severidad y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

Severidad	Media (segundos)	N	Desviación estándar	Error estándar de la media
Muy leve	6,88	42	3,576	0,552
Leve	6,38	34	2,871	0,492
Moderada	6,00	79	2,106	0,237
Severa	4,63	52	2,318	0,321
Total	5,90	207	2,742	0,191

$p < 0,001$

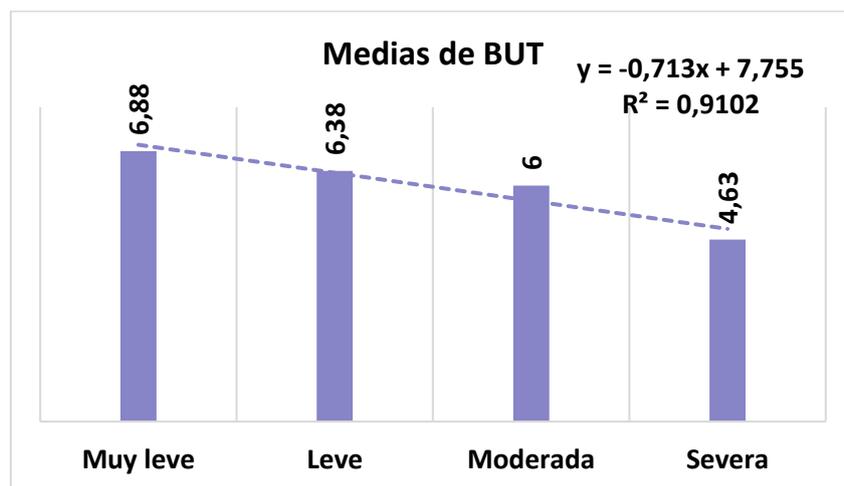


Gráfico 32. Severidad y tiempo de ruptura de la película lagrimal.

4.1.3.10. Sensibilidad corneal

En el estudio de la sensibilidad corneal relacionado con la severidad de la queratitis pigmentaria, se observó que ni la sensibilidad fina ($p=0,093$) ni la gruesa ($p=0,218$) eran estadísticamente significativas. Sin embargo, al realizar la tabla de contingencia entre el grupo severa frente al resto y la presencia de sensibilidad corneal fina, demuestra unas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,046$). Una vez obtenida esta significación, procedimos a calcular el *Odds Ratio*: $OR=2,108$ 95% IC: (1,004- 4,427). Los resultados se detallan en las siguientes tablas:

Tabla 67. Severidad y sensibilidad fina.

		SENSIBILIDAD FINA		Total
		Negativa	Disminuida	
Severidad	Muy leve	23 (n)	19 (n)	42 (n)
	Leve	24 (n)	10 (n)	34 (n)
	Moderada	52 (n)	27 (n)	79 (n)
	Severa*	41 (n)	11 (n)	52 (n)
Total		140 (n)	67 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 6,419$; $p = 0,093$. No es estadísticamente significativo.				
* Se calculan las diferencias entre el grupo severa comparado con el resto ($\chi^2 = 3,989$; $p = 0,046$), $OR = 2,108$ 95% IC: (1,004-4,427)				

Tabla 68. Severidad y sensibilidad gruesa.

		SENSIBILIDAD GRUESA			Total
		Negativa	Disminuida	Positiva	
Severidad	Muy leve	2 (n)	38 (n)	2 (n)	42 (n)
	Leve	5 (n)	27 (n)	2 (n)	34 (n)
	Moderada	7 (n)	60 (n)	12 (n)	79 (n)
	Severa	8 (n)	40 (n)	4 (n)	52 (n)
Total		22 (n)	165 (n)	20 (n)	207 (n)
$\chi^2 = 8,287$; $p = 0,218$. No es estadísticamente significativo.					

4.1.3.11. Paquimetría ultrasónica

Se realizó un estudio comparativo entre la paquimetría medial y lateral y la severidad de la enfermedad. Los resultados se expresan en la tabla 69 y los gráficos 33 y 34.

Tabla 69. Severidad y paquimetría.

Severidad		Paquimetría medial	Paquimetría lateral
Muy leve	Media (µm)	672,97	651,61
	N	33	33
	Desviación estándar	79,490	64,250
	Error estándar de la media	13,837	11,185
Leve	Media (µm)	658,19	635,65
	N	26	26
	Desviación estándar	92,271	62,484
	Error estándar de la media	18,096	12,254
Moderada	Media (µm)	766,11	642,25
	N	55	55
	Desviación estándar	102,051	55,590
	Error estándar de la media	13,761	7,496
Severa	Media (µm)	927,95	871,73
	N	40	40
	Desviación estándar	117,955	149,717
	Error estándar de la media	18,650	23,672
Total	Media (µm)	769,97	702,75
	N	154	154
	Desviación estándar	143,589	135,703
	Error estándar de la media	11,571	10,935
p-valor		p<0,001	p<0,001

RESULTADOS

Al realizar la Prueba de Mann-Kendall, obtenemos un $p=0,750$ en paquimetría lateral y $p= 0,333$ en paquimetría medial; no podemos afirmar que estadísticamente haya una tendencia en la serie en ninguna de las dos mediciones analizadas.

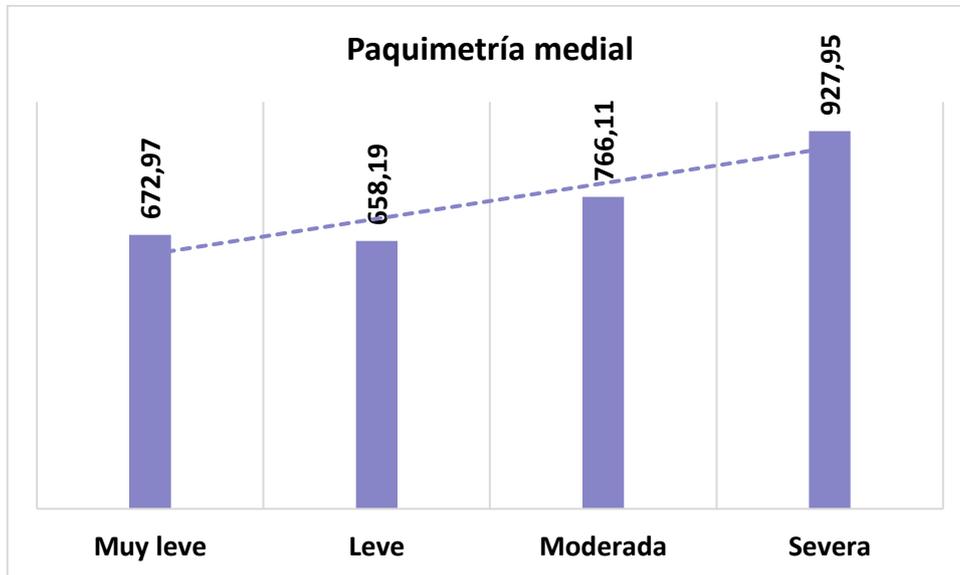


Gráfico 33. Severidad y paquimetría medial.

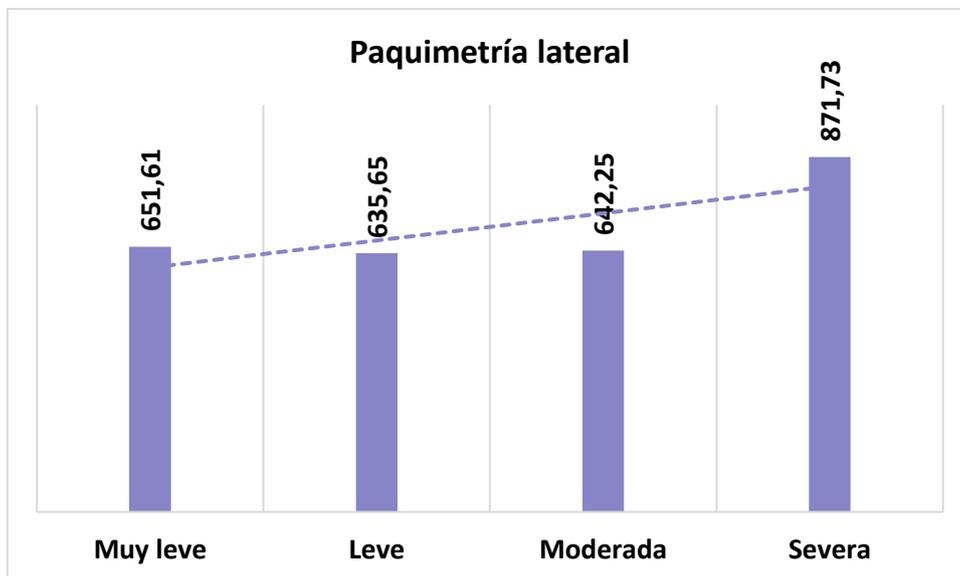


Gráfico 34. Severidad y paquimetría lateral.

4.2. SEGUNDA FASE

4.2.1. Posibles efectos secundarios

Para una mejor comprensión de los datos del estudio debemos aclarar que en la segunda fase se dividieron los 32 animales seleccionados de la primera fase en dos grupos:

- **Grupo 1**, compuesto por 16 animales (31 ojos), fueron tratados con **tacrolimus**.
- **Grupo 2**, compuesto por 16 animales (32 ojos), fueron tratados con **sirolimus**.

El tratamiento fue aplicado durante un periodo de 6 meses a sendos grupos y se realizaron tres revisiones, a los 2, 4 y 6 meses.

Acontecimientos a tener en cuenta al estudiar los resultados:

En el grupo 1: Tacrolimus

En la primera revisión se excluyeron 3 animales (6 ojos) que no cumplieron con la administración correcta de las gotas o con el momento de la revisión. A los 4 meses se perdió otro animal (1 ojo) por fallecimiento del mismo por causas ajenas al estudio.

En el grupo 2: Sirolimus

Antes de llegar a los 2 meses, 3 animales (6 ojos) padecieron úlceras corneales complicadas y fueron excluidos del estudio, también otro animal padeció una úlcera corneal complicada en 1 ojo causada por un cuerpo extraño, por lo tanto, no fue excluido del estudio.

A los 4 meses vuelve a ser excluido otro animal (2 ojos) por presentar un edema corneal difuso bilateral moderado y por último a los 6 meses volvemos a perder otro animal (2 ojos) ya que éste fallece por causas ajenas al estudio.

Estos acontecimientos podemos observarlos en la siguiente tabla:

Tabla 70. Acontecimientos durante los 6 meses del estudio.

	Tacrolimus				Sirolimus			
	Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	Inicio	2 meses	4 meses	6 meses
Ojos dentro del estudio (n)	31	31	25	24	32	32	26	24
Ojos fuera del estudio (n)	0	6	1	0	0	6	2	2
Total	31	25	24	24	32	26	24	22

Los signos clínicos producidos por los posibles efectos secundarios de los productos (úlceras corneales y edema corneal difuso) eran recogidos en nuestros resultados. Es por ello, que en las tablas el número “n” puede variar en determinados parámetros.

4.2.2. Parámetros medidos en las revisiones

Se ha realizado un estudio individualizado y comparativo de la eficacia y seguridad de los fármacos utilizados en ambos grupos. Tal y como hemos detallado anteriormente, durante esta segunda fase los pacientes eran controlados y revisados cada dos meses mediante la determinación de los siguientes parámetros:

4.2.2.1. Lágrima

4.2.2.1.1. Test de Schirmer

Nuestros resultados muestran diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Concretamente, los resultados del STT fueron aumentando a medida que evolucionaba el tratamiento durante los meses en los dos grupos. Para examinar los cambios en STT después de la administración de tacrolimus y sirolimus al ser datos de una distribución no normal se realiza la Prueba de Wilcoxon. Los resultados son estadísticamente significativos sólo a los 2 meses del tratamiento en ambos grupos ($p < 0,001$) en el grupo 1 de tacrolimus y ($p = 0,009$) en el grupo 2 de sirolimus.

Al comparar los resultados en ambos grupos, se demostró que el aumento fue significativamente mayor en el grupo 1 de tacrolimus a los 2 meses ($p=0,011$) a los 4 meses ($p= 0,031$) y a los 6 meses ($p= 0,002$) como podemos comprobar en la tabla siguiente:

Tabla 71. Test de Schirmer.

		STT inicial	STT 2 meses	STT 4 meses	STT 6 meses
Tacrolimus	Media (mm/min)	15,35	20,52	20,54	20,88
	N	31	25	24	24
	Desviación estándar	5,333	4,925	6,757	4,514
	Error estándar de la media	0,958	,985	1,379	0,921
p-valor Prueba de Wilcoxon		< 0,001			
			0,780		
				0,780	
Sirolimus	Media (mm/min)	14,47	16,44	17,04	15,91
	N	32	25*	24	22
	Desviación estándar	6,190	5,888	5,481	5,450
	Error estándar de la media	1,094	1,178	1,119	1,162
p-valor Prueba de Wilcoxon		0,009			
			0,844		
				0,447	
Total	Media (mm/min)	14,90	18,48	18,79	18,50
	N	63	50	48	46
	Desviación estándar	5,755	5,754	6,338	5,529
	Error estándar de la media	0,725	,814	0,915	0,815
p-valor		0,546	0,011	0,031	0,002
*32 ojos – 7 ojos= 25 ojos					

4.2.2.1.2. Test de Ferning

Se realizó el análisis estadístico de los resultados del test de Ferning mostrando diferencias significativas a los 2 meses ($p=0,025$) si comparamos ambos grupos; sin embargo, no encontramos estas diferencias ni a los 4, ni a los 6 meses del tratamiento.

Además, ningún grupo por separado muestra diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 72. Test Ferning.

		TFT Inicio	TFT 2 meses	TFT 4 meses	TFT 6 meses	p-valor
Tacrolimus	Tipo I	6 (n)	3 (n)	1 (n)	2 (n)	0,129
	Tipo II	16 (n)	14 (n)	16 (n)	8 (n)	
	Tipo III	3 (n)	3 (n)	4 (n)	7 (n)	
	Tipo IV	6 (n)	5 (n)	3 (n)	7 (n)	
	Total	31 (n)	25 (n)	24 (n)	24 (n)	
Sirolimus	Tipo I	1 (n)	1 (n)	2 (n)	3 (n)	0,075
	Tipo II	9 (n)	8 (n)	9 (n)	7 (n)	
	Tipo III	14 (n)	13 (n)	8 (n)	8 (n)	
	Tipo IV	8 (n)	3 (n)	5 (n)	4 (n)	
	Total	32 (n)	25 (n)	24 (n)	22 (n)	
χ^2		12,922	9,386	4,127	1,067	
p-valor		0,005	0,025	0,248	0,785	

4.2.2.1.3. Tiempo de ruptura de la película lagrimal

Al realizar el análisis del BUT no encontramos diferencias estadísticamente significativas al comparar ambos grupos en ningún momento del estudio. Sin embargo, existe un aumento en el tiempo a los 2 meses estadísticamente significativo en ambos, en el de tacrolimus con un $p=0,010$ y en el de sirolimus con un $p=0,028$.

Tabla 73. Tiempo de ruptura de la película lagrimal.

		BUT inicial	BUT 2 meses	BUT 4 meses	BUT 6 meses
Tacrolimus	Media (segundos)	4,94	6,80	7,46	6,38
	N	31	25	24	24
	Desviación estándar	2,190	1,732	2,553	1,715
	Error estándar de la media	0,393	0,346	0,521	0,350
p-valor Prueba de Wilcoxon		0,010			
			0,286		
				0,158	
Sirolimus	Media (segundos)	5,88	6,96	6,21	6,32
	N	32	25*	24	22
	Desviación estándar	2,446	2,150	1,911	2,169
	Error estándar de la media	0,432	0,430	0,390	0,462
p-valor Prueba de Wilcoxon		0,028			
			0,109		
				0,711	
Total	Media (segundos)	5,41	6,88	6,83	6,35
	N	63	50	48	46
	Desviación estándar	2,353	1,934	2,319	1,923
	Error estándar de la media	0,296	0,274	0,335	0,284
p-valor		0,114	0,773	0,061	0,922
*32 ojos – 7 ojos= 25 ojos					

4.2.2.1. Paquimetría ultrasónica

Con la medida de paquimetría se pretendía teóricamente evaluar la retirada del pigmento a medida que este se retirase de la córnea por el tratamiento, pero en la práctica era muy complicado medir el espesor corneal en el mismo sitio, además, el pigmento no se retiró de forma homogénea.

Como observamos en la tabla 74 no encontramos diferencias significativas al comparar ambos grupos de tratamiento.

Los datos están representados a continuación:

Tabla 74. Paquimetría ultrasónica.

	PAQ M inicial	PAQ L inicial	PAQ M 2 meses	PAQ L 2 meses	PAQ M 4 meses	PAQ L 4 meses	PAQ M 6 meses	PAQ L 6 meses
Tacrolimus	Media	776,53	680,90	694,77	762,45	706,45	757,73	674,14
	N	30	30	22	22	22	22	22
	σ	160,694	147,194	126,531	141,102	148,256	131,733	106,155
Error estándar de la media	29,339	26,874	26,976	30,083	31,608	28,086	22,632	23,144
Sirrolimus	Media	775,94	712,44	765,15	713,58	834,83	785,45	730,32
	N	32	32	26	26	24	22	22
	σ	135,848	140,916	197,861	126,209	165,266	127,641	199,847
Error estándar de la media	24,015	24,911	38,804	24,752	33,735	26,055	42,608	32,839
Total	Media	776,23	697,18	760,23	704,96	800,22	771,59	702,23
	N	62	62	48	48	46	44	44
	σ	147,156	143,680	167,352	132,129	159,855	128,605	158,761
Error estándar de la media	18,689	18,247	24,155	19,071	23,569	18,962	23,934	20,309
p-valor	0,987	0,392	0,827	0,628	0,126	0,584	0,569	0,169

4.2.2.2. Test de fluoresceína

Como hemos expresado anteriormente, durante el periodo de tratamiento, algunos ojos presentaron úlceras corneales. En algunos casos se diagnosticaron de forma accidental en las revisiones, ya que tras la retirada de la fluoresceína se demostraba su fijación en el epitelio corneal pero los pacientes no presentaban signos clínicos. Sin embargo, en otros casos recibimos la llamada del propietario o cuidador refiriendo el signo clínico característico de blefaroespasmos.

Los casos de úlcera corneal vienen representados en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 75. Casos de úlceras corneales.

		2 meses	4 meses	6 meses	Total
Tacrolimus	Sí	0	2	0	2
	No	25	22	24	71
	Total	25	24	24	73
Sirolimus	Sí	6	2	0	8
	No	26	24	22	72
	Total	32	26	22	80

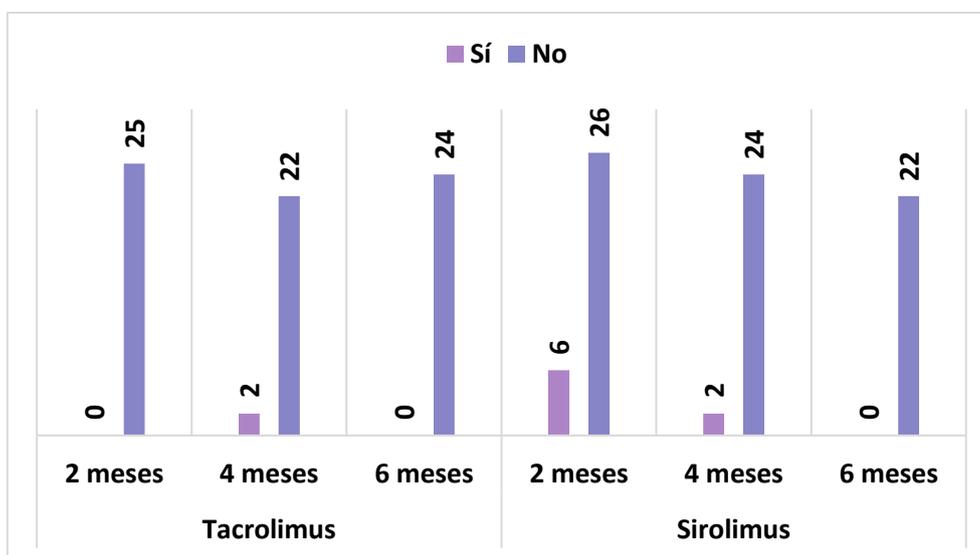


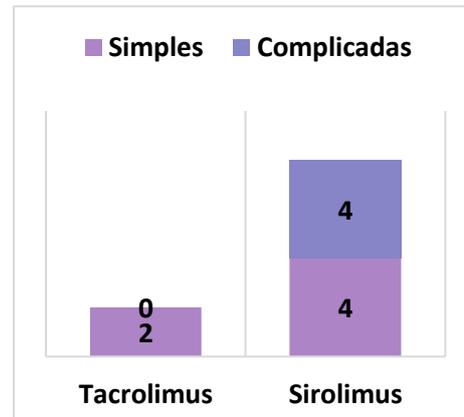
Gráfico 35. Casos de úlceras corneales.

4.2.2.2.1. Tipos de úlcera

En la tabla 76 y el gráfico 36 se representa el total de úlceras ocurridas en los 6 meses del estudio, según su clasificación como úlceras simples o complicadas. Según nuestros resultados, en el grupo 1 de tacrolimus sólo aparecieron úlceras simples; sin embargo, en el grupo 2 de sirolimus, se contabilizaron mayor número de úlceras complicadas, aunque en el caso de una de ellas fue producida por un cuerpo extraño.

Tabla 76 y grafico 36. Tipos de úlceras corneales.

	Simple	Complicadas	Total
Tacrolimus	2	0	2
Sirolimus	4	4*	8
TOTAL	6	4	10
	* Una de ellas, fue a causa de un cuerpo extraño.		



4.2.2.3. Signos clínicos

A cada ojo de cada grupo se le evaluaron los siguientes signos clínicos:

4.2.2.3.1. Blefaroespasm

Al inicio del estudio el blefaroespasm no estaba presente en ningún animal. Sin embargo, a los 2 meses en los ojos tratados con sirolimus apareció blefaroespasm en 6 ojos, coincidieron con aquellos animales que presentaron úlceras corneales (4 ojos por presentar una úlcera corneal complicada y los otros 2 ojos restantes, eran el ojo contralateral de dos animales que padecía dichas úlceras corneales complicadas, 3 de forma ligera y en 3 de manera moderada, pero no fue una diferencia estadísticamente significativa entre ambos productos (p=0,073). A los 4 meses volvió a aparecer el blefaroespasm ligero en un animal (2 ojos) coincidiendo con aquel que fue excluido del estudio por el edema bilateral (p= 0,166). A los 6 meses el blefaroespasm no estuvo presente en ninguno de los productos.

RESULTADOS

Por lo tanto, en el grupo 1 de tacrolimus ningún ojo presentó nunca blefaroespasma durante los 6 meses que duro el estudio. En cambio, en el grupo 2 de sirolimus apareció blefaroespasma a los 2 y 4 meses. Estos hallazgos los vemos representado en la tabla y el gráfico siguiente:

Tabla 77. Blefaroespasma.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Ausencia	31	25	24	24	Constante
	Ligera	0	0	0	0	
	Moderada	0	0	0	0	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	32	26	24	22	Constante
	Ligera	0	3	2	0	
	Moderada	0	3	0	0	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2			5,239	1,923		
p-valor	Constante		0,073	0,166	Constante	

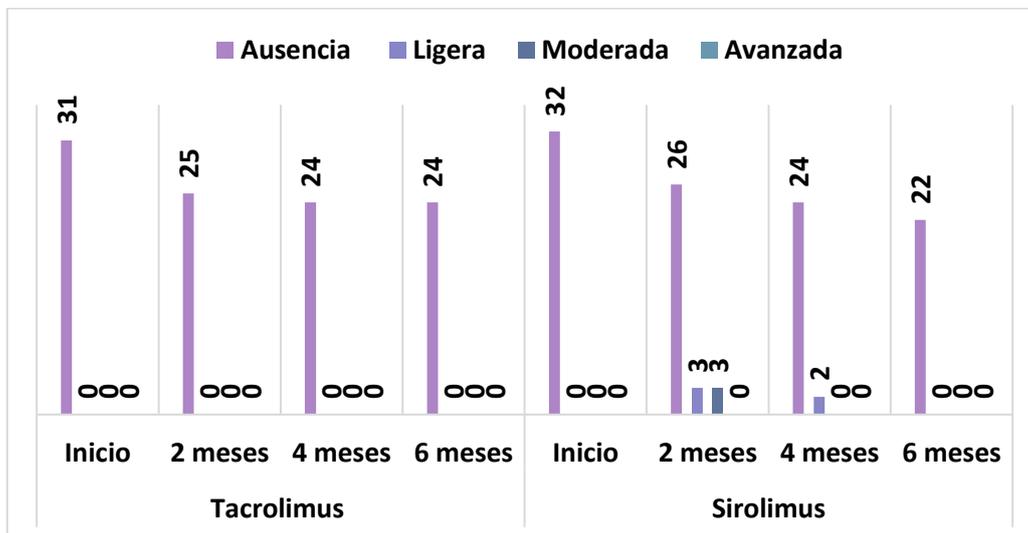


Gráfico 37. Blefaroespasma.

4.2.2.3.2. Hiperemia

Debemos destacar que varios ojos presentaban hiperemia al inicio del estudio antes de aplicar los productos tópicos. En la primera revisión realizada a los 2 meses ésta hiperemia disminuyó en el grupo de tacrolimus de forma más evidente que en el grupo de sirolimus, pero a los 4 y 6 meses, no varió en ninguno de los grupos. La diferencia entre ambos grupos no fue estadísticamente significativa en ningún caso. En el estudio individualizado, ambos grupos mejoran la hiperemia de manera significativa, en el grupo 1 de tacrolimus con un $p < 0,001$ y el grupo 2 de sirolimus con un $p = 0,046$.

Detallamos los resultados en la tabla y gráfico siguiente:

Tabla 78. Hiperemia.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Ausencia	14	21	20	22	<0,001
	Ligera	11	4	4	2	
	Moderada	6	0	0	0	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	19	22	18	16	0,046
	Ligera	12	7	8	6	
	Moderada	1	2	0	0	
	Avanzada	0	1	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2		4,358	3,027	1,361	2,866	
p-valor		0,093	0,387	0,243	0,090	

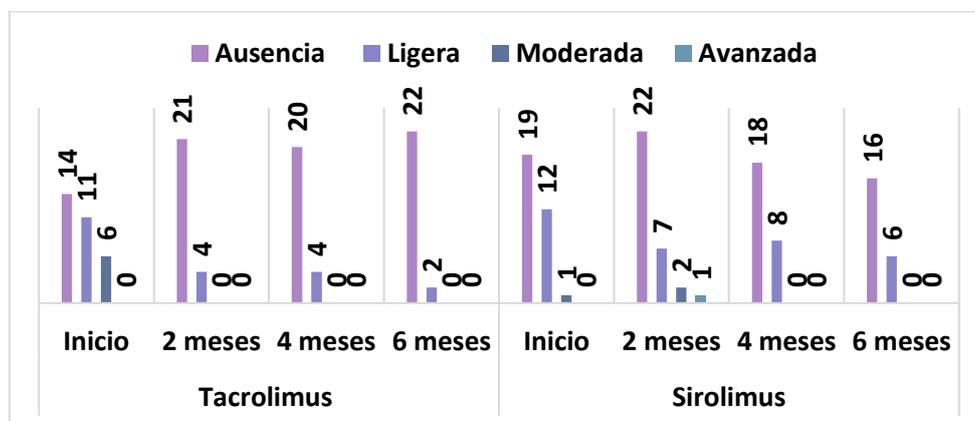


Gráfico 38. Hiperemia.

4.2.2.3.3. Prurito

La existencia de prurito ocular ligero al inicio del estudio se detectó antes de la aplicación de los fármacos. Este signo clínico desapareció en el grupo 1 de tacrolimus, en cambio observamos un aumento ligero a los 2 meses y 4 meses en el grupo 2 de sirolimus.

A los 6 meses ninguno de los productos provocó prurito. Pero ninguno de los dos grupos ni por separado ni comparándolos entre ellos, dio resultados estadísticamente significativos.

Los datos se detallan en la tabla y gráfico siguiente:

Tabla 79. Prurito.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Ausencia	29	25	24	24	0,112
	Ligera	2	0	0	0	
	Moderada	0	0	0	0	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	30	31	24	22	0,112
	Ligera	2	1	2	0	
	Moderada	0	0	0	0	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2	0,001	0,795	1,923	Constante		
p-valor	0,974	0,373	0,166			

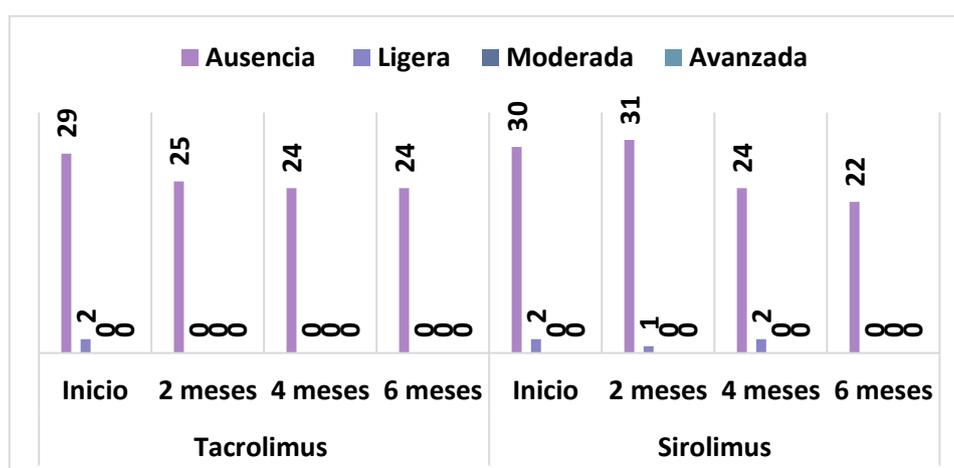


Gráfico 39. Prurito.

4.2.2.3.4. Edema corneal

Se detectó la presencia de edema ligero o moderado al inicio del estudio en algunos pacientes. A lo largo del estudio hemos observado que en el grupo de sirolimus se incrementa el edema a los 2 y 4 meses. El estudio estadístico demuestra que a los 4 meses la diferencia fue estadísticamente significativa (p= 0,019) entre los productos. Además, ambos productos por separado muestran también diferencias estadísticamente significativas sobretodo en el grupo 2 de sirolimus (p= 0,001) por lo que el edema se incrementa significativamente en ambos grupos.

Este edema se presentó de forma difusa en todos los casos.

Tabla 80. Edema corneal.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Ausencia	17	10	9	9	0,046
	Ligera	13	14	14	12	
	Moderada	1	1	1	3	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	22	15	11	10	0,001
	Ligera	9	10	7	6	
	Moderada	1	6	8	6	
	Avanzada	0	1	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2		1,353	5,461	7,910	2,971	
p-valor		0,508	0,141	0,019	0,226	

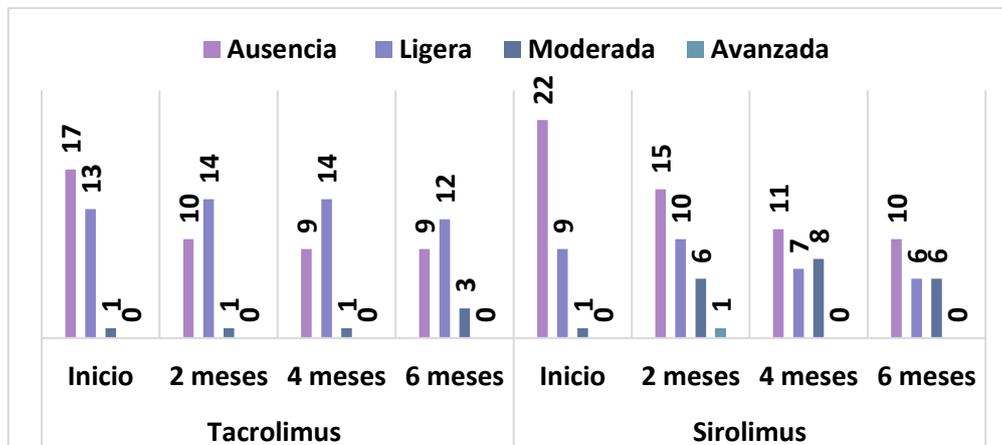


Gráfico 40. Edema corneal.

4.2.2.3.5. Vasos corneales

El número de vasos corneales parece aumentar en ambos grupos. En nuestro estudio hemos observado que a medida que el pigmento corneal se aclaraba o retiraba se observaban más vasos en la córnea. Concretamente el número de vasos sanguíneos fue aumentando a partir de los 4 meses en el grupo 2 de sirolimus, mientras que, a los 6 meses, el aumento de la vascularización se detectó en sendos grupos, pero sólo es estadísticamente significativo en el grupo 1 de tacrolimus (p= 0,018). Las diferencias entre grupos no son estadísticamente significativas.

Los detalles podemos encontrarlos en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 81. Vasos corneales.

		2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Ausencia	9	8	8	0,018
	Ligera	15	15	12	
	Moderada	1	1	3	
	Avanzada	0	0	1	
	Total	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	6	4	4	0,050
	Ligera	25	20	15	
	Moderada	1	2	2	
	Avanzada	0	0	1	
	Total	32	26	22	
χ^2		2,275	2,305	1,783	
p-valor		0,321	0,316	0,619	

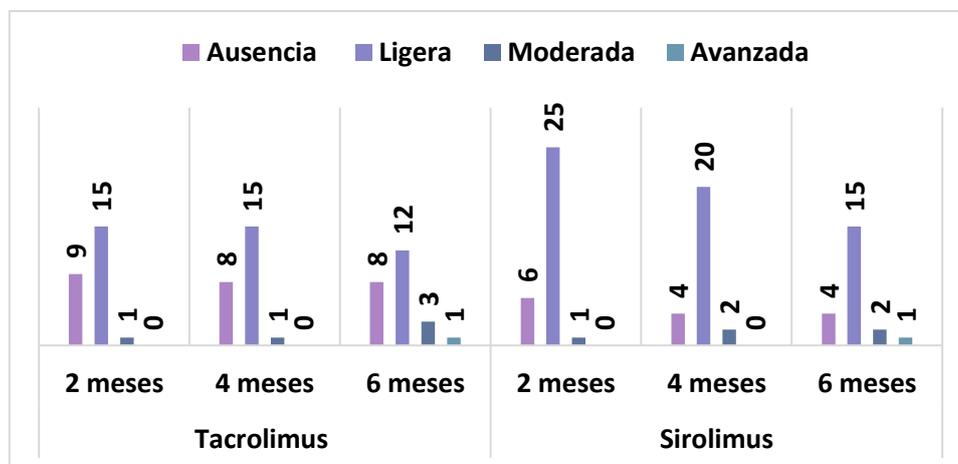


Gráfico 41. Vasos corneales.

4.2.2.3.6. Infiltrado inflamatorio

La presencia de infiltrado inflamatorio no fue significativa en ningún periodo del estudio comparando ambos grupos. Sin embargo, es estadísticamente significativo en el grupo 2 de sirolimus por separado con un $p=0,019$, en este grupo aumenta el infiltrado inflamatorio. Hemos incluido nuestros resultados en la tabla 82 y en el gráfico 42:

Tabla 82. Infiltrado inflamatorio.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Ausencia	27	21	20	20	0,494
	Ligera	2	3	4	3	
	Moderada	2	1	0	1	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	29	29	19	17	0,019
	Ligera	2	2	6	3	
	Moderada	1	1	1	2	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2		0,389	0,630	1,348	0,491	
p-valor		0,823	0,730	0,510	0,782	

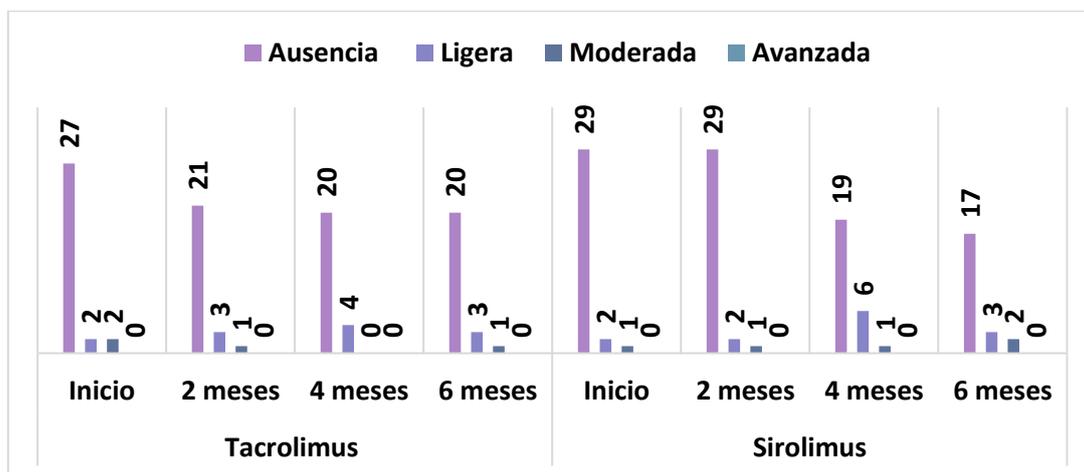


Gráfico 42. Infiltrado inflamatorio.

4.2.2.3.7. Pigmento en esclera

La presencia del pigmento en la esclera fue objeto de análisis. Nuestro estudio demuestra que la retirada de pigmento fue estadísticamente significativa en ambos grupos por separado. El estudio estadístico demuestra además que al comparar ambos grupos estas diferencias eran estadísticamente significativas a los 4 y 6 meses (p=0,028; p=0,037) el sirolimus parece retirar significativamente más pigmento.

Tabla 83. Pigmento en esclera.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Ausencia	0	0	0	0	0,015
	Ligera	16	14	12	11	
	Moderada	13	10	11	12	
	Avanzada	2	1	1	1	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	0	0	0	0	0,024
	Ligera	21	23	22	18	
	Moderada	10	8	4	4	
	Avanzada	1	1	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2		1,385	1,576	7,139	6,615	
p-valor		0,500	0,455	0,028	0,037	

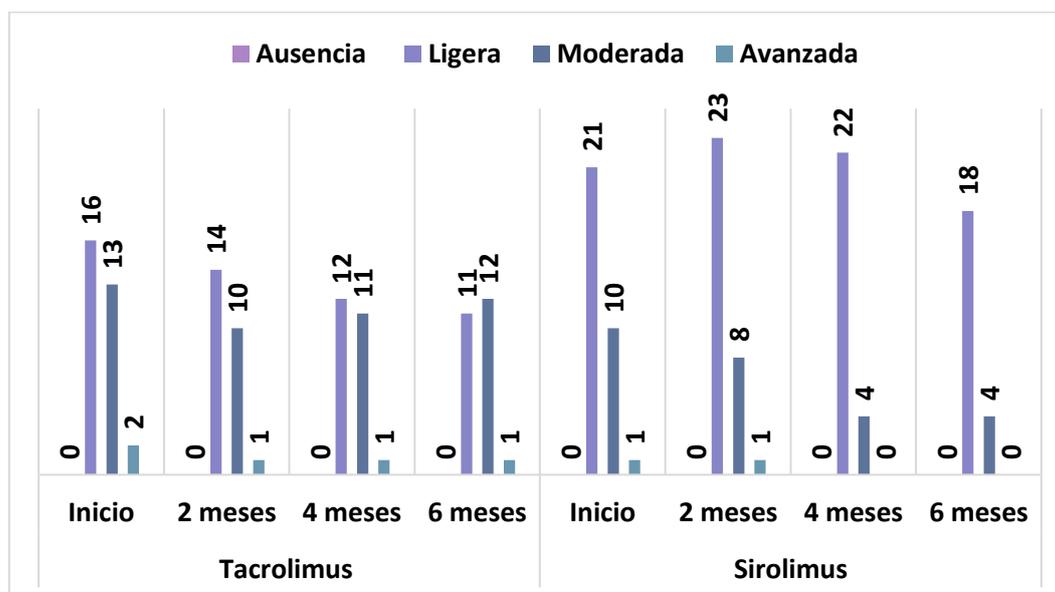


Gráfico 43. Pigmento en esclera.

4.2.2.3.8. Descarga ocular

Los resultados de nuestro estudio, en cuanto a la presencia de descargas oculares, muestra que hubo una mejoría de la misma con el uso de ambos productos siendo estadísticamente significativo con un $p < 0,001$ en ambos grupos. A los 2 meses del tratamiento la mayoría no presentaba descargas y a los 4 y 6 meses, la mayoría de los pacientes mostraban descarga serosa. Estos resultados fueron parecidos en ambos grupos estudiados y el análisis estadístico entre los grupos demostró que no había diferencias entre ellos. Los datos se detallan en la tabla y gráfico:

Tabla 84. Descarga ocular.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	p- valor
Tacrolimus	Sin descarga	5	21	10	8	<0,001
	Serosa	11	4	14	16	
	Mucosa	10	0	0	0	
	Purulenta	5	0	0	0	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Sin descarga	4	21	6	4	<0,001
	Serosa	4	7	20	18	
	Mucosa	16	2	0	0	
	Purulenta	8	2	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2		5,440	4,019	1,982	1,367	
p-valor		0,142	0,259	0,159	0,242	

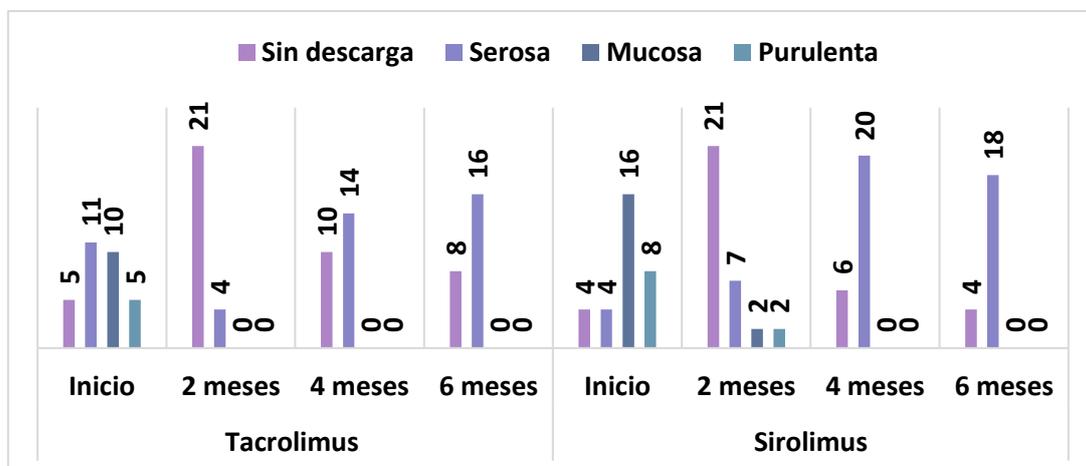


Gráfico 44. Descarga ocular.

4.2.2.4. Indicadores de efectividad

4.2.2.4.1. Línea transparente

Se utilizó la línea transparente como método para determinar si había cesado la deposición del pigmento sobre el epitelio corneal. Nuestros resultados demuestran que la línea transparente apareció con mayor frecuencia en el grupo 1 de tacrolimus comparado con el grupo 2 de sirolimus, siendo estas diferencias estadísticamente significativas a los 2 y 4 meses ($p=0,029$) y ($p=0,039$), respectivamente. También, en ambos grupos por separado apareció de manera significativa. Lo observamos representado en la tabla y grafico siguiente:

Tabla 85. Línea transparente.

		Inicio	2 meses	4 meses	6 meses	P-valor
Tacrolimus	Ausencia	27	13	10	10	<0,001
	Leve	4	10	9	6	
	Moderada	0	2	5	6	
	Avanzada	0	0	0	2	
	Total	31	25	24	24	
Sirolimus	Ausencia	28	27	20	14	0,049
	Leve	4	4	4	6	
	Moderada	0	1	2	2	
	Avanzada	0	0	0	0	
	Total	32	32	26	22	
χ^2		0,002	7,051	6,472	4,588	
p-valor		0,962	0,029	0,039	0,205	

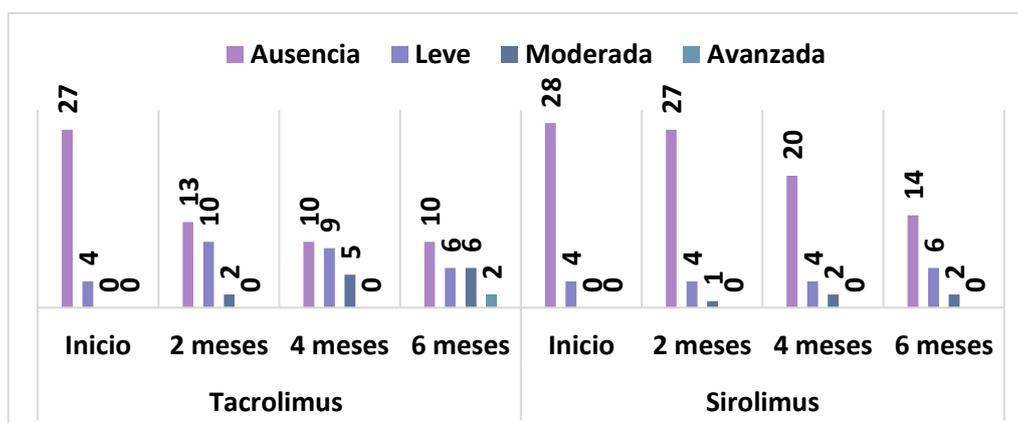


Gráfico 45. Línea transparente.

4.2.2.4.2. Pigmento aclarado

Hemos incluido en la tabla 86 y en el gráfico 46, los resultados de la aclaración del pigmento tras la utilización de los fármacos estudiados. Tras el análisis estadístico, podemos observar que no existían diferencias significativas entre ambos grupos estudiados. Y que los dos grupos por separado aclaran el pigmento de manera significativa, en el grupo 1 de tacrolimus con un $p < 0,001$ y el grupo 2 de sirolimus con un $p = 0,017$.

Tabla 86. Pigmento aclarado.

		2 meses	4 meses	6 meses	p-valor
Tacrolimus	Sin aclarado	3	1	1	< 0,001
	Aclarado leve	22	15	13	
	Aclarado moderado	0	8	4	
	Aclarado intenso	0	0	6	
	Total	25	24	24	
Sirolimus	Sin aclarado	4	1	1	0,017
	Aclarado leve	26	18	11	
	Aclarado moderado	2	7	7	
	Aclarado intenso	0	0	3	
	Total	32	26	22	
χ^2		1,641	0,260	1,901	
p-valor		0,440	0,878	0,593	

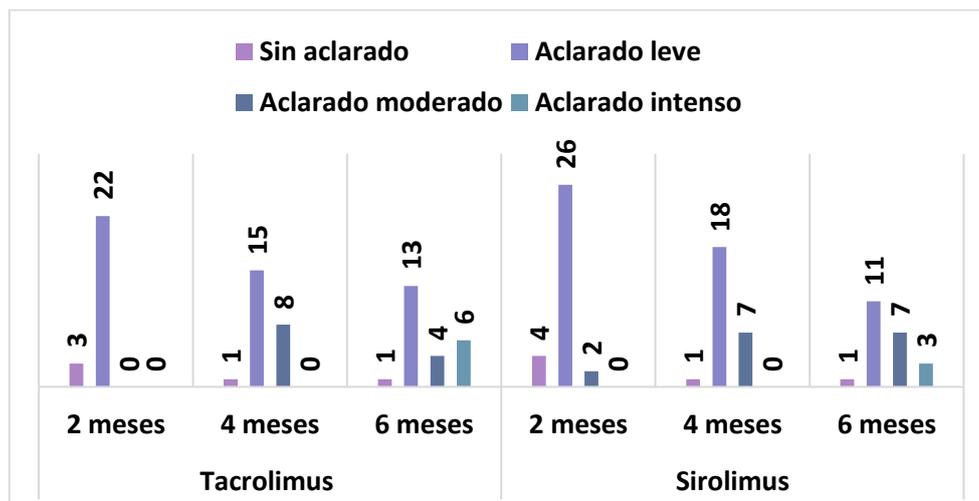


Gráfico 46. Pigmento aclarado.

4.2.2.4.3. Recuperación de transparencia

Según nuestros datos, la recuperación de transparencia total a los 6 meses fue similar en ambos grupos de tratamiento, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos, tal y como se detalla en la tabla y en el gráfico siguiente:

Tabla 87. Recuperación de transparencia.

	Tacrolimus	Sirolimus	
	6 meses	6 meses	Total
No	2	1	3
Leve	13	13	26
Moderada	7	7	14
Intensa	2	1	3
Total	24	22	46
χ^2	0,581		
p-valor	0,901		

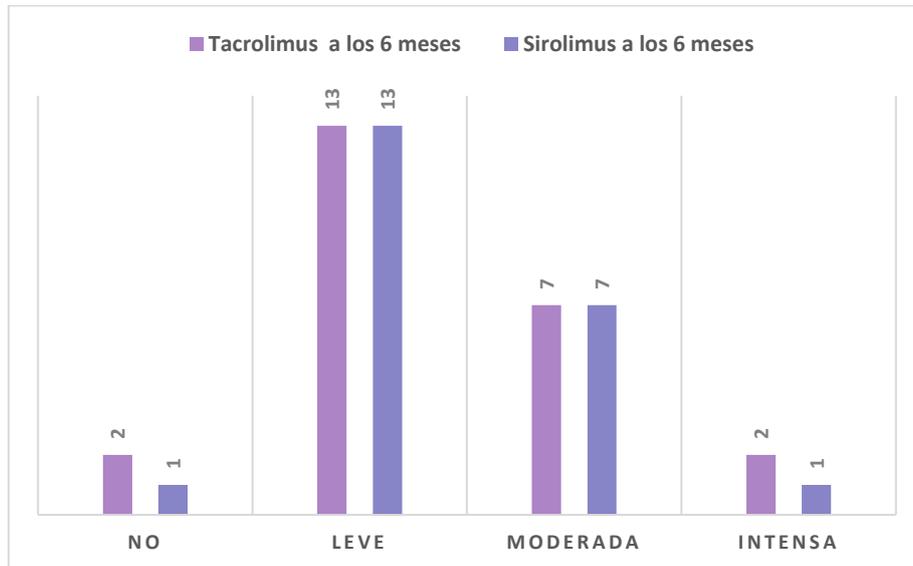


Gráfico 47. Recuperación de transparencia.



Figura 26. Paciente (x) al inicio del estudio.

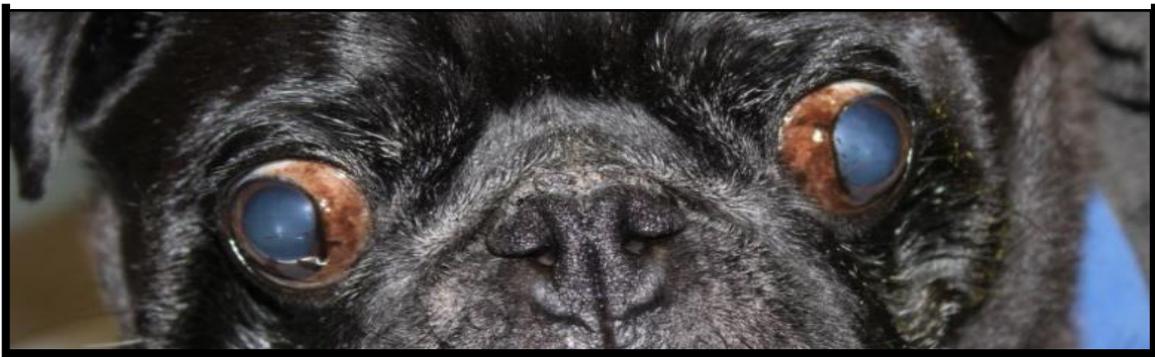


Figura 27. Paciente (x) a los 6 meses con tacrolimus.

DISCUSIÓN



5. DISCUSIÓN

5.1. PRIMERA FASE

5.1.1. Factores predisponentes

5.1.1.1. Prevalencia de la queratitis pigmentaria

La prevalencia de la PK ha sido estudiada en perros de raza Pug en otras regiones del mundo, siendo ésta muy alta. Labelle *et al.* (2013) en un estudio realizado en los estados de Wisconsin e Illinois (USA) la diagnosticaron en al menos un ojo de 243 animales de los 295 explorados (82,4%). Krecny *et al.* (2015) en Austria, lo registraron en 101 ojos de 285 estudiados (39,14%). Y Vallone *et al.* (2016) en New York (USA), al comparar perros de raza Pug frente a perros braquiocefálicos no Pug observaron que los Pugs mostraron mayor frecuencia de SCP; concretamente de los 32 Pugs estudiados, 23 tenían SCP en al menos un ojo (71,8%) con respecto a las razas braquiocefálicas no Pugs; en los que, de 25 animales estudiados, 10 de ellos tenía SCP (40%). Nuestros resultados (94,50% de prevalencia) coinciden por tanto con los descritos en la literatura consultada.

Estos resultados sugieren que la PK en perros de raza Pug tiene una elevada prevalencia en Gran Canaria. Basándonos en nuestros resultados y los descritos en la bibliografía, no debemos descartar una base genética para la PK en perros de raza Pug, tal y como sugiere Labelle *et al.* (2013).

5.1.1.2. Severidad de la queratitis pigmentaria

En nuestro estudio, la mayoría de los ojos con queratitis pigmentaria fueron clasificados como PK moderada (38,20%) en cambio para Labelle *et al.* (2013) la presencia de pigmento era clasificado mayoritariamente como muy leve o leve; tanto en OD como en OS. Los perros de raza Pug suelen presentar una mayor severidad cuando padecen PK, comparado con otras razas, tal y como lo ha descrito Maggs (2013) cuanto más melanótico es el limbo, más probable y más densa será la melanosis corneal; es por esto que podríamos considerar que los perros de raza Pug podrían tener una mayor predisposición.

En un estudio realizado por Vallone *et al.* (2016) los perros de raza Pug mostraron SCP con mayor severidad (2,2 OD; 2,1 OS) comparado con los perros de otras razas con

SCP (1,77 OD; 1,66 OS). Teniendo en consideración que la clasificación define 0 sin pigmento y 4 máxima severidad.

5.1.1.3. Edad

Existen diferencias entre los resultados de prevalencia y severidad publicados en la literatura consultada, esto ocurre también en nuestros resultados. Estas diferencias podrían explicarse porque la media de edad fue distinta en los estudios. Concretamente, la media de edad en los animales estudiados por Labelle *et al.* (2013) fue de 4,1 años; los estudiados por Vallone *et al.* (2016) tenían 3,9 años, y los de Krecny *et al.* (2015) 2,8 años; sin embargo, en nuestro estudio la edad media de los animales estudiados fue superior, concretamente 6,5 años.

Sinitsina *et al.* (2011) en un estudio retrospectivo de anomalías oculares en otras razas braquiocefálicas determinaron el comienzo de trastornos oculares entre los 3 y los 10 años de edad.

En la literatura consultada, existe controversia sobre si la edad es un factor que influye en la prevalencia y severidad de la enfermedad. Nuestros resultados muestran que cuanto mayor es un animal, la probabilidad de padecer PK es superior, así como con una mayor severidad.

Según nuestros resultados tienen un mayor riesgo de padecer PK los animales del grupo de edad ≥ 8 años frente al grupo más joven de 0 a 3 años (OR: 16,676 95% IC: 3,183-87,372). Los animales entre 4 a 7 años tienen un riesgo también más alto que los animales menores, de 0 a 3 años (OR: 14,961 95% IC: 3,524- 63,515). En cambio, entre el grupo de 4 a 7 años y ≥ 8 años no encontramos diferencias estadísticamente significativas.

Nuestros resultados no coinciden con lo publicado por otros autores. Según Labelle *et al.* (2013) la edad no es un factor relacionado con la presencia de SCP, ni tampoco con la severidad. Tampoco Krecny *et al.* (2015) encontraron esta relación, aunque sí que determinaron una relación estadísticamente significativa entre la edad temprana y la presencia de distiquiasis, no hubo relación estadísticamente significativa en el desarrollo de cualquier otra anomalía ocular incluida la SCP. Por otro lado, Vallone *et al.* (2016) concluyeron que no hubo diferencias significativas entre los perros con SCP y los perros sin SCP en la distribución de edad.

5.1.1.4. Enfermedades anteriores

5.1.1.4.1. Enfermedades oculares

En nuestro estudio al relacionar la presencia de enfermedades oculares previas con la presencia de queratitis pigmentaria, se observó que el 100% de los animales que habían tenido una enfermedad ocular previa tenían queratitis pigmentaria.

Esta relación parece coherente ya que, si ha habido alguna enfermedad previa de la superficie ocular, como las recogidas en la encuesta epidemiológica: úlceras corneales, conjuntivitis infecciosa u ojo seco, o las diagnosticadas en la exploración oftalmológica: euribléfaron, distiquias, triquiasis etc. es probable que éstas predispongan a una acumulación de pigmentación corneal.

La manera en la que el pigmento se deposita en la córnea no está clara, se atribuye a varias causas, tal y como describe Martin (2010): como resultado de la migración de los melanocitos límbicos a lo largo de la neovascularización corneal, estos vasos aparecen en muchas de las enfermedades previas nombradas anteriormente (1), alternativamente, los melanocitos latentes o amelanóticos pueden estar en la córnea y activarse por neovascularización (2), o el pigmento epitelial puede surgir de la estimulación de las células madre del limbo (3).

Wilcock (2013) describe que la pigmentación corneal ocurre más frecuentemente como resultado del crecimiento interno de las células epiteliales conjuntivales pigmentadas en respuesta a la lesión epitelial corneal persistente que ha superado las capacidades regenerativas de las células epiteliales corneales residentes. Dependiendo de la gravedad de la lesión, ese crecimiento puede ir acompañado de angiogénesis y fibroplasia. La conjuntiva bulbar es el lugar normal para el reservorio replicativo permanente de células epiteliales corneales. En circunstancias normales estas células pierden su pigmento y se convierten en verdaderas células "corneales" cuando migran a la córnea. No se ha podido aclarar el por qué, bajo circunstancias de irritación persistente, conservan su carácter conjuntival (o al menos su pigmento). Las enfermedades oculares previas pueden causar esta irritación persistente o lesiones epiteliales que luego resultan en la acumulación de pigmento en la córnea.

Nuestros resultados no coinciden con los publicados por Labelle *et al.* (2013) para los cuales no fue significativo el diagnóstico de una enfermedad ocular previa con la presencia de SCP.

5.1.1.4.2. Enfermedades sistémicas

En un estudio específico sobre la salud de los perros de raza Pug en Inglaterra, O'Neill *et al.* (2016) describieron que, de los 1009 animales estudiados, 688 (68,19%) tenían al menos un trastorno registrado; siendo los más frecuentes el sobrepeso (13,18%), lesiones en la superficie ocular (8,72%) e infecciones del oído (7,53%).

En nuestro estudio el 50,90% de los animales presentaban patologías sistémicas o las habían padecido.

Las enfermedades sistémicas más frecuentes encontradas en los perros de raza Pug de nuestro estudio fueron los problemas dermatológicos sobre todo atopias y otitis. Además, todos los animales presentaban dificultades respiratorias propias de la raza (síndrome respiratorio braquiocefálico) aunque sólo se consideró enfermedad sistémica cuando se requería cirugía correctora debido a las dificultades respiratorias que esta condición les provocaba.

Según nuestros resultados los animales que tienen una enfermedad sistémica tienen un riesgo mayor de padecer queratitis pigmentaria pero no en la severidad de la misma.

No sabemos el porqué de estos acontecimientos quizás los estados de inmunosupresión del animal a causa de otras patologías no ayudan a que la regeneración corneal se desarrolle de forma fisiológica.

5.1.1.5. Vasos corneales

La vascularización de la córnea está asociada frecuentemente con la pigmentación corneal presente en la KCS y en la CSK (Slatter, 1977; Kaswan, 1989) además para algunos autores es la vía que tiene el pigmento para entrar en la córnea (Martin, 2010).

Según los resultados de Labelle *et al.* (2013) donde identificaron que aproximadamente la mitad de los Pugs con SCP no tenían vascularización corneal, se sugiere que la producción de pigmento por las células locales podría ser la causa de SCP en lugar de la entrada de melanocitos por vía hematógena. Krecny *et al.* (2015), examinaron 130 Pugs (258 ojos) y encontraron pigmentación corneal en 101 ojos y vascularización sólo en 35 ojos.

Nuestro estudio presentó un porcentaje similar, un 42,02% de los ojos no tenía vascularización corneal con PK, sin embargo, observamos que el 100% de los ojos con vasos corneales presentaban queratitis pigmentaria.

Los vasos corneales están muy relacionados con la inflamación, ya que la inflamación es fundamentalmente un evento vascular. La córnea avascular simplemente

no puede participar en la inflamación verdadera hasta que ha adquirido los vasos por el crecimiento interno del limbo. Sin embargo, este crecimiento sólo se producirá si existe una lesión corneal de suficiente gravedad y duración que justifique el reclutamiento de epitelio conjuntivo, vasos sanguíneos y fibroblastos para apoyar la cicatrización de la córnea. Las lesiones leves y transitorias cicatrizan con deslizamiento epitelial y posterior mitosis del epitelio corneal adyacente y saludable sin ninguna inflamación (Wilcock, 2013).

Para algunos autores el término queratitis pigmentaria es usado de forma incorrecta porque piensan que la inflamación no es parte intrínseca de esta reacción (Maggs, 2009; Wilcock, 2013). Labelle *et al.* (2013) usaron el término “queratopatía pigmentaria” al entender que en perros de raza Pug pueda ser una entidad nosológica diferente, pero otros autores (Vallone *et al.* 2016) describen que, sí que existen vasos corneales e inflamación sólo que a veces no somos capaces de observarlos; concretamente estos autores utilizaron microscopia cofocal *in vivo* (IVCM) y fueron capaces de demostrar la presencia del doble de vasos con esta tecnología, que con la magnificación con el biomicroscopio con lámpara de hendidura. Labelle *et al.* (2013) y Krecny *et al.* (2015) utilizaron biomicroscopio con lámpara de hendidura, al igual que nosotros. Quizá esto explicaría por qué nuestros resultados presentaron un porcentaje menor de presencia de vasos corneales.

Por lo tanto, Vallone *et al.* (2016) apoyan el término “queratitis pigmentaria” para describir esta condición ya que demostraron evidencia microscópica de melanina corneal con patología inflamatoria asociada.

Por otro lado, en nuestro estudio hemos observado que al tratar la patología se produce un aumento de la vascularización corneal. Estos resultados podrían explicarse porque el tratamiento facilita la exploración oftalmológica cuando el pigmento se fue aclarando, por lo que es posible que los vasos se encuentran bajo el espesor del pigmento y no fuimos capaces de visualizarlo con anterioridad.

Por lo anteriormente expuesto, es difícil concluir si los vasos corneales son la causa de la entrada del pigmento en la córnea o son una consecuencia del progreso de la enfermedad. Según nuestros resultados, cuanto más severa es la queratitis pigmentaria mayor riesgo de presencia de vasos corneales, estos mismos resultados fueron publicados por Labelle *et al.* (2013) que describieron que, aunque la presencia de la SCP no estaba asociada a la vascularización, la severidad del SCP, estaba significativamente asociada con la presencia y gravedad de la vascularización corneal.

5.1.1.6. Alteraciones palpebrales

La etiología de la PK no está bien definida en la literatura, por lo que se necesitan más estudios al respecto para aclararla. Algunos autores sugieren que es una respuesta biológica no específica a diversos estímulos, incluyendo la abrasión mecánica, queratitis inmunomediada, trauma, y trastornos de la película lagrimal (Labelle *et al.* 2013). Otros autores (Van der Woerdt, 2004; Magg, 2009; Gilger, 2007; Azoulay *et al.* 2014) sugirieron que la conformación del párpado y la calidad de la película lagrimal son los principales contribuyentes a la patogénesis de la SCP en los perros braquiocefálicos.

Aunque la conformación de los párpados y sus alteraciones se han relacionado con la presencia de pigmentación corneal en varias razas; en el estudio realizado a perros de raza Pug por Labelle *et al.* (2013), estos factores no influyeron en la presencia de la SCP. Los resultados de estos autores sugieren que estos factores pueden no producir PK en perros de raza Pug ya que no detectaron diferencias significativas en la gravedad de lagofalmo y entropion entre perros con SCP y sin SCP.

En nuestro estudio, todos los animales explorados presentaban euribléfaron y triquiasis caruncular con la excepción de 16 animales (n=32 ojos) debido a que previamente habían sido tratados quirúrgicamente de dichas alteraciones. Además, sólo 1 animal (n=2 ojos) no presentaba entropion nasal inferior, el cual había sido sometido también a corrección quirúrgica, el resto n= 217 ojos (99,10%) si lo presentaban. Nuestros resultados coinciden con los publicados por Krecny *et al.* (2015) que identificaron euribléfaron bilateral y entropion nasal en todos los perros de raza Pug incluidos en su estudio. Ambos hallazgos representan una patología congénita del Pug (Stades *et al.* 2013).

En nuestro estudio las otras alteraciones las encontramos en n=16 ojos (7,30%) triquiasis del pliegue nasal, en n= 28 ojos (12,80%) presencia de distiquias y en n= 34 ojos (15,50%) entropion nasal superior. En el estudio de las alteraciones palpebrales y su posible relación con la presencia y severidad de queratitis pigmentaria, se obtuvo como resultado que ninguna alteración influyó en la presencia ni en la severidad de la PK.

Los resultados del presente estudio sugieren que estos factores no pueden producir la PK en perros de raza Pug. Los resultados podrían indicar que la presencia de estas patologías empeora el cuadro, pero no se podría concluir que formen parte de la etiología, así que coincidimos con Labelle *et al.* (2013) que describen que la queratopatía pigmentaria en Pugs puede ser una enfermedad genética, la gravedad de la cual pueden

ser modificada o exacerbada por condiciones tales como entropion, baja producción de lágrima o trauma de la córnea, en lugar de una enfermedad causada por la conformación de los anejos o calidad anormal de la lágrima.

Con el estudio de las alteraciones palpebrales hemos evidenciado que no todos los perros de raza Pug presentan la misma conformación anatómica de los párpados y los pliegues. Por lo tanto, debemos considerar que no parece adecuado utilizar la misma estrategia terapéutica quirúrgica, como una cantoplastia nasal, para corregir la patología en todos los pacientes. Consideramos que es necesario estudiar cada paciente individualmente ya que la presencia de entropion nasal superior o triquiiasis del pliegue nasal puede hacer necesario modificar la técnica o realizar combinaciones de varias.

5.1.1.7. Alteraciones del iris

La presencia de hipoplasia de iris y de PPMs ha sido otro de los hallazgos de nuestros resultados; concretamente en un 46,60% y un 57,50% respectivamente. Además, todas las PPMs eran de iris-a-iris. Estos hallazgos se relacionaron con la presencia o severidad de la PK en nuestros animales. Nuestros resultados no demostraron una relación estadísticamente significativa y coincidimos con Labelle *et al.* (2013) que concluyeron que el diagnóstico de hipoplasia del iris o PPMs no se asoció significativamente con la presencia o la severidad de SCP. En su caso detectaron hipoplasia del iris en 72,10% de los perros de raza Pug y PPMs también de iris-a-iris en 85,30% de los casos. Este porcentaje en nuestro estudio quizás sea más bajo porque la PK se presentó de forma más severa en nuestros animales y la exploración del iris resultó más dificultosa.

Analizamos también, la asociación de PPMs con hipoplasia de iris concluyendo que un diagnóstico de hipoplasia del iris no estaba relacionado estadísticamente de manera significativa con un diagnóstico de PPMs, coincidiendo nuevamente con Labelle *et al.* (2013); además, sólo un Pug en este estudio no tenía SCP, hipoplasia del iris, o PPMs. Por eso Labelle y colaboradores especulan que esta patología puede ser parte de un síndrome de disgenesia del segmento anterior.

En el estudio de Krecny *et al.* (2015) encontraron como parte de las alteraciones de iris un leucoma adherente en un ojo, PPMs del iris-a-iris en ambos ojos de 10 Pugs, una PPM de iris-a-cristalino en un ojo de un Pug, un coloboma del iris en otro y atrofia de iris en ambos ojos en un Pug. En general las PPMs se encontraron sólo en 11/130 Pugs en este estudio, sin embargo, en algunos casos la presencia de PPMs pueden no haber sido registrados según los propios autores.

En nuestros resultados, observamos además de las PPMs e hipoplasias de iris, discoria en un ojo de un Pug, un quiste de iris en otro y atrofas de iris en Pug mayores, en un perro de forma bilateral y en dos perros de forma unilateral.

5.1.1.8. Sensibilidad corneal

Las terminaciones nerviosas son sensibles al dolor, presión y temperatura. La densa concentración de terminaciones nerviosas en el epitelio corneal explica el dolor severo observado con la pérdida epitelial superficial, mientras que una úlcera profunda frecuentemente no presenta el mismo grado de dolor. Los braquicéfalos tienen una sensibilidad disminuida en comparación con las razas dolicocefálicas y mesocefálicas. Además, la córnea central es más sensible que las regiones periféricas (Martin, 2010).

La sensibilidad corneal es por tanto necesaria para proteger al ojo. El rápido parpadeo y retracción del globo con prolapso de la membrana nictitante son reflejos fundamentales cuando la córnea es afectada o irritada, por lo tanto, tener una menor sensibilidad corneal predispone a una mayor probabilidad de daño en la superficie ocular (Gum *et al.* 2013).

La sensibilidad corneal en los perros de raza Pug fue evaluada por Labelle *et al.* (2013) con estensimetría corneal. La zona axial de cada córnea se tocó con un filamento de nylon de 4,0 cm; el filamento se acortó en incrementos 0,5 cm según respuesta, y se repitió, cuando 3 toques no provocaban una respuesta positiva.

Los valores de umbral de contacto corneal (CTT) fueron significativamente mayores para los Pugs con SCP severa frente aquellos con SCP moderada, pero sólo en los ojos derechos. El CTT (OD:1 cm; OS: 1 cm) en los perros de raza Pug de este estudio fueron inferiores a los valores publicados anteriormente en las razas mesocefálicas, pero coinciden con los valores para las razas braquiocefálicas publicado por Barrett *et al.* (1991).

En nuestro estudio también evaluamos la sensibilidad corneal, pero de manera cualitativa dividida en fina y gruesa y clasificándola en positiva, disminuida y negativa. En nuestros resultados, ningún animal presentaba una respuesta positiva a la sensibilidad fina, la mayoría presentaba una sensibilidad fina negativa, un 67,60% y disminuida un 32,40 %. En cuanto a la sensibilidad gruesa, sí existían ojos con sensibilidad positiva pero sólo un 10%, otro 10% se clasificaba como negativa y la mayoría presentó una sensibilidad gruesa disminuida (79,90%).

Al relacionar la sensibilidad corneal con la presencia de PK, se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas ni en la sensibilidad fina ni en la gruesa.

Tampoco al relacionarla con los grupos de severidad, ninguna de las sensibilidades fue estadísticamente significativas. Pero al calcular la relación entre la máxima severidad y la sensibilidad corneal fina, sí obtuvimos un resultado estadísticamente significativo; así pues, en nuestros resultados podemos concluir que tener una sensibilidad fina negativa, es un factor de riesgo para tener una mayor severidad en la PK (OR=2,108 95% IC: 1,004-4,427), o bien concluir que la enfermedad corneal avanzada hace que se pierda sensibilidad corneal.

Por lo tanto, parece que existe menos sensibilidad corneal cuanto más severa es la enfermedad, pero quizás sea el pigmento lo que produce una menor sensibilidad y no la falta de sensibilidad lo que causa que la córnea acumule pigmento. Se necesitan más estudios que analicen la sensibilidad a una edad temprana antes de la presencia de la PK que pueda influir en el resultado.

5.1.1.9. Lágrima

La KCS da lugar a trastornos corneales concurrentes según varios autores, que describen varias alteraciones como la vascularización, la pigmentación y la ulceración corneal (William, 2008; Westermeyer *et al.* 2009; Giuliano 2013).

Las razas con mayor riesgo relativo de KCS por orden de mayor a menor son el Cavalier King Charles Spaniel, el Bulldog Inglés, el Lhasa Apso, el West Highland White Terrier, el Pug, el Chien de Saint Hubert, el American Cocker Spaniel, el Pekinés, el Boston Terrier, el Schnauzer miniatura y el Samoyedo, por lo tanto, el Pug es la sexta raza canina más frecuentemente afectada en el desarrollo de la KCS (Giuliano, 2013).

Muchos autores como Kaswan *et al.* (1989), Gilger, (2007), Maggs, (2009), Ledbetter *et al.* (2013) y Azoulay (2014) atribuyen la KCS como uno de los principales factores de la SCP en perros braquicefálicos. Sin embargo, otros autores se preguntan si la KCS puede ser una causa de PK o una consecuencia de la misma.

Krecny *et al.* (2015), concluyeron que un número elevado de perros de raza Pug mostró SCP (n=61) y ulceración corneal en ausencia de KCS. Estos resultados sugirieron una influencia de factores aún no determinados en el desarrollo de SCP y de ulceración corneal.

La KCS cuantitativa es normalmente diagnosticada con el STT y con los signos clínicos propios de la enfermedad y la KCS cualitativa puede ser diagnosticada

determinando el BUT, el test de Ferning (Barabino *et al.* 2004) y midiendo el nivel de lípidos en el margen del párpado mediante un meibómetro (Ofri *et al.* 2007; Benz *et al.* 2008; Ewert, 2011).

Para Vallone *et al.* (2016) el STT estaban dentro de los rangos normales en todos los ojos explorados, la media STT en los Pugs fue $22,6 \pm 4,7$ mm/min en OD y $22,3 \pm 4,3$ mm/min en OS y para los no Pugs fue $24,7 \pm 4,1$ mm/min en OD y $24,7 \pm 4,6$ en OS.

En el estudio de Krecny *et al.* (2015), 107 Pugs tenían al menos un ojo con valores normales de STT (192 ojos, 96 OS y 96 OD). 22 Pugs tenían valores STT normales unilateralmente y 85 Pugs bilateralmente. 117 ojos de los 192 con valores STT normales fueron afectados con SCP (61 OS y 56 OD).

Labelle *et al.* (2013) observaron que, aunque los Pugs con SCP severa tenían baja producción de lágrimas y el BUT ocurría en pocos segundos, los Pugs con SCP muy leve, leve y moderada, no tenían significativamente menor producción de lágrima o inferiores valores de BUT, en comparación con Pugs sin SCP. Este hallazgo sugiere que la producción baja de lágrima y el bajo BUT pueden haber sido producidas por enfermedad corneal crónica y, probablemente, no es la causa de dicha enfermedad. Los Pugs de este estudio tenían un valor medio de STT: OD:22 mm/min; OS:23 mm/min que fue similar a los valores publicados anteriormente para perros de otras razas, pero los valores BUT: OD:8 s; OS: 9 s, en estos Pugs fueron inferiores a los valores publicados anteriormente para las razas mesocefálicas y coincidieron con los valores para las razas braquiocefálicas. Los resultados de este estudio sugieren que la producción de lágrimas no disminuye durante las primeras etapas de la enfermedad en Pugs ya que se ha observado que una disminución de la cantidad de la lágrima influía en la severidad, siendo peor y más agresiva la SCP en ojos con menos cantidad de lágrima.

En nuestro estudio la media de STT fue de $16,26 \pm 5,782$ mm/min en OU quizás esta media sea inferior porque la edad media de nuestros Pugs era mayor y tenían además una PK más severa, pero a pesar de ello el STT no influyó en la presencia de la queratitis pigmentaria, en cambio sí existen diferencias estadísticamente significativas al relacionar STT y la severidad de la enfermedad. El STT presenta un valor más bajo cuando la PK es más severa en nuestros resultados coincidiendo así con Labelle *et al.* (2013).

En el perro, la media de BUT oscila entre $19,7 \pm 5$ s y $21,53 \pm 7,42$ s (Maggs, 2009; Gelatt, 2014).

La alta prevalencia de valores bajos de BUT en Pugs es corroborada por varios estudios, en el de Labelle *et al.* (2013) como ya hemos comentado y en el de Arnold *et al.* (2014).

En el estudio de Krecny *et al.* (2015) el BUT fue registrado solamente en cinco Pugs, cuatro de ellos tenían un BUT anormal, menor de 20 segundos en OU y sólo un Pug tenía un BUT normal de 19 segundos en un ojo y 21 segundos en el otro. Todos ellos presentaban cambios en la córnea, es decir SCP, opacidad, ulceración y vascularización corneal.

En nuestro estudio utilizamos el BUT para evaluar cualitativamente la lágrima de cada ojo siendo la media de $5,99 \pm 2,738$ s en OU. En nuestros resultados el BUT sí es estadísticamente significativo en relación a la presencia de queratitis pigmentaria. La media de BUT es mayor en aquellos animales que no tienen queratitis pigmentaria. También observamos que las medias de BUT van disminuyendo a medida que aumenta la severidad de la patología, pero no podemos afirmar que sea significativo.

Existen algunos estudios sobre meibometría canina con concentraciones medias de lípidos de 179 ± 60 MU (Ofri *et al.* 2007) y otro con 211 ± 48 MU en OD y 205 ± 41 MU en OS (Benz *et al.* 2008). Ewert (2011) examinó la concentración de lípidos en el margen del párpado de 98 perros, incluyendo 4 Pugs. En ese estudio se informó una media de $299,47 \pm 170,4$ MU. Pero en nuestro trabajo no se estudió.

El test de Ferning es otra manera de valorar la calidad de la lágrima, este ha sido usado en humana y recientemente en caballos. En la literatura disponible no hemos encontrado estudios en perros.

En nuestro estudio valoramos el test de Ferning para evaluar la calidad de la lágrima. La mayoría de los Pug (38,50%) tenían un test de Ferning tipo II. Estos resultados del test de Ferning no estaban relacionados con la presencia de PK según nuestro estudio estadístico, pero no existe ningún ojo que no tenga queratitis pigmentaria y que tenga la calidad de la lágrima más baja, representada por el test de Ferning tipo IV.

Pero, aunque para la presencia de la enfermedad no fue estadísticamente significativo, para la severidad de la misma sí que se demostró esta significación. Para poder describir la calidad de la lágrima entre grupos se dividió en un grupo de baja calidad o anormal (tipo III y tipo IV) y otro grupo de buena calidad o normal (tipo I y tipo II) y se comparó el grupo de máxima severidad frente al resto, resultando con diferencias estadísticamente significativas.

Por lo tanto, cuanto peor es el resultado de test de Ferning más riesgo de tener una mayor severidad en la PK (OR= 3,540 95% IC: 1,667-7,517). Así que, el test de Ferning es una evaluación rápida y de bajo coste que refleja indirectamente la osmolaridad y la calidad de la lágrima. Esto se cree que está relacionado con la producción de mucinas, que tiene además una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de KCS en los seres humanos. En el estudio usado recientemente en caballos se concluye que es un método adicional para evaluar la superficie ocular, fácil de realizar y sin riesgos para el paciente (Silva *et al.* 2016).

Según nuestros resultados en el test de Ferning se puede utilizar para valorar la calidad de la lágrima en los perros, de forma fácil, barata, rápida y sin riesgos que nos puede ayudar a valorar el estado inicial y a realizar un mejor seguimiento de la enfermedad.

5.1.1.10. Paquimetría ultrasónica

El espesor medio de la córnea en perros medido por la paquimetría ultrasónica es de $562 \pm 6,2 \mu\text{m}$ según Gilger *et al.* (1991). En contraste nuestros resultados muestran que la media de la paquimetría fue de $697,94 \pm 134,153 \mu\text{m}$ en la zona lateral y de $761,98 \pm 144,778 \mu\text{m}$ en la zona medial.

En el estudio del espesor corneal existen diferencias estadísticamente significativas en la paquimetría medial y lateral cuando las comparamos con la presencia o no de la queratitis pigmentaria. Así mismo, el espesor corneal es mayor en el lado medial que en el lateral lo cual concuerda con lo descrito por Labelle *et al.* (2013) que define que el pigmento entra a la córnea por la zona medial y avanza a la zona central.

Según estos resultados podemos concluir que el pimento no sólo ocupa la extensión de la córnea, sino que también va incrementando progresivamente en el espesor corneal a medida que se acumula.

La paquimetría se midió al principio del estudio con la intención de utilizarlo como indicador para el seguimiento de los pacientes tratados, con la hipótesis de que se produciría la retirada del pigmento al aplicar el tratamiento. Pero observamos que el pigmento no se retiró de forma homogénea y que además era muy complicado medir siempre en el mismo punto de la córnea. A pesar de estas dificultades, consideramos que podría ser de utilidad para conocer mejor el pronóstico de la patología, ya que un valor elevado de paquimetría nos evidenciaría, de alguna forma, la gravedad real de la

enfermedad, no sólo registrando la extensión del pigmento en la córnea de medial a lateral, sino también su acumulación en espesor y densidad.

Es útil, por ejemplo, si queremos someter al animal a un procedimiento quirúrgico para retirar el pigmento como la queratectomía superficial, el *diamond burr* o la crioterapia, conocer el espesor de la córnea afectado y en consecuencia si va a tener una mejor o peor respuesta a dicho tratamiento.

5.1.1.11. Género

En cuanto al género, en nuestro estudio no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre sexos, ni cuando comparamos el estado de fertilidad relacionado con la presencia de queratitis pigmentaria. Tampoco fue significativo, cuando lo comparamos con el grado máximo de severidad. En esto coincidimos con el estudio de Krecny *et al.* (2015) que concluyeron que no hubo relación estadísticamente significativa en el género con la SCP y tampoco con otras alteraciones oculares excepto en la distiquiasis. Por otro lado, en el estudio de Vallone *et al.* (2016) también concluyeron que no había diferencias significativas entre los perros de raza Pug con SCP y sin SCP en la distribución de sexo y estado de fertilidad; y tampoco dentro del grupo de razas no Pugs.

En cambio, Labelle *et al.* (2013) sí que describen diferencias en sus resultados; concretamente un número significativamente mayor de Pugs hembras no tenían SCP o tenía una SCP muy leve o leve en comparación con los Pugs macho; y un número significativamente mayor de Pugs machos tenían SCP moderada o severa en comparación con los Pug hembras. Además, los Pug hembras esterilizadas tuvieron más probabilidades de no tener SCP que las enteras. Por lo tanto, las hembras esterilizadas presentan menos incidencia y severidad de la SCP. Este hallazgo lo atribuye a influencias hormonales, aunque concluyen que son necesarias investigaciones adicionales para determinar su relación.

5.1.1.12. Capa

Aunque existen cuatro colores de capa en la raza Pug que son: beige, negro, plata y albaricoque según el estándar oficial de la raza; Labelle *et al.* (2013) en su estudio del color de la capa, los clasificaron en dos grupos, en negro y en beige. Este factor no influía en la presencia de la SCP, pero sí que describe una relación estadísticamente significativa con la severidad de la enfermedad. Concretamente, describió que un número significativamente mayor de Pugs con una capa beige tenían SCP moderada frente a los Pugs con una capa negra, y un número significativamente mayor de Pugs con una capa negra tenía una SCP leve frente Pugs con una capa beige. Desconocemos si estos tienen en consideración el número de Pug en cada grupo, ya que 236 (80%) eran de capa beige frente a 59 (20%) que eran de capa negra.

En nuestro estudio las capas se dividieron también en dos grupos, capa oscura y capas claras, para estudiar la relación con la presencia de queratitis pigmentaria. Nuestros resultados demuestran que no existen relación estadísticamente significativa. Aunque, para los distintos grupos de severidad sí que encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ellos, cuando calculamos el riesgo en el grupo de grado máximo de severidad, nuestros resultados demuestran que no hay diferencias estadísticamente significativas, por lo que con nuestros resultados no podemos concluir que la capa sea factor de riesgo.

5.2. SEGUNDA FASE

Para la segunda fase de nuestro estudio, 32 Pugs de la primera fase se subdividieron en dos grupos de tratamiento de manera aleatoria en un grupo 1 tratado con tacrolimus y un grupo 2 tratado con sirolimus.

Nos parecía interesante comparar dos inmunosupresores tópicos con diferente mecanismo de acción ya que no encontramos esta comparación en la bibliografía disponible. Esta fue una de las razones por la que elegimos el sirolimus, inhibidor de mTOR y el tacrolimus, inhibidor de la calcineurina. La otra razón fue que era posible formularlos del mismo modo, con los mismos excipientes e igual concentración, para asegurar que las diferencias entre los dos fármacos no pudieran atribuirse a los diferentes vehículos. Por lo tanto, finalmente usamos tacrolimus y sirolimus colirio al 0,03 % TID durante 6 meses. No se trató con ningún otro colirio exceptuando la tobramicina inicial TID usada en todos los casos durante 7 días.

En la bibliografía disponible encontramos estudios que comparan diferentes inmunosupresores tópicos para el control de la KCS canina, pero todos estos lacrimoestimulantes tienen el mismo mecanismo de acción, actúan inhibiendo la calcineurina.

Los estudios disponibles son el realizado por Ofri *et al.* (2009) donde se evaluó la eficacia del pimecrolimus colirio al 1% diluido en aceite de maíz para el alivio de los clínicos signos de KCS en perros y comparar su eficacia con la ciclosporina (Optimune® pomada al 0,2%) BID durante 8 semanas. Además, se utilizaron lágrimas artificiales TID durante el estudio y cloranfenicol colirio en el caso de que hubiera úlceras corneales. Por otro lado, Herdrix *et al.* (2011), determinaron la eficacia y seguridad de tacrolimus colirio al 0,03% diluido en aceite de oliva, en comparación con la ciclosporina colirio al 2% BID durante 12 semanas, también para el tratamiento de la KCS en los perros. Cualquier tratamiento que el paciente estaba usando, tales como antibióticos o lubricantes oculares, se continuaron durante el curso del estudio. Además, algunos pacientes ya estaban siendo tratados con ciclosporina antes del inicio del estudio.

Radziejewski *et al.* (2016) compararon también la ciclosporina y el tacrolimus en perros con KCS, pero en diferentes concentraciones, se les aplicó ciclosporina colirio al 0,75% TID a 20 perros y tacrolimus colirio al 0,02% BID a otros 20, durante un periodo de 2 meses.

Como podemos observar en estos estudios; no se homogenizó los vehículos, se comparaban productos acuosos con pomadas y se utilizaron diferentes concentraciones.

Además, se emplearon otros productos tópicos durante el estudio como lágrimas artificiales y antibióticos. Observamos que la frecuencia también difiere al igual que el periodo de duración del estudio. Por estos motivos no podemos realizar una comparación directa entre los estudios debido a la disparidad de variables.

Por otro lado, queremos resaltar otro factor a tener en cuenta en cualquier estudio clínico, nos referimos al grado de cumplimiento del propietario, que va a ser una variable que escapa a nuestro control.

Los principios activos elegidos en nuestro estudio ya han sido estudiados previamente. Concretamente, existen estudios anteriores en los que se valora la toxicidad e irritación ocular del sirolimus. Douglas *et al.* (2008) demostraron que la inyección intravítrea y subconjuntival de 5 y 10 mg de sirolimus no causaron signos de toxicidad aguda en ojos normales de caballos adultos. En otro estudio realizado en perros, Fonzar *et al.* (2013) no encontraron evidencias de irritación o toxicidad causada por múltiples inyecciones subconjuntivales a dosis de 0,4 mg/ml de sirolimus durante 4 meses.

Se ha usado también en implantes intraoculares intravítreo en conejos para el tratamiento de uveítis demostrando buena compatibilidad ocular y la capacidad de liberar sirolimus localmente en el transcurso de varias semanas (Lance *et al.* 2015).

En el caso del tacrolimus, este fármaco ha sido también evaluado en varios estudios en veterinaria: Hendrix *et al.* (2011) evaluaron su seguridad en perros Beagle durante 14 días. Berdoulay *et al.* (2005) lo usaron para la KCS canina con buenos resultados. Y en medicina humana se ha utilizado en diferentes vehículos y concentraciones en enfermedades de la superficie ocular sin efectos secundarios locales o sistémicos durante periodos largos de tiempo (Lee *et al.* 2003; Marquezan *et al.* 2015; Moscovici *et al.* 2015).

En 2005 la FDA publicó un aviso de los posibles efectos cancerígenos del tacrolimus dérmico cuando se utiliza en los seres humanos. Este aviso recomienda que tacrolimus sólo se puede utilizar como agente de segunda línea, a corto plazo y de forma intermitente. Esta advertencia se basa en un pequeño número de pacientes, y las extrapolaciones para los perros tratados con tacrolimus para KCS no se conocen (Hendrix *et al.* 2011).

5.2.1. Lágrima

-Valoración de la cantidad de la lágrima

En nuestro estudio, para realizar un seguimiento de la película lagrimal se valoró la producción de la misma con el test de Schirmer.

Las medidas de STT aumentaron en el grupo 1 de tacrolimus en todos los periodos del estudio, pero sólo fue estadísticamente significativo a los 2 meses. En el grupo 2 de sirolimus también aumento a los 2 y a los 4 meses, pero sólo fue significativo también a los 2 meses.

La eficacia de estos principios activos para aumentar la producción de lágrima ha sido evaluada en estudios realizados en la queratoconjuntivitis seca canina.

En el caso del tacrolimus en el estudio realizado por Berdoulay *et al.* (2005) concluyeron que la administración de tacrolimus colirio al 0,02 % BID aumenta la producción de la lágrima. También Hendrix *et al.* (2011) concluyeron que es útil en el tratamiento de perros con KCS no tratados previamente con lacrimoestimulantes.

Y en el caso de sirolimus, Linares-Alba *et al.* (2016) realizaron un estudio con sirolimus subconjuntival a dosis de 1 mg/ml, utilizando perros con KCS que no respondía a tacrolimus y ciclosporina. Usaron para cuantificar la producción de la lágrima el STT1 y el STT2, la producción se duplicó al mes y medio de tratamiento en sus resultados.

Por lo tanto, coincidimos con estos estudios en que el tacrolimus y el sirolimus son eficaces para elevar los valores de STT.

En nuestro estudio, además, al comparar ambos grupos de tratamiento el aumento en la producción de la lágrima fue significativamente mayor en el grupo 1 de tacrolimus en todos los periodos, a los 2, 4 y 6 meses.

En otros trabajos, nombrados anteriormente, donde se compararon otros inmunosupresores tópicos, como el realizado por Ofri *et al.* (2009) que compararon el pimecrolimus y la ciclosporina estudiaron también el STT en perros con KCS obteniendo como resultado que el aumento de STT fue mayor en el grupo pimecrolimus que en el grupo de ciclosporina, pero no fue estadísticamente significativo. En cambio, en el estudio realizado por Hendrix *et al.* (2011) compararon el tacrolimus con la ciclosporina, demostraron que ambos fármacos fueron eficaces en la elevación del valor de STT en perros no tratados previamente con lacrimoestimulantes. Además, el tacrolimus fue eficaz para aumentar el STT en 4 perros que no respondían a la CsA.

En cambio, Radziejewski *et al.* (2016) en su estudio, observaron en todos los pacientes un aumento significativo en los valores de STT después del primer y segundo

mes de tratamiento con tacrolimus, así como después de 2 meses en el tratamiento con ciclosporina.

-Valoración de la calidad de la lágrima

Para valorar la calidad de la lágrima en nuestro estudio utilizamos el BUT y el test de Ferning. En nuestros resultados obtuvimos que tanto el tacrolimus como el sirolimus aumenta los tiempos del BUT en los primeros 2 meses de manera significativa, pero al comparar entre ambos productos no existen diferencias significativas en ningún periodo.

En estos coincidimos con Linares-Alba *et al.* (2016) que también utilizaron el BUT en su estudio y concluyeron que mejoró en perros con KCS tratados con sirolimus.

En el estudio de test de Ferning en nuestros resultados ningún grupo de tratamiento aumentó significativamente el TFT de forma individual, pero al comparar las diferencias entre ambos grupos fue estadísticamente significativo a los 2 meses, donde la mayoría de los ojos del grupo 1 de tacrolimus presentaba un TFT de buena calidad o normal (tipo II) y la mayoría de los ojos del grupo 2 de sirolimus presentaba un TFT de baja calidad o anormal (tipo III) pero no fue significativo ni a los 4 ni a los 6 meses del tratamiento.

No tenemos referencias bibliográficas en la literatura disponible con las que podamos comparar estos resultados de TFT en el perro.

5.2.2. Paquimetría ultrasónica

La paquimetría ultrasónica se midió con la intención de realizar un seguimiento del espesor corneal mientras se retiraba el pigmento corneal a causa de los tratamientos aplicados, pero luego se observó que era complicado.

Además, en nuestros resultados no fue estadísticamente significativo al comparar ambos grupos en ningún periodo de nuestro estudio.

A pesar de ello, coincidimos con Alario *et al.* (2014) con que clínicamente, esta información podría utilizarse para ayudar en la planificación quirúrgica, controlar la progresión de la enfermedad y evaluar la respuesta al tratamiento, pero quizás para esto se requiere un periodo de tiempo más largo que el analizado en nuestro estudio.

5.2.3. Signos clínicos

Para evaluar los signos clínicos en nuestro estudio tenemos que tener en cuenta que en el periodo de tratamiento algunos ojos presentaron úlceras corneales. Estas úlceras en algunos casos se descubrieron en las revisiones de manera accidental sin la presencia de signos clínicos (úlceras simples), pero en otros casos recibimos la llamada del propietario o cuidador informándonos que el animal presentaba el signo típico de blefaroespasmó (úlceras complicadas). En el grupo 1 de tacrolimus sólo aparecieron úlceras simples y en el grupo 2 de sirolimus aparecieron el total de úlceras complicadas del estudio, aunque una de ellas fue producida por un cuerpo extraño.

Recordemos que las úlceras corneales son un problema común en los perros debido a varias razones, en general a las alteraciones palpebrales, las alteraciones de las pestañas, la KCS cuantitativa y cualitativa, los cuerpos extraños y los traumatismos (Lackner, 2001). Además, en concreto los perros de raza Pug presenta un alto riesgo en el desarrollo de úlceras corneal (Stades, 2013). En un estudio realizado por Wang *et al.* (2008) demostraron que los perros de raza Pug tenía los porcentajes más altos de cultivos bacterianos positivos en los casos de ulceración corneal por lo que las úlceras corneales en esta raza son más susceptibles a complicarse que en otras razas. Krecny *et al.* (2015), también describieron que los perros de raza Pug presenta un alto riesgo de desarrollar úlceras corneales, concretamente 43 Pugs de los 130 explorados, presentaron úlceras corneales y 3 con descemetoceloses unilaterales.

Por lo expuesto anteriormente nos parece difícil afirmar que las úlceras complicadas que aparecieron en el grupo 2 de sirolimus en nuestro estudio, ocurrieran realmente como efecto secundario del principio activo. Tenemos acontecimientos a favor y en contra a parte de los expuestos. Por un lado, la presencia de signos clínicos bilaterales (blefaroespasmó y edema difuso) que aparecieron en los pacientes que padecieron estas úlceras corneales complicadas unilaterales sugiere que quizás el sirolimus si tuvo algo que ver, pero por otro lado, uno de los animales que presentó una úlcera complicada en el grupo 2 de sirolimus, fue causada por un cuerpo extraño, si no hubiéramos visto y retirado dicho cuerpo extraño hubiéramos imaginado que quizás el tratamiento con sirolimus fuera la causa.

Esto sumado al alto riesgo que presenta la raza en tener úlceras corneales y a la facilidad que tienen en complicarse dichas úlceras, hace que sea difícil llegar a una conclusión acertada.

Recordemos que el sirolimus y el tacrolimus está formulado con los mismos excipientes, por lo tanto, no pueden ser éstos los culpables de dichas úlceras corneales en el grupo 2 de sirolimus.

Los signos clínicos presentes en nuestro estudio están por lo tanto influidos por la aparición de estas úlceras corneales complicadas.

5.2.3.1. Blefaroespasmó

El blefaroespasmó se observó en los animales que tenían úlceras complicadas, además, aunque estas fueran unilaterales en algunos pacientes también presentaba cierto grado de blefaroespasmó en el ojo contralateral como hemos comentado anteriormente. Por lo tanto, en el grupo 1 de tacrolimus ningún ojo presentó blefaroespasmó durante los 6 meses que duró el estudio. En cambio, en el grupo 2 de sirolimus apareció blefaroespasmó a los 2 y 4 meses coincidiendo con los periodos de la presentación de las úlceras corneales.

5.2.3.2. Hiperemia

La hiperemia estaba presente antes de la aplicación de los productos en algunos ojos, esta mejoró con la aplicación de ambos productos de manera significativa, en el grupo 1 de tacrolimus con un $p < 0,001$, y de manera inferior en el grupo 2 de sirolimus ($p = 0,046$) seguramente por la presencia de las úlceras. Pero no existieron diferencias al comparar ambos grupos. En el estudio realizado por Linares-Alba *et al.* (2016) la hiperemia también mejoró con la aplicación de sirolimus.

5.2.3.3. Prurito

Lo mismo ocurrió con el prurito, aunque este desapareció por completo en el grupo 1 de tacrolimus las pequeñas apariciones en el grupo 2 de sirolimus a causa de las úlceras no fueron suficientes para ser estadísticamente significativas al comparar ambos grupos además ninguno de ellos de forma independiente obtuvo un resultado estadísticamente significativo.

Nosotros relacionamos el prurito que se encontró inicialmente en los pacientes como la sequedad ocular que mejoró al aplicar los tratamientos.

5.2.3.4. Edema corneal

Varios ojos al inicio del estudio presentaban edema ligero o moderado. El edema que tuvo una presentación difusa, se incrementó en ambos grupos de manera significativa, en el grupo 1 de tacrolimus con un $p= 0,046$ y el grupo 2 de sirolimus con un $p= 0,001$. Pero en el grupo 2 de sirolimus se incrementó más notablemente a los 2 y 4 meses, además, a los 4 meses la diferencia fue estadísticamente significativa al comparar ambos grupos ($p= 0,019$).

5.2.3.5. Vasos corneales

A medida que el pigmento corneal se aclaraba o retiraba se observaban más vasos en la córnea. Concretamente el número de vasos fue aumentando a partir de los 4 meses en el grupo 2 de sirolimus, mientras que, a los 6 meses, el aumento de la vascularización se observó en sendos grupos, pero sólo es estadísticamente significativo en el grupo 1 de tacrolimus ($p=0,018$). Las diferencias entre grupos no son estadísticamente significativas.

En este caso no coincidimos con los estudios consultados en la bibliografía, en el trabajo realizado por Linares-Alba *et al.* (2016) demostraron que la vascularización disminuyó con la aplicación de sirolimus en perros con KCS. Igual ocurre en el estudio de Radziejewski *et al.* (2016) que compararon el tacrolimus y la ciclosporina también en la KCS y sus resultados manifestaron una reducción significativa de la neovascularización después del primer y segundo meses de tratamiento, aunque la eficacia observada con el tacrolimus fue superior, en estadios moderados y avanzados de KCS.

Hay que tener presente que los pacientes de estos estudios tenían queratoconjuntivitis seca no queratitis pigmentaria.

En cambio, en el estudio de Balicki *et al.* (2010) realizado en perros Pastores Alemanes con queratitis superficial crónica observaron una respuesta al tacrolimus colirio al 0,02% mediante la reducción en el tejido de granulación y los vasos corneales.

Según la literatura disponible parece que ambos productos activos son eficaces en la retirada de la vascularización, pero este hallazgo no fue observado en nuestros pacientes.

5.2.3.6. Infiltrado inflamatorio

La presencia de infiltrado inflamatorio no fue significativa en ningún periodo del estudio comparando ambos grupos. Sin embargo, este infiltrado inflamatorio aumenta de forma estadísticamente significativo en el grupo 2 de sirolimus ($p= 0,019$). El infiltrado inflamatorio lo observábamos a medida que el pigmento se aclaraba, quizás era mayor en el grupo 2 de sirolimus porque en este grupo existía más animales con PK severa ($n= 14$) que en el grupo de tacrolimus ($n= 6$).

5.2.3.7. Pigmento en esclera

Según nuestra exploración podemos decir que es frecuente encontrar pigmento en la esclera más marcado en los pacientes con queratitis pigmentaria sobre todo en la zona medial.

La presencia del pigmento en la esclera fue por lo tanto objeto de análisis. Nuestro estudio demuestra que la retirada de pigmento en la esclera fue estadísticamente significativa en ambos grupos individualmente, en el grupo 1 de tacrolimus con un $p= 0,015$ y en el grupo 2 de sirolimus con un $p= 0,024$. Al comparar ambos grupos estas diferencias eran estadísticamente significativas a los 4 y a los 6 meses ($p= 0,028$; $p= 0,037$), el sirolimus parece retirar más eficazmente pigmento de la esclera según nuestros resultados.

5.2.3.8. Descarga ocular

Los resultados de nuestro estudio en cuanto a la presencia de descargas oculares, muestra que hubo una mejoría de la misma con el uso de ambos productos siendo estadísticamente significativo en ambos grupos, los dos con un $p < 0,001$. En cambio, el análisis estadístico entre los grupos no demostró diferencias entre ellos. En esto coincidimos con el estudio de Linares-Alba *et al.* (2016) donde la descarga ocular también disminuyó al usar sirolimus. En nuestro estudio el uso de la tobramicina tópica pudo influir en la primera revisión realizada a los 2 meses.

En resumen, los signos clínicos mejoraron de forma general en los dos grupos de tratamiento en nuestro estudio, en esto coincidimos nuevamente con Linares-Alba *et al.* (2016) que concluyeron que el aspecto clínico de los ojos se mejoró considerablemente al finalizar el tratamiento con sirolimus.

En cambio, es contrario al estudio de Hendrix *et al.* (2011) en el que se comparó el tacrolimus y la ciclosporina concluyendo que no hubo una mejora significativa en los signos clínicos, quizás porque el periodo de seguimiento en este estudio fue más corto.

Por otro lado, en el estudio de Ofri *et al.* (2009) la mejoría de los signos clínicos en los ojos tratados con pimecrolimus si fue significativamente mayor que en los ojos tratados con ciclosporina.

5.2.4. Indicadores de efectividad

5.2.4.1. Línea transparente

La línea transparente la hemos utilizado como un indicador positivo de que el pigmento corneal ha cesado su entrada en córnea. Esta apareció significativamente en ambos grupos a medida que avanzaba el tratamiento, en el grupo de tacrolimus con un $p < 0,001$ y el de sirolimus con un $p = 0,049$. Pero al comparar ambos grupos apareció con más frecuencia en el grupo de tacrolimus, siendo estadísticamente significativo a los 2 y 4 meses ($p = 0,029$; $p = 0,039$).

Creemos que es un buen indicador para valorar la eficacia del tratamiento en la pigmentación corneal.

5.2.4.2. Pigmento aclarado

En nuestros resultados ambos productos aclararon el pigmento durante el transcurso de los 6 meses (tacrolimus, $p < 0,001$ y sirolimus, $p = 0,017$) además entre ellos no existía diferencias estadísticamente significativas.

Linares-Alba *et al.* (2016) también destacaron en su estudio que el sirolimus redujo significativamente el pigmento corneal en la mayoría de sus casos.

Radziejewski *et al.* (2016) en su estudio de comparación del tacrolimus con la ciclosporina, observaron que en ambos grupos algunos pacientes presentaban reducción de la pigmentación, pero no fue estadísticamente significativo.

Otros autores en un estudio realizado en perros con CSK demostraron que el tacrolimus colirio al 0,02% fue eficaz tópicamente en la retirada de pigmento aproximadamente en la mitad de los ojos estudiados y en la otra mitad aclaró, y disminuyó su densidad (Balicki *et al.* 2010).

5.2.4.3. Recuperación de transparencia

La sensación de recuperación de transparencia a los 6 meses fue similar en ambos grupos de tratamiento, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Por lo tanto, según nuestros resultados ambos productos parecen eficaces para

reducir la producción de pigmento y para aclararlo.

5.2.5. Precauciones

Los inmunosupresores deben ser usados con precaución porque, aunque estos han demostrado ser útiles para el tratamiento de varias enfermedades oculares inmunomediadas, su rango terapéutico en los perros no ha sido aún bien definido ni existen suficientes estudios a largo plazo. Por lo tanto, la terapia con estos productos requiere precauciones especiales debido a posibles efectos adversos que pueden desarrollarse. A parte de la teoría ya comentada a lo largo de nuestro trabajo de que los tratamientos inmunosupresores tópicos como la ciclosporina o el tacrolimus desempeñen un papel en la presentación de SCC en perros braquiocefálicos con queratitis crónicas (Dreyfus *et al.* 2011).

Pueden existir otros efectos que desconocemos, como las úlceras corneales que aparecieron en nuestro estudio o por ejemplo la queratitis o conjuntivitis por protozoos descrita reciente por Beckwith-Cohen *et al.* (2016) en cinco casos de perros con queratoconjuntivitis seca, queratitis pigmentaria (n=4) y adenitis piogranulomatosa de las glándulas de Meibomio (n=1) que fueron tratados con tacrolimus o ciclosporina durante al menos 1,2 años.

CONCLUSIONES



6. CONCLUSIONES

Primera fase

PRIMERA. La prevalencia de la PK en nuestra población de estudio es muy alta, la mayoría de los animales explorados en la presente tesis presentaba además una PK clasificada con una severidad moderada.

SEGUNDA. Los resultados de este estudio nos sugieren que quizás exista una base genética en los perros de raza Pug y que los considerados factores predisponentes quizás empeoren el cuadro, pero no sean su causa.

TERCERA. La edad influye, cuanto mayor es el animal más probabilidades hay de tener PK y más severidad de la misma. Por lo tanto, la PK parece una enfermedad que progresa en el tiempo.

CUARTA. Haber padecido una enfermedad sistémica es un factor de riesgo para padecer PK y tener una enfermedad ocular previa parece un factor de riesgo para padecer PK severa.

QUINTA. Según nuestros resultados, cuanto más severa es la patología más vasos corneales encontramos. Por lo tanto, los vasos corneales pueden ser la causa de la entrada del pigmento en la córnea o pueden ser una consecuencia del progreso de la enfermedad.

SEXTA. Las alteraciones palpebrales no influyen ni en la presencia ni en la severidad de la enfermedad. Todos los Pugs parece tener euribléfaron, triquiasis caruncular y entropion nasal inferior. Además, las alteraciones del iris tales como PPMs e hipoplasias de iris son muy frecuentes en los Pugs.

SEPTIMA. La sensibilidad corneal no influye en la presencia ni en la severidad de la PK, pero tener una sensibilidad fina negativa es un factor de riesgo para tener mayor severidad de la PK o bien la enfermedad corneal avanzada provoca una pérdida de sensibilidad corneal.

OCTAVA. En el estudio de la película lagrimal la media de STT en los Pugs explorados se encuentra cerca de los valores considerados sospechosos de KCS. La KCS es frecuente en esta raza. Pero este valor no influye en la presencia de la PK, sin embargo, sí influye en la severidad. Quizás es la enfermedad corneal crónica y la disminución de la

CONCLUSIONES

sensibilidad corneal lo que provoca una disminución de la lágrima con el tiempo y no ésta la causa de la PK.

El valor del BUT influye en la presencia, y éste disminuye a medida que aumenta la severidad de la patología, pero no podemos afirmar que sea significativo. El valor de TFT no influye en la presencia de PK, pero sí en la severidad, cuanto peor es el resultado de TFT mayor riesgo de PK severa.

NOVENA. La paquimetría ultrasónica se puede usar para medir el espesor corneal en animales con PK. El espesor corneal aumenta en los Pugs con PK, además es mayor en la zona medial que en la lateral. Concluyendo así que el pigmento no sólo ocupa la extensión de la córnea si no también incrementa el espesor de la misma de forma progresiva.

DÉCIMA. El género, tanto el sexo como el estado de fertilidad, no influye en la presencia ni en la severidad de la PK. Tampoco podemos considerar que la capa sea un factor de riesgo.

Segunda fase

PRIMERA. La lágrima evaluada de manera cuantitativa por el STT aumenta en ambos grupos de tratamiento, siendo significativo a los dos meses, pero el tacrolimus aumento significativamente más la cantidad de lágrima que el sirolimus en todos los periodos. Y de forma cualitativa evaluada por el BUT, el tiempo aumenta en ambos grupos de tratamientos siendo significativo a los dos meses. No hay diferencias entre ambos grupos. El TFT que también midió la calidad de la lágrima no varía con ningún tratamiento en un periodo de 6 meses, pero al comparar los grupos a los 2 meses el valor de TFT era normal en la mayoría de los animales con tacrolimus. Además, podemos concluir que es una técnica fácil, barata sin riesgo para el paciente que puede ser usada en el paciente canino.

SEGUNDA. La predisposición de los perros de raza Pug a padecer úlceras corneales nos hace difícil concluir que las úlceras que aparecieron en el grupo 2 de sirolimus hayan sido producidas por el principio activo.

TERCERA. De los signos clínicos evaluados podemos decir que: el blefaroespasmó sólo apareció en el grupo 2 de sirolimus coincidiendo con la presencia de úlceras. La hiperemia

mejora con ambos tratamientos. En el prurito no influye ninguno de los tratamientos. El edema se incrementa en ambos grupos del tratamiento. Además, a los 4 meses el incremento fue significativamente mayor en el grupo 2 de sirolimus. La presencia de vasos corneales aumentó en ambos grupos, estos pueden estar presente pero no ser fácilmente explorables ya que se encuentran ocultos por el pigmento, por eso creemos que aumentan al aplicar los tratamientos tópicos. No existe diferencias entre grupos. El infiltrado inflamatorio aumenta en el grupo 2 de sirolimus. No hay diferencias entre grupos. El pigmento en esclera aparece normalmente de forma más marcada en los Pug con PK, debería ser considerado un signo clínico de la PK, se observó además normalmente en la zona medial. Ambos grupos de tratamiento retiran el pigmento de la esclera. Pero a los 4-6 meses el sirolimus lo retiró más.

CUARTA. Al estudiar los indicadores de efectividad, concluimos que: la línea transparente es un buen indicador de efectividad de los tratamientos, ésta apareció en ambos grupos, aunque a los 2-4 meses estaba más presente en el grupo de tacrolimus. Ambos tratamientos aclaran el pigmento de la PK. La recuperación de transparencia a los 6 meses de tratamiento es similar en ambos grupos de tratamiento.

En resumen, tanto el sirolimus, inhibidor de mTOR, como el tacrolimus, inhibidor de la calcineurina, parecen ser tratamientos potencialmente eficaces para aumentar la cantidad y calidad de la lágrima y para la retirada del pigmento de la córnea. Además, no existen diferencias en la recuperación de transparencia total evaluada a los 6 meses entre los grupos de tratamiento.

Los dos tratamientos mejoran de manera general los signos clínicos, menos el edema corneal. Los vasos corneales y el infiltrado inflamatorio se incrementan en ambos tratamientos, pero creemos que ocurre porque la retirada de pigmento facilita su exploración, el prurito no presenta variaciones con ningún producto. La presencia de úlceras complicadas en el grupo de sirolimus sugiere que debe ser usado con precaución.

RESUMEN-SUMMARY



7. RESUMEN

Estudiamos la presencia y posibles factores predisponentes de la PK en perros de raza Pug en una primera fase del estudio.

En una segunda fase, se seleccionaron Pugs de la primera y se dividieron en dos grupos de tratamiento de forma aleatoria, un grupo fue tratado con sirolimus colirio y otro, con tacrolimus colirio, ambos al 0,03% TIB durante un periodo de seis meses. Se realizaron revisiones cada dos meses a los dos grupos, en ellas, se evaluaba la película lagrimal con el STT, el BUT y el TFT, se valoraban signos clínicos e indicadores de efectividad.

Se observó que la presencia de la PK fue muy alta en los Pugs explorados, además, en el estudio de los factores predisponentes los resultados sugirieron, que dichos factores, no son la causa de la patología.

En cuanto a los tratamientos, ambos productos pueden ser usados para tratar la PK ya que ambos retiraron el pigmento corneal de forma similar, además los dos mejoraron cualitativa y cuantitativamente la película lagrimal y muchos de los signos clínicos estudiados.

Sin embargo, la presencia de úlceras corneales en el grupo de sirolimus, aunque no se pueda demostrar que el principio activo haya sido la causa, nos indica que, estos tratamientos, deben ser usados con precaución y que es necesario más estudios a largo plazo para determinar la seguridad y eficacia de estos productos tópicos.

SUMMARY

We studied the presence and possible predisposing factors of PK in Pug dogs on the first phase of the study.

On the second phase, Pugs were selected from the first one and were divided randomly into two treatment groups, one group was treated with sirolimus eye drops and the other with tacrolimus eye drops, both at 0.03% TIB for a period of six months. Both groups were reviewed every two months; the tear film was evaluated with STT, BUT and TFT, clinical signs and indicators of effectiveness were assessed.

It was observed that the presence of PK was very high in the explored Pugs; in addition, in the study of predisposing factors, the results suggested that these factors were not the cause of the pathology.

Regarding the treatments, both products can be used to treat PK since both removed the corneal pigment in a similar way, in addition, both of them improved qualitatively and quantitatively the tear film and many of the clinical signs studied.

However, the presence of corneal ulcers in the sirolimus group, although it cannot be demonstrated that the active substance has been the cause, indicates that these treatments should be used with caution and that more long-term studies are necessary to determine the safety and efficacy of these topical products.

BIBLIOGRAFÍA



8. BIBLIOGRAFÍA

1. Afsharkhamseh N, Ghahari E, Eslani M, Djalilian AR: A simple mechanical procedure to create limbal stem cell deficiency in mouse. *J Vis Exp* 2016; 17(117).
2. Alario AF, Pirie CG: Central corneal thickness measurements in normal dogs: a comparison between ultrasound pachymetry and optical coherence tomography. *Vet Ophthalmol* 2014;17(3):207-11.
3. Ambroziak AM, Szaflik J, Szaflik JP, Ambroziak M, Witkiewicz J, Skopiński P: Immunomodulation on the ocular surface: a review. *Cent Eur J Immunol* 2016;41(2):195-208.
4. Andreani V, Guandalini A, D'Anna N *et al.*: The combined use of surgical debulking and diode laser photocoagulation for limbal melanoma treatment: a retrospective study of 21 dogs. *JS. Vet Ophthalmol* 2017; 20 (2):147-154.
5. Arnold TS, Wittenburg LA, Powell CC: Effect of topical naltrexone 0.3% on corneal sensitivity and tear parameters in normal brachycephalic dogs. *Vet Ophthalmol* 2014;17(5):328-33.
6. Azoulay T: Adjunctive cryotherapy for pigmentary keratitis in dogs: a study of 16 corneas. *Vet Ophthalmol* 2014;17(4):241-9.
7. Balicki I, Trbolova A: Clinical evaluation of tacrolimus eye drops for chronic superficial keratitis treatment in dogs. *Bull Vet Inst Pulawy* 2010; 54,251-258.
8. Balland O, Raymond I, Mathieson I, Isard PF, Vidémont-Drevon E, Dulaurent T: Canine bilateral conjunctivo-palpebral dermoid: Description of two clinical cases and discussion of the relevance of the terminology. *Case Reports in Veterinary Medicine* 2015;1-6.
9. Barabino S, Chen W, Dana MR: Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. *Exp Eye Res* 2004;79(5):613-21.
10. Barachetti L, Rampazzo A, Mortellaro CM, Scevola S, Gilger BC: Use of episcleral cyclosporine implants in dogs with keratoconjunctivitis sicca: pilot study. *Vet Ophthalmol* 2015;18(3):234-41.
11. Barrett PM, Scagliotti RH, Merideth RE, Jackson PA, Alarcón F: Absolute

- corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. *Prog Vet Comp Ophthalmol* 1991;(4):245-254.
12. Bauer BS, Sandmeyer LS, Grahn BH: Diagnostic ophthalmology. Microphthalmos and multiple ocular anomalies (MOA) OU consistent with merle ocular dysgenesis (MOD). *Can Vet J* 2015;56(7):767-8.
 13. Beckwith-Cohen B, Gasper DJ, Bentley E *et al.*: Protozoal infections of the cornea and conjunctiva in dogs associated with chronic ocular surface disease and topical immunosuppression. *Vet Ophthalmol* 2016;19(3):206-13.
 14. Bedford PG: Distichiasis and its treatment by the method of partial tarsal plate excision. *J Small Anim Pract* 1973;14(1):1-5.
 15. Bellot JL, Alió JL, Ruiz Moreno JM, Artola A: Corneal concentration and systemic absorption of cyclosporin-A following its topical application in the rabbit eye. *Ophthalmic Res* 1992;24(6):351-6.
 16. Benz P, Tichy A, Nell B: Review of the measuring precision of the new Meibometer MB550 through repeated measurements in dogs. *Vet Ophthalmol* 2008;11(6):368-74.
 17. Berdoulay A, English RV, Nadelstein B: Effect of topical 0.02% tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Vet Ophthalmol* 2005;8(4):225-32.
 18. Bernays ME, Flemming D, Peiffer RL Jr: Primary corneal papilloma and squamous cell carcinoma associated with pigmentary keratitis in four dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999;214(2):215-7.
 19. Brown MH, Galland JC, Davidson HJ, Brightman AH: The phenol red threat tear test in dogs. *Veterinary & Comparative Ophthalmology* 1996;6, 274-277.
 20. Brudenall DK, Bernays ME, Peiffer RL Jr: Central corneal dermoid in a Labrador retriever puppy. *J Small Anim Pract* 2007;48(10):588-90.
 21. Buech G, Bertelmann E, Pleyer U, Siebenbrodt I, Borchert HH: Formulation of sirolimus eye drops and corneal permeation studies. *J Ocul Pharmacol Ther* 2007;23(3):292-303.
 22. Busse C, Hartley C, Kafarnik C, Pivetta M. Ocular alkaline injury in four dogs

- presentation, treatment, and follow-up a case series. *Vet Ophthalmol* 2015;18(2):127-34.
23. Çakmak H, Ergin K, Bozkurt G, Kocatürk T, Evliçoğlu GE: The effects of topical everolimus and sunitinib on corneal neovascularization. *Cutan Ocul Toxicol* 2016;35(2):97-103.
24. Carmichael KP: Basic Ocular Pathology. En Martin CL (ed): *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*, USA, MANSON, 2010;71-82.
25. Choi US, Labelle P, Kim S *et al.*: Successful treatment of an unusually large corneal epithelial inclusion cyst using equine amniotic membrane in a dog. *Vet Ophthalmol* 2010;13(2):122-5.
26. Christmas RE: Common ocular problems of Shih Tzu dogs. *Can Vet J* 1992;33(6): 390-393.
27. Christmas RE: Management of chemical burns of the canine cornea. *Can Vet J* 1991;32(10):608-12.
28. Colligris B, Crooke A, Huete-Toral F, Pintor J: An update on dry eye disease molecular treatment: advances in drug pipelines. *Expert Opin Pharmacother* 2014;15(10):1371-90.
29. Crispin S: The cornea. En Peteren-Jones S, Crispin S (ed): *BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology*, 2nd ed. Quedgeley, Brit Small Anim Vet Assoc, 2002;134-154.
30. Crispin S: The lacrimal system. En Peteren-Jones S, Crispin S (ed): *BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology*, 2nd ed. Quedgeley, Brit Small Anim Vet Assoc, 2002;107-108.
31. Dawson C, Naranjo C, Sanchez-Maldonado B *et al.*: Immediate effects of diamond burr debridement in patients with spontaneous chronic corneal epithelial defects, light and electron microscopic evaluation. *Vet Ophthalmol* 2017;20(1):11-15.
32. Denk N, Fritsche J, Reese S: The effect of UV-blocking contact lenses as a therapy for canine chronic superficial keratitis. *Vet Ophthalmol* 2011;14(3):186-94.

33. Dodi PL: Immune-mediated keratoconjunctivitis sicca in dogs: current perspectives on management. *Veterinary Medicine Research and Reports* 2015;6:341-347.
34. Donaldson D, Sansom J, Scase T, Adams V, Mellersh C: Canine limbal melanoma: 30 cases (1992-2004). Part 1. Signalment, clinical and histological features and pedigree analysis. *Vet Ophthalmol* 2006;9(2):115-9.
35. Dorbandt DM, Driskell EA, Hamor RE: Treatment of corneal squamous cell carcinoma using topical 1% 5-fluorouracil as monotherapy. *Vet Ophthalmol* 2016;19(3):256-261.
36. Douglas LC, Yi NY, Davis JL, Salmon JH, Gilger BC: Ocular toxicity and distribution of subconjunctival and intravitreal rapamycin in horses. *J Vet Pharmacol Ther* 2008;31(6):511-6.
37. Douglas WE: Merle Ocular Dysgenesis (MOD). En: Douglas WE (ed): Clinical atlas of canine and feline ophthalmic disease, California, Wiley Blackwell, 2015;182-183.
38. Drahovska Z, Balicki I, Trbolova A, Mihalova M, Holickova M: A retrospective study of the occurrence of chronic superficial keratitis in 308 German Shepherd dogs: 1999-2010. *Pol J Vet Sci* 2014;17(3):543-6.
39. Dreyfus J, Schobert CS, Dubielzig RR: Superficial corneal squamous cell carcinoma occurring in dogs with chronic keratitis. *Veterinary Ophthalmology* 2011;14:161-168.
40. Dubielzig RR, Ketring KL: Diseases of the Cornea and Sclera. EN Dubielzig RR, Ketring KL, McLellan GJ, Albert DN (ed): Veterinary Ocular Pathology a comparative review, Edinburgh, Saunders Elsevier, 2010;204-211.
41. Dubin AJ, Pizzirani S, Beamer GL: Corneal sequestrum in a dog with chronic unilateral keratoconjunctivitis sicca. *J Am Vet Med Assoc* 2013;243(12):1751-5.
42. Eichenfield LF, Beck L: Elidel (pimecrolimus) cream 1%: a non-steroidal topical agent for the treatment of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003;111:1154-1168.
43. Ewert AM. Interferometrie, meibometrie und biochemische analyse der

- lipidschicht des tränenfilms beim hund. (Dissertation). Berlin, Germany: Freie Universität Berlin; 2011.
44. Famose F: Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in eight dogs. *Vet Ophthalmol* 2014;17(5):358-67.
45. Famose F: Evaluation of accelerated corneal collagen cross-linking for the treatment of bullous keratopathy in eight dogs (10 eyes). *Vet Ophthalmol* 2016; 19(3):250-255.
46. Featherstone HJ, Heinrich CL: Ophthalmic Examination and Diagnostics. Part 1: The Eye Examination and Diagnostic Procedures. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;541-582.
47. Fonzar JF, Bernad JB, Ranzani JJ, Arroyo LG, Gómez MB, Becerra PR, Díaz BB, Seullner CV, Brooks DE, García GA. Use of subconjunctivally injected liposome encapsulated rapamycin and topically administered 0.03% tacrolimus for the treatment of medically non-responsive keratoconjunctivitis sicca in dogs (Abstract). *44th Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists* 2013;16: 26-50.
48. Gelatt KN, Brooks DE: Surgery of the cornea and sclera. En Gelatt KN, Gelatt JP (ed): *Veterinary Ophthalmic Surgery*, Gainesville, FL USA, Elsevier Saunders, 2011;191-236.
49. Gelatt KN: Canine Cornea: Diseases and Surgery. EN Gelatt KN (ed): *Essentials of Veterinary Ophthalmology*, 3th ed, Gainesville, FL USA, Wiley Blackwell, 2014;216-248.
50. Gelatt KN: Canine Eyelids: Diseases and Surgery. EN Gelatt KN (ed): *Essentials of Veterinary Ophthalmology*, 3th ed, Gainesville, FL USA, Wiley Blackwell, 2014;168-170.
51. Gelatt KN: Enfermedades y cirugía de la córnea y esclerótica en el perro. En Gelatt KN (ed): *Fundamentos de Oftalmología Veterinaria*, Barcelona, Masson, S.A., 2003;125-153.
52. Gelatt KN: Eye examination and Diagnostics. EN Gelatt KN (ed): *Essentials of Veterinary Ophthalmology*, 3th ed, Gainesville, FL USA, Wiley Blackwell,

- 2014;107-119.
53. Gilger BC, Andrews J, Wilkie DA, Wyman M, Lairmore MD: Cellular immunity in dogs with keratoconjunctivitis sicca before and after treatment with topical 2% cyclosporine. *Vet Immunol Immunopathol* 1995;49(3):199-208.
54. Gilger BC, Bentley E, Ollivier FJ: Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. En Gelatt KN (ed): *Veterinary Ophthalmology*. 4th ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 2007;690–752.
55. Gilger BC, Whitley RD, McLaughlin SA, Wright JC, Drane JW: Canine corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry. *Am J Vet Res* 1991;52(10):1570-2.
56. Gilger BC: Equine Ophthalmology. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;1590-1591.
57. Giuliano EA: Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;919-923.
58. Gosling AA, Labelle AL, Breaux CB: Management of spontaneous chronic corneal epithelial defects (SCCEDs) in dogs with diamond burr debridement and placement of a bandage contact lens. *Vet Ophthalmol* 2013; 16 (2): 83-8.
59. Gradilone L, Artiles S, Mendoza E, Morales-Fariña I. Clinical evaluation of the effect of diamond burr debridement in pigmentary keratitis in the dog: 2 case reports (Abstract). *Annual Meeting of the European College of Veterinary Ophthalmologists* 2012;15:1-12.
60. Grahn BH, Cullen CL: Iris to lens persistent pupillary membranes. *Can Vet J* 2004;45(7): 613.
61. Grahn BH, Peiffer RL: Veterinary Ophthalmic Pathology. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013; 449-451.
62. Gum GG, MacKay EO: Physiology of the Eye Glenwood. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK,

- Wiley-Blackwell, 2013;177-178.
63. Heiligenhaus A, Zurek-Imhoff B, Roesel M, Hennig M, Rammrath D, Heinz C: Everolimus for the treatment of uveitis refractory to cyclosporine A: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251(1):143-52.
 64. Hendrix DV, Adkins EA, Ward DA, Stuffle J, Skorobohach B: An investigation comparing the efficacy of topical ocular application of tacrolimus and cyclosporine in dogs. *Vet Med Int* 2011; 2011:1-5.
 65. Herrera HD, Weichsler N, Gómez JR, de Jalón JA: Severe, unilateral, unresponsive keratoconjunctivitis sicca in 16 juvenile Yorkshire Terriers. *Vet Ophthalmol* 2007;10(5):285-8.
 66. Herring IP: Clinical Pharmacology and Therapeutics. Part 4: Mydriatics/Cycloplegics, Anesthetics, and Tear Substitutes and Stimulators. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;429-430.
 67. Höcht S, Grüning G, Allgoewer I, Nausner M, Brunnberg L, Hinkelbein WS: Treatment of keratitis superficialis chronica of the dog with strontium 90. *Strahlenther Onkol* 2002;178(2):99-104.
 68. Hollingsworth SR, Canton DD, Buyukmihci NC, Farver TB: Effect of topically administered atropine on tear production in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1992;200(10):1481-4.
 69. Holmberg DL, Scheifer HB, Parent J: The Cryosurgical Treatment of pigmentary keratitis in dogs an experimental and clinical study. *Veterinary Surgery* 1986; 15:1-4.
 70. Kafarnik C, Fritsche J, Reese S: In vivo confocal microscopy in the normal corneas of cats, dogs and birds. *Vet Ophthalmol* 2007;10(4):222-30.
 71. Kalpravidh M, Tuntivanich P, Vongsakul S, Sirivaidyapong S. Canine amniotic membrane transplantation for corneal reconstruction after the excision of dermoids in dogs. *Vet Res Commun* 2009;33(8):1003-1012.
 72. Karakuş M, Aykur M, Özbel Y, Töz S, Dağcı H: Molecular detection and genotyping of *Acanthamoeba spp.* among stray dogs using conjunctival swab

- sampling. *Acta Trop* 2016; 164:23-26.
73. Kaswan RL, Salisbury MA, Ward DA: Spontaneous canine keratoconjunctivitis sicca: A useful model for human keratoconjunctivitis sicca: treatment with cyclosporine eye drops. *Arch Ophthalmol* 1989;107(8):1210-1216.
74. Kilmartin DJ, Forrester JV, Dick AD: Tacrolimus (FK506) in failed cyclosporin A therapy in endogenous posterior uveitis. *Ocular Immunology and Inflammation* 1998;6:101-109.
75. Krecny M, Tichy A, Rushton J, Nell B: A retrospective survey of ocular abnormalities in Pugs: 130 cases. *J Small Anim Pract* 2015;56(2):96-102.
76. Labelle AL, Dresser CB, Hamor RE, Allender MC, Disney JL: Characteristics of, prevalence of, and risk factors for corneal pigmentation (pigmentary keratopathy) in Pugs. *J Am Vet Med Assoc* 2013;243(5):667-74.
77. Lackner PA: Techniques for surgical correction of adnexal disease. *Clin Pract Tech Pequeño Anim* 2001;16(1):40-50.
78. Lance KD, Good SD, Mendes TS *et al.*: *In vitro* and *in vivo* sustained zero-order delivery of rapamycin (sirolimus) from a biodegradable intraocular device. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(12):7331-7.
79. Ledbetter CE, Gilger BC: Diseases and Surgery of the Canine Cornea and Sclera. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;976-1033.
80. Ledbetter CE, Munger RJ, Anillo RD, Scarlett JM: Efficacy of two chondroitin sulfate ophthalmic solutions in the therapy of spontaneous chronic corneal epithelial defects and ulcerative keratitis associated with bullous keratopathy in dogs. *Vet Ophthalmol* 2006;9(2):77-87.
81. Ledbetter CE: Canine herpesvirus-1 ocular diseases of mature dogs. *N Z Vet J* 2013;61(4):193-201.
82. Lee JY, Kang WH: Effect of cyclosporine A on melanogenesis in cultured human melanocytes. *Pigment Cell Res* 2003;16(5):504-8.
83. Linares-Alba MA, Gómez-Guajardo MB, Fonzar JF, Brooks DE, García-

- Sánchez GA, Bernad-Bernad MJ: Preformulation studies of a liposomal formulation containing sirolimus for the treatment of dry eye disease. *J Ocul Pharmacol Ther* 2016;32(1):11-22.
84. Maggs DJ: Basic diagnostic techniques. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 4th ed. Missouri, Saunders Elsevier, 2009;83-100.
85. Maggs DJ: Cornea and sclera. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 4th ed. Missouri, Saunders Elsevier, 2009;175-201.
86. Maggs DJ: Cornea and sclera. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 5th ed. Missouri, Elsevier Saunders, 2013;184-211.
87. Maggs DJ: Diagnostic Techniques. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 5th ed. Missouri, Elsevier Saunders, 2013;84-103.
88. Maggs DJ: Eyelids. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 5th ed. Missouri, Elsevier Saunders, 2013;115-124.
89. Maggs DJ: Farmacología y Terapéutica oculares. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 4th ed. Missouri, Saunders Elsevier, 2009;50-52.
90. Maggs DJ: Ocular pharmacology and therapeutics. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 5th ed. Missouri, Elsevier Saunders, 2013;45-6.
91. Maggs DJ: Párpados. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 4th ed. Missouri, Saunders Elsevier, 2009;117-123.
92. Maggs DJ; Miller PE; Ofri R: Glosario. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology, 4th ed. Missouri, Saunders Elsevier, 2009;467-472.

93. Marquezan MC, Nascimento H, Vieira LA *et al.*: Effect of topical tacrolimus in the treatment of thygeson's superficial punctate keratitis. *Am J Ophthalmol* 2015;160(4):663-8.
94. Martin CL: Anamnesis and the Ophthalmic Examination. En Martin CL (ed): *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*, USA, MANSON, 2010;15-20.
95. Martin CL: Cornea and Sclera. En Martin CL (ed): *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*, USA, MANSON, 2010;244-258.
96. Martínez-Naves E, Regueiro JR: Fármacos inmunomoduladores. EN Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A (ed): *Velázquez Farmacología Básica y Clínica*, 18 ed, Madrid, Panamericana, 2008;562-567.
97. Masmali AM, Murphy PJ, Purslow C: Development of a new grading scale for tear ferning. *Cont Lens Anterior Eye* 2014;37(3):178-84.
98. McCracken JS, Klintworth, GK: Ultrastructural observations on experimentally produced melanin pigmentation of the corneal epithelium. *Am J Pathol* 1976;85(1):167-182.
99. Meingassner JG, Grassberger M, Fahrngruber H, Moore HD, Schuurman H, Stütz A: A novel anti-inflammatory drug, SDZ ASM 981, for the topical and oral treatment of skin diseases: in vivo pharmacology. *Br J Dermatol* 1997;137(4):568-76.
100. Miller PE: Lagrimal System. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Missouri, Elsevier Saunders, 2013;176-181.
101. Montiani-Ferreira F, Peteren-Jones S: Neuro-ophthalmology. En Peteren-Jones S, Crispin S (ed): *BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology*, 2nd ed. Quedgeley, Brit Small Anim Vet Assoc, 2002;273-4.
102. Montiani-Ferreira F, Petersen-Jones S, Cassotis N, Ramsey DT, Gearhart P, Cardoso F: Early postnatal development of central corneal thickness in dogs. *Vet Ophthalmol* 2003;6(1):19-22.
103. Moraes PS, Vaz AM: Florida spots in dogs and cats. A clinical study in São Paulo Brazil. *Braz. J. vet. Res. cinim. Sci* 1997;34(5):276-277.

104. Morgan RV, Abrams KL: Topical administration of cyclosporine for treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1991;199(8),1043-1046.
105. Moscovici BK, Holzchuh R, Sakassegawa-Naves FE *et al.*: Treatment of Sjögren's syndrome dry eye using 0.03% tacrolimus eye drop: Prospective double-blind randomized study. *Cont Lens Anterior Eye* 2015;38(5):373-8.
106. Mould RBJ: Ophthalmic examination En Peteren-Jones S, Crispin S (ed): BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology, 2nd ed. Quedgeley, Brit Small Anim Vet Assoc, 2002;9-10.
107. Nautscher N, Bauer A, Steffl M, Amselgruber WM: Comparative morphological evaluation of domestic animal cornea. *Vet Ophthalmol* 2016;19(4):297-304.
108. Nell B, Walde I, Billich A, vitamina P, Meingassner JG: The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study. *Vet Ophthalmol* 2005;8(1):39-46.
109. Nevile JC, Hurn SD, Turner AG, Morton J: Diamond burr debridement of 34 canine corneas with presumed corneal calcareous degeneration. *Vet Ophthalmol* 2016a;19(4):305-12.
110. Nevile JC, Hurn SD, Turner AG: Keratomycosis in five dogs. *Vet Ophthalmol* 2016b;19(5):432-8.
111. Ofri R, Lambrou GN, Allgoewer I *et al.*: Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: a comparison with cyclosporine A. *Vet J* 2009;179(1):70-7.
112. Ofri R, Orgad K, Kass PH, Dikstein S: Canine meibometry: establishing baseline values for Meibomian gland secretions in dogs. *Vet J* 2007;174(3):536-40.
113. Ohia EO, Mancino M, Kulkarni PS: Effects of steroids and immunosuppressive drugs on endotoxin-uveitis in rabbits. *J Ocul Pharmacol* 1992;8(4):295-307.
114. O'Neill DG, Darwent EC, Church DB, Brodbelt DC: Demography and

- health of Pugs under primary veterinary care in England. *Canine Genet Epidemiol* 2016;3: 1-11.
115. Otranto D, Colella V, Crescenzo G *et al.*: Efficacy of moxidectin 2.5% and imidacloprid 10% in the treatment of ocular thelaziosis by *Thelazia callipaeda* in naturally infected dogs. *Vet Parasitol* 2016; 227:118-21.
116. Overton TL, Allbaugh RA, Whitley D, Ben-Shlomo G, Griggs A, Tofflemire KL, Whitley EM: A pulse-dose topical 1% 5-fluorouracil treatment regimen in a young dog with corneal squamous cell carcinoma. *Vet Ophthalmol* 2015;18(4):350-4.
117. Packer RM, Hendricks A, Burn CC: Impact of facial conformation on canine health: corneal ulceration. *PLoS One* 2015;10(5):1-16.
118. Parrilha LR, Nai GA, Giuffrida R *et al.*: Comparison of 1% cyclosporine eye drops in olive oil and in linseed oil to treat experimentally-induced keratoconjunctivitis sicca in rabbits. *Arq Bras Oftalmol* 2015;78(5):295-9.
119. Patruno M, Perazzi A, Martinello T, Blaseotto A, Di Iorio E, Iacopetti I: Morphological description of limbal epithelium: searching for stem cells crypts in the dog, cat, pig, cow, sheep and horse. *Vet Res Commun* 2017;41(2):169-173.
120. Peteren-Jones S: The eyelids and nictitating membrane. En Peteren-Jones S, Crispin S (ed): *BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology*, 2nd ed. Quedgeley, Brit Small Anim Vet Assoc, 2002;88-91.
121. Pot SA, Gallhöfer NS, Matheis FL, Voelter-Ratson K, Hafezi F, Spiess BM: Corneal collagen cross-linking as treatment for infectious and noninfectious corneal melting in cats and dogs: results of a prospective, nonrandomized, controlled trial. *Vet Ophthalmol* 2014;17(4):250-60.
122. Pot SA, Gallhöfer NS, Walser-Reinhardt L, Hafezi F, Spiess BM: Treatment of bullous keratopathy with corneal collagen cross-linking in two dogs. *Vet Ophthalmol* 2015;18(2):168-73.
123. Radziejewski K, Balicki I: Comparative clinical evaluation of tacrolimus and cyclosporine eye drops for the treatment of canine keratoconjunctivitis sicca. *Acta Vet Hung* 2016;64(3):313-329.

124. Rahman EZ, Lam PK, Chu CK, Moore Q, Pflugfelder SC: Corneal sensitivity in tear dysfunction and its correlation with clinical parameters and blink rate. *Am J Ophthalmol* 2015;160(5):858-866.
125. Rankin A: Clinical Pharmacology and Therapeutics. Part 3: Anti-Inflammatory and Immunosuppressant Drugs. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;414-6.
126. Rappersberger K, Komar M, Richter L, Wolff K: Pimecrolimus identifies a common genomic antiinflammatory profile, is clinically highly effective in psoriasis and is well tolerated. *Journal of Investigative Dermatology* 2002;119:876-887.
127. Real Decreto 175/2001, de 23 de febrero, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficiales. (Boletín Oficial del Estado, número 65, de 16 de marzo de 2001).
128. Reinhard T, Reis A, Mayweg S, Oberhuber H, Mathis G, Sundmacher R: Topical FK506 in inflammatory corneal and conjunctival diseases. A pilot study. *Klin Monbl Augenheilkd* 2002;219(3):125-31.
129. Rolando M: Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. *Chibret Int J Ophthalmol* 1984; 2:32-41.
130. Samuelson DA: Ophthalmic Anatomy. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;62-72.
131. Sanchez RF, Daniels JT: Mini-Review: Limbal Stem Cells Deficiency in Companion Animals: Time to Give Something Back?. *Curr Eye Res* 2016;41(4):425-32.
132. Schermer A, Galvin S, Sun TT: Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *J Cell Biol* 1986;103(1):49-62.
133. Shanmuganathan VA, Casely EM, Raj D *et al.*: The efficacy of sirolimus in the treatment of patients with refractory uveitis. *Br J Ophthalmol*

- 2005;89(6):666-9.
134. Sharanjeet-Kaur, Ho CY, Mutalib HA, Ghazali AR: The relationship between tear ferning patterns and non-invasive tear break-up time in normal asian population. *J Optom* 2016;9(3):175-81.
135. Shi W, Gao H, Xie L, Wang S: Sustained intraocular rapamycin delivery effectively prevents high-risk corneal allograft rejection and neovascularization in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(8):3339-44.
136. Silva LR, Gouveia AF, de Fátima CJ *et al.*: Tear ferning test in horses and its correlation with ocular surface evaluation. *Vet Ophthalmol* 2016;19(2):117-23.
137. Simonazzi B, Castania M, Bosco V, Giudice C, Rondena M: A case of multiple unilateral corneal epithelial inclusion cysts in a dog. *J Small Anim Pract* 2009;50(7):373-6.
138. Sinitsina L. Retrospektive Studie über das Auftreten der klinischen Symptome des okularen Brachycephalen syndrom im Zusammenhang mit dem Alter. (Diploma thesis), Vienna, Austria: University of Veterinary Medicine; 2011.
139. Slatter DH, Lavach JD, Severin GA, *et al.*: Uberreiter's syndrome (chronic superficial keratitis) in dogs in the Rocky Mountain area a study of 463 cases. *J Small Anim Pract* 1977;18:757-772.
140. Slatter DH: córnea y esclerótica. En Slatter (ed): Fundamentos de Oftalmología Veterinaria, 2nd ed, Buenos Aires, Inter-Médica, 1992;301-316.
141. Small DS, Acheampong A, Reis B *et al.*: Blood concentrations of cyclosporin A during long-term treatment with cyclosporin A ophthalmic emulsion in patients with moderate to severe dry eye disease. *Journal of Ocular Pharmacology & Therapeutics* 2004;18(5):411-418.
142. Spertus CB, Brown JM, Giuliano EA: Diamond burr debridement vs. grid keratotomy in canine SCCED with scanning electron microscopy diamond burr tip analysis. *Vet Ophthalmol* 9 de febrero 2017.
143. Spiess BM, Pot SA: Diseases and Surgery of the Canine Orbit. En Gelatt

- KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;813-4.
144. Stades FC, Van der Woerd A: Diseases and Surgery of the Canine Eyelid. En Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (ed): *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2013;840-853.
145. Stiles J, Carmichael P, Kaswan R, Bounous D, Moore A, Hirsh S: Keratectomy for corneal pigmentation in dogs with cyclosporine responsive chronic keratoconjunctivitis sicca. *Vet Comp Ophthalmol* 1995;5:25-34.
146. Swinger RL, Schmidt KA Jr, Dubielzig RR: Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. *Vet Ophthalmol* 2009;12(1):56-60.
147. Tseng SC: Concept and application of limbal stem cells. *Eye (Lond)* 1989;3(2):141-57.
148. Vallone LV, Enders AM, Mohammed HO, Ledbetter CE: *In vivo* confocal microscopy of brachycephalic dogs with and without superficial corneal pigment. *Vet Ophthalmol* 2016;(29):1-10.
149. Van der Woerd A: Adnexal surgery in dogs and cats. *Vet Ophthalmol* 2004;7(5):284-90.
150. Wang L, Pan Q, Zhang L, Xue Q, Cui J, Qi C: Investigation of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Beijing, China. *Vet Ophthalmol* 2008;11(3):145-9.
151. Westermeyer HD, Ward DA, Abrams K: Breed predisposition to congenital alacrima in dogs. *Vet Ophthalmol* 2009;12(1):1-5.
152. Wieser B, Tichy A, Nell B: Correlation between corneal sensitivity and quantity of reflex tearing in cows, horses, goats, sheep, dogs, cats, rabbits, and guinea pigs. *Vet Ophthalmol* 2013;16(4):251-62.
153. Wilcock BP: General Pathology of the Eye. En Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (ed): *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, 5th ed. Missouri, Elsevier Saunders, 2013;64-6.
154. Williams DL, Pierce V, Mellor P, Heath MF: Reduced tear production in three canine endocrinopathies. *J Small Anim Pract.* 2007;48(5):252-6.

155. Williams DL: Immunopathogenesis of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008;38(2):251-68.
156. Williams DL: Lack of effects on lymphocyte function from chronic topical ocular cyclosporine medication: a prospective study. *Vet Ophthalmol* 2010;13(5):315-20.
157. Wooff PJ, Norman JC: Effect of corneal contact lens wear on healing time and comfort post LGK for treatment of SCCEDs in boxers. *Vet Ophthalmol* 2015;18(5):364-70.
158. Yang J, Shikata N, Yasuda T *et al.*: Sjögren's syndrome in mice carrying the *Ipr (cg)* gene and the therapeutic efficacy of an immunosuppressive agent, FK506. *Pathology International* 1999; 49:133-149.
159. Yi NY, Park SA, Jeong MB *et al.*: Medial canthoplasty for epiphora in dogs: a retrospective study of 23 cases. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006;42(6):435-9.
160. Yingfang F, Zhuang B, Wang C, Xu X, Xu W, Lv Z: Pimecrolimus micelle exhibits excellent therapeutic effect for Keratoconjunctivitis Sicca. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2016;140:1-10.

ANEXOS



9. ANEXOS

Anexo I

ESTUDIO SOBRE LA QUERATITIS PIGMENTARIA EN PUG CARLINO



Estimad@ compañer@,

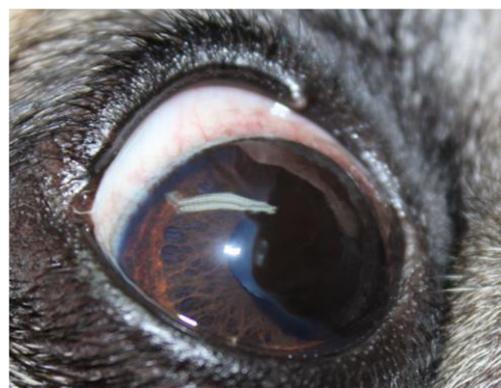
Queremos informarte de la realización de una Tesis doctoral, sobre una alteración ocular muy frecuente en los perros de raza Pug, “la queratitis pigmentaria”.

El objetivo es estudiar la prevalencia, factores predisponentes y signos clínicos de la queratitis pigmentaria en perros de raza Pug, y comparar dos tratamientos inmunosupresores tópicos.

Se les realizará una **exploración oftalmológica gratuita** a todos los Pugs que deseen participar. Si finalmente presentan la alteración podrán ser tratados medicamente **sin coste**, con uno de los dos medicamentos. El estudio durará aproximadamente 6 meses.

La queratitis pigmentaria es una alteración de la córnea en la cual se acumula pigmento, sus causas son multifactoriales entre ellas:

- 1-La exposición corneal crónica.**
- 2-Las alteraciones de la película lagrimal** (queratoconjuntivitis seca).
- 3-La sensibilidad corneal disminuida.**
- 4-Irritaciones por fricción** (entropion, distiquias, triquiasis...).



Si tienes algún paciente que pueda beneficiarse pide cita en: dioftalmoanimal@gmail.com
Teléfono: *****

Muchas gracias por la colaboración.
Atentamente,
Diana Sarmiento Quintana, COL. 1032.
Inmaculada Morales Fariña, COL. 85.

Anexo II

Queratitis pigmentaria (PK) en raza Pug

Fecha: / /

RESEÑA:

Nombre		
Numero de historial /Identificación		
Propietario/ teléfono		/
Edad:	0-5 años	
	5-10 años	
	Fecha de nacimiento:	10-15 años

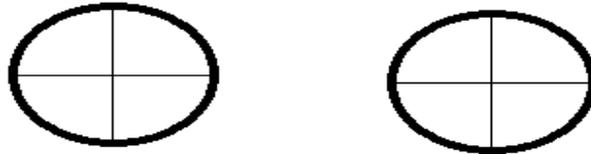
Sexo	Macho:	
	Hembra:	
Castrado	Sí :	
	No:	
Capa *Foto del animal completo	Plata:	
	Albaricoque:	
	Leonado:	
	Negro :	

ANTECEDENTES CLINICOS:

OCULARES	Enfermedades anteriores	Ojo derecho	Sí	¿Cuál?
			No	
		Ojo izquierdo	Sí	¿Cuál?
			No	
	Tratamiento anterior	Sí	¿Cuál? ¿Cuándo?	
		Médicos <input type="checkbox"/> Quirúrgico <input type="checkbox"/>		
	No			

SISTEMICOS	Sí	¿Cuál?
	No	

CÓRNEA: Pigmento que ocupa la córnea



EXPLORACIÓN DEL SEGMENTO ANTERIOR Y ANEJOS:

		OJO DERECHO	OJO IZQUIERDO	
% DE PIGMENTO QUE OCUPA LA CÓRNEA *foto de los ojos	Ausencia de PK			
	Muy leve	_____ %	_____ %	
	Leve < 20%	_____ %	_____ %	
	Moderada 20-50 %	_____ %	_____ %	
	Severa > 50 %	_____ %	_____ %	
VASCULARIZACIÓN	SI/NO			
ANOMALIAS PALPEBRALES Sí/No	Euribléfaron			
	Triquiasis del pliegue nasal			
	Triquiasis de la carúncula			
	Distiquiasis/ distriquiasis (Poner cuantas)		Superior:	Superior:
			Inferior:	Inferior:
	Entropión nasal	Superior		
		Inferior		
Otras:				
LÁGRIMA	Test de Schirmer (STT)	mm/min		
		0-5 mm/min	0-5 mm/min	

ANEXOS

	CUATITATIVA		5-10 mm/min		5-10 mm/min	
			10-15 mm/min		10-15 mm/min	
			15-20 mm/min		15-20 mm/min	
			20-25 mm/min		20-25 mm/min	
	Test de Ferning (TFT)					
	Break-up time (BUT)		Segundos		Segundos	
	CUALITATIVA		Test fluoresceína:		Test fluoresceína:	
			0-5 s		0-5 s	
			5-10 s		5-10 s	
			10-15 s		10-15 s	
		15-20 s		15-20 s		
SENSIBILIDAD CORNEAL	Fina	Negativa				
		Disminuida				
		Positiva				
	Gruesa	Negativa				
		Disminuida				
		Positiva				
PAQUIMETRÍA ULTRASÓNICA	Zona medial					
	Zona lateral					

		OJO DERECHO	OJO IZQUIERDO
IRIS :	ATROFIA/ HIPOPLASIA		
	PPMs: Poner tipo		
OTRAS:			

Anexo III

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

FACULTAD DE VETERINARIA

HOJA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Título: Estudio sobre la queratitis pigmentaria en perros de raza Pug. Comparación de dos tratamientos inmunosupresores tópicos.

Investigador: Diana Sarmiento Quintana

Tutor: Inmaculada Morales Fariña

Lugar: Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC

I- INTRODUCCIÓN

Usted ha sido invitado a participar en un estudio clínico. Antes de decidir la participación de su mascota en el estudio por favor lea este consentimiento cuidadosamente. Haga todas las preguntas que usted tenga, para asegurarse de que entienda los procedimientos del estudio.

II- PROPÓSITO DEL ESTUDIO:

La queratitis pigmentaria es una enfermedad ocular muy frecuente en perros de raza Pug, donde el pigmento invade la córnea progresivamente pudiendo provocar pérdida de visión.

El propósito de este estudio es comparar la eficacia de dos tratamientos tópicos, su mascota será tratada con uno de los tratamientos.

III- PARTICIPANTES DEL ESTUDIO:

El estudio es completamente voluntario. Participan aproximadamente 30 perros de raza Pug.

IV- PROCEDIMIENTOS:

El propietario debe poner a su mascota el tratamiento indicado durante un mínimo de 6 meses, tres veces al día.

En este periodo se harán revisiones periódicas, para monitorizar la retirada del pigmento de la córnea, el espesor de la misma y la cantidad y calidad de la lágrima.

V-RIESGOS O INCOMODIDADES:

No hay riesgos especiales que conozcamos en la utilización de la mediación tópica las propias de cualquier medicamento. El propietario entiende los riesgos que puedan ocurrir.

VI- BENEFICIOS

Se espera que el tratamiento tópico frene el avance del pigmento, mejore los signos de inflamación y la cantidad y calidad de la lágrima.

VII- COSTOS

El tratamiento tópico para la queratitis pigmentaria será gratuito, no obstante, si el animal tiene una infección previa será el propietario quien abone la medicación necesaria.

X- PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

El propietario presta además libremente su conformidad para que se recoja, almacene y analice la información, sobre la salud de su mascota para el propósito de este estudio, sin que revele su identidad personal.

XIV- PREGUNTAS

Si tiene alguna pregunta sobre este estudio o sobre su participación en el mismo, usted puede contactar a: *Diana*: *****

XV- CONSENTIMIENTO:

He leído la información de esta hoja de consentimiento, o se me ha leído de manera adecuada. Todas mis preguntas sobre el estudio y mi participación han sido atendidas.

Yo autorizo el uso y la divulgación de la información sobre la salud de mi mascota. Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Al firmar esta hoja de consentimiento, no se ha renunciado a ninguno de los derechos legales.

Don/Doña _____ que afirma ser el dueño de la mascota _____ con microchip _____

DNI:

Firma del Participante

Fecha

Anexo IV

INSTRUCCIONES PARA EL PROPIETARIO:

Tratamiento:

-Tobrex colirio: 1-1-1 en ambos ojos 7 días y retirar

-Tacrolimus o sirolimus: 1-1-1 en ambos ojos INDEFINIDO. TENER ESTE PRODUCTO EN LA NEVERA Y PROTEGIDO DE LA LUZ

NO utilice ningún otro producto que no esté incluido en este estudio (Por ejemplo: lagrimas artificiales u otros colirios ...) sin hablar previamente con Diana Sarmiento Quintana, teléfono: *****

Si se observan legañas SÍ se puede limpiar previamente con suero fisiológico.

Aplíquese el colirio de la siguiente manera:

1. Lávese las manos antes de abrir el envase.
2. Agite el envase
3. Inclíne la cabeza del perro hacia atrás y que mire hacia arriba.
4. Tire suavemente hacia abajo del párpado inferior, hasta que haga un pequeño hueco.
5. Apriete el envase invertido para que caiga una gota en cada ojo. Para evitar la contaminación no permita que la punta del gotero toque los pelos del animal o cualquier otra superficie. Tape el envase y vuelva a introducirlo en el cilindro de plástico para que el producto este protegido de la luz.
6. La primera semana junto al Tobrex colirio. Esperar cinco minutos entre los dos productos.

Si cree que una gota cayó fuera del ojo repita la operación.

Control telefónico con cualquier incidencia.

Anexo V

REVISIONES

Fecha: / /

RESEÑA:

Nombre	
Identificación	
Propietario/ teléfono	

PRODUCTO:

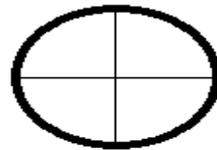
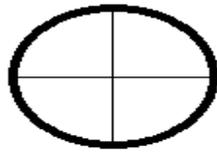
OD

OS

LÁGRIMA	Test de Schirmer (STT)	mm/min		mm/min	
		CUATITATIVA	0-5 mm/min		0-5 mm/min
5-10 mm/min			5-10 mm/min		
10-15 mm/min			10-15 mm/min		
15-20 mm/min			15-20 mm/min		
20-25 mm/min			20-25 mm/min		
Test de Ferning (TFT)					
CUALITATIVA	Break-up time (BUT)	Segundos		Segundos	
		Test fluoresceína:	Test fluoresceína:		
	0-5 s		0-5 s		
	5-10 s		5-10 s		
	10-15 s		10-15 s		
	15-20 s		15-20 s		
PAQUIMETRIA En el lateral	Zona medial				
	Zona sin pigmento				

OTRAS OBSERVACIONES

CÓRNEA: PK



SIGNOS CLÍNICOS E INDICADORES DE EFECTIVIDAD

	Ojo derecho (OD)					Ojo izquierdo (OS)				
	Ausencia (1)	Ligera (2)	Moderada (3)	Avanzada (4)	Grave (5)	Ausencia (1)	Ligera (2)	Moderada (3)	Avanzada (4)	Grave (5)
SIGNOS CLINICOS										
BLEFAROESPASMO										
HIPEREMIA										
PRURITO										
EDEMA										
INFILTRADO										
VASOS										
PIGMENTO EN ESCLERA										
DESCARGA	Ausencia	Serosa	Mucosa	Purulenta		Ausencia	Serosa	Mucosa	Purulenta	
INDICADORES EFECTIVIDAD										
LINEA TRANSPARENTE	Ausencia (1)	Leve (2)	Moderada (3)	Intensa (4)		Ausencia (1)	Leve (2)	Moderada (3)	Intensa (4)	
PIGMENTO ACLARADO	Sin aclorado	Aclarado leve	Aclarado moderado	Aclarado intenso		Sin aclorado	Aclarado leve	Aclarado moderado	Aclarado intenso	
ÚLCERAS	Sí		No			Sí		No		

RECUPERACIÓN DE TRANSPARENCIA A LOS 6 MESES

FECHA: / /

Nombre	
Identificación	
Propietario	
Producto	

	Ojo derecho (OD)				Ojo izquierdo (OS)			
	No	Leve	Moderada	Intensa	No	Leve	Moderada	Intensa
Recuperación de Transparencia								

