

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



**ESTUDIO DE VARIOS FÁRMACOS
ANTIGLAUCOMATOSOS SOBRE
DIVERSOS ASPECTOS
MORFOLÓGICOS Y FUNCIONALES
DEL SEGMENTO ANTERIOR**

TESIS DOCTORAL

Gema Bolívar de Miguel

2011

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



**ESTUDIO DE VARIOS FÁRMACOS
ANTIGLAUCOMATOSOS SOBRE
DIVERSOS ASPECTOS
MORFOLÓGICOS Y FUNCIONALES
DEL SEGMENTO ANTERIOR**

TESIS DOCTORAL

Gema Bolívar de Miguel

Director: Prof. D. Miguel Ángel Teus Guezala

2011

A Lucía y a Elena

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Miguel Ángel Teus Guezala, por brindarme la posibilidad de realizar esta Tesis Doctoral, por su confianza en este proyecto, su colaboración tan necesaria y su disponibilidad en todo momento.

Al personal del Centro de Experimentación Animal de la Universidad de Alcalá, en especial al veterinario D. Jose María Orellana, por facilitar tanto el trabajo.

A D. Jose Luis Hernández Verdejo, por su colaboración desinteresada y por los buenos momentos compartidos

Al personal del servicio de oftalmología del Hospital Príncipe de Asturias:

A los que fueron mis adjuntos en mi etapa de residente, por guiarme en mis inicios en la oftalmología, por su tremenda generosidad al enseñarme tantas cosas y por seguir hoy en día como compañeros prestando su ayuda cuando es necesario.

A mis compañeros de residencia, por todos los buenos momentos que compartimos, por sus enseñanzas y consejos y lo más importante, su ayuda y ánimo incondicional.

A las enfermeras y auxiliares, por su apoyo en el día a día.

A los residentes, por contagiarme su ilusión por aprender.

A mis amigos, simplemente por estar ahí siempre, y a los que ya no están y que permanecerán.

A mis padres, Teo y Domingo, porque sin ellos no habría podido llegar hasta aquí.

A mis hermanos, Javier y Ana, por su ayuda prestada para el desarrollo de esta tesis y siempre.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La transparencia corneal es crítica para la función visual y claramente esta es una propiedad única de este tejido. Para mantener la claridad estromal es necesario un endotelio funcionalmente intacto, ya que este regula la hidratación cornea, y la presión intraestromal corneal (PIC) es de gran interés al estudiar los mecanismos responsables de mantener la hidratación corneal constante. Además distintos fármacos usados para el tratamiento del glaucoma pueden producir cambios en la córnea y en otras estructuras del segmento anterior. El objetivo de esta tesis es evaluar los efectos de varios fármacos antiglaucomatosos sobre algunas estructuras del segmento anterior, como la córnea y el complejo zónulo-cristaliniano, con este fin se han diseñado dos modelos, uno experimental, debido a su naturaleza invasiva, para medir la PIC y para poder producir cambios en la presión intraocular (PIO), y otro modelo en humanos para medir cambios en la profundidad de la cámara anterior.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se sometió a tratamiento con dorzolamida, brimonidina y travoprost a ojos de conejo New Zealand y se midió la PIC. Además en el grupo tratado con travoprost se indujeron aumentos de la PIO y se evaluaron los cambios en la PIC y en el espesor corneal. En los humanos se estudió el efecto del latanoprost sobre la profundidad de la cámara anterior.

RESULTADOS: Hallamos que la dorzolamida y la brimonidina, pero no el travoprost, modifican la PIC. Además, en los ojos tratados con travoprost los aumentos de PIO producen cambios en el espesor corneal central pero no en la PIC. En los humanos el tratamiento con latanoprost da lugar a disminuciones en la profundidad de la cámara anterior.

DISCUSIÓN: Encontramos que el estroma corneal posee una presión negativa, que puede ser registrada mediante canulación. Además la dorzolamida tópica disminuye la

presión negativa del estroma corneal de manera significativa, mientras que la brimonidina produce un retraso en el tiempo necesario para alcanzar en los minutos iniciales la presión negativa en el estroma corneal, esto sugiere que estos fármacos alteran la función endotelial.

En los ojos tratados con travoprost los aumentos de la PIO inducen una disminución del espesor corneal y esto podría deberse a que los cambios biomecánicos inducidos por las prostaglandinas a nivel del colágeno y la matriz extracelular estromales podrían dar lugar a cambios en las respuestas mecánicas de la córnea. La PIC no se encuentra afectada por los aumentos de la PIO en este grupo de estudio.

En el estudio realizado en humanos el tratamiento con latanoprost produce una disminución de la profundidad de cámara anterior significativa y esto podría reflejar los cambios inducidos por las prostaglandinas y las metaloproteínas en el complejo zónulo-cristaliniano.

CONCLUSIONES: La PIC es un método válido para evaluar la función endotelial en los conejos y dicha función es alterada por la dorzolamida y la brimonidina, pero no por el travoprost. Además las córneas de conejos tratadas con travoprost muestran una respuesta biomecánica diferente ante los aumentos agudos de PIO que los ojos control. En los humanos el tratamiento con latanoprost durante un mes disminuye la profundidad de la cámara anterior.

SUMMARY

BACKGROUND: Corneal transparency is critical for visual function, and this is clearly a unique property of this tissue. A functionally intact endothelium is necessary to maintain stromal clarity because it regulates corneal hydration and intrastromal corneal pressure (ICP) is of great interest when studying the mechanisms responsible for maintaining constant corneal hydration. Furthermore, different drugs used for glaucoma treatment can induce changes in the cornea and in other structures of the anterior segment. The aim of this thesis is to evaluate the effects of various antiglaucoma drugs on some structures of the anterior segment, as the cornea and the zonular-lens complex, for this purpose we have designed two models, one experimental due to its invasive nature, to measure the ICP and in order to allow us induce changes in the intraocular pressure (IOP), and another in humans to measure changes in the anterior chamber depth.

MATERIAL AND METHODS: Eyes of New Zealand rabbits were treated with dorzolamide, brimonidine and travoprost and the ICP was measured. Furthermore in the group treated with travoprost the IOP was increased and changes in the ICP and in the central corneal thickness were evaluated. In humans eyes we evaluated the effect of latanoprost on anterior chamber depth.

RESULTS: We found that dorzolamide and brimonidine, but not travoprost, affect the ICP. Moreover, in eyes treated with travoprost intraocular pressure increases induce changes in the central corneal thickness but not in the ICP. In humans, treatment with latanoprost leads to decreases the anterior chamber depth.

DISCUSSION: We found that the corneal stroma has a negative pressure, which can be recorded by cannulation. Furthermore topical dorzolamide significantly reduces the negative pressure in the corneal stroma whereas that brimonidine produces a delay in

the time necessary to attain the negative pressure in the corneal stroma in the early period, this suggests that the endothelial function is affected by these drugs.

In the travoprost treated eyes increases in the intraocular pressure induced decreases of corneal thickness and this could be do to the fact that biomechanical changes induce by prostaglandins in corneal stromal collagen and extracellular matrix lead to changes in the mechanical responses of the cornea. The ICP is not affected by increases in the IOP in this group.

In the human study group treatment with latanoprost produces a significantly decrease in the anterior chamber depth and this could reflect changes induced by prostaglandins and metalloproteinases in the zonular-lens complex.

CONCLUSIONS: The ICP is a valid method for evaluating the endothelial function in rabbits and this function is affected by dorzolamide and brimonidine, but not by travoprost. Furthermore rabbit corneas treated with travoprost show a different biomechanical response to acute increases in IOP than control eyes. In human eyes latanoprost decreases anterior chamber depth after one month of treatment.

INDICES

INDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
1. La córnea	2
1.1. Anatomía corneal	3
1.2. Histología y fisiología corneal	5
1.2.1. Película lagrimal	5
1.2.2. Epitelio	6
1.2.3. Membrana basal	9
1.2.4. Membrana de Bowman	10
1.2.5. Estroma	11
1.2.6. Membrana de Descemet	17
1.2.7. Endotelio	18
1.2.7.1. Función barrera endotelial	21
1.2.7.2. Función bomba endotelial	24
1.3. Evaluación del endotelio corneal	28
1.3.1. Análisis morfológico	28
1.3.2. Permeabilidad endotelial a la fluoresceína	31
1.3.3. Espesor corneal	32
1.4. Control de la hidratación corneal	36
2. Glaucoma	45
3. Importancia de la córnea en el glaucoma	46
4. Cirugía refractiva y glaucoma	53
5. Tratamiento médico hipotensor ocular	61
5.1. β -Bloqueantes	63
5.2. Agonistas adrenérgicos	65
5.3. Prostaglandinas	67
5.4. Inhibidores de la anhidrasa carbónica	75
JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO	80
OBJETIVOS	83
MATERIAL Y MÉTODOS	85
A) ESTUDIO ANIMAL	86
1. Población muestral	86
2. Mantenimiento de los animales	86
3. Diseño del estudio	87
4. Anestesia	87
5. Recogida de datos	88
5.1. Paquimetría	88
5.2. Medida de la presión	89
5.2.1. Medida de la presión intraestromal corneal	91
5.2.2. Medida de la presión intraocular	92
5.2.3. Cambios de la presión intraocular	93
6. Grupos de estudio	93
6.1. Medida de la presión intraestromal corneal	93
6.2. Tratamiento con inhibidores de la anhidrasa carbónica	95
6.3. Tratamiento con α 2agonistas	96
6.4. Tratamiento con prostaglandinas	96
6.4.1. Estudio de la presión intraestromal corneal	97
6.4.2. Estudio de la paquimetría con cambios agudos de la presión intraocular	97
6.4.3. Estudio de la presión intraestromal corneal con cambios agudos de la presión intraocular	98
7. Tomografía de coherencia óptica de segmento anterior (Visante®)	99

8. Análisis estadístico	99
B) ESTUDIO EN SERES HUMANOS	100
1. Población muestral	100
2. Diseño del estudio	100
3. Criterios de inclusión	100
4. Criterios de exclusión	101
5. Datos recogidos	102
5.1. Visita basal	102
5.2. Visita al mes	102
6. Medidas con ecógrafo modo A	102
7. Reproducibilidad de las medidas con ecógrafo tipo A	103
8. Análisis estadístico	104
RESULTADOS	105
A) ESTUDIO ANIMAL	106
1. Medida de la presión intraestromal corneal	106
2. Grupo con inhibidores de la anhidrasa carbónica	108
3. Grupo con agonistas α_2 adrenérgicos	110
4. Grupo con prostaglandinas	112
4.1. Presión intraestromal	112
4.2. Paquimetría	113
4.3. Cambios en la presión intraestromal corneal con incrementos agudos de la presión intraocular	115
4.4. Influencia del aumento agudo de la presión intraocular sobre la presión intraestromal corneal en conejos en tratamiento con travoprost	116
B) ESTUDIO EN HUMANOS	118
1. Datos demográficos y características de la población	118
2. Medida de la presión intraocular	119
3. Mejor agudeza visual corregida	119
4. Profundidad de la cámara anterior	119
5. Grosor cristalino	121
DISCUSIÓN	122
1. Medida de la presión intraestromal corneal "in vivo"	123
2. Efectos del tratamiento agudo con inhibidores de la anhidrasa carbónica sobre la presión intraestromal corneal "in vivo"	125
3. Efectos del tratamiento agudo con agonistas α_2 adrenérgicos sobre la presión intraestromal corneal "in vivo"	129
4. Efectos del tratamiento con prostaglandinas sobre la presión intraestromal corneal "in vivo"	130
5. Efectos de tratamiento con prostaglandinas sobre el espesor corneal central	132
6. Efectos del tratamiento con prostaglandinas sobre el complejo zónulo-cristalino	136
7. Efectos del tratamiento con prostaglandinas sobre los cambios de espesor corneal central ante cambios agudos de la presión intraocular	139
8. Efectos de los cambios agudos de la presión intraocular sobre presión intraestromal corneal en ojos tratados con prostaglandinas	142
CONCLUSIONES	144
BIBLIOGRAFÍA	147

INDICE DE FIGURAS

Fig 1: Corte histológico de espesor completo de la córnea.

Fig 2: Disposición de las fibras de colágeno en el estroma corneal posterior.

Fig 3: Gráfica de las curvas fuerza/deformación de un material elástico y de un material viscoelástico.

Fig 4: Desarrollo de distintos tipos de edema corneal.

Fig 5: Mecanismo de la bomba endotelial y sitios de inhibición de la bomba por los IAC y la ouabaina.

Fig 6: Modelo de movimiento de iones y agua a través del endotelio corneal.

Fig 7: Imagen de una biomicroscopía especular.

Fig 8: Figura del sistema utilizado para medir la presión de edematización por Hedbys y Dohlman.

Fig 9: Gráfica del esquema del experimento de Hedbys para medir la presión de imbibición.

Fig 10: Gráfica con las medidas de la presión de imbibición “in vivo” del trabajo de Hedbys

Fig 11: Gráfica de la figura de señal/aplanación que se obtiene del ORA.

Fig 12: Tonómetro de contorno dinámico.

Fig 13: Imagen de un tonómetro tipo Tonopen.

Fig 14: Gráfica “a quién tratar”.

Fig 15: Esquema de las posibles vías secretoras en los procesos ciliares.

Fig 16: Conejo de la raza New Zealand.

Fig 17: Fotografía del paquímetro ultrasónico utilizado en el estudio.

Fig 18: Imagen del barotransductor y la cánula de 27G utilizados en este trabajo.

Fig 19: Imagen del amplificador utilizado en este trabajo.

Fig 20: Fotografía de la cánula de 27G insertada a nivel del estroma corneal.

Fig 21: Detalle de la cánula de 27G insertada a nivel del estroma corneal.

Fig 22: Imagen de la cánula de 27G insertada a nivel intraestromal y conectada al barotransductor.

Fig 23: Imagen en la que se observa aguja de insulina insertada a nivel intraestromal.

Fig 24: Imagen en la que se observa unión de la cánula de silicona al barotransductor y al estroma corneal en las primeras medidas que se realizaron.

Fig 25: Imágenes de Visante® en la que se observa la situación intraestromal de la cánula en la córnea de conejo.

Fig 26: Representación gráfica de la medida de la presión intrastromal corneal mediante canulación a lo largo del tiempo.

Fig 27: Representación gráfica de la media de la presión intrastromal corneal y la desviación estándar a lo largo del tiempo en el grupo tratado con dorzolamida.

Fig 28: Representación gráfica de la media de la presión intrastromal y de la desviación estándar a lo largo del tiempo en el grupo control.

Fig 29: Representación gráfica de la diferencia de la presión intrastromal corneal media entre el grupo control y el grupo tratado con dorzolamida a los 15, 30 y 45 minutos.

Fig 30: Representación gráfica de la diferencia de la presión intrastromal corneal media entre el grupo control y el grupo tratado con brimonidina a los 15, 30 y 45 minutos.

Fig 31: Representación gráfica de la diferencia de la presión intrastromal corneal media entre el grupo control y el grupo tratado con travoprost a los 15, 30 y 45 minutos.

Fig 32: Representación gráfica de la cantidad de disminución del espesor corneal desde los valores basales a los valores obtenidos tras el aumento de presión intraocular a 15mmHg y a 30mmHg en el grupo tratado con travoprost y el grupo control.

Fig 33: Representación gráfica de la diferencia de la presión intrastromal corneal media entre el grupo control y grupo tratado con travoprost y sometidos a aumentos de presión intraocular a 15mmHg y a 30mmHg.

Fig 34: Representación gráfica de la diferencia de la presión intrastromal corneal media entre el grupo tratado con travoprost y el grupo tratado con travoprost y sometido a aumentos de presión intraocular a 15mmHg y a 30mmHg.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tabla comparativa de los resultados de la presión intrastromal corneal media en el grupo tratado con dorzolamida y el grupo control a los 15, 30 y 45 minutos, así como los valores de p.

Tabla 2: Tabla comparativa de los resultados de la presión intrastromal corneal media en el grupo tratado con brimonidina y el grupo control a los 15, 30 y 45 minutos, así como los valores de p.

Tabla 3: Tabla comparativa de los resultados de la presión intrastromal corneal media en el grupo tratado con travoprost y el grupo control a los 15, 30 y 45 minutos, así como los valores de p.

Tabla 4: Tabla comparativa de los valores de paquimetría media tanto basales como tras estabilizar la presión intraocular a 15mmHg y a 30mmHg en el grupo tratado con travoprost y el grupo control, así como los valores de p.

Tabla 5: Tabla comparativa de los valores de presión intrastromal corneal media basal, así como con la presión intraocular estabilizada a 15mmHg y a 30mmHg en el grupo tratado con travoprost y el grupo control.

Tabla 6: Tabla comparativa de los valores de presión intrastromal corneal media tanto basal, como a los 20 y a los 35 minutos en ojos tratados con travoprost y en ojos tratados con travoprost y sometidos a un aumento de presión intraocular.

Tabla 7: Tabla comparativa de los datos demográficos y las principales características de los grupos a estudio.

Tabla 8: Profundidad de la cámara anterior y espesor cristalino antes y después del tratamiento con latanoprost en el grupo 1.

Tabla 9: Profundidad de la cámara anterior y espesor cristalino durante el primer y segundo examen del grupo 2.

INDICE DE ABREVIATURAS

EC: Espesor corneal.

MMPs: Metaloproteinasas.

PIO: Presión intraocular.

PE : Presión de edematización.

AC: Anhidrasa carbónica.

OCT: Tomografía de coherencia óptica.

BMU: Biomicroscopia ultrasónica.

PI: Presión de imbibición.

GPAA: Glaucoma primario de ángulo abierto.

OHTS: Ocular hypertension treatment study.

ECC: Espesor corneal central.

HTO: Hipertenso ocular.

TAG: Tonometría de aplanación Goldmann.

EMGT: Early manifest glaucoma trial.

EGS: European glaucoma study.

CFN: Capa de fibras nerviosas.

LC: Lámina cribosa.

LASIK: Laser assisted in situ keratomielisis.

SFI: Síndrome de acúmulo de fluido en la interfase.

LASEK: Laser assisted subepithelial keratomielisis.

CV: Campo visual.

ORA: Ocular response analyzer.

TCD: Tonométrico de contorno dinámico.

IAC: Inhibidores de la anhidrasa carbónica.

FDA: Food and Drug Administration.

AMPC: Adenosin monofosfato cíclico.

TIMPs: Inhibidores tisulares de las metaloproteinasas.

PIC: Presión intraestromal corneal.

DE: Desviación estándar.

MAVC: Mejor agudeza visual corregida.

INTRODUCCIÓN

1. La córnea

La visión es uno de los sentidos más importantes del ser humano y gracias a ella recibimos más del 80% de la información del mundo exterior. Una buena función visual depende del correcto funcionamiento de diversas estructuras oculares, como son el componente refractivo, debido tanto a la córnea como al cristalino, el sistema receptor que es la retina y que convierte la luz en energía eléctrica y química, la transmisión de la señal visual a través del nervio óptico hasta el cerebro y el análisis de la información visual que tiene lugar en la corteza visual.

La córnea según la definición del diccionario de la Real Academia Española de la Lengua ¹ es: “membrana dura y transparente, situada en la parte anterior del globo del ojo de los vertebrados y cefalópodos decápodos, engastada en la abertura anterior de la esclerótica y un poco más abombada que esta. A través de ella se ve el iris”. Pero la córnea es mucho más, es una estructura altamente especializada que, ocupando un sexto del total de la circunferencia del globo ocular ², es el portal a través del cuál la luz del mundo exterior penetra al ojo.

La córnea constituye un ejemplo excelente de unidad estructural y funcional debido a que es un tejido óptico transparente, incoloro, avascular, provisto de terminaciones nerviosas y carente de vasos linfáticos, que actúa como superficie refractiva para transmitir la luz y enfocar la imagen sobre la retina. También actúa como barrera física con el medio ambiente y con la ayuda de los componentes celulares y químicos de la conjuntiva y de la película lagrimal la superficie corneal sirve de protección contra los potenciales agentes patológicos ³.

El mantenimiento tanto de la forma como de la transparencia corneal son críticos para la visión. La córnea representa más de dos tercios del total del poder refractivo

del ojo, de manera que un ligero cambio en el contorno corneal puede dar como resultado grandes alteraciones refractivas. También pequeños cambios a nivel de la uniformidad de la superficie corneal o en su grosor total pueden inducir una distorsión visual^{3,4}.

Una característica única de este tejido es su transparencia, de ella es en gran parte responsable la arquitectura del estroma corneal, pero también es crucial para su mantenimiento la existencia de un endotelio funcionalmente intacto, porque es el encargado de regular la hidratación corneal, y contribuye también de manera significativa la superficie epitelial. Así que diversos componentes trabajan juntos para mantener la función óptica de la córnea.

1.1. Anatomía corneal

La córnea es un tejido transparente que se continúa con la esclera opaca y la conjuntiva semitransparente. Su superficie más anterior se encuentra cubierta por la película lagrimal y expuesta al ambiente externo, mientras que la superficie posterior se encuentra bañada directamente por el humor acuoso. La zona que existe de transición entre la córnea, la esclera y la conjuntiva es el denominado limbo, que es una zona ricamente vascularizada y que contiene una reserva de células pluripotenciales, encargadas de la repoblación del epitelio corneal.

La configuración externa de la córnea es elíptica, presentando un diámetro horizontal (promedio de 11.7mm para hombres y 10.7mm para mujeres) mayor que el diámetro vertical (promedio de 10.6mm para hombres y 9.6mm para mujeres)^{2,5}. Esta configuración elíptica se debe a la extensión anterior de la esclera opaca en las zonas superior e inferior de la córnea. Sin embargo, cuando observamos una córnea diseccionada, la córnea posterior tiene una forma circular con un diámetro de 11.7mm.

² El área total corneal corresponde a 1/14 del área total del globo ocular o unos 120mm².⁶

La superficie anterior de la córnea humana presenta un radio de curvatura medio de 7,8mm^{2, 7} y es algo más aplanada que la superficie posterior cuyo radio de curvatura es de 6,5mm y con una configuración algo más escarpada^{2, 7}. Esta diferencia entre las curvaturas anterior y posterior hace que la córnea sea más fina a nivel central (0,52mm) que en la periferia (0.70mm)^{5, 7-11}. Además la córnea posee una forma prolata debido a que en la superficie anterior, la parte central es más curva que la periférica.

La interfase entre la película lagrimal y el aire representa el mayor elemento refractivo del ojo⁴. El poder óptico del ojo deriva principalmente de la curvatura de la superficie anterior de la córnea que contribuye a la convergencia de la imagen en la retina con una potencia de aproximadamente 48 dioptrías positivas, lo que corresponde a casi las tres cuartas partes del poder refractivo total del sistema óptico ocular. Por su parte la superficie posterior de la córnea añade poder negativo, de manera que el poder refractivo total de una córnea normal es de 43 dioptrías aproximadamente^{2, 4, 7}.

Debido a la diferencia de curvatura existente entre la esclera que es más plana al poseer un radio de curvatura promedio de 11.5mm y la córnea, cuyo radio de curvatura es de 7.8mm en promedio, ésta última protruye levemente más allá de los límites de la esclera^{2, 7}. En esta zona de transición entre la superficie corneal y escleral se forma un surco superficial que delimita la región denominada limbo, que es una zona importante al ser una marca anatómica que sirve como referencia para varias cirugías del segmento anterior, contiene las células madres epiteliales corneales y la vía convencional de salida del humor acuoso.

1.2. Histología y fisiología corneal

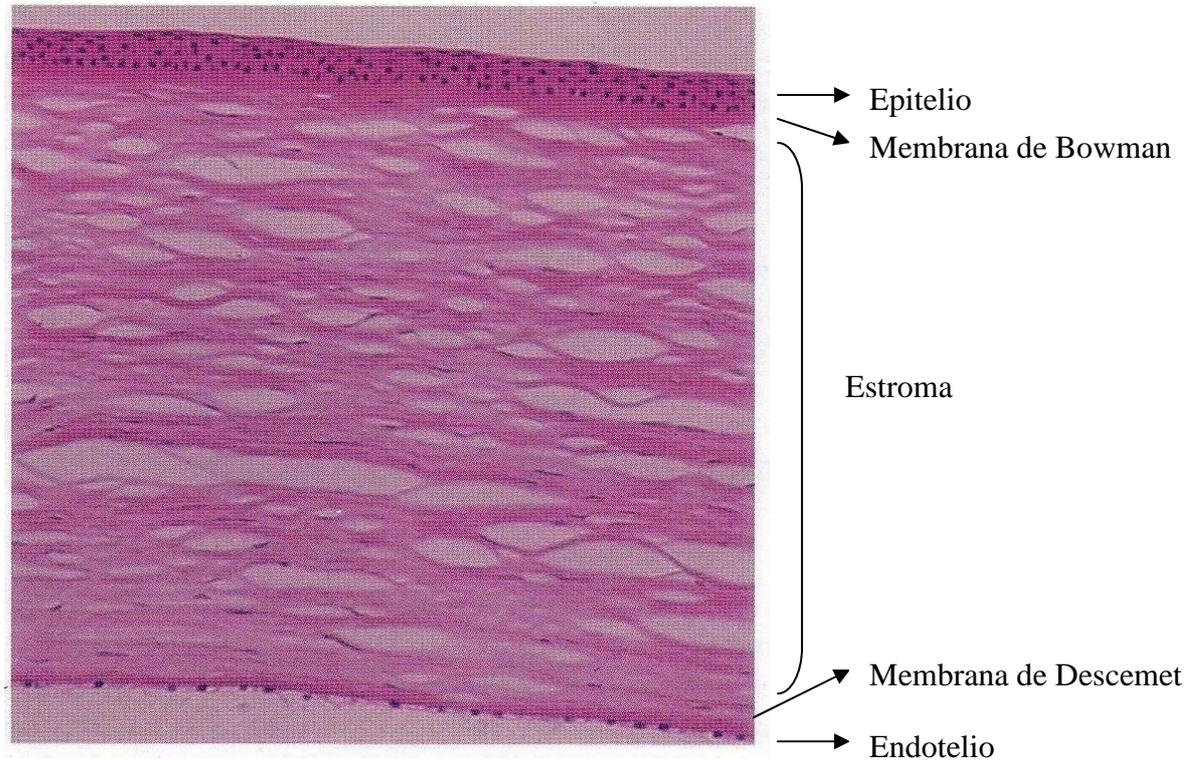


Figura 1: Corte histológico de espesor completo de una córnea humana normal. Tinción hematoxilina-eosina.

1.2.1. Película lagrimal

La superficie corneal se encuentra cubierta por la película lagrimal, que es la encargada de proteger a la córnea de la deshidratación lubricándola y de crear una superficie óptica lisa. Su espesor es de unos 0.7mm y su volumen de unos 6.5 μ L^{12, 13}. La composición comprende tres capas: la superficial es una capa lipídica, de 0,1 μ m¹⁴, secretada principalmente por las glándulas de Meibomio y encargada de limitar la evaporación. Luego encontramos la capa acuosa o serosa, que es la capa principal, de unas 7 μ m¹⁴, formada a partir de las glándulas lagrimales principales y accesorias y que contiene agua, electrolitos y sustancias con función defensiva como la lisozima, lactoferrina e inmunoglobulinas. Por último está la capa mucinosa, de 0.02 a 0.05 μ m

¹⁴ que se adhiere a la superficie epitelial y que deriva de las células caliciformes conjuntivales. La mucina es la encargada de permitir la adhesión de la lágrima acuosa a la superficie del epitelio corneal que es hidrófoba ¹⁵.

La película lagrimal desempeña varias funciones esenciales como son la de proteger a la superficie ocular del ambiente externo, el mantener las características ópticas de la superficie ocular, constituir la principal fuente de oxígeno para la córnea avascular ¹⁶ y también actuar como lubricante entre los párpados y la superficie ocular. Además facilita la eliminación de cuerpos extraños y de células muertas gracias a su drenaje en el conducto nasolagrimal ¹⁷ y contiene numerosas proteínas antibacterianas que protegen tanto a la córnea como a la conjuntiva ¹⁸.

1.2.2. Epitelio

El epitelio corneal es la capa más anterior de la córnea y forma, junto con el epitelio conjuntival, la superficie ocular. Cumple una doble función, por un lado forma una barrera entre el medioambiente y el estroma corneal y por otro lado forma una superficie refractiva lisa en la córnea gracias a su interacción con la película lagrimal.

El epitelio se encuentra compuesto de células epiteliales escamosas estratificadas no queratinizadas. Su grosor es de 50µm aproximadamente lo que supone en torno al 10% del espesor corneal (EC) total. Está formado por cinco a siete capas de tres tipos de células epiteliales diferentes: dos a tres capas de células superficiales, dos a tres capas de células aladas en la zona central y de cuatro a cinco en la periferia y una monocapa de células basales con capacidad de mitosis que es a

partir de la que se diferencian el resto ¹⁹⁻²¹. Éstas últimas se adhieren mediante su membrana basal a la membrana de Bowman, capa más superficial del estroma.

La capa de células basales cuboideas está formada por células poligonales elongadas que miden aproximadamente 10µm de ancho y de 15 a 20µm de largo, con prominentes núcleo ovoideos ². Se originan a partir de células madre localizadas en la capa basal del epitelio en el limbo corneal y se encuentran unidas a la membrana basal por hemidesmosomas ²² y a las células vecinas a través de desmosomas ^{2, 23}.

Las células basales presentan un nivel de actividad metabólica y de síntesis mayor que el de las células más superficiales y, por tanto, contienen mitocondrias, retículo endoplásmico y aparato de Golgi más prominentes, así como reservas importantes de colágeno.

A medida que tiene lugar la división celular las células hijas se desplazan hacia la superficie de la córnea y comienzan a diferenciarse formando entre una y tres capas de células aladas. Tienen forma poligonal con un diámetro de 12 a 15µm y grandes núcleos ovoideos. Su nombre proviene de sus características prolongaciones laterales con forma de ala. Forman entre dos y tres capas celulares en una fase intermedia de diferenciación. Una característica importante de estas células es la abundancia de tonofilamentos de unos 8nm de longitud y las numerosas interdigitaciones que existen entre las membranas celulares, hayándose desmosomas y uniones intercelulares comunicantes entre las células aladas adyacentes y entre las células basales y las superficiales.

Las células superficiales son anchas y aplanadas, miden de 4 a 5µm de grosor y de 40 a 50µm de diámetro. Forman una capa de tres a cuatro células de grosor ¹⁹⁻²¹ mostrando una diferenciación terminal y estando en proceso de degeneración como se demuestra por la escasez relativa de orgánulos celulares y por la condensación de la

cromatina nuclear. Al final estas células degeneran y sufren un proceso de apoptosis desprendiéndose de la superficie corneal, de forma que se produce el recambio de todo el epitelio en siete días ²⁰. El mecanismo de la apoptosis no se conoce con detalle, pero para el epitelio la apoptosis comienza cuando las células basales se mueven de la membrana basal a las capas de células basales, su secuencia de cambios morfológicos y muerte celular es entonces inevitable.

Cuando la superficie de la córnea se observa bajo el microscopio electrónico de barrido aparece como una trama irregular de células poligonales que se clasifican en pequeñas y grandes o claras y oscuras. Las células claras más pequeñas son células jóvenes que han alcanzado recientemente la superficie de la córnea, mientras que las células oscuras de mayor tamaño son células maduras que se van a desprender. En el epitelio también se observan los denominados orificios de exfoliación, son áreas en las que una célula está en proceso de desprendimiento de la superficie corneal y forma un orificio a través del cual se puede observar la célula superficial subyacente ⁷.

Las células de la superficie están cubiertas por una capa de microvellosidades, de manera que las células oscuras presentan menos vellosidades que las claras ⁷. Adherido a estas microvellosidades hay un glicocáliz que interactúa con la capa mucosa de la lágrima permitiendo la formación de una capa lagrimal suave y estable en la superficie corneal. También presenta zonas de unión para las inmunoglobulinas de las lágrimas. A pesar de que parte de las células superficiales van a morir y desprenderse forman una barrera esencial entre las lágrimas y las porciones más internas de la córnea.

Los márgenes de las células superficiales poseen complejos de unión herméticos que rodean por completo a las células y que tienen una gran importancia para la función de barrera de la córnea. Estos complejos de unión se correlacionan con la alta

resistencia al flujo iónico. Las membranas basales y laterales de las células apicales tienen uniones intercelulares comunicantes, desmosomas y numerosas vesículas ⁷.

Como ha sido comentando previamente el epitelio corneal se mantiene también por la migración de nuevas células basales epiteliales desde el limbo a la córnea. Las células migran centripétamente unas 120µm/semana y se originan a partir de una subpoblación de células epiteliales limbares ^{24, 25}. Por lo tanto el epitelio corneal se mantiene por un balance entre el proceso de proliferación de las células limbares, la migración y proliferación de las células basales y la eliminación de las células superficiales. Este concepto fue denominado por Thoft la hipótesis X,Y,Z [X (proliferación de células basales epiteliales) + Y (proliferación de células limbares y migración centripeta) = Z (pérdida de las células epiteliales superficiales)] ²⁶.

Tanto las múltiples capas del epitelio como los distintos tipos de uniones existentes, particularmente las uniones herméticas entre las células escamosas, son factores que ayudan a hacer que el epitelio corneal sea una barrera para la entrada de agua procedente de las lágrimas al estroma corneal, impidiendo su edematización.

1.2.3. Membrana basal

Las células del epitelio descasan sobre una membrana o lámina basal que es producida por las propias células epiteliales y tiene un grosor aproximado de 75 a 100nm ²³. Está compuesta por colágeno tipo IV, aunque este es un tema controvertido ², laminina, heparina, el proteoglicano perlecano, fibronectina y fibrina ⁷.

Gracias a la microscopia electrónica se distingue en la zona más anterior la lámina lúcida que aparece como una zona de unos 23nm y electrolucente, mientras que la lámina densa, que está apuesta a la capa de Bowman, es una región

electrodensa, de unos 48nm de grosor²³. Existe un tercer componente de la membrana basal que es la lámina reticular, se encuentra inmediatamente por debajo de la lámina densa y está en la membrana de Bowman. Esta región contiene las fibras de anclaje, las placas y otros materiales electrodensos asociados a la lámina densa².

1.2.4. Membrana de Bowman

La membrana de Bowman es la parte más anterior del estroma corneal, se encuentra próxima a la lámina basal del epitelio y su grosor es de 8 a 12µm, siendo ligeramente más gruesa en la periferia²³ y, aunque históricamente se reconocía en las secciones histológicas por su falta de fibroblastos y la aparente falta de estructura, gracias a la microscopia confocal del ojo “in vivo” se han observado numerosos queratocitos a nivel de la capa de Bowman².

Está compuesta por colágeno tipo I, III, V y VI según se ha visto por inmunoelectromicroscopia y microscopia de inmunofluorescencia²⁷⁻³¹, siendo la mayor parte del colágeno presente del tipo I. Los colágenos tipo IV y VII están presentes en relación con los complejos de anclaje.

La presencia de colágeno tipo III en cualquier lugar del ojo es controvertida, pero hallazgos con inmunoelectromicroscopia apoyan su presencia en la membrana de Bowman de la córnea humana^{28, 30}.

La superficie anterior de la capa de Bowman está definida por su superficie de contacto con la lámina densa de la lámina basal. Existen poros que probablemente actúan como canales a través de los cuales los axones de los nervios corneales viajan para llegar al epitelio³². En la zona posterior de la capa de Bowman hay fibras de colágeno del estroma que se continúan con dicha capa, existiendo haces de fibras

relativamente grandes que van desde las regiones medias del estroma a terminar en la capa de Bowman³³. Estos haces se cree que mantienen una cohesión entre el estroma y la capa de Bowman, de tal forma que dicha capa no se puede separar del estroma como una sábana, como se puede hacer con la Descemet.

Parece ser que la capa de Bowman no existe en todas las especies, está claro que se encuentra en los primates² y, en lo referente a los conejos (que es el animal de experimentación usado en esta investigación), se defendía que la no existencia de esta capa era una de las diferencias entre la córnea humana y la de conejo. Pero esto no parece ser del todo cierto, porque en publicaciones más recientes comparando la anatomía corneal en diversos animales de experimentación se ha observado que en el conejo New Zealand sí existe capa de Bowman, aunque esta es rudimentaria y con alguna diferencia respecto a los humanos^{34, 35}.

En cuanto a las funciones biológicas que se han atribuido a la capa de Bowman actualmente se cree que se encuentran mediadas por la membrana basal. La capa de Bowman no se regenera tras heridas y su papel fisiológico no está claro todavía³.

1.2.5. Estroma

Las características estructurales y ópticas de la córnea son determinadas sobre todo por la estructura y composición del estroma corneal que se encuentra por debajo de la membrana de Bowman y que representa hasta el 90% del grosor corneal. Está compuesto predominantemente por agua (78%), la cuál se encuentra estabilizada gracias a una red estructural organizada de proteínas celulares y extracelulares solubles e insolubles. Si estudiamos el estroma corneal desecado este está formado

por colágeno (68%), queratocitos (10%), proteoglicanos (9%), sales, proteínas y otras sustancias⁵.

El colágeno es una proteína estructural insoluble en agua que se encuentra organizada a modo de plataforma inextensible encargada de formar la estructura de los tejidos conectivos. En la córnea humana el colágeno está poco ordenado en la capa de Bowman mientras que presenta una estructura altamente organizada a nivel del estroma. Los distintos tipos de colágeno corneales son importantes funcionalmente para establecer la transparencia del tejido y la resistencia tensil.

A través de métodos bioquímicos e inmunohistológicos se ha observado que el estroma corneal está compuesto predominantemente de colágeno tipo I, pero también por cantidades menores de colágeno tipo III, V y VI^{28, 29, 31, 32, 36 37}. También se ha encontrado colágeno tipo XII distribuido periódicamente con las fibras y colágeno XIV^{23, 38, 39}.

Las moléculas de colágeno miden 1.5nm de ancho y 300nm de longitud y están compuestas por una triple hélice de tres cadenas alfa. Actualmente se conocen 19 tipos de colágeno, determinados por la combinación de las cadenas alfa que componen la molécula. Las fibras de colágeno son generalmente heterotópicas (compuestas por dos o más tipos de moléculas de colágeno) y alcanzan distintos diámetros dependiendo de los tipos de colágeno que las compongan. Las fibras en el estroma corneal son una copolimerización de moléculas de colágenos tipo I, III y V que forman fibras uniformes de 25nm de diámetro con leves variaciones^{2, 40}.

Aunque el índice refractivo de las fibras de colágeno (1.47) es distinto al de la matriz extrafibrilar (1.35), el tamaño tan uniforme de las mismas (25 ± 2 DS nm) y de los espacios interfibrilares (40 ± 5 DS nm), junto a la direccionalidad predominantemente paralela de dichas fibras, da como resultado un conjunto de fibras

altamente organizado como una celosía, que permite la transparencia de la córnea debido al fenómeno de la interferencia destructiva ^{2, 32, 37}.

La córnea central posee unas 300 láminas de colágeno mientras que la periférica tiene unas 500 ⁴¹. En el tercio anterior del estroma corneal las láminas son más finas (0.2 a 1.2 μ m de grosor), más estrechas (0.5 a 30 μ m de ancho) y casi siempre orientadas oblicuamente con un amplio entretrejido vertical y horizontal, a menudo empezando en el limbo y terminando en la membrana de Bowman donde se entrecruzan con sus fibras de colágeno, mientras que en los dos tercios posteriores las láminas son más gruesas (1 a 2.5 μ m de grosor), más anchas (100 a 200 μ m de ancho) y orientadas casi siempre paralelas, de forma más organizada en una estructura limbo a limbo, preferentemente en los meridianos inferior-superior y medial-lateral y sólo con un leve entretrejido horizontal. ^{32, 37} (Fig 2).

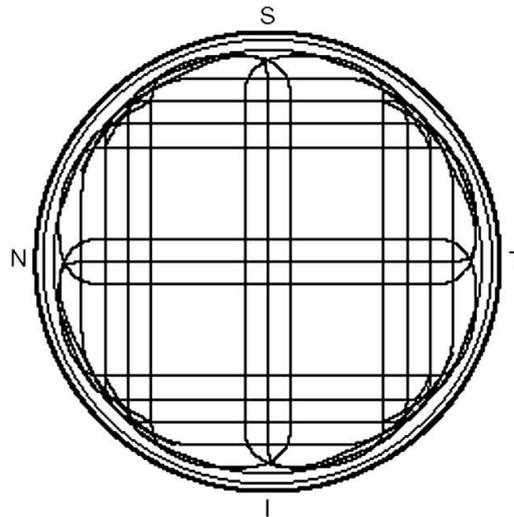


Fig. 2: Orientación preferencial de la fibras de colágeno en el estroma posterior. (En Kotecha A. Survey of Ophthalmology 52:S109-S114, 2007).

También se ha observado que existe una fuerte correlación negativa entre la profundidad estromal y la fuerza tensil de la córnea, definida como la fuerza en newtons (N) necesaria para dividir una muestra estromal de 1mm de ancho a lo largo de un plano paralelo a las superficies corneales anterior y posterior ^{42, 43}. En concreto

se ha descrito que en el estroma corneal, el 40% más anterior tiene la fuerza tensil más alta, mientras que el conjunto del 60% del estroma posterior es al menos un 50% más débil ⁴⁴.

El colágeno es un material viscoelástico y por lo tanto tiene propiedades de elasticidad y de viscosidad. La elasticidad se refiere a la forma en que un material se deforma en respuesta a una fuerza externa. La relación fuerza-deformación se puede dibujar gráficamente y un material elástico es aquel que vuelve a su forma original una vez que cesa la fuerza externa, en una dirección de desplazamiento reversible a través del camino fuerza-deformación (Fig 3a). El módulo de elasticidad o módulo de Young ⁴⁴ (que es una medida de la rigidez intrínseca de un material definido como la proporción de presión (la fuerza que actúa en un objeto por unidad de área debido a una fuerza aplicada externamente) dividido entre la deformación (desplazamiento del material por unidad de longitud), se determina midiendo la pendiente de una zona representativa de la gráfica ⁴⁵. Los tejidos biológicos presentan típicamente una respuesta no lineal, es decir, el módulo de Young aumenta según aumenta la fuerza ⁴⁶, y hay diversos estudios publicados en los que los resultados del módulo de Young corneal varían ampliamente desde 0.01 hasta 57MPa ⁴⁷⁻⁴⁹.

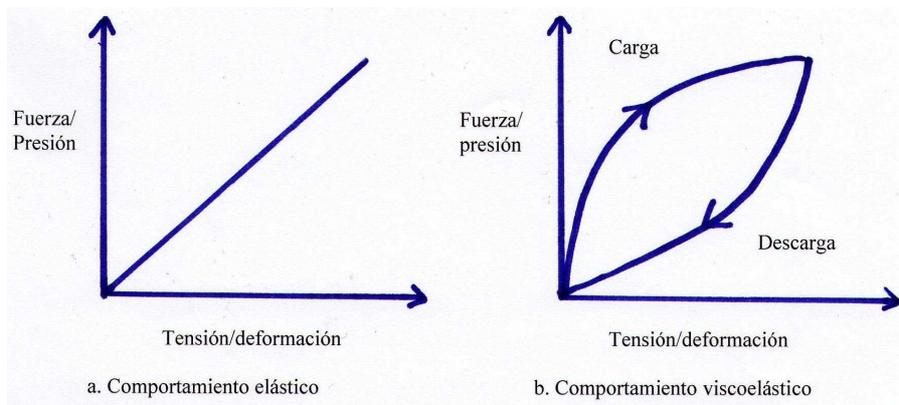


Fig 3. a) Curva fuerza/deformación para un material elástico que vuelve a su configuración inicial a través del mismo camino una vez que ha cesado la fuerza. **b)** Curva fuerza/deformación para un material viscoelástico, que vuelve a su configuración normal a través de un camino distinto. El área entre las dos curvas representa la energía disipada por el material y se denomina histéresis. (Modificado de Kotecha A. Survey of Ophthalmology 52:S109-S114, 2007).

Sin embargo el módulo de elasticidad de la córnea varía direccionalmente y regionalmente, y presentan un módulo más alto las áreas situadas meridionalmente a la zona central y paracentral y circunferencialmente al limbo, debido a la disposición de las fibras de colágeno, descrita previamente. Los materiales viscosos, por su parte, fluyen cuando se les aplica una fuerza externa y, de manera distinta a los elásticos, no vuelven a su forma original cuando esta fuerza desaparece. La histéresis, que representa las propiedades biomecánicas viscoelásticas⁵⁰, se refiere a la pérdida de energía durante el ciclo fuerza-deformación (Fig 3b). El colágeno al ser un material viscoelástico, como la mayoría de materiales viscoelásticos, presenta una histéresis⁵¹.

Los queratocitos son células que derivan de la cresta neural y funcionan como fibroblastos modificados formando y manteniendo la matriz extracelular. Se encuentran esparcidos entre las láminas de colágeno en el estroma formando un sincitio altamente organizado^{2, 7}. En respuesta a un daño agudo, pueden llegar a producir mitosis, adoptar un fenotipo fibroblástico y moverse al área dañada⁵², dicha respuesta depende del factor de crecimiento β ⁵³. Esta activación fibroblástica da como resultado el depósito de nueva matriz extracelular con una composición y unas propiedades de transmisión de la luz diferente de la del estroma normal⁵³. Du Y. y cols.⁵⁴ publicaron en el 2005 la presencia de células madres que expresan ABCG2 y PAX6 en el estroma corneal, que confirma la presencia de células precursoras de los queratocitos en córneas humanas.

Las fibras de colágeno se encuentran embebidas entre proteoglicanos, este es el componente fundamental del material extrafibrilar y están formados por una proteína central a la que se une covalentemente un polisacárido que es el glicosaminoglicano². Se han identificado 4 tipos de proteínas centrales de los

proteoglicanos corneales: decorin (con una cadena de glicosaminoglicano dermatán sulfato), lumican, mimecan (con una cadena de glicosaminoglicano queratán sulfato) y keratocan (con tres cadenas de glicosaminoglicano queratán sulfato) ⁵⁵.

Como se acaba de comentar existen cuatro tipos de proteínas centrales de proteoglicanos y sólo dos tipos de glicosaminoglicanos: dermatán sulfato y queratán sulfato. Se ha observado que el dermatán sulfato (40%) se encuentra en ambientes más ricos en oxígeno, como la porción anterior de la córnea, y parece que es más eficiente en retener el agua (en la zona anterior de la córnea hay mayor evaporización), mientras que el queratán sulfato (60%) está más presente en la parte posterior del estroma corneal donde hay una menor tensión de oxígeno, menor afectación por la evaporización y el agua tiene que tener una ligazón más débil para ser transportada a través del endotelio por la bomba endotelial ^{2, 55}.

La función primaria de los proteoglicanos es proporcionar volumen tisular, mantener el orden espacial de las fibras de colágeno y resistir las fuerzas compresivas. El agua, el colágeno, los proteoglicanos y los queratocitos trabajan juntos para establecer y mantener la córnea transparente, creando una estructura dura y resistente que mantiene intacta la integridad ocular y una forma estable.

Hay que tener en cuenta que, aunque la mayoría de células en el estroma, como acaba de ser comentado, son queratocitos encargados de mantener el estroma corneal sintetizando y secretando colágeno tipo I, III, V, VI, XII, XIV, queratán sulfato, dermatán sulfato y metaloproteinasas (MMPs), una minoría de células en el estroma son también células dendríticas estromales “profesionales”, células dendríticas estromales “no profesionales” e histiocitos. Parece que tienen un papel fundamental en la inducción de la tolerancia inmune contra el inicio de respuesta mediada por

células. Adicionalmente los histiocitos estromales juegan un papel en el inicio de la inmunidad como células efectoras fagocíticas ².

1.2.6. Membrana de Descemet

La membrana de Descemet es la membrana basal del endotelio corneal y es una capa que aumenta gradualmente de espesor desde el nacimiento ($3\mu\text{m}$) a la edad adulta (de 8 a $10\mu\text{m}$) ⁵⁶.

El análisis histológico de esta membrana muestra que se encuentra estratificada en una fina capa de unas $0,3\mu\text{m}$ adyacente al estroma no adherida, una zona anterior adherida (de 2 a $4\mu\text{m}$) y una zona amorfa posterior no adherida (mayor de $4\mu\text{m}$), esta última es depuesta por el endotelio a lo largo de la vida ². Al no encontrarse la membrana fuertemente adherida al estroma puede ser quirúrgicamente diseccionada como si se tratara de una sábana. No existen hemidesmosomas u otras uniones de anclaje entre la membrana de Descemet y el endotelio.

La membrana de Descemet está compuesta primariamente por colágeno ^{28, 29}, habiéndose observado colágeno tipo III y IV en la zona posterior no adherida, tipo IV en la zona anterior adherida y tipos V y VI en la zona anterior no adherida y en la matriz estromal interfacial. Además se han observado filamentos estriados largos de colágeno V en la membrana de Descemet inmediatamente adyacente a las células endoteliales ^{28, 29}. Algunos autores han encontrado también colágeno tipo VIII en la zona anterior ⁵⁷. Las glicoproteínas fibronectina y laminina forman también parte de su composición ^{3,7}.

Al encontrarse la membrana de Descemet localizada entre el endotelio y el estroma, cualquier intercambio de sustancias entre este y el humor acuoso tiene que

atravesar tanto la membrana de Descemet como el endotelio. El endotelio representa una barrera débil, bastante permeable, permitiendo el paso de iones y agua desde el humor acuoso al estroma, y el intercambio entre el humor acuoso y el estroma no parece encontrarse afectado por la membrana de Descemet. Por lo tanto la función principal de la membrana es estructural, formando una dura barrera resistente a la perforación corneal. La resistencia de la membrana se demuestra porque en los casos de ulceración severa del estroma corneal, la presión del humor acuoso fuerza a la membrana hacia delante a través de la ulceración, dando lugar a un descemetocele que puede protuir incluso por delante de la superficie anterior de la córnea sin romperse, demostrando así la elasticidad y la resistencia de esta membrana.

La membrana de Descemet se adhiere fuertemente a la superficie posterior del estroma corneal y refleja cualquier cambio en su forma, de manera que cuando el estroma corneal se edematiza se observan pliegues en dicha membrana. En determinadas patologías, como sucede en el hydrops corneal, la pérdida de la función estructural de dicha membrana al romperse por estrés físico, junto con fisuras a nivel del estroma corneal, da como resultado una mayor área de superficie expuesta a la cámara anterior y el consecuente edema estromal ⁵⁸. Otra característica de la membrana de Descemet es que se regenera a partir de las células endoteliales ⁵⁹.

1.2.7. Endotelio

El endotelio está formado por una única capa de 400.000 a 500.000 células endoteliales, derivadas de la cresta neural, que cubren la superficie posterior de la membrana de Descemet con un patrón en mosaico. Dichas células son uniformes, con unas 5µm de grosor y 20µm de ancho ^{60,61}, y su forma es poligonal, mayoritariamente

hexagonal, estando directamente en contacto con el humor acuoso de la cámara anterior^{2, 3, 7}. La densidad de células disminuye desde el nacimiento ($5000\text{cél}/\text{mm}^2$)^{61, 62} hasta la edad adulta en la que la densidad es de $3000\text{cél}/\text{mm}^2$ en el centro de la córnea. Sin embargo el edema no ocurre hasta que los valores centrales son inferiores a $500\text{cél}/\text{mm}^2$ - $700\text{cél}/\text{mm}^2$ ^{2, 62, 63}.

Las células endoteliales contienen núcleos de gran tamaño y abundantes organelas citoplasmáticas, incluyendo mitocondrias, retículo endoplásmico, ribosomas y aparato de Golgi, todo ello indica que son unas células metabólicamente activas⁶⁰. La superficie anterior de las células endoteliales es plana y limita con la membrana de Descemet. La posterior presenta microvellosidades y pliegues marginales que protuyen en la cámara anterior, maximizando el área de superficie expuesta al humor acuoso. Las células endoteliales presentan interdigitaciones complejas que las unen entre sí y que hacen que sus bordes laterales tengan una longitud 10 veces superior a la de su anchura.

Existen uniones herméticas y uniones comunicantes mediante las cuales las células endoteliales se interconectan. Los complejos de unión herméticos apicales corresponden a uniones tipo “macula occludens”. Esto hace que el endotelio constituya una barrera entre el humor acuoso y el estroma que, aunque impide el flujo libre de agua y solutos, no constituye una barrera tan eficaz como la que se encuentra a nivel del epitelio. En lo que se refiere a las uniones comunicantes³ son bastante numerosas y se observan sobre todo a nivel de las membranas laterales de las células, aunque algunas de ellas también están presentes en las membranas apicolaterales. Este tipo de unión no contribuye a la función de barrera endotelial pero sí a la de comunicación intercelular.

Como ha sido comentado previamente la densidad de las células endoteliales en una córnea sana disminuye con la edad ⁶⁴. Se ha observado que las células endoteliales no proliferan en los humanos, aunque sí lo hacen en cultivos celulares. Sin embargo se ha demostrado que tienen capacidad de mitosis. La cirugía intraocular también produce una disminución traumática del recuento endotelial. Además, las reacciones inflamatorias en la cámara anterior o aumentos sustanciales de la presión intraocular (PIO) pueden dar como resultado una disfunción en las células endoteliales. La pérdida de células endoteliales debida a cualquier razón da como resultado un aumento del tamaño de las restantes y su extensión, para cubrir el área defectuosa, sin aumentar el número de células global. Los índices basados en la microscopía especular fluctúan según el daño endotelial es reparado por la migración y la ampliación de las células endoteliales restantes. El coeficiente de variación del tamaño celular (Coeficiente de variación = la desviación estándar de la superficie celular media / superficie celular media) es un marcador de valor clínico y se encuentra en torno al 0.25 en la córnea normal, es el índice más sensible de la disfunción endotelial. El incremento de este valor implica una variación en el tamaño de las células y se denomina polimegetismo, y este trastorno puede ser indicativo de un endotelio sobrecargado. La medición aislada de la densidad celular no constituye una determinación adecuada de la estabilidad del endotelio corneal ⁷. Otro parámetro morfométrico del estado del endotelio es la hexagonalidad, que es un buen índice de proceso de reparación de la herida endotelial. En una córnea sana alrededor del 70-80% de células son hexagonales. Sin embargo un daño endotelial puede dar como resultado una disminución del valor de hexagonalidad y un aumento en la variabilidad del área celular: polimegetismo. La desviación de la hexagonalidad se denomina pleomorfismo y puede constituir un signo de sobrecarga endotelial.

Dado que el daño endotelial da lugar a edema corneal, el EC es un índice indirecto de la función biológica global del endotelio ^{3, 65-67}.

El endotelio tiene una importancia fundamental en la prevención de la edematización estromal, siendo esta su principal función ⁵. Como ya ha sido expuesto con anterioridad, el estroma tiende a hidratarse como resultado de la carga de los proteoglicanos que existen en él. A pesar de esta presión de edematización (PE) el estroma en condiciones normales no presenta tumefacción. Existen, por parte del endotelio, dos factores que contribuyen a la prevención de la edematización estromal y al mantenimiento de su contenido de agua en un 78%. Éstas son las funciones de barrera y de bomba del endotelio que veremos a continuación, de manera que existe un equilibrio dinámico entre la tendencia del estroma a edematizarse y el transporte activo de iones por la bomba endotelial que se opone al movimiento del agua, que tiende a penetrar en el estroma.

1.2.7.1. Función barrera endotelial

Como ya ha sido mencionado previamente, la barrera endotelial, al contrario que la barrera epitelial, es una barrera imperfecta ⁶⁸, que permite, en condiciones fisiológicas, el movimiento de agua y solutos desde el humor acuoso hacia el estroma corneal. Dicho movimiento es esencial para la nutrición de la córnea, que es un tejido avascular, y no produce variaciones en el EC. En cambio, si se produce una alteración en el endotelio corneal de cualquier etiología, puede dar lugar a un fallo de la función barrera y/o de la función bomba del endotelio, originándose un paso de líquido y sustancias excesivo, que dará lugar a un edema corneal, que es una córnea más

hidratada de lo normal (78%), aunque podemos distinguir dos tipos de edemas corneales: el edema estromal y el edema epitelial.

El edema estromal ocurre cuando el endotelio es incapaz de mantener la hidratación estromal dentro de la normalidad y se desarrolla de manera gradual. El estroma puede edematizarse sólo en dirección posterior (pues la curvatura corneal anterior y el diámetro corneales no se modifican), produciéndose un aumento del grosor corneal, especialmente central ya que el edema corneal periférico parece estar limitado por la restricción estructural impuesta por el limbo ⁶⁹. El otro edema es el edema epitelial, que se debe a una disfunción endotelial, a una PIO elevada o a una combinación de ambas (Fig 4). Así el fluido comienza a acumularse en los espacios entre las células basales, estirando los desmosomas. Posteriormente en el proceso estos espacios llenos de líquido aumentan para formar ampollas, visibles en la lámpara de hendidura como el edema microquístico. El mecanismo fisiopatológico parece implicar un movimiento anterior del fluido estromal y del humor acuoso, generado por la PIO. Así, si la función endotelial cae por debajo de un cierto nivel, conduciendo al edema y a una reducción en la PE estromal por debajo del valor de la PIO, el humor acuoso se puede acumular. Como el epitelio sano tiene una gran resistencia a los electrolitos y al flujo del agua, el fluido queda atrapado en el epitelio dando lugar a la formación de quistes y bullas ⁶⁹.

El tener una PIO mayor que la PE estromal, dando como resultado el edema epitelial, puede ocurrir en distintas situaciones clínicas, por un lado una función endotelial disminuida incluso con una PIO normal es suficiente para causar edema epitelial, de otra manera un endotelio normal sometido a una PIO muy elevada puede causar edema epitelial y entre estos dos extremos distintos grados de disfunción endotelial y de aumentos de la PIO pueden dar lugar al edema (fig 4).

Por lo tanto, si existe un aumento de PIO con una barrera y función de bomba endotelial normales, ocurre el edema epitelial, con poco aumento del EC corneal, mientras que si hay una disfunción endotelial sin aumento de PIO, hay un acúmulo de líquido en el estroma corneal con un aumento del espesor².

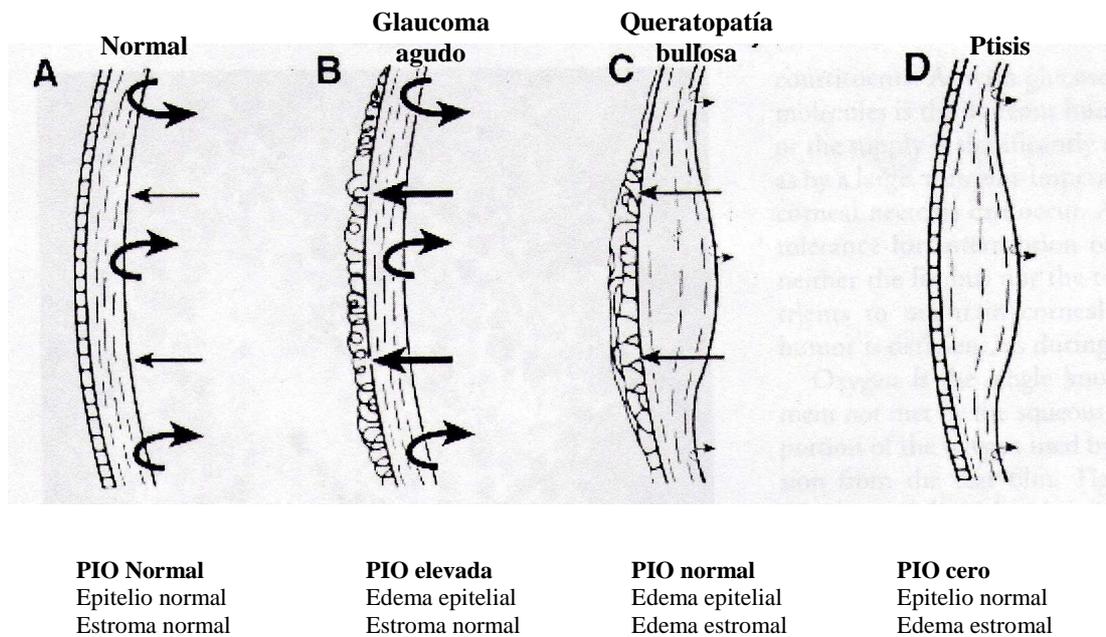


Fig 4: Desarrollo del edema corneal. Cuando la PIO sobrepasa la bomba endotelial, el fluido se acumula entre las células del epitelio, tras la barrera externa que forman las células escamosas. Esto puede ocurrir con un endotelio normal y una PIO muy alta (glaucoma agudo). En el edema crónico la PIO es normal pero el endotelio se encuentra afectado. (Modificado de Smolin and Thoft's The cornea: scientific foundations and clinical practice)

La importancia de la función barrera del endotelio queda demostrada al observar que cuando el endotelio sufre una alteración física directa la córnea incrementa su espesor a una velocidad de 127 μ m/hora, mientras que si lo que ocurre es tan sólo una inhibición de su bomba metabólica la velocidad de tumefacción es de unos 33 μ m/hora⁷.

Los espacios que existen entre las células endoteliales son de 25 a 40nm, pero disminuyen hasta los 3nm en las zonas de complejos de unión en los bordes apicales⁶⁸. En los primeros estudios ultraestructurales se pensó que las uniones intercelulares eran "zonula occludens"⁷⁰, pero estudios posteriores demostraron que eran uniones del tipo "maculae occludens" y "gap junctions" y ninguna de ellas constituye una

barrera que impida el paso de pequeñas moléculas desde la cámara anterior a través de los espacios intercelulares al estroma^{38,71}.

La barrera endotelial puede verse alterada por diversas causas: la integridad de las uniones intercelulares endoteliales depende del calcio^{72,73}, habiéndose observado que las soluciones sin calcio dañan dichas uniones y disminuyen la función de barrera⁷⁴. También se produce una ruptura de la barrera endotelial por la oxidación del glutatión intracelular con diamina⁷⁵, y el glutatión puede también estimular la actividad de la Na⁺/K⁺ ATPasa⁷⁶. El endotelio corneal acepta unos rangos de pH de 6.8 a 8.2, por lo que soluciones fuera de este rango también alteran la barrera endotelial. Existen también diversos conservantes que si entran en contacto directo con la barrera endotelial producen un daño químico, alterando la barrera y dando lugar a una edematización corneal, es el caso del bisulfito sódico⁷⁷, tiomerosal⁷⁸ y el cloruro de benzalconio⁷⁹. Otro tipo de daño que se puede producir es el daño mecánico, como el causado por traumatismos, por el implante de lentes intraoculares, o el realizado por instrumentos quirúrgicos durante cirugías de segmento anterior².

1.2.7.2. Función bomba endotelial

El mantenimiento de la transparencia corneal depende del estado de relativa deshidratación estromal que mantiene el endotelio. La teoría de barrera-bomba endotelial propone que hay un equilibrio dinámico entre la tendencia del estroma a edematizarse y el transporte activo de iones por la bomba endotelial que se opone al movimiento del agua. El movimiento de agua a través del endotelio es pasivo, y sigue al flujo de iones que son transportados activamente⁸⁰.

La primera evidencia de que el mantenimiento de la deshidratación corneal

dependía de una bomba metabólica se debe a Harris y Nordquist en 1955⁸¹, dichos autores observaron que con la bajada de temperatura se inhibía la función de bomba endotelial y se producía una edematización estromal, mientras que el aumento de temperatura lo disminuía.

La bomba endotelial consiste en una serie de enzimas que se encuentran en la membrana de las células endoteliales y que se encargan del movimiento de iones desde el estroma al humor acuoso, creando así un gradiente osmótico que hace que el agua salga del estroma^{82, 83}.

Los procesos metabólicamente activos de deturgescencia son asistidos por mecanismos pasivos, así la evaporización puede aumentar la osmolaridad de la película lagrimal y sacar agua del estroma⁸⁴ y, en presencia de un endotelio intacto, se cree que la PIO comprime el estroma y fuerza la salida de agua del mismo⁸⁵.

Actualmente se cree que el transporte activo de los iones bicarbonato en el humor acuoso es el componente mayor de la bomba endotelial⁸⁶⁻⁹². Es necesario el bicarbonato en el lado estromal del endotelio para mantener la función de bomba endotelial y existe un flujo neto de iones bicarbonato desde el estroma al humor acuoso^{85, 88, 89, 93}. Como acabamos de comentar se cree que el movimiento del bicarbonato es el sustrato de la bomba endotelial, aunque el transporte de iones de sodio y potasio también desempeñe un papel^{94, 95}. La existencia de un potencial eléctrico a nivel del endotelio, que en el lado del humor acuoso es negativo, apoya la teoría de que es más probable que el anion HCO_3^- sea el responsable del transporte de fluido a través del endotelio, más que los cationes Na^+ o K^+ ⁹⁶. El transporte de iones depende probablemente de una ATPasa⁹⁷, habiéndose identificado una bomba ATPasa dependiente de bicarbonato que se encuentra asociada con membranas

mitocondriales⁸⁷. El bicarbonato proviene del humor acuoso y de la conversión de CO_2 y H_2O por la anhidrasa carbónica (AC) endotelial^{98,99}.

La función de bomba del endotelio puede resultar alterada por diversas drogas como son: la ouabaina que inhibe la ATPasa, las soluciones libres de bicarbonato también inhiben la bomba endotelial o la bromacetazolamida que produce la inhibición de la AC, todo ello produce un edema estromal⁶⁸. (Fig 5)

Aunque existen otras hipótesis alternativas a este modelo de bomba endotelial, así en experimentación “in vivo” se ha observado que se establece una corriente de cortocircuito (una medida del flujo de un ión transportado activamente) a través del endotelio. Existen principalmente dos observaciones en contra del modelo de bomba de bicarbonato simple⁸⁷: Primero, si se quita el sodio del humor acuoso se inhibe el flujo de fluido a través del endotelio y causa una disminución significativa la corriente del cortocircuito. Segundo, la ouabaina, que bloquea de manera irreversible la bomba sodio-potasio ATPasa, abole la corriente de cortocircuito. Por ello indudablemente el sodio juega un papel importante. Sin embargo todavía no se comprende la naturaleza de la asociación entre los sistemas de bicarbonato y sodio.

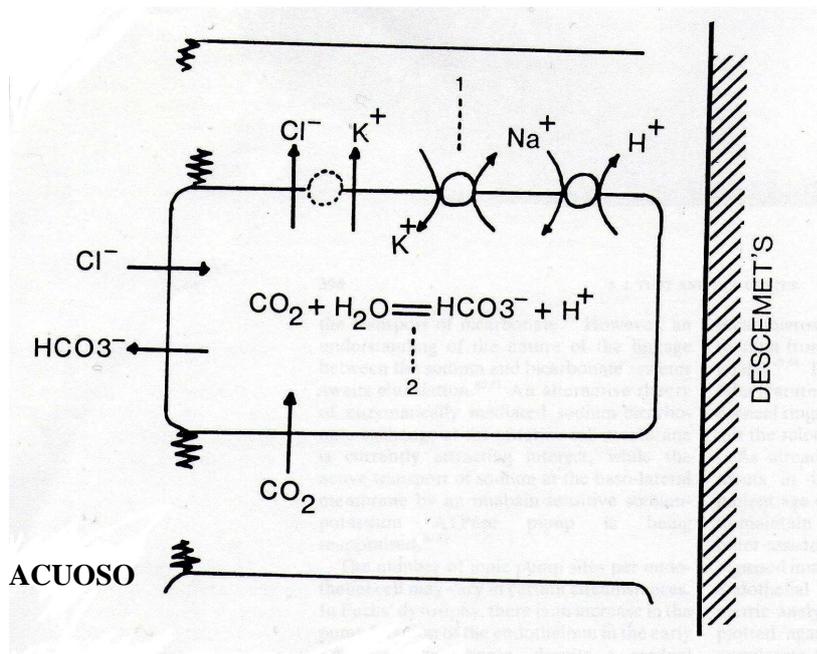


Fig 5: Mecanismo de bomba endotelial. Esquema que resume el transporte iónico, así como los lugares donde la bomba puede ser inhibida por inhibidores de la anhidras carbónica (1) y por la oubabaina (2). (Modificado de The corneal endothelium. Eye 1990;4,389-424)

Por lo tanto, como acabamos de comentar en el endotelio corneal se han identificado varios sistemas de transporte o se ha postulado su existencia. Todos estos mecanismos se han considerado y caracterizado posteriormente en un único modelo unificado de bomba metabólica endotelial. Aunque los detalles del transporte endotelial todavía no se han aclarado por completo, los componentes del sistema pueden estructurarse en un modelo que permite explicar el transporte iónico y el flujo osmótico de agua a través del endotelio ⁷ (Fig 6).

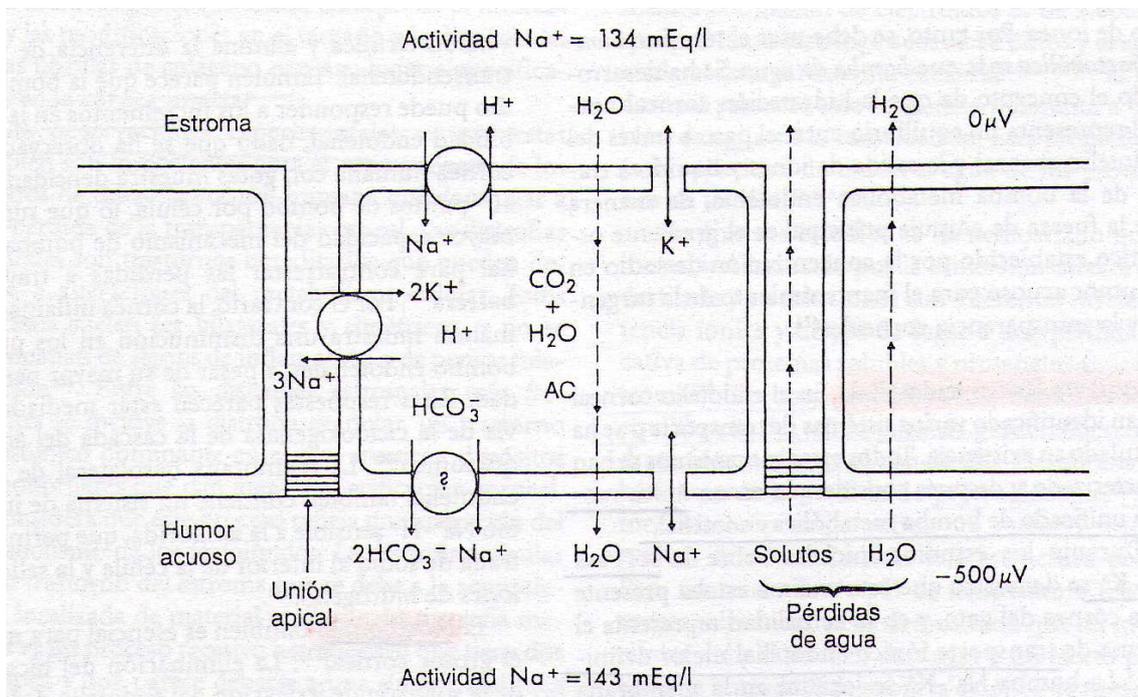


Fig 6: Modelo de movimientos de iones y agua a través del endotelio corneal. (Adler fisiología del ojo. 10ª ed).

El intercambiador $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ da lugar a la acidificación del líquido extracelular incrementando el nivel de dióxido de carbono que difunde hacia el interior de la célula. La AC convierte el dióxido de carbono en iones de hidrógeno y bicarbonato, que se transportan al exterior de la célula por acción del sistema intercambiador $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ basolateral y por el sistema de transporte de bicarbonato apical, respectivamente. El

sodio puede acompañar al bicarbonato, estableciendo un potencial transendotelial negativo en el humor acuoso. En todo el sistema es clave la bomba de sodio, que mantiene el gradiente de sodio necesario para el intercambio de $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ y facilita de esta manera la producción de bicarbonato. El transporte de sodio hacia el espacio lateral también puede contribuir al potencial transendotelial. Dada la localización apical de los complejos funcionales, la vía de menor resistencia para el movimiento del sodio es hacia el estroma; por tanto, el potencial negativo del humor acuoso también puede inducir el movimiento de los iones de sodio desde los espacios laterales hacia el humor acuoso. Han sido identificados los canales de sodio y potasio necesarios para explicar el funcionamiento de este modelo^{100, 101} y el transporte de cloro también es necesario para que exista una estequiometría correcta⁷.

1.3. Evaluación del endotelio corneal

Actualmente existen, fundamentalmente, 3 métodos que pueden ser usados para la evaluación de la morfología y la función del endotelio corneal: el análisis morfológico (como la microscopía especular, la microscopía confocal), la fluorofotometría y la paquimetría.

1.3.1. Análisis morfológico

Existen varios métodos para analizar la morfología endotelial, uno de ellos es la microscopía especular que es una técnica no invasiva utilizada para visualizar la morfología de la capa celular endotelial. Los mismos principios que hacen a la córnea

transparente hacen que su estructura y células sean prácticamente invisibles. Sin embargo, podemos observar las células endoteliales mediante reflexión especular, para que se de dicho fenómeno es necesario una superficie plana, que en el caso de la córnea son las células planas endoteliales, y el cambio en el índice refractivo que existe entre las células endoteliales y el humor acuoso ¹⁰².

En 1919 Vogt describió la apariencia especular del endotelio corneal normal y patológico. El primer microscopio especular fue desarrollado por Maurice en 1968 ¹⁰³, quien introdujo también el término de microscopía especular, actualmente utilizado.

Desde aquellos comienzos, los microscopios especulares han avanzado bastante, habiéndose desarrollado microscopios especulares que permiten la realización de estudios “in vivo” sobre la morfología funcional endotelial y tomar imágenes fotográficas de gran resolución ^{104, 105}. Gracias a esas imágenes se pueden examinar las células endoteliales y múltiples variables morfológicas como la densidad celular, el área celular media, el porcentaje de células hexagonales o pleomorfismo y el polimegetismo que, como ha sido previamente comentado, es la medida de la variación de la uniformidad del tamaño celular ^{106, 107}. (Fig 7)

La microscopía especular ha tenido importancia en la valoración del impacto de la cirugía del segmento anterior sobre el endotelio, en el diseño de lentes intraoculares, en la constitución de fluidos de irrigación intraocular y de medicamentos. Sin embargo la microscopía especular tiene limitaciones, la más notable es la degradación de la imagen cuando existe edema estromal, situación en la que la morfología celular resultaría útil. Además no se ha hallado una buena correlación entre la morfología endotelial y su actuación funcional. De hecho, hasta que el número de células llega a ser muy bajo, existe una pobre correlación entre la densidad endotelial y el EC ⁸⁷. Lo que es compatible con la existencia de una situación

“todo o nada”, es decir, que la reserva funcional de las células endoteliales es capaz de mantener una función bomba normal hasta que el número de células disminuye de un nivel, situado en torno a las 500 cél/mm².

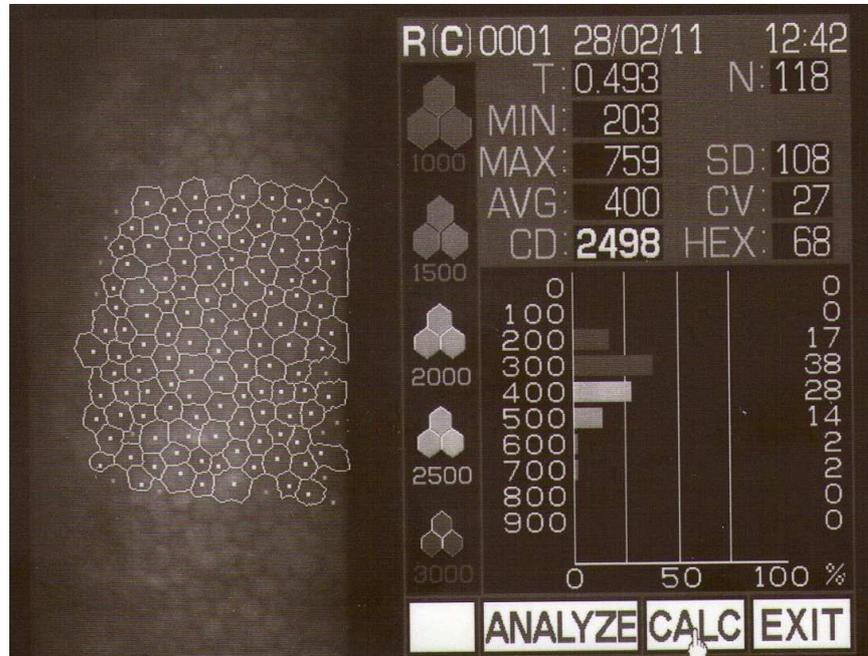


Fig 7: Imagen de una biomicroscopia especular en la que se observa las células endoteliales así como los distintos índices de medida que se obtienen.

Otro de los métodos para el análisis morfológico corneal es la microscopía confocal de barrido que permite visualizar “in vivo” las estructuras de todas las capas corneales. Al ser un método no invasivo permite un rápido exámen de la córnea en su estado fisiológico, evitando los artefactos de los estudios “ex vivo” y también realizar estudios longitudinales a través del tiempo en la misma córnea. Además de la información cualitativa la microscopía confocal permite también el análisis cuantitativo de las capas, nervios y células corneales “in vivo” y se puede utilizar para analizar tanto córneas sanas como patológicas y postquirúrgicas. Otra de sus posibles aplicaciones es realizar medidas del EC total y de las distintas capas que forman la córnea y medir la profundidad a la que se sitúa la interfaz quirúrgica en córneas operadas ¹⁰⁸.

1.3.2. Permeabilidad endotelial a la fluoresceína

Como ya ha sido previamente comentado, el endotelio corneal tiene dos funciones, una de barrera que sin embargo permite el paso de agua, nutrientes y metabolitos del humor acuoso al estroma, y una función de bomba que mantiene la deturgescencia de la córnea ⁵.

Una medida cuantitativa de la función endotelial se puede realizar midiendo el paso de fluoresceína a través de él. Este sería un test que mide la función de barrera endotelial, aunque hay que tener en cuenta que el endotelio normal no representa una barrera significativa para la difusión de agua ⁸⁷.

Para la realización de la prueba se instila fluoresceína de forma tópica, cierta cantidad de la fluoresceína atraviesa el epitelio corneal llegando al estroma corneal y posteriormente la fluoresceína pasa por difusión a través de la barrera con menor resistencia que es el endotelio ¹⁰⁹. La tasa puede ser calculada por la diferencia de concentración entre el estroma y el humor acuoso y la permeabilidad del endotelio corneal a la fluoresceína. Este proceso fue descrito por Jones y Maurice en 1966 ¹¹⁰ y gracias a él se puede determinar la tasa de flujo del humor acuoso y la permeabilidad endotelial. Este análisis requiere una medida exacta de la concentración de fluoresceína en la córnea y en la cámara anterior, y desde el primer fluorofotómetro ocular de Langham y Wibar en 1954 ¹¹¹ se ha realizado una gran mejora en los instrumentos hasta disponer en la actualidad de uno comercial (Fluorotron Master, Ocumetrics, Inc., Mountain View, CA, USA) ^{112, 113}.

En los individuos normales la valores de transferencia de fluoresceína parece que permanecen constantes con la edad, pero existe una correlación entre el aumento del coeficiente de transferencia y el EC ¹¹⁴.

1.3.3. Espesor corneal

La paquimetría corneal, es decir la medida del EC, es una medida indirecta de la función endotelial ¹¹. La relación lineal existente entre la hidratación corneal y el EC implica que el EC se puede usar como un índice indirecto del daño endotelial tras cirugía ^{65, 87, 115}.

De manera similar, la función de bomba del endotelio se puede evaluar experimentalmente midiendo los cambios en el EC tras un estrés hipóxico, que se suele inducir con el uso de lentes de contacto no permeables al oxígeno. El metabolismo anaeróbico del epitelio conduce al acúmulo de ácido láctico que causa edema estromal, por inhibición directa de la bomba endotelial o por la creación de un desequilibrio osmótico ^{116, 117}. La tasa de desedematización refleja tanto la función de bomba como de barrera del endotelio ¹⁰². La función de bomba del endotelio se puede comparar en dos grupos si se conoce la tasa de desedematización y la permeabilidad a la fluoresceína ^{118, 119}.

La medida del EC (paquimetría) es actualmente utilizada por los especialistas en córnea, los cirujanos refractivos y por los especialistas en glaucoma diariamente para el manejo del paciente. Existen múltiples métodos para medir el EC divididos en dos categorías: métodos ópticos (microscopía especular, microscopía confocal, paquimetría óptica, Orbscan...) y métodos ultrasónicos.

El primer instrumento óptico para la medida del EC fue descrito por von Bahr en 1948 ¹²⁰; superponiendo una imagen especular del endotelio con la imagen especular del epitelio mediante la rotación de unos platos y cuando las imágenes estaban adecuadamente alineadas se podía determinar el EC gracias a la angulación de los platos, la mayoría de los paquímetros ópticos son una variación de este dispositivo.

En la actualidad existen múltiples tecnologías para determinar el EC:

1. Microscopía especular: también ha sido utilizada para determinar el EC y constituye un método objetivo porque el criterio de valoración es una imagen clara del mosaico endotelial, documentado mediante una fotografía enfocada^{68, 121, 122}.
2. Microscopía confocal: El EC puede ser determinado a partir de la profundidad del plano focal que corresponde a los límites de la región que queremos medir, por ejemplo el EC es la diferencia entre la profundidad del epitelio y del endotelio¹⁰⁸.
3. Tomografía corneal¹²³: Es la creación de modelos tridimensionales creados a partir de secciones bidimensionales. Los distintos aparatos que incluyen esta tecnología son topógrafos tridimensionales (Astramax®), análisis mediante iluminación en hendidura (es realizado por análisis mediante iluminación en hendidura tipo Orbscan, imagen Scheimpflug, tomografía de coherencia óptica (OCT)).

- Análisis mediante iluminación en hendidura tipo Orbscan¹²³. Está formado por un disco de Plácido y una lámpara de hendidura. Toma 40 imágenes (20 haces proyectados hacia la izquierda y otros 20 hacia la derecha) con una distancia entre cortes de 250 micras, estudiando unos 9.000 puntos en apenas 1.5 segundos.

Un análisis mediante software genera unos mapas de espesor de la totalidad de la córnea. La representación típica que muestra este aparato incluye la curvatura, la elevación de la cara anterior y posterior de la córnea y el mapa paquimétrico.

- Imagen Scheimpflug: Pentacam ¹²⁴ es una cámara de Scheimpflug rotacional Scheimpflug que reproduce imágenes tridimensionales de alta resolución del segmento anterior del ojo en menos de 2 segundos. Pentacam calcula un modelo tridimensional del segmento anterior del ojo a partir de los 25,000 puntos de elevación real.

Se calcula la topografía y paquimetría de la totalidad de la superficie anterior y posterior de la córnea de limbo a limbo. El análisis del segmento anterior del ojo incluye el cálculo del ángulo, volumen y profundidad de la cámara anterior y una función de medida manual de cualquier punto de la cámara anterior. También se genera el análisis de densitometría de córnea y cristalino. Las aplicaciones clínicas incluyen la medida de la forma corneal, su potencia, la paquimetría y ayuda para el cálculo de la lente.

- Tomografía de Coherencia Óptica de segmento anterior: Visante. La OCT de segmento anterior de la córnea es un método óptico no invasivo de análisis basado en el reflejo y la dispersión de la luz desde estructuras en la córnea. La interferometría óptica se usa para crear un perfil de reflectividad. Cada pico del perfil se corresponde con una capa específica de la córnea. La interferometría de baja coherencia alcanza resoluciones axiales menores de 10µm usando una técnica de no contacto ¹²⁵. Las imágenes se han utilizado para identificar el espesor del epitelio corneal, del tapete de LASIK,

la profundidad de anillos intraestromales y estructuras tridimensionales de córneas normales o patológicas con precisión ¹²³.

4. La paquimetría ultrasónica es la técnica de referencia actual para la medida del EC. Es una técnica sencilla pero que requiere de la instilación de anestésico tópico y del contacto de la sonda de ecografía, que posee un cuarzo piezoeléctrico emisor de ultrasonidos, con la córnea del paciente.

Se ha observado que pueden existir errores debidos a la indentación de la córnea ¹²⁶ y puede existir también daño epitelial e infecciones al ser un método de contacto ¹²⁷. También algunos autores han encontrado que las gotas anestésicas producen un aumento del EC ¹²⁸, aunque este es un tema que no está totalmente claro debido a que otros autores no han encontrado dicha relación ¹²⁹, de lo que no cabe duda es de que las técnicas que no requieren contacto y por lo tanto analgesia se encuentran exentas de esta posible influencia.

5. Biomicroscopía ultrasónica (BMU): Utiliza el modo B de alta frecuencia (50MHz) que tiene resolución para las estructuras del segmento anterior del ojo. La sonda funciona en una cámara de agua enfrente de la córnea y los bordes corneales anterior y posterior tienen que ser identificados. La medida del EC puede ser repetida con un coeficiente de variación menor de 3.8% ¹³⁰.
6. Ultrasonidos de alta frecuencia¹²³: Los ultrasonidos VHF (very high-frequency) escanean una serie de meridianos en un movimiento de arco unido a la curvatura de la córnea. Esto permite medidas del espesor de

capas corneales individuales sobre una zona de 8-10mm en tres dimensiones. Esta es la única tecnología disponible que puede producir mapas topográficos de capas corneales individuales, como el epitelio, los colgajos corneales y el estroma.

1.4. Control de la hidratación corneal

Una de las propiedades más destacables de la córnea es su habilidad para transmitir casi la totalidad del espectro visible de la luz que incide sobre ella, es decir, el bajo grado de dispersión de la luz que la atraviesa. Los mecanismos que mantienen tanto la transparencia corneal, como el control de la hidratación y del grosor corneal, han sido objeto de estudio desde hace mucho tiempo, ya que el fallo de las membranas corneales conduce a un edema corneal, vascularización y opacificación. A pesar de los avances obtenidos aún no está totalmente claro como se produce su regulación.

En un principio se comenzó estudiando la relación que puede existir entre la PIO, la hidratación corneal y la transparencia. Así, según las recopilaciones históricas de algunos textos ¹³¹, ya en 1873 Leber observó que en ojos recién enucleados con una presión de 200mmHg se causaba un edema epitelial en pocas horas. Posteriormente en 1904 Bullock colocó ojos de conejo enucleados y sin epitelio en soluciones de cloruro sódico de distinta tonicidad. Cuando las soluciones que usaba eran hipotónicas se producía un aumento de PIO temporal y las córneas permanecían finas y transparentes, de manera contraria, cuando los ojos los colocaba en soluciones salinas hipertónicas, la PIO era baja y las córneas se edematizaban.

En 1942 Kinsey y Cogan ¹³² sumergieron ojos enucleados en soluciones de cloruro sódico y también observaron edema corneal. La PIO se mantuvo a 0, 20 y

185mmHg, y vieron que la PIO más alta se oponía al edema corneal, esta tendencia se evidenciaba también si se eliminaba el epitelio. Sin embargo llegaron a la conclusión que la PIO en rangos fisiológicos no tenía importancia en la prevención de la deturgescencia.

Gehrsitz y col. en 1956¹³³ investigaron el efecto de la PIO en la córnea con inversiones térmicas. Enfriaban los ojos y posteriormente los calentaban, observando la excreción de agua de la córnea. La deshidratación variaba de forma inversa a la PIO, siendo la recuperación de las córneas más rápida si la PIO era menor.

Maurice en 1957⁴⁰ observó como en ojos de conejo enucleados la dispersión de la luz aumentaba según se aumentaba la PIO a través a una aguja insertada a nivel del humor vítreo. Realizó el experimento en córneas de ojos de animales recién sacrificados y también en córneas que eran edematizadas poniéndolas en salino antes de que se realizara el experimento. Las córneas edematosas dispersaban más luz que las normales y el incremento de la dispersión era mayor si se aumentaba la PIO.

Anseth y Dohlman, también en 1957¹³⁴ intentaron reproducir las condiciones que existen “n vivo” cuando el epitelio o el endotelio es retirado y las lágrimas o el humor acuoso entran en contacto directo con el estroma corneal. Para ello bañaron córneas de ternera enucleadas, bien en la cara anterior o en la cara posterior, pero en todos los casos aplicaron una presión de 20mmHg a la cara posterior. El líquido entrando desde la cara anterior causó una edematización del estroma del 20% en 72 horas, sin embargo, cuando el fluido procedía de la cara posterior el edema era del 100%.

Potts y Friedman en 1959¹³⁵ midieron la densidad especular en córneas de ternera. Cuando se aplicaba una PIO de 25mmHg a la superficie posterior, el edema aumentaba tanto en el epitelio como en el estroma.

En 1965 Ytterborg y Dohlman ¹³¹ observaron en córneas de conejo que a distintos niveles de PIO (ellos usaron presiones de 70mmHg, de 20mmHg y de 0 a 5mmHg) no había cambios en el EC hasta pasadas dos horas, y que cuando se producía daño en el endotelio el EC aumentaba más rápidamente a 70mmHg que a 20mmHg. Cuando las córneas enucleadas se mantenían a 0-4°C la tasa de edematización era esencialmente igual en cualquiera de los tres niveles de PIO.

La hipótesis de un mecanismo de filtro-bomba es actualmente aceptada como el modelo básico del balance de agua que ocurre entre la córnea y el humor acuoso. El primero que formuló esta hipótesis fue Maurice en 1951 ¹³⁶, según él la PE del estroma corneal se contrarrestaba por un exceso de iones en el humor acuoso, dicho exceso de iones se mantiene gracias a un transporte activo de uno de los iones mayores Na^+ , K^+ , Cl^- o HCO_3^- y esto crea una diferencia en el potencial eléctrico a través del endotelio que permite a los iones de carga opuesta estar en un equilibrio eléctrico. Los dos elementos principales de esta hipótesis son la filtración de humor acuoso en el estroma, que es debida a la PE y controlada por la permeabilidad iónica del endotelio, y la bomba localizada a nivel del endotelio y que mueve el líquido del estroma corneal.

Como ya ha sido comentado anteriormente en el apartado de anatomía los glicosaminoglicanos del estroma corneal juegan un papel fundamental en el proceso de la hidratación corneal, tienen la habilidad de absorber y retener grandes cantidades de agua, de forma que una córnea extirpada y colocada en un medio acuoso aumentará su hidratación del 78% al 98% ³. Cuando el estroma se edematiza, el diámetro de las fibras corneales se mantiene estable, produciéndose la edematización básicamente en la sustancia fundamental, que es rica en glicosaminoglicanos, lo cual produce un aumento en la separación de las fibras de colágeno ¹³⁷.

Hay diversos factores que influyen en la fuerza de edematización generada por la sustancia fundamental: las fuerzas repulsivas entre las cargas negativas de los glicosaminoglicanos (10 a 50mEq/L) son las primeras responsables de la abundancia de Na^+ y K^+ en el estroma¹³⁸⁻¹⁴⁰, el exceso de cationes requerido para mantener la carga iónica neutra (efecto Donnan), las limitaciones mecánicas en la estructura corneal que previene el edema más allá de ciertos límites¹⁴¹ y los efectos químicos como cambios en el pH y la fuerza iónica total.

El estroma corneal se mantiene normalmente en un estado de relativa deshidratación, de forma que un 78% de su composición es agua. Al estudiar los mecanismos responsables de mantener la hidratación corneal constante observamos que tiene un gran interés la presión del fluido intersticial en la córnea. Dicha presión ha sido medida a lo largo de la historia de dos formas: bien de una manera indirecta y se conoce entonces como PE, o bien de una forma directa y recibe entonces el nombre de presión de imbibición (PI).

La PE de un tejido se puede definir como la presión mecánica que es necesaria aplicar a las superficies de dicho tejido para prevenir la edematización cuando tiene libre acceso a un medio acuoso fisiológico¹⁴². Su medición es importante para ayudarnos a clarificar el mecanismo del edema corneal y del control de la hidratación.

Debido a que el estroma se edematiza más o menos rápidamente según se encuentren dañadas sus membranas limitantes (barreras epitelial y endotelial), se asume que el estroma “in vivo” se encuentra sometido a fuerzas de deshidratación. De manera que con la medida de la PE estromal “in vivo” se obtiene un valor aproximado de la presión neta que el mecanismo de deshidratación de la córnea puede alcanzar.

Haciendo un repaso histórico la primera determinación cuantitativa de la PE corneal fue realizada por Kinsey y Cogan en 1942¹⁴³, lo que hicieron fue restringir la edematización en córneas de gato que estaban en salino al 1% mediante la colocación de distintos pesos sobre el tejido. Concluyeron que era necesaria una presión de unos 30mmHg para prevenir la edematización. En cambio si el experimento se realizaba con agua destilada en lugar de salino la presión requerida era de unos 100mmHg.

Otra manera de determinar la PE es osmóticamente, dializando el tejido contra soluciones coloideas cuya presión osmótica es conocida, este es el método que usó Pau¹⁴⁴, lo que hizo fue sumergir córnea y esclera en distintas concentraciones de polivinilpirrolidona y determinó los cambios de peso. Se asumía que la PE del tejido era igual a la presión osmótica coloidea con la que no existía cambio en la hidratación del tejido y en su trabajo se evitaba la edematización cuando la presión osmótica coloidea de la polivinilpirrolidona era de 75mmHg.

Dohlman y Anseth¹⁴⁵ colocaron estroma corneal de vaca entre membranas semipermeables y dializaron el tejido frente a salino más dextrano a concentraciones crecientes. Estudiaron los cambios de peso y vieron que la concentración a la que se evitaba la edematización fue de 60 a 70mmHg.

Hedbys y Dohlman¹⁴⁶ desarrollaron otro método en el que un botón circular de estroma era colocado en un anillo y entre dos filtros de cristal, de forma que el superior era fijo, el sistema estaba conectado a un manómetro (Fig 8). Cuando pasaba salino el tejido lo absorbía y se registraba la presión. La presión por este método en el estroma de novillo, conejo y humano era en torno a 60mmHg para una hidratación normal de 3.40 a 3.45mg de agua/mg peso seco.

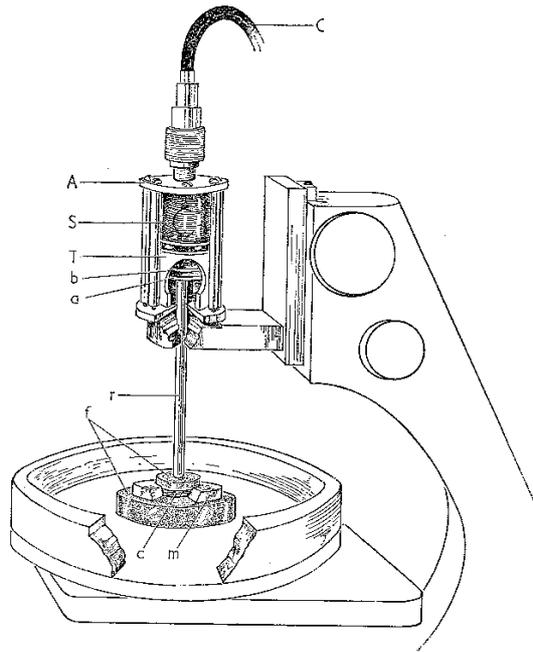


Fig 8: Ilustración del sistema usado para medir la presión. El botón corneal (c) es colocado entre los filtros de cristal (f) y en un anillo de metal (m). El filtro de cristal superior se encuentra conectado al plato de metal inferior (a,b,) del transductor (T). Un adaptador (A) mantiene el transductor y el resorte de metal (S) conectados al cable coaxial (C). (Reproducido de Exp Eye Res 1963;2,122-129).

Yttergorg and Dohlman (1965)¹⁴⁷ determinaron la PE a distintos rangos de hidratación utilizando un transductor siguiendo el mismo método empleado por Hedbys y Dohlman. Determinaron que con PIO bajas o moderados no hay cambios en el grosor corneal, sin embargo cuando la PIO es mayor de 40mmHg existe un leve aumento de grosor aunque sin ser estadísticamente significativo. Concluyen que el contenido de fluido en el estroma está influido poco, si es que no es nada, por la PIO, cuando ésta se encuentra dentro de un rango fisiológico.

Pero todas estas medidas fueron realizadas “in vitro”, sin embargo en el tejido “in vivo”, con el epitelio y el endotelio intactos la PE puede ser muy distinta. Fue en 1971 cuando Klyce et al¹⁴⁸ determinaron la PE “in vivo”. Lo consiguieron implantando discos de polihidrogel transparentes en la córnea de conejos y midiendo el grosor del disco de hidrogel y de la córnea de alrededor mediante paquimetría. Se determinó que la PE era igual en el hidrogel y en el estroma corneal cuando el grosor del hidrogel disminuía hasta un equilibrio con el estroma corneal, en este caso la PE corneal se estableció alrededor de 50mmHg.

Lo que ha sido comentado hasta ahora es la PE, que es una medida indirecta de la presión del fluido en el estroma, pero si el estroma tiene una PE “in vivo” debería tender a succionar fluido. Por lo tanto si un reservorio se coloca con salino de manera que tuviera libre acceso al tejido se registraría una presión negativa, este es un método directo de medida de la presión de fluido estromal que se ha denominado PI, es la presión negativa que atrae agua a la córnea y se ha medido mediante canalización directa de la misma.

En la córnea extirpada el valor de la PI es igual a la PE, aunque de signo opuesto^{3, 80}. Sin embargo, en condiciones fisiológicas, la PI es menor a la PE debido al efecto compresivo que ejerce la PIO. La relación entre estos tres parámetros se describe en la ecuación: $PI = PIO - PE$.

Hedbys et al en 1963⁸⁰ desarrollaron el siguiente experimento (Fig 9):

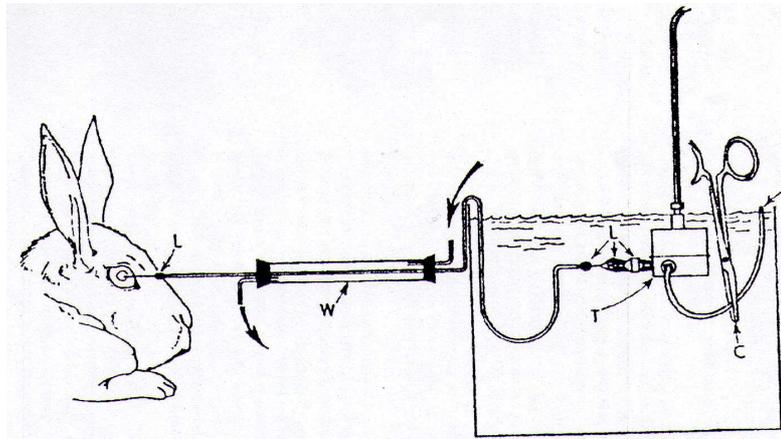


Fig 9: Diagrama general del manómetro y los tubos utilizados en el experimento de Hedbys et al. T: transductor de presión, C: grapa, W: cubierta de agua, L: sellados con laca. (Reproducido de Exp. Eye Res. 1963;2:99-111).

Conectaron una aguja de 27G o 29G a través de un fino tubo de polietileno a un transductor de presión, el sistema estaba relleno de salino y en el no había aire. Se introducía la aguja en el estroma de la córnea y se registraba la presión. La presión negativa gradualmente aumentaba y alcanzaba el equilibrio normalmente en unas dos horas y media. Primero realizaron el experimento en estroma de vaca “in vitro” y

obtuvieron valores de presión de fluido similares a los que se habían hallado con los métodos previamente comentados para la PE. Luego llevaron a cabo medidas en córneas de conejo “in vivo”, implantando una cánula de 27 o 29G en el estroma corneal y sellando todas las conexiones con laca de uñas. Encontraron una PI en córnea de conejos vivos negativa que va aumentando a lo largo del tiempo como se refleja en la figura 10 y que refieren que era inferior a la que hallaron “in vitro” a hidrataciones normales. Realizaron también medidas en conejos en los que implataron una cánula a nivel estromal para la medida de la PI, obteniendo unos resultados de -40 a -46mmHg. Hay que tener en cuenta que las condiciones “in vivo” son algo más complicadas ya que la PIO afecta a la presión de fluido estromal, pero si a los valores obtenidos “in vivo” se sumaba la PIO se obtenían resultados similares a los que se hallaban “in vitro”. Esto indica que el estroma corneal “in vivo” tiene una PE en torno a 50 - 60mmHg.

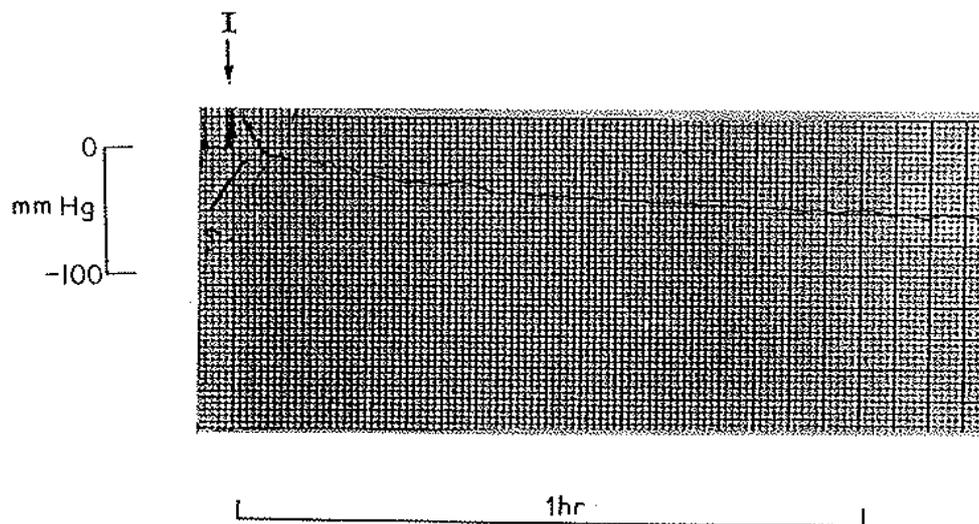


Fig 10: Registro de las medidas de la PI in vivo realizado por Hedbys et al. (Reproducido de Hedbys et al. The imbibition pressure of the corneal stroma. Exp Eye Res 1963;2:99-111).

Como hemos comentado la regulación de la hidratación corneal se debe predominantemente a la bomba endotelial, aunque también influyen la PE estromal, la

barrera epitelial y también se ha tenido en cuenta el efecto de la evaporización de la película lágrimal, de hecho la córnea es más delgada durante las horas de vigilia que durante el sueño^{84, 149}. Sin embargo se ha visto que su papel no es muy importante, se ha demostrado que la córnea de conejo aislada y sumergida en un líquido similar al humor acuoso a la temperatura corporal puede mantener el grosor normal durante más de 30 horas⁶⁹, por lo que la evaporización no parece jugar un papel principal en el control de la hidratación.

Se ha considerado también la PIO en el control de la hidratación y, aunque el grosor corneal varía con los cambios de PIO, estos cambios no son suficientes para explicar el control de la hidratación normal. Además, córneas aisladas pueden mantener un EC casi normal en ausencia de PIO⁶⁹.

La PE y la PI, como ha sido expuesto, son fundamentales para la hidratación de la córnea y dependen de diversos factores. El término PI, que como hemos comentado se refiere a la tasa a la que el estroma corneal imbibе agua, no se debe solamente al papel de la función endotelial, si no que es el resultado de un conjunto de factores que no se encuentra muy bien caracterizado, relacionados tanto con propiedades físicas como químicas del estroma corneal¹⁵⁰. Por lo tanto hay que tener en cuenta además del papel del endotelio en la regulación de la hidratación del estroma corneal, la composición bioquímica de la córnea y la conductividad hidráulica de ésta (que es la facilidad con la que el agua puede moverse a su través) que depende de propiedades físicas del estroma¹⁵⁰ y que hace que el fluido no se distribuya de forma uniforme en el estroma, si no que existe una mayor hidratación en las lamelas posteriores, debido a la diferente composición de glicosaminoglicanos entre el estroma anterior y posterior¹⁵¹.

2. Glaucoma

Según el diccionario de la Real Academia Española de la Lengua ¹ el glaucoma es: “enfermedad del ojo, caracterizada por el aumento de la PIO, dureza del globo, atrofia de la papila óptica y ceguera”.

Este grupo de enfermedades eran ya reconocidas por los griegos en los años 400 a.c. En los escritos hipocráticos ya aparecía el término “glaucois” haciendo referencia al tinte azul-verdoso del ojo afecto ¹⁵². Dicho término era aplicado a un gran grupo de enfermedades, entre las que se incluían las cataratas. No es hasta el siglo XIX cuando el glaucoma se reconoce como un grupo de enfermedades que tienen como característica común una neuropatía óptica asociada a una pérdida de función visual, y en las que existen diversos factores de riesgo entre los que se incluyen la PIO ¹⁵³.

El glaucoma es un importante problema de salud, siendo una de las principales causas de ceguera irreversible en el mundo ¹⁵⁴. La prevalencia en individuos mayores de 40 años se estima en un 1.86% (con un intervalo de confianza del 95%: 1.75%-1.96%), según un metanálisis de estudios basados en población ¹⁵⁵.

Existen menos estudios que midan la incidencia de glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA), en el estudio de Barbados la incidencia era de 2.2% en individuos de 40 a 49 años y hasta de un 7.9% en los mayores de 70 años, en una población de raza predominantemente negra ¹⁵⁶. Aunque en otros estudios como el de Rotterdam realizado en los Países Bajos y en el Visual Impairment Project, realizado en Australia, las incidencias eran menores, con un riesgo a los 5 años de glaucoma del 1% en los individuos de 60 años para el estudio de Rotterdam ¹⁵⁷ y del 0.2% en el grupo de 40 a 49 años a un 5.4% en los mayores de 80 años en el Visual Impairment

Project¹⁵⁸. En lo que sí coinciden todos los estudios es que la incidencia aumenta con la edad.

En España el estudio que se realizó en la población de Segovia estimó una prevalencia de glaucoma de un 2.1% y también se observó que su prevalencia aumentaba con la edad¹⁵⁹.

3. Importancia de la córnea en el glaucoma

Desde el Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS)¹⁶⁰ la medida del EC ha adquirido una gran importancia en el glaucoma. Dicho estudio fue el primero en el que se comprobó que el espesor corneal central (ECC) es un factor de riesgo para la progresión de hipertensos oculares (HTO) a GPAA. Pero la córnea, y más concretamente el EC, han sido estudiados desde hace tiempo para intentar comprender su influencia e importancia en el glaucoma debido a diversos aspectos que se comentan a continuación:

1. La córnea como artefacto en la medida de la PIO:

Hasta el OHTS la córnea, más concretamente el ECC, se había contemplado tan sólo como un factor modificador de la medida de la PIO. Goldmann y Smith desarrollaron un tonómetro que todavía hoy continúa siendo el “gold standard” para la medición de la PIO¹⁶¹. Dicho tonómetro se basa en el principio de Imber-Fick, según el cual si una superficie plana se aplica sobre una membrana esférica para causar un aplastamiento de su superficie, la presión en el interior de la esfera será igual a la fuerza aplicada dividida por el área de contacto¹¹⁵. Este principio se considera válido cuando la esfera es perfectamente redonda, seca, elástica e infinitamente fina, pero el globo ocular no cumple estas características ideales.

En el tonómetro que desarrolló Goldmann, se aplanan una superficie corneal circular de 3.06mm de diámetro. Dicha área de aplanación está dentro del rango en el cual la rigidez de la córnea es contrarrestada por la atracción capilar creada por la película lagrimal entre el tonómetro y la córnea ¹¹⁵. Pero los propios autores ya reconocieron potenciales fuentes de error para su tonómetro en la primera definición de este, en particular su diseño asumía un EC de unas 520µm y la exactitud de sus medidas podría modificarse si el EC se desviaba de esta cifra.

En 1975, Ehlers, canulando ojos sometidos a cirugía de catarata, correlacionó la PIO real con el EC, viendo que las medidas mediante tonometría de aplanación Goldmann (TAG) eran más precisas cuando el EC era de 520µm y que las desviaciones sobre este valor daban lugar a infra o supraestimaciones de unos 7mmHg por cada 100µm ¹⁶².

Actualmente sabemos que el EC varía entre la población y que esto es una fuente de error para la medida de la PIO mediante TAG ¹⁶³. Se ha observado que el EC afecta la exactitud de la TAG ¹⁶⁴ de manera que las córneas finas, ya sea de manera natural o como resultado de cirugía refractiva ¹⁶⁵⁻¹⁶⁷, dan valores de PIO falsamente bajos y las córneas gruesas al contrario, falsamente elevados ^{163, 166, 168, 169}.

Es necesaria una medición tonométrica precisa y fiable debido a la importancia clínica de la PIO, ya que los incrementos de PIO aumentan el riesgo de padecer glaucoma según diversos estudios, por ejemplo el estudio de Baltimore Eye Survey halló un aumento del riesgo de padecer glaucoma de un 50% por cada aumento de 3mmHg ¹⁷⁰ y en el Early Manifest Glaucoma Trial (EMGT) encontró que descensos de 1mmHg de PIO disminuía el riesgo de progresión hasta un 10% ¹⁷¹. Por ello se ha intentado desarrollar diversos algoritmos para corregir la medida de la PIO mediante TAG según la paquimetría, unos parten de estudios clínicos, otros parten de

ecuaciones teóricas para compensar el EC, habiendo sido propuestos muy diversos factores de corrección, por ejemplo Doughty y Zaman propusieron 0.2mmHg por cada 10µm, Kniestedt et al 0.25mmHg por cada 10µm, Ehlers et al 5mmHg por 70µm, Kohlhas 1mmHg por cada 25µm de desviación de 550µm, aunque ninguno ha resultado satisfactorio ^{172, 173}.

2. La córnea como marcador de riesgo per se de glaucoma

Pero además de su importancia sobre la medida de la PIO, en estudios multicéntricos se ha demostrado que el EC es un factor de riesgo “per se” para el desarrollo de glaucoma en pacientes HTO. El primer estudio prospectivo que demostró que una córnea más fina implica más riesgo para el desarrollo de glaucoma fue el OHTS ¹⁶⁰. Este hallazgo ha sido posteriormente corroborado por el European Glaucoma Study (EGS) ¹⁷⁴, y también por otros autores que han hallado que el EC es un factor de riesgo para el desarrollo y la progresión de glaucoma, independientemente de su efecto artefactuador en la TAG ^{173, 175-179}.

Algunos autores han propuesto distintos mecanismos para explicar como la estructura corneal puede tener importancia en la progresión del glaucoma. Se sugiere que el EC puede estar asociado con las estructuras y las propiedades bimecánicas de los tejidos que se encuentran cercanos al nervio óptico. De hecho algunos autores han encontrado una correlación entre el EC y el espesor escleral ¹⁸⁰ (Albekioni Z. Correlation between central corneal thickness and scleral thickness. IOVS 2003;44:E-abstracts 103. Rolle T. Structural glaucomatous damage and ocular biometric parameters. IOVS 2004;45:E-Abstract 3335). Henderson demostró que los HTO con córneas finas tenían una capa de fibras nerviosas (CFN) retinianas más delgada que los HTO con córneas gruesas ¹⁸¹. Jonas et al ¹⁸² encontraron que los miopes magnos tenían una lámina cribosa (LC) más fina que los no miopes y que el espesor de la LC

es menor en el caso de miopes magnos con glaucoma. Como los miopes magnos tiene un mayor riesgo de padecer glaucoma ¹⁸³, existe la hipótesis de que una LC fina pudiera estar asociada al desarrollo de glaucoma.

Como vemos, desde hace tiempo se ha estudiado el nervio óptico como una estructura biomecánica y el papel de la PIO en la fisiopatología del daño del nervio óptico ¹⁸⁴, concretamente la relación de la LC con el glaucoma y se ha postulado que la distensibilidad de la LC tenga un papel en el desarrollo de este. La movilidad de la LC ha sido estudiada ¹⁸⁵ y se ha observado que pacientes con HTO y GPAA con un EC fino sufren un mayor desplazamiento de la LC cuando se provoca una disminución de la PIO que la experimentada por los ojos con córneas más gruesas. Esto sugiere una mayor deformación, y por tanto quizás una mayor vulnerabilidad del nervio óptico a la lesión glaucomatosa en ojos con córneas finas ¹⁸⁶. Otros autores han encontrado un desplazamiento del tejido prelaminar con los aumentos de PIO, que es menor en los pacientes que sufren glaucoma que en los ojos control, y es posible que estos desplazamientos den lugar a una reducción del volumen sanguíneo y del material axoplásmico ¹⁸⁷.

3. Modificación del EC por cambios de la PIO

Pero la córnea no se encuentra aislada y por lo tanto está sometida a la influencia que la PIO ejerce sobre ella, así se ha observado tanto en humanos como en animales que el EC se modifica por cambios en la PIO. Por lo tanto el propio glaucoma, por el aumento de la PIO que ocurre en la mayoría de sujetos afectados por dicha enfermedad, puede dar lugar a modificaciones en el EC.

En 1970 Ehlers ya se interesó por el EC que presentaban sujetos afectos de glaucoma y vieron que los cambios en el EC eran causados por cambios en la PIO. Observó como la disminución con tratamiento médico de la PIO en sujetos afectos de

glaucoma hasta rangos fisiológicos (10-20mmHg) producía un aumento del EC, que no se observaba en el grupo control, por lo tanto concluyeron que dentro del rango fisiológico los aumentos de PIO disminuyen el EC ¹⁸⁸. Posteriormente, Olsen en 1980 encontró también una relación inversa entre la PIO y el EC siempre y cuando el endotelio corneal se mantuviera intacto ¹⁸⁹.

McPhee publicó en 1985 que cuando existe un aumento agudo de PIO, el fluido se mueve a través de las láminas del estroma corneal que soportan la PIO. En su trabajo realizaban una trepanación para alterar láminas del estroma corneal, según su teoría si las que permanecían intactas eran las posteriores, se edematizaba el estroma corneal, y al contrario, si permanecían intactas las láminas anteriores, la córnea se adelgazaría ¹⁹⁰, como se había visto que sucedía en los ojos con queratoplastias y aumentos de PIO en los que la córnea se adelgaza ¹⁹¹. McPhee dedujo que posiblemente la PIO se distribuía a través de todo el estroma corneal, de manera que existiría un mecanismo compensatorio para la regulación del EC, de tal forma que según la córnea se edematiza, el estrés de la PIO se dirige anteriormente en la córnea, con la consecuente tendencia al adelgazamiento, aunque según sus resultados con aumentos de PIO de 50mmHg el EC aumenta debido a que las córneas presentaban una velocidad de edematización mayor a 50mmHg que a 20mmHg.

Estudios más recientes realizados por Henninghausen en 1998 también se han encargado de analizar la variación existente entre las capas anteriores y posteriores del estroma corneal en córneas de conejo. Además, lo realizó tanto en córneas con una hidratación normal como en córneas edematizadas y las mediciones las realizaba con microscopía confocal, siendo por lo tanto un estudio no invasivo. Observaron que el ECC disminuía cuando se provocaban aumentos de la PIO desde 5 a 65mmHg, tanto en el grupo de córneas que presentaban una hidratación normal como en el grupo de

córneas edematizadas, siendo la disminución del EC con los aumentos de PIO estadísticamente significativos para ambos grupos ¹⁹². Dawson y col. en 2007 también encontraron en ojos en los que se había realizado un LASIK (Laser-assited in situ keratomielisis) que cuando aumentaban la PIO a 55mmHg había una disminución en el EC total, aunque no llegaba a cifras significativas. Observaron que había en el grupo de aumento de la PIO una disminución de edematización a nivel del estromal residual y del flap del LASIK frente al grupo control, sugiriendo estos hallazgos que la PIO alta comprime el fluido fuera del estroma corneal, lo que concuerda con las investigaciones previas que acaban de ser comentadas en las que se encontraba una relación inversa entre la PIO y el EC, aunque el edema epitelial puede abolir este efecto. Su trabajo estaba encaminado a estudiar lo que ocurre en el síndrome de acúmulo de fluido en la interfase (SFI), que es una complicación relacionada con el flap que se produce, entre otras causas, por una hipertensión secundaria al uso de corticoides en los pacientes intervenidos mediante LASIK ¹⁹³.

De igual forma una disminución de la PIO se ha relacionado con un aumento del EC, Ehlers lo observó en 1967 en ojos afectados de desprendimiento de retina ¹⁹⁴ y en estudios más recientes se ha observado como en pacientes afectados de glaucoma secundario al uso de esteroides, la disminución de la PIO mediante tratamiento hipotensor tópico conlleva a un ligero aumento del EC ¹⁹⁵.

4. Cambios corneales debidos a tratamiento usados para el glaucoma

Este apartado se desarrolla con más detalle posteriormente, al explicar las distintas opciones del tratamiento en el glaucoma, pero brevemente podemos comentar que se ha observado que algunos de los fármacos empleados en la actualidad para el tratamiento tópico del glaucoma pueden producir cambios a nivel del EC, como es por ejemplo el caso de los inhibidores tópicos de la AC, debido a que su

mecanismo de acción puede afectar a la función del endotelio corneal, produciendo en consecuencia un aumento del EC.

Como podemos ver gracias a lo comentado en los apartados previos los trabajos publicados hasta la fecha se han referido principalmente al EC, aunque estudios más recientes se están centrando también en otras propiedades corneales que pueden afectar a la estimación de la PIO mediante TAG. La importancia del comportamiento biomecánico de la córnea ha sido destacada por evidencias experimentales que muestran que la PIO puede ser paradójicamente infraestimada en ojos que presenten un aumento de EC debido a un aumento de la hidratación corneal^{196, 197}.

Por ello Liu y Roberts⁴⁵ estudiaron cómo variaciones en propiedades biomecánicas corneales, tales como el módulo de elasticidad de Young o módulo de elasticidad, podrían ser tan importantes o más que el ECC a la hora de determinar la PIO mediante TAG. Demostraron que la variación que parece existir en la población en el valor del módulo de elasticidad corneal (de 0.1 a 0.9MPa) podría inducir errores en la medida de la PIO mediante TAG de hasta 17mmHg. También destacaron la curvatura corneal como otra variable que puede afectar la medida de la PIO, bien por la diferencia en el volumen de fluido desplazado tras el aplanamiento de un área, bien por la diferencia en el volumen original del ojo o por ambas. En su trabajo concluyen que el efecto del EC sobre la medida de la PIO depende en gran medida de las propiedades biomecánicas corneales. Posteriormente otros autores, como Hamilton y col.⁴⁹, han confirmado que variaciones fisiológicas en el módulo de Young pueden dar lugar a errores significativos clínicamente en la TAG al estimar la PIO, de magnitud similar a los errores más comentados debidos al EC.

Todos estos descubrimientos sobre la importancia, no sólo del EC, sino también de las propiedades biomecánicas de la córnea, han propiciado el desarrollo de nuevos

tonómetros para intentar obtener, tanto medidas de PIO que sean independientes de los factores corneales y que así nos den una medida de la “PIO real”, como medidas que nos caractericen los factores biomecánicos corneales para intentar ver si tienen importancia en el pronóstico del desarrollo del glaucoma y que serán comentados posteriormente.

4. Cirugía refractiva y glaucoma

Actualmente la cirugía refractiva es uno de los procedimientos quirúrgicos más realizados en la oftalmología y normalmente este tipo de cirugía se practica en gente joven y miope. Como ya ha sido comentado la miopía es un factor de riesgo para el desarrollo de glaucoma¹⁸³ y muchos de los pacientes que se someten hoy en día al LASIK en el futuro desarrollarán glaucoma. Existen evidencias de que la cirugía refractiva corneal da lugar a reducciones en la lectura de la PIO postoperatoria mediante TAG¹⁹⁸, dicha reducción es mayor para el LASIK que para la ablación de superficie⁴. La córnea es más fina tras la ablación, pero también se produce una disrupción de la integridad mecánica de la córnea anterior. El remodelado del tejido corneal puede dar lugar a cambios en las propiedades biomecánicas y afectar a las medidas de la PIO independientemente de los cambios en el EC, y ya se está estudiando si los pacientes operados de LASIK y de LASEK (Laser assisted subepithelial keratomelisis) presentan una disminución de la histéresis corneal que, como hemos comentado, es una medida indirecta de las propiedades biomecánicas de la córnea, siendo la disminución similar en ambos grupos¹⁹⁹⁻²⁰¹.

Pero además de la modificación corneal que se produce en los operados de cirugía refractiva, hay muchos más factores intra y perioperatorios que pueden dar

lugar a aumentos de PIO o a alteraciones en el campo visual (CV) o en el nervio óptico.

Durante el propio procedimiento de LASIK se produce un aumento de la PIO debido a la necesidad de utilizar un anillo de succión para crear el flap corneal, en estudios experimentales en ojos de cerdo se ha observado que la PIO puede ascender desde unos 90mmHg hasta 160mmHg según el método que usemos para crear el flap^{44, 202-204}. Se han descrito algunos casos de pérdidas de CV, neuropatías ópticas²⁰⁵⁻²⁰⁷ e incluso de obstrucciones de arterias retinianas²⁰⁸, que se han relacionado con los aumentos de PIO durante el LASIK, aunque diversos autores no han observado un daño en la CFN o del nervio óptico tras dicho procedimiento²⁰⁹⁻²¹¹, si bien la mayoría de estos estudios se han realizado en población miope sana.

Pero también el tratamiento con corticoides tópicos que se administra tras la realización de la cirugía refractiva puede dar lugar a aumentos de la PIO. Ya Francois en 1954 observó que los corticoides tópicos producían un aumento de la PIO²¹², existiendo pacientes respondedores a corticoides en los que la PIO sube tras varios días o semanas de tratamiento con dichas sustancias y cuando se produce la interrupción de la terapia la PIO vuelve a la normalidad²¹³. Sin embargo pueden ocurrir daños en el nervio óptico y pérdidas de CV si el aumento de PIO no es detectado y tratado.

Además existe un cuadro clínico que es una complicación relacionada con el lentículo corneal, el denominado SFI, descrito inicialmente por Lyle y Jin en 1999²¹⁴ en el que una PIO elevada da lugar a que exista un acúmulo de líquido a nivel de la interfase (en lugar del típico edema microquístico), resultando por ello la TAG falsamente disminuida, por lo que si no se sospecha, se diagnostica correctamente a

tiempo y se instaura el tratamiento adecuado que consiste en eliminar los corticoides e instaurar un tratamiento hipotensor, puede dar lugar a daño glaucomatoso²¹⁵⁻²¹⁸.

Durante un tiempo, debido a las posibles propiedades neuroprotectores de la brimonidina, se estudió la posibilidad de que su aplicación tópica pudiera actuar protegiendo la CFN en los pacientes que eran tratados con LASIK²¹⁹. Además dicho fármaco posee propiedades vasoconstrictoras que pueden disminuir la incidencia y severidad de hemorragias subconjuntivales,²²⁰ por lo que se utilizó perioperatoriamente en la cirugía LASIK. No obstante, algunos autores relacionaron su uso con un aumento de la tasa de desplazamientos del lentículo corneal^{221, 222}.

Una de las posibles complicaciones tardías que pueden aparecer tras el tratamiento con LASIK es la ectasia corneal²²³, que es una protrusión y adelgazamiento de la córnea, y que disminuyen la agudeza visual. Algunos autores han observado como la disminución farmacológica de la PIO puede dar lugar a la regresión de la ectasia postLASIK²²⁴.

También se ha observado como regresiones miópicas tras el LASIK mejoran con tratamiento antiglaucomatoso²²⁵.

Como hemos comentado al principio de esta introducción la relación entre la córnea y el glaucoma lleva siendo estudiada desde hace bastante tiempo y se ha centrado en distintos aspectos:

- En un principio, sobre la década de los 60, se comenzó a prestar interés sobre como está regulada la PE de la córnea, como se mantiene la transparencia corneal y como influye la PIO en ellas, esto ha sido comentado anteriormente en el apartado de control de la hidratación corneal.

- Posteriormente el OHTS resaltó la importancia de la córnea en el glaucoma, al demostrar que las córneas más delgadas eran un factor de riesgo “per se” para el desarrollo de glaucoma en los HTO.
- El adelgazamiento iatrogénico que se produce con la realización de la cirugía refractiva sobre la córnea ha sido y continúa siendo otro importante elemento en el estudio de la córnea y el glaucoma:
 - Sabemos que los ojos que se someten a cirugía refractiva presentan lecturas de PIO más bajas, se creía en un principio que era por la reducción de estroma corneal que se producía, pero actualmente existen evidencias de que el procedimiento con corte al realizar el LASIK desestabiliza la estructura corneal, esto se ve con mayor claridad en el SFI, donde se aprecia como existen en los ojos operados de LASIK dos compartimentos distintos con un diferente comportamiento ¹⁹².
 - Existen también procedimientos de cirugía refractiva de superficie, en los que no es necesario la realización de un tapete corneal. En estos procedimientos se ha observado que existe una agregación de colágeno tras la cirugía, produciendo un endurecimiento de la córnea ²²⁶.
 - Pero la cirugía refractiva no es el único procedimiento que produce un cambio en los parámetros biomecánicos corneales, existen otros tratamientos aplicados a nivel corneal que también los modifican. El tratamiento denominado crosslinking utiliza el efecto que produce la combinación de la aplicación de riboflavina y la luz UVA sobre el colágeno corneal, dicho procedimiento

produce un aumento del módulo de Young, que es el parámetro más fiable para medir las propiedades biomecánicas, y en la actualidad el crosslinking se utiliza para el tratamiento del queratocono, ya que al aumentar la fuerza biomecánica corneal produce un freno en la progresión de dicha patología^{227, 228}.

Como acabamos de comentar tanto la cirugía refractiva como otros procedimientos usados en el tratamiento de diversas patologías producen una serie de cambios a nivel corneal que alteran las mediciones realizadas con TAG. Debido a ello se han desarrollado nuevos tonómetros, que son expuestos a continuación, con el fin de poder determinar la PIO de manera independiente del EC, y también de que sean capaces de determinar las propiedades biomecánicas de la córnea.

- Ocular Response Analyzer (ORA) (Fig 11): intenta caracterizar las propiedades biomecánicas de la córnea “in vivo”, lo hace determinando dos medidas de presión de aplanación sucesivas que consigue gracias a un soplo de aire. La diferencia entre estas dos presiones es la histéresis corneal y refleja la capacidad de la córnea de absorber y disipar energía. También nos ofrece la medida del factor de resistencia corneal (FRC), una PIO correlacionada con Goldmann y una PIO compensada para la córnea²²⁹.

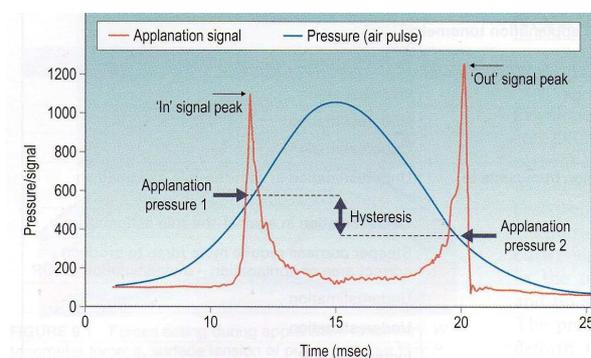


Fig 11: Gráfica de señal/aplanación del tonómetro ORA y de la que se obtienen medidas de la biomecánica corneal como la histéresis que es la diferencia entre la presión de aplanación 1 y la 2.

Existen resultados controvertidos sobre si las medidas de PIO con el ORA sobrestiman la medidas de PIO mediante TAG^{230, 231} o no^{232, 233}. Lo que sí parece que puede existir es cierta relación de la histéresis corneal con el glaucoma, hay estudios que han encontrado valores de histéresis corneal menores en pacientes con glaucoma de ángulo abierto o congénito²³⁴⁻²³⁷. Algunos autores han propuesto que quizás el tratamiento con fármacos hipotensores pueda influir sobre la histéresis corneal²³⁸ y actualmente este tema ha sido poco estudiado y sin claros resultados, habiéndose presentado algún trabajo en el se ha observado que las prostaglandinas pueden aumentar la histéresis corneal (Lanzagorta-Aresti A. The effects of prostaglandin analogs on corneal hysteresis. IOVS 2008;49:E-abstract 2622), mientras que otros trabajos no han encontrado relación entre el tipo de tratamiento utilizado y la histéresis corneal^{234, 239}.

- **Tonómetro de contorno dinámico (TCD)**, también conocido como tonometría de Pascal. Compuesto por un cono con la superficie de contorno que presenta una concavidad la cual se adapta a la convexidad de la zona central de la córnea, posee un diámetro de 7mm. Cono y córnea entran en contacto directo en la zona denominada área de contacto en la cual la córnea adopta la forma de la superficie de contorno. En esta situación la distribución de las fuerzas que se generan entre el cono y la córnea se corresponde con la fuerza interna que la PIO ejerce sobre la córnea (Fig 12).

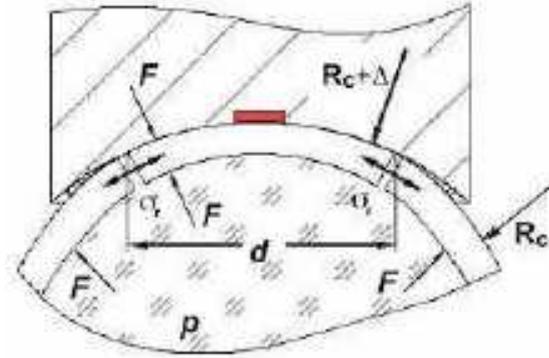


Fig 12: La superficie del TCD se adapta a la forma corneal, cuando esta unión ocurre siguiendo la ley de Pascal las fuerzas tangenciales son neutralizadas. En el tonómetro existe un microchip que mide la PIO.

El TCD se monta en la lámpara de hendidura y en cada toma de PIO nos presenta tres datos: 1) la PIO: nos presenta el promedio, ya que registra la PIO 100 veces por segundo 2) la amplitud de pulso ocular: es el promedio de las diferencias entre las PIO sistólicas y diastólicas y 3) el índice Q: que es el índice de calidad de la toma, siendo 1 una calidad óptima y si es mayor de 3 habría que realizar una nueva medición.

Según la mayoría de estudios publicados el TCD sobrestima la presión medida por TAG, siendo esta sobrestimación entre los 0,7 y los 4,4mmHg²⁴⁰⁻²⁴⁴.

La gran ventaja que parece que tiene el tonómetro Pascal frente a la TAG es su independencia del EC, ya que parece que sus resultados no están influidos por la paquimetría^{241-243, 245}. Gracias a su supuesta independencia del EC, parece que la medidas de PIO obtenidas con el TCD no se afectan por el cambio corneal que se induce con la cirugía refractiva^{201, 240, 246, 247}.

- **Tonometría de rebote o tonometría dinámica de impacto.** Utiliza una sonda que se desplaza hacia el ojo, lo que se determina es la

desaceleración de la pequeña sonda magnetizada al impactar con el ojo y transforma dicha desaceleración en unidades de presión. No requiere el uso de anestésico tópico.^{218, 248}

- **Tonopen:** Es un tonómetro de aplanación tipo Mackay-Marg, en dicha tonometría sólo una pequeña porción del tonómetro toca la córnea, la captación de la medida es rápida y es electrónica por lo que influye poco el examinador. Este tonómetro utiliza un transductor de 1,02mm rodeado de un anillo de 3,22 mm y un sistema electrónico con 10 mediciones (Fig 13).



Fig 13: Imagen de tonómetro Tonopen

- **Pneumotonómetro de contacto:** Es otro tonómetro que se basa en la tonometría de Mackay.
- **Tonómetros de aire:** Los tonómetros de aire sin contacto son un sistema de tonometría de aplanación que no utiliza contacto, sino que evalúa la presión del aire necesaria para aplanar la córnea. Pueden servir para screening y pueden ser manejados por personal no especializado.
- **Tonómetro de fosfeno:** Mide la PIO en la porción superonasal del párpado superior buscando el fenómeno del fosfeno, según el principio de que este se produce en caso de presión sobre el globo. Según el autor del tonómetro en el momento de la visión del fosfeno, la presión del tonómetro es igual a la PIO.

5. Tratamiento médico hipotensor ocular

El objetivo del tratamiento del glaucoma es mantener la calidad de vida del paciente con un coste aceptable, estando la calidad de vida estrechamente relacionada con la función visual ²⁴⁹. Para conseguir dicho objetivo la medicación ocular juega un papel importante en el tratamiento del glaucoma, siendo normalmente la primera línea de tratamiento y en muchos pacientes puede controlar la enfermedad.

Actualmente se ha demostrado que el factor de riesgo más importante en el glaucoma es la PIO y existe evidencia tanto por estudios retrospectivos ²⁵⁰ como prospectivos ²⁵¹⁻²⁵⁴ sobre los beneficios de disminuir la PIO para enlentecer o frenar la progresión de pérdida de función visual. Por lo tanto, en el momento actual, la única opción efectiva para preservar la función visual es hacer descender la PIO ^{170, 255}.

La disminución de la PIO a conseguir con el tratamiento debe estar por debajo de un determinado nivel al que ya no se produzca más daño del nervio óptico y se preserve la función visual. Esta presión es la denominada presión diana, que se define como la PIO media, obtenida con tratamiento, que evita un aumento del daño glaucomatoso ²⁴⁹.

No hay un único nivel de PIO que se pueda considerar la diana ideal para todos los pacientes. La presión diana seleccionada dependerá de diferentes factores, entre los que se encuentran la PIO basal, el estadio del glaucoma, el riesgo de lesión, el ritmo de progresión del daño glaucomatoso, la edad del paciente, la expectativa de vida y los factores de riesgo asociados ^{249, 256-258} (Fig. 14). Además esta presión diana necesita ser constantemente reevaluada y debe ser modificada según existan cambios en el nervio óptico y/o progresión en el CV.

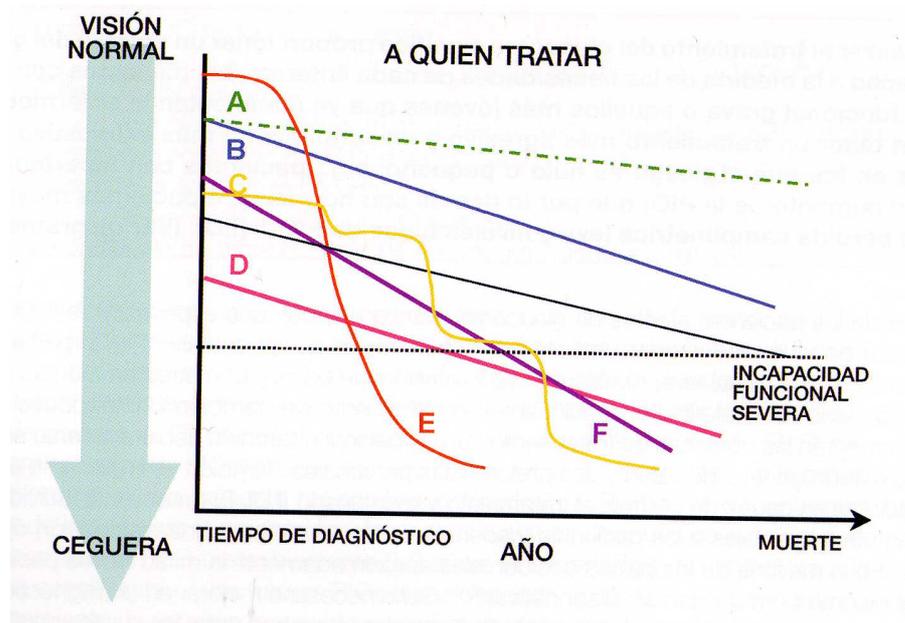


Fig 14: Gráfica de "a quién tratar". Para conservar su calidad de vida los pacientes deben permanecer por encima del umbral de deterioro funcional significativo (Terminología y pautas para el glaucoma. 3ª edición. European glaucoma society)

Actualmente para el tratamiento tópico del glaucoma existen 5 familias distintas de fármacos:

- Antagonistas de los receptores β -adrenérgicos o β bloqueantes.
- Análogos de las prostaglandinas.
- Agonistas de los receptores adrenérgicos (no selectivos y agonistas α 2-selectivos).
- Inhibidores de la anhidrasa carbónica (IAC).
- Parasimpaticomiméticos (mióticos), que incluyen los colinérgicos y los anticolinesterasa.

Los medicamentos para el glaucoma pueden disminuir la PIO de dos formas: disminuyendo la producción de humor acuoso o aumentando el flujo de salida del mismo, ya sea a través de la vía convencional o la vía uveoescleral.

En general es útil considerar si el fármaco disminuye la PIO disminuyendo la producción del humor acuoso (ej. β -bloqueantes, α 2agonistas e IAC) o aumentando su salida (ej. prostaglandinas y mióticos).

5.1. β -Bloqueantes

La primera vez que se observó que los β -bloqueantes disminuían la PIO en humanos fue en 1967 cuando Phillips et al ²⁵⁹ describieron el efecto hipotensivo del propanolol intravenoso. Su introducción en el tratamiento del glaucoma supuso una verdadera revolución a finales de los años 70. El maleato de timolol fue aprobado para el tratamiento del GPAA por la Food and Drug Administration (FDA) en 1978 y actualmente continúa siendo el fármaco más usado de este grupo.

Los antagonistas β -adrenérgicos tópicos o β -bloqueantes disminuyen la PIO al disminuir la formación de humor acuoso ^{260, 261}. Parece que el mecanismo que utilizan es inhibir la producción en el epitelio ciliar de AMPc (adenosín monofosfato cíclico) ^{262, 263}, lo que da lugar a una disminución de la producción de humor acuoso de un 20 a un 50% ^{258, 264} (2.5 μ L/min a 1.9 μ L/min), con una disminución de la PIO del 20 al 30% ^{265, 266}.

El efecto hipotensor de los β -bloqueantes parece estar mediado en gran parte por el receptor β 2 ²⁶⁴ y se ha visto que son menos efectivos durante el sueño,

probablemente porque la producción del humor acuoso cae durante este al disminuir el tono adrenérgico ²⁶⁷.

Existen 5 agentes tópicos comercializados actualmente: timolol, levobunolol, metipranolol, carteolol y betaxolol. Excepto el betaxolol (que es antagonista β_1 selectivo) todos ellos son antagonistas no selectivos de los receptores β_1 y β_2 . La actividad mediada por los receptores β_1 es principalmente cardiaca, mientras que la mediada por los receptores β_2 es principalmente pulmonar, de manera que la utilización de betaxolol es más segura que la del resto de β -bloqueantes en pacientes con alteraciones pulmonares.

Los β -bloqueantes pueden producir efectos adversos tanto a nivel sistémico como ocular. Entre los efectos adversos sistémicos más destacados se incluyen el broncoespasmo ^{268, 269}, la bradicardia, un aumento de bloqueos cardiacos, la disminución de la presión sanguínea ^{270, 271}, el enmascaramiento de signos y síntomas de hipoglucemias en pacientes diabéticos, se ha observado que también pueden producir letargia, cambios de humor, depresión, síncope ^{272, 273}, impotencia, disminución de la libido ²⁷⁴, entre otros muchos efectos ²⁷⁵.

En cuanto a nivel ocular estos fármacos son bastante bien tolerados aunque se han descritos alteraciones visuales, irritación ocular e hiperemia ²⁷⁶, y más concretamente sobre la córnea se ha visto que producen anestesia corneal ²⁷⁷ y queratitis punctata.

En lo referente a su uso combinado con otros fármacos se ha observado que presentan un efecto aditivo al ser usados con mióticos, agonistas adrenérgicos, IAC tanto tópicos como sistémicos y con lo análogos de las prostaglandinas ^{278, 279}. Actualmente existen en el mercado combinaciones fijas de β -bloqueantes (maleato de timolol), con IAC, prostaglandinas y agonistas α_2 adrenérgicos.

5.2. Agonistas adrenérgicos

El agonista adrenérgico no selectivo epinefrina se ha usado para el tratamiento crónico del glaucoma durante casi un siglo. El descubrimiento de los distintos tipos de receptores adrenérgicos α y β hizo que se desarrollaran agentes hipotensores oculares más potentes, principalmente los antagonistas β -adrenérgicos que acabamos de ver y los agonistas α -adrenérgicos que incluyen la clonidina y sus dos derivados: apraclonidina y brimonidina, por lo que actualmente apenas se usan los no selectivos.

Los agonistas α_2 al estimular los receptores α inhiben la adenil-ciclase y reducen el AMPc intracelular, esto conlleva a una disminución de la producción de humor acuoso por parte del epitelio ciliar^{258, 280}.

La clonidina fue el primer agonista α_2 selectivo que se utilizó, disponible desde 1969, pero presentaba un estrecho rango terapéutico, con propensión a causar sedación e hipotensión sistémica al atravesar la barrera hematoencefálica²⁸¹ por lo que dejó de emplearse.

La apraclonidina y la brimodinina son los α -agonistas más utilizados para el tratamiento del glaucoma. Se dispone de ellas desde 1988 y 1991 respectivamente. Su actividad sobre los receptores α_2 produce en primer lugar la disminución de la PIO y hoy en día continúa en estudio la existencia de un posible efecto neuroprotector. La brimonidina es más selectiva para el receptor α_2 que la apraclonidina en modelos animales²⁸², aunque en humanos la selectividad ha resultado similar²⁸³.

La apraclonidina es un potente hipotensor que no se usa en el tratamiento crónico del glaucoma por presentar dos limitaciones fundamentales: una alta incidencia de reacciones alérgicas locales con el uso prolongado²⁸⁴ y su pérdida de eficacia con el tiempo (taquifilaxia)²⁸⁵. Actualmente mantiene un papel importante en

el tratamiento de los picos tensionales que suceden tras la mayoría de tratamientos con láser del segmento anterior ²⁸⁶.

La brimonidina además de disminuir la producción de humor acuoso parece aumentar la salida de este por la vía uveoescleral ²⁸⁷, y esto ha sido observado tanto en humanos como en conejos. Una posible causa es el aumento local de la producción y liberación de prostaglandinas endógenas por parte de la brimonidina ²⁸⁸. Se sabe que las prostaglandinas tópicas aumentan la vía de salida uveoescleral ²⁵⁸ y también existen importantes evidencias de que los agonistas α -adrenérgicos pueden aumentar la liberación de prostaglandinas ²⁶⁴. Además se ha observado que los inhibidores de la ciclooxigenasa disminuyen el efecto hipotensor de los fármacos adrenérgicos ²⁸⁹.

El pico de disminución de la PIO ocurre a las 2 horas de su administración y se encuentra en torno a un 26% ²⁹⁰, aunque la disminución posterior (a las 12 horas de la instilación) es sólo de un 14-15% ²⁵⁶.

La brimonidina produce menos taquifilaxia y menos alergias que la apraclonidina y presenta en el tratamiento de picos tensionales tras trabeculoplastia una eficacia similar a esta ²⁹¹. A nivel sistémico es un fármaco sin prácticamente efectos adversos importantes, mientras que su principal inconveniente es la aparición de reacciones alérgicas locales, conjuntivitis foliculares y la sequedad de las mucosas ²⁹². No se debe usar en niños porque debido a la inmadurez de su barrera hematoencefálica presentan un mayor riesgo de somnolencia, hipotensión, convulsiones y apnea por la penetración en el sistema nervioso central ²⁹³. También se deben usar con precaución en pacientes que estén recibiendo tratamiento con depresores del sistema nervioso central, como los inhibidores de la monoamino oxidasa y los antidepresivos tricíclicos.

En cuanto a sus efectos a nivel corneal, como ha sido comentado previamente en esta introducción, se ha relacionado por parte de algunos autores la administración tópica de brimonidina con un aumento en la tasa de desplazamientos del lentículo corneal en pacientes que se someten a una intervención de LASIK^{221, 222}.

5.3. Prostaglandinas

Los análogos de las prostaglandinas fueron autorizados para el tratamiento del glaucoma en EE.UU. en 1996 y rápidamente se han convertido en los fármacos hipotensores más utilizados. Como grupo farmacológico son los agentes tópicos más efectivos para la disminución de la PIO²⁹⁴⁻²⁹⁶.

Las prostaglandinas fueron estudiadas por primera vez en las enfermedades oculares en 1955 como mediadores de la inflamación. Ambane aisló en los iris de conejo una sustancia que denominó irina y que era capaz de provocar miosis en ojos de gato²⁹⁷. Posteriormente se descubrió que la irina era una mezcla de prostaglandinas, péptidos y mediadores lipídicos²⁹⁸. Aunque en algunos de los primeros estudios se observó como dosis altas de prostaglandinas aumentaban la PIO y rompían la barrera hemato-acuosa cuando eran inyectadas en la cámara anterior de conejos^{299, 300}, Camras en 1977³⁰¹ administró prostaglandinas tópicas en estos animales y observó una disminución de la PIO.

Actualmente existen cinco derivados de las prostaglandinas para su uso clínico: el latanoprost (Xalatan® 0.005%, de Pfizer), el travoprost (Travatan® 0.004%, de Alcon cusí), el bimatoprost (Lumigan® 0.03% y 0.01% de Allergan), el tafluprost

(Saflutan®, de Merck Sharp&Dohme) y el unoprostone (Rescula® 0.15%, de Novartis) (éste último no comercializado en España).

Todos ellos tienen estructuras moleculares similares, siendo el latanoprost, travoprost, unoprostone y el tafluprost derivados de la prostaglandina F_{2α} y prodrugas isopropilester, que necesitan ser hidrolizadas para dar lugar al metabolito activo ²⁶⁴, sin embargo el bimatoprost se ha definido como una prostamida ^{302, 303} y existen algunas evidencias experimentales que sugieren que las prostamidas pueden actuar como ligandos endógenos de sus propios receptores: receptores de prostamidas ^{302, 304, 305}. Aunque se ha investigado la actividad de las prostamidas como ligandos endógenos del receptor de las prostaglandinas, parece que no ejercen ninguna actividad principal ^{302, 305-307}, sin embargo, no se ha demostrado la existencia de actividad prostamida en ausencia de actividad del receptor FP. En ratones sin receptores FP la prostamida no disminuye la PIO ^{308, 309}. Existen estudios recientes en los que se sugiere que el bimatoprost no parece ejercer efectos sobre los receptores FP pero sí interactuaría con el receptor heterodímico FP-altFP que podría representar la base de la farmacología del bimatoprost ³¹⁰. Por otra parte algunos estudios han mostrado que el ácido bimatoprost sufre un mecanismo de hidrólisis similar al del latanoprost, dando lugar a un metabolito ácido libre prácticamente idéntico al resultante de la hidrólisis del latanoprost, siendo un potente agonista del receptor FP, y parece ser la forma activa de este fármaco ^{308, 309, 311}, por lo que podría ser que el mecanismo de acción de las prostamidas si no es actuando como agonista FP, se le asemeje.

El mecanismo de acción de los derivados prostanoides, a pesar de toda la investigación que se ha realizado, todavía es algo controvertido. Esta claro que ejercen su acción hipotensora facilitando la salida del humor acuoso, sin actuar sobre la

producción del mismo ³¹²⁻³¹⁷ y, aunque el mecanismo exacto se desconoce, durante mucho tiempo se ha defendido que facilitaban la salida a través de la vía uveoescleral ^{318, 319}. En estudios realizados en monos se ha observado que el latanoprost y travoprost aumentan la salida de humor acuoso a través de la vía uveoescleral, pero no a través de la trabecular ^{320, 321}. En humanos tanto el latanoprost como el bimatoprost aumentan el flujo uveoescleral, pero los estudios difieren sobre su efecto sobre el sistema convencional de salida presión dependiente ³¹³⁻³¹⁷, habiéndose demostrado que las prostaglandinas aumentan también la salida de humor acuoso a través de la malla trabecular, es decir, por la vía convencional ³²² y se cree que la medida en que participa cada vía depende de la técnica usada para su medición ³²³.

Como acaba de ser comentado parece que no sólo influye la vía uveoescleral en el mecanismo de acción de las prostaglandinas, sino que también actúa la vía convencional. El mecanismo por el que las prostaglandinas aumentan la salida del humor acuoso por estas vías tampoco está del todo claro, pero se acepta que comienza con la activación de los receptores de prostaglandinas (tipo FP). Estos receptores activan la adenilato ciclasa y la fosfolipasa a través de proteínas G, gracias a ello se generan segundos mensajeros como el trifosfato de inositol y el AMPc, conduciendo esto a la inducción de factores de transcripción nuclear Fos-c y Jun-c, lo que da lugar a un aumento en la biosíntesis de MMPs que se secretan como proenzimas y que en su forma activa producen un remodelamiento de la matriz extracelular ³²⁴.

Las MMPs son una familia de 23 enzimas (en el ser humano) que tienen un papel principal en la regulación de la matriz extracelular, aunque hoy en día se sabe que tienen muchas más funciones (angiogénesis, fenómenos de apoptosis, etc.) ³²⁵. Son endopeptidasas dependientes de zinc, que se secretan como proenzimas y que son

activadas en el ambiente extracelular, además son inhibidas por los inhibidores tisulares endógenos de las metaloproteinas (TIMPs).

De manera tradicional se han dividido en cuatro subtipos según la especificidad al sustrato, su estructura primaria y la localización celular: 1) las colagenasas, que degradan colágeno, principalmente de tipo I, II y III; 2) gelatinasas, también conocida como colagenasa tipo IV, que degradan el colágeno desnaturalizado (gelatinas) y componentes de la membrana basal, 3) estromelisininas que tienen una especificidad al sustrato más amplia, son capaces de degradar componentes de la matriz extracelular como fibronectina, proteoglicanos, laminina y colágeno tipo IV de la membrana basal 4) MMPs tipo membrana que se encuentran implicadas en una variedad de actividades pericelulares ^{326, 327}.

La regulación de las MMPs ocurre primariamente a nivel de la transcripción genética ³²⁸. Como norma las MMPs no se sintetizan a no ser que sean necesarias. Una amplia variedad de citoquinas y factores de crecimiento pueden inducir o inhibir la expresión de MMPs, incluyendo el factor de necrosis tumoral α , la interleuquina 1, factor de crecimiento β , hormonas, oncogenes, etc. La regulación también puede ocurrir a nivel postranscripcional, controlando la activación de la proenzima e inhibiendo la actividad de la enzima mediante TIMPs.

Actualmente la familia de las TIMPs consiste en cuatro isoformas, TIMP 1, 2, 3 y 4. Tienen un importante papel a la hora de mantener el equilibrio entre el depósito de matriz extracelular y su degradación, uniéndose a las MMPs y regulando sus acciones. Para ello tienen dos sitios de unión, uno responsable de la inhibición de las MMPs y otro de unión a las prometaloproteinasas. Cada TIMP es capaz de inhibir a varias MMPs ^{329, 330}.

Las MMPs participan de manera fisiológica y patológica en el recambio de la matriz extracelular de todo el organismo. Por ejemplo, a nivel ocular, un aumento de la actividad de las MMPs se ha relacionado con el queratocono³³¹ y con úlceras tróficas³³².

En el globo ocular se ha demostrado la existencia de un aumento de la actividad MMP en respuesta a la administración tópica de análogos de prostaglandinas en diversas estructuras:

- **Músculo ciliar:**^{318, 333-336}. Se ha observado, según distintos estudios, que en el músculo ciliar tratado con latanoprost hay un aumento de la secreción de MMP-1, MMP-2, MMP-3 y MMP-9. Cada MMP actúa sobre ciertos componentes, de manera que la MMP-1 actúa sobre el colágeno I y III. La MMP-3 actúa sobre colágeno tipo III, IV, V, IX y XI y sobre la fibronectina y laminina. La MMP-9 sobre colágeno IV y V y la MMP-2 sobre colágeno IV, V, VII y X³³⁴. Los colágenos tipo I y III son los componentes principales del colágeno fibrilar de la matriz extracelular de los espacios intersticiales entre las fibras musculares, por lo que al disminuir estos colágenos aumenta el tamaño de los espacios intersticiales. El colágeno IV y la laminina se reorganizan y son componentes de la membrana basal sobre la que está el músculo ciliar. La reducción de la matriz extracelular da lugar a un aumento de los espacios interfibrilares que pueden disminuir la resistencia hidráulica en el músculo y aumentar la salida de humor acuoso por la vía uveoescleral^{318, 324}.

Algunos autores han encontrado también MMP-17, aunque poco se conoce de ella³³⁷.

También se ha observado, junto con el aumento de las MMPs, un aumento de los niveles de TIMP-1³³⁸.

- **Melanocitos ciliares:** ³³⁹. Se produce también degradación de la matriz extracelular y se produciría por ello una disminución de la resistencia hidráulica al flujo uveoescleral.
- **Malla trabecular:** Se han detectado receptores FP a nivel de la malla trabecular ^{340, 341} Algunos autores han encontrado un aumento de transcripción de los genes MMP-1, MMP-3, MMP-17 y MMP-24, TIMP-2, TIMP-3 y TIMP-4 tras el tratamiento con latanoprost, y, aunque haya un aumento de MMPs que degradan la matriz extracelular, la falta de grandes cambios ultraestructurales puede deberse a la elevación concomitante de TIMPs ³⁴², esto es distinto a lo que ocurre en el músculo ciliar, donde el balance es positivo para las MMPs y por lo tanto predominan los cambios colagenolíticos en la matriz extracelular. Se ha postulado también que la activación de los receptores pueda producir un cambio en el tamaño y la forma de las células, similar a una contracción, que pudiera afectar a la resistencia de la salida del humor acuoso ³⁴⁰.
- **Esclera:** ^{336, 343}: Se ha observado que en escleras tratadas con prostaglandinas hay un aumento de la inmunoreactividad para las MMP-1, MMP-2 y MMP-3 y, consecuentemente con este hallazgo, se ha comprobado una reducción cuantitativa en los tipos de colágeno I, III, V y fibronectina. De esta manera se produciría un aumento de la permeabilidad transescleral a moléculas ^{344, 345} y también un aumento de la conductividad hidráulica ³²² de esta estructura.
- **Iris:** ³³⁶: También se ha observado un aumento de MMP-1,2,3 y 9 a este nivel.
- **Córnea:** Como ya ha sido comentado previamente en el apartado de córnea y glaucoma, diversos autores han observado una disminución del EC tras el tratamiento con prostaglandinas y uno de los posibles mecanismos que explicarían

este hecho es un aumento de las MMPs inducido por dicho fármaco^{346, 347}, aunque Bafa y cols. encontraron tras un tratamiento prolongado con prostaglandinas un aumento del EC. Una posible explicación de este hallazgo según los autores sería el cambio en la forma de las células, más redondeada, que se produce tras la instilación del fármaco³⁴⁸. En este mismo sentido han presentado en la reunión de la American Academy of Ophthalmology un aumento del ECC en ojos tratados con una prostaglandina agonista del receptor EP (Schachar RA y col. 2010. AAO meeting, Chicago, IL, USA). Se ha demostrado la existencia de receptores de las prostaglandinas a nivel de la córnea³⁴⁹, así como de MMPs, en concreto la MMP-1, MMP-2 y MMP-8³⁵⁰, aunque también se ha observado que el tratamiento con prostaglandinas induce la contracción de los fibroblastos corneales y esto podría también influir en el EC³⁵¹. Recientemente se ha publicado un trabajo en el que los autores encuentran una mayor concentración de queratocitos en las córneas de pacientes tratados con prostaglandinas. Este aumento se debería, según los autores, a una disminución de la matriz extracelular por la activación de MMPs, y consideran la densidad de los queratocitos como una medida indirecta de la densidad de la matriz extracelular en el estroma corneal³⁵². También se ha relacionado el tratamiento hipotensor con prostaglandinas con la progresión de queratocono^{353, 354}, lo que sugiere la posibilidad de que el tratamiento tópico con análogos de prostaglandinas puede ocasionar un empeoramiento de las enfermedades corneales relacionadas con un aumento de la actividad colagenolítica.

Otra de las grandes ventajas de este grupo de fármacos, además de su ya comentada potencia hipotensora, es su perfil de seguridad sistémico, encontrándose escasos efectos sistémicos secundarios en los estudios multicéntricos iniciales y en los ensayos clínicos³⁵⁵⁻³⁵⁷. Probablemente se debe a la extremadamente baja

concentración de fármaco requerida para disminuir la PIO y a su corta vida media en plasma (se han realizado estudios en los que la vida media del latanoprost en el plasma es de 17 minutos ²⁵⁸), lo que ha hecho que sean actualmente fármacos de primera elección. El efecto adverso sistémico más común observado en los ensayos clínicos era una infección a nivel de tracto respiratorio superior, en torno a un 4% según el prospecto del Xalatan®. Parece que tienen poco efecto a nivel del sistema cardiaco o pulmonar y, aunque se ha observado que producen un empeoramiento de la función espirométrica de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica y asmáticos, no producen un empeoramiento clínico ³⁵⁸⁻³⁶⁰.

Lo que sí presentan estos fármacos son efectos a nivel local como hiperemia, irritación y escozor y también poseen otros efectos locales que son específicos de este grupo de fármacos, como los cambios en la pigmentación iridiana, cuya frecuencia es muy variable según los distintos estudios (desde un 10% hasta un 70%) ^{356, 361, 362}, habiéndose observado una mayor frecuencia en los iris de coloraciones mixtas ^{356, 362, 363} y también en pacientes de mayor edad ³⁶⁴.

Histológicamente se ha observado que los cambios se deben a una estimulación de la síntesis de melanina en los melanocitos del iris y no a un aumento en el número de melanocitos ^{363, 365-369}. También se ha descrito un aumento de la pigmentación cutánea periocular ^{370, 371} y un aumento de la longitud, número, color y grosor de las pestañas ^{372, 373}. Al contrario que la pigmentación iridiana, los cambios en la piel periocular y en las pestañas son reversibles tras el cese de la terapia y parecen ser más frecuentes con el uso de travoprost y bimatoprost que con el latanoprost ^{374, 375}.

Otro efecto a nivel ocular que se ha observado es la aparición de edema macular cistoide asociado al uso de estos fármacos, normalmente en pacientes que presentaban factores de riesgo para su aparición como cirugía de cataratas complicadas con ruptura

de la cápsula posterior³⁷⁶⁻³⁸¹. También se han descritos casos de uveitis anteriores en pacientes en tratamiento con prostaglandinas³⁸¹⁻³⁸⁴ y se han reportado algunos casos de pacientes con reactivación de queratitis herpéticas con el uso de las prostaglandinas^{385, 386} y de quistes del epitelio pigmentario del iris³⁸⁷⁻³⁹⁰.

5.4. Inhibidores de la anhidrasa carbónica

Aunque nos referiremos a las formas tópicas, los IAC son el único tipo de droga que se usa también a través de una vía de administración sistémica en el tratamiento del glaucoma. Todos ellos son derivados estructurales de las sulfamidas y tanto las formas sistémicas como las tópicas comparten el mismo mecanismo de acción disminuyendo la producción de humor acuoso al inhibir la enzima AC del cuerpo ciliar.

Su principal diferencia es la severidad de los efectos colaterales que presentan las formas sistémicas tales como parestesias, alteraciones de los niveles de electrolitos, acidosis metabólica, anorexia, fatiga, disminución de la libido, disminución del potasio, síntomas gastrointestinales, cálculos renales, trombocitopenia, anemia aplásica idiosincrática...²⁵⁸. Las reacciones oculares con la administración sistémica de IAC son raras, se ha descrito una miopía transitoria³⁹¹ y desprendimientos coroideos en pacientes que habían sido tratados mediante cirugía filtrante y a los que se les administraba acetazolamida³⁹².

Los IAC se han utilizado en el tratamiento del glaucoma desde 1954, cuando Becker demostró por primera vez la eficacia clínica de la acetazolamida vía oral³⁹³,

desarrollándose posteriormente las formas tópicas, en 1995 la dorzolamida y en 1998 la brinzolamida ²⁵⁸.

El mecanismo de acción de estos fármacos es la disminución del flujo del humor acuoso a través de la inhibición de la enzima AC-II que se encuentra en el epitelio ciliar. Dicha enzima cataliza la reacción reversible en la cual el dióxido de carbono (CO_2) es hidratado (H_2O) para formar ácido carbónico (H_2CO_3) en el epitelio ciliar así como en otros tejidos del organismo. El H_2CO_3 se disocia en bicarbonato (HCO_3^{2+}) e ión hidrógeno (H^+). En el ojo, el HCO_3^- pasa a la cámara posterior junto a iones de sodio (Na^+). Este movimiento de HCO_3^- y Na^+ arrastra grandes cantidades de fluido con ellos, produciéndose así el humor acuoso. Aunque esta reacción es reversible en ausencia de un catalizador, la presencia de la enzima AC da lugar a un aumento de la reacción de unas 100 veces ³⁹⁴ (Fig. 15).

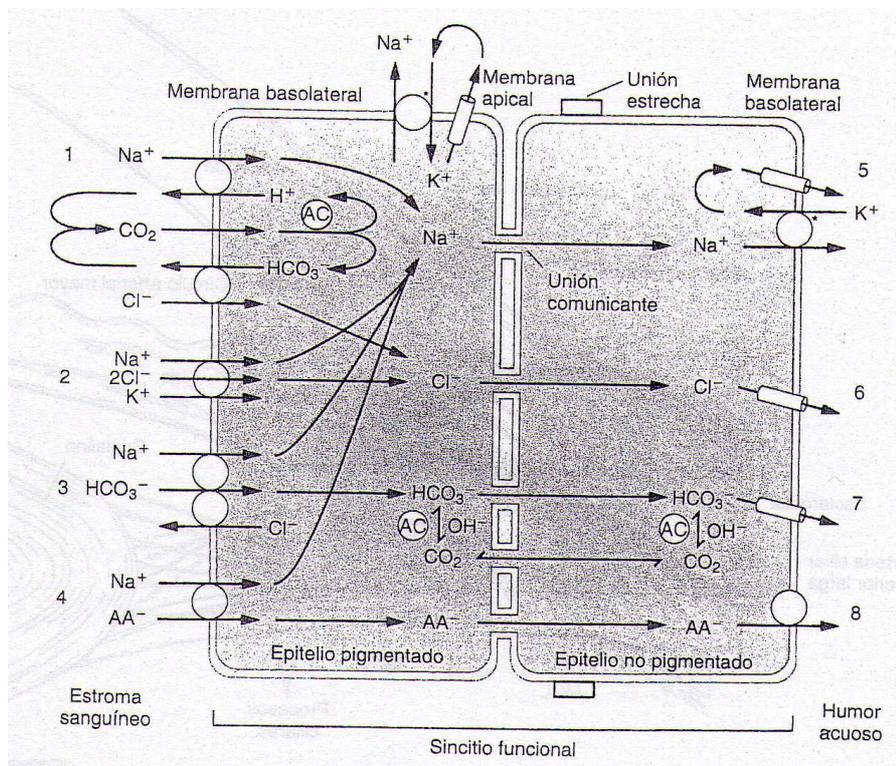


Fig 15. Esquema de las posibles vías secretoras en los procesos ciliares. AA, ácido ascórbico; AC, anhidras carbónica. (De Adler fisiología del ojo. Aplicación clínica. 10ª edición).

Los IAC producen, mediante la inhibición de la enzima AC-II, una disminución del acúmulo de bicarbonato en la cámara posterior, junto a una disminución de la entrada de sodio y de fluido, que da lugar al descenso de la PIO. Para producir una disminución de la producción del humor acuoso es necesario inhibir la enzima más de un 99%^{395, 396}. También puede existir una disminución de PIO adicional por la acidosis metabólica que se produce^{397, 398}.

Se han descrito en los mamíferos hasta dieciséis isoenzimas de la AC¹¹⁵, muchas de las cuales (AC I, II, IV, V, VII Y XIV) han sido aisladas en el ojo³⁹⁹⁻⁴⁰¹.

La AC-II, que es una enzima intracelular, es la isoenzima más ampliamente distribuida en el ojo y se cree que es la principal responsable en el control de la producción de humor acuoso⁴⁰⁰. Dicha isoenzima es especialmente abundante en las células del epitelio pigmentado y no pigmentado de los procesos ciliares, en las células de Müller de la retina, en subtipos de conos y en el endotelio corneal.^{399, 400}

En humanos la dorzolamida al 2% produce un pico de descenso de la PIO del 17% al 29%¹¹⁵ y se ha visto que también es efectivo su uso como terapia combinada.

Las reacciones adversas sistémicas con las formas tópicas, al contrario de lo que ocurre con las formas sistémicas, son muy escasas, y las reacciones adversas locales son también poco frecuentes, aproximadamente un 6% dejan el tratamiento por reacciones a nivel conjuntival y palpebral. Los efectos que aparecen con mayor frecuencia son un sabor metálico, seguido de quejas gastrointestinales⁴⁰².

Debido a la inhibición de las enzimas ACI y ACII es posible que los IAC actúen sobre la córnea, ya que dichas enzimas se encuentran en el endotelio corneal y se encargan de mantener la transparencia corneal^{98, 400, 403}. Aunque poco frecuente, uno de los efectos adversos locales más importantes que se ha observado en algunos pacientes en relación con el uso de la dorzolamida es la descompensación corneal⁴⁰⁴⁻

⁴⁰⁷ y por ello el efecto de los IAC sobre la córnea ha sido objeto de estudio. Así en el trabajo que realizaron Wilkerson y col. en 48 pacientes diagnosticados de GPAA o HTO sin patología corneal los autores observaron que se producía un leve aumento estadísticamente significativo del EC en los ojos tratados durante 4 semanas con dorzolamida en comparación con el grupo placebo (0.009mm frente a 0.001mm, respectivamente), aunque esta diferencia no tiene relevancia clínica ⁴⁰⁸. En otro estudio realizado por Inoue y col. ⁴⁰⁹ en pacientes con glaucoma tratados con dorzolamida al 1% también encontraron un aumento de EC (de 530µm antes del tratamiento a 537µm después) estadísticamente significativo tras tres meses de tratamiento, en su trabajo estudiaron 29 ojos de pacientes con glaucoma, mientras que Kaminski y col. observaron un leve aumento, aunque sin ser estadísticamente significativo, en el EC en el primer día tras tratamiento, pero no posteriormente, en los 20 pacientes con GPAA o HTO en los que realizaron el estudio ⁴¹⁰. Como podemos deducir de estos trabajos es necesario tener un número importante de pacientes para poder detectar diferencias tan pequeñas en el EC. Sin embargo en pacientes con alteraciones corneales previas predisponentes al edema corneal parece que el tratamiento tópico con IAC puede inducir cambios corneales mayores que en las córneas sanas, así en el estudio realizado por Wirtitsch y col. en 20 pacientes con cornea guttata se observó un aumento del EC de 26.3µm en dichos pacientes tras el tratamiento con dorzolamida, frente al aumento de 3.3µm en los ojos de 8 pacientes con córneas sanas ⁴¹¹. De todas formas este es un tema controvertido y existen autores que no han encontrado diferencias en el aumento del EC ni en las tasas de desedematización entre 19 sujetos sanos tratados con dorzolamida y con placebo ⁴¹². Como acabamos de ver, sólo en grandes series se aprecia un cambio de EC tras el tratamiento con IAC, pues este parece ser de muy escasa cuantía (de 7-8µm) en

córneas sanas y casi dentro del rango de error de la medida. De lo anteriormente expuesto podemos concluir que la paquimetría es una medida indirecta de la función endotelial, que parece ser poco sensible a la misma debido a que sólo detecta cambios de cuantía importante cuando aparece un edema corneal franco, mientras que en córneas sin patología que no presentan edema corneal los cambios de EC tras el tratamiento con IAC son de muy escasa cuantía. De tal forma que la paquimetría pudiera considerarse como un débil indicador de la función endotelial y un magnífico indicador del edema corneal.

La brinzolamida es el otro IAC tópico usado clínicamente, y existen estudios que han demostrado una eficacia similar a la dorzolamida ⁴¹³⁻⁴¹⁵. La diferencia más notable con la dorzolamida es que al tener un pH menos ácido que la dorzolamida es mejor tolerada ^{414, 416}.

JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO

Como hemos podido comprobar a lo largo de la introducción la córnea y una de sus características fundamentales, la transparencia, han sido objeto de estudio desde hace bastante tiempo, habiéndose establecido la importancia del endotelio corneal en el mantenimiento de dicha transparencia corneal gracias en gran medida a la función de bomba que este posee.

Además la córnea ha adquirido desde hace algunos años un papel importante dentro del glaucoma, enfermedad con una alta prevalencia, y esto es debido a distintos motivos:

- Por los cambios que puede producir en la medida de la PIO mediante tonometría, ya sean estos debidos a las propias características de la córnea o bien a cambios secundarios a la cirugía refractiva.
- Por el papel como factor de riesgo por sí mismo que representa la córnea en el glaucoma.
- Por las modificaciones que distintos fármacos antiglaucomatosos pueden producir sobre la córnea.

Dentro de los fármacos utilizados en el tratamiento del glaucoma los últimos que se han desarrollado han sido las prostaglandinas, cuyo uso hoy se encuentra ampliamente difundido y de las que actualmente se sigue estudiando su mecanismo de acción final así como las modificaciones que pueden producir en diversas estructuras oculares.

Por todo ello decidimos desarrollar un modelo en animal de experimentación para estudiar como distintos fármacos antiglaucomatosos y aumentos de la presión intraocular influyen sobre la presión intrastromal y la paquimetría, así como un modelo

en humanos para estudiar si las prostaglandinas producen cambios en la profundidad de la cámara anterior.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Es posible medir cambios inducidos por varios fármacos antiglaucomatosos en diversos parámetros del segmento anterior como son la presión intrastromal corneal, la paquimetría y la profundidad de cámara anterior, en el animal de experimentación y en humanos.

OBJETIVOS

Los objetivos de esta tesis son:

1. Desarrollar un método para medir la PIC “in vivo” en animales de experimentación.
2. Estudiar como influye el tratamiento agudo con IAC sobre la PIC “in vivo”.
3. Estudiar como influye el tratamiento agudo con α 2agonistas sobre la PIC “in vivo”.
4. Estudiar como influye el tratamiento con prostaglandinas sobre la PIC “in vivo”.
5. Estudiar como influye el tratamiento con prostaglandinas sobre el ECC.
6. Estudiar como influye el tratamiento con prostaglandinas sobre el complejo zonulo-ciliar.
7. Estudiar como influyen los cambios agudos de PIO sobre el ECC en ojos tratados con prostaglandinas.
8. Estudiar como influyen los cambios agudos de PIO sobre la PIC en ojos tratados con prostaglandinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

A) ESTUDIO ANIMAL

1. Población muestral

Este estudio experimental se ha realizado en ojos de conejo albino macho de la raza New Zealand (Fig. 16).



Fig. 16: Conejo albino raza New Zealand

2. Mantenimiento de los animales

El estudio ha sido realizado en el Centro de Experimentación Animal de la Universidad de Alcalá.

El mantenimiento, manipulación, experimentos, anestesia y eutanasia que se realizan en dicho centro cumple en todos sus extremos las recomendaciones sobre alojamiento del convenio del consejo de Europa ETS 123 y la normativa vigente sobre experimentación y protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos reflejada en el R.D. 1201/2005, de 10 de Octubre de 2005. En el R.D. 223/88, de 14 de Marzo de 1998 y la Orden del 13 de octubre de 1989 que desarrolla el mismo.

Cumpliendo dicha orden, el Centro de Experimentación Animal de la Universidad de Alcalá se encuentra registrado en la Dirección General de Agricultura de la Consejería de Economía e Innovación Tecnológica de la Comunidad de Madrid, con el número de registro ES28005001165.

El peso de los conejos era de 2.5 a 3.5 Kg y tenían a su disposición comida y agua sin restricciones.

Una vez finalizado el estudio los conejos fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico.

3. Diseño del estudio

Los distintos estudios que se han realizado y que se exponen a continuación son estudios prospectivos, intervencionales.

4. Anestesia

Para poder realizar las distintas mediciones necesarias los conejos eran sometidos a anestesia general mediante inyección intramuscular con una mezcla de:

- Ketamina 1mL/kg (Imalgene®, Laboratorio Merial, Lyon, Francia).
- Xylacina 0.75mL/kg (Rompun®, Bayer AG, Leverkusen, Alemania).
- Atropina.

Durante la realización de las distintas mediciones se instilaba de forma tópica anestésico (Colicursi Anestesico Doble®, Alcon Cusí S.A, El Masnou, Barcelona,

España) al comienzo de la realización de las mediciones y posteriormente cada 10 minutos.

5. Recogida de datos

Se elaboró el diseño de una plantilla de recogida de datos mediante el programa Microsoft Excel® (Microsoft Office 2003), para cada uno de los grupos a estudio.

Todas las medidas se realizaron por la tarde, en un intervalo horario que abarca desde las 15 horas a las 18 horas.

Las medidas fueran realizadas por el mismo investigador (G.B.M.) que se encontraba enmascarado para el tratamiento.

5.1. Paquimetría

La obtención de la medida del EC se realizó mediante un paquímetro ultrasónico DGH 550 Pachette 2® (DGH Technology, Inc., Exton, Pensilvania, USA) (Fig 17). El paquímetro toma de manera automática 10 medidas y muestra el resultado de la media y la desviación estandar (DE) de dichas medidas.



Fig 17: Paquímetro ultrasónico utilizado en el estudio.

del transductor tiene que estar cubierto completamente con la solución salina para formar un menisco libre de burbujas. Lentamente hay que enroscar la cúpula del sensor sobre el transductor, desplazando el exceso de líquido y apretar la cúpula firmemente para asegurarse del sellado. Para ayudarnos a mantener la ausencia de aire durante el llenado se unía un dispositivo en una de las conexiones de la cúpula. Se esperaba unos minutos para estabilizar el sistema, calibrándolo en ese momento a 0mmHg y comenzando entonces a realizar las medidas.

Como características técnicas presenta un rango de medida de presión de -80mmHg a +320mmHg con una precisión de ± 1 mmHg. La sensibilidad es de $5\mu\text{v}/\text{V}/\text{mmHg}$ y la temperatura de trabajo de +10 a +60°C.

El transductor va unido a un amplificador de señal, el ML110 Bridge Amplifier (Fig 19), AD Instruments, gracias a dicho transductor se muestra un registro continuo de la presión medida. En nuestro caso recogimos el resultado de la presión cada minuto durante 45 minutos.



Fig 19: Imagen el amplificador de señal ML110 Bridge Amplifier.

Durante los distintos experimentos los ojos eran irrigados con suero salino para evitar la desecación.

5.2.1. Medida de la presión intraestromal corneal

Hemos seguido el método que Hedbys describió en su artículo sobre la PI para registrar la medida de la PIC en lo que se refiere a insertar una cánula a nivel corneal de 27G, y al igual que ellos hemos utilizado un manómetro para registrar dicha medida, aunque diferimos en el modelo utilizado, que ha sido el comentado previamente (Fig 18).

Para realizar la medida de la PIC se seguían las instrucciones del fabricante explicadas anteriormente para conseguir un sistema libre de burbujas, posteriormente la cánula de 27G, llena de suero fisiológico, era insertada a nivel del estroma corneal (Fig 20,21), ubicándose en la media periferia. En todos los casos el bisel de la cánula de 27G se colocaba orientado hacia el epitelio (Fig 20) y se utilizó una gota de cianocrilato en la zona de la entrada de la cánula a nivel corneal para asegurarnos un sistema hermético.



Fig 20: Imagen en la que se observa la cánula de 27G con el bisel hacia el epitelio localizada en el estroma corneal.

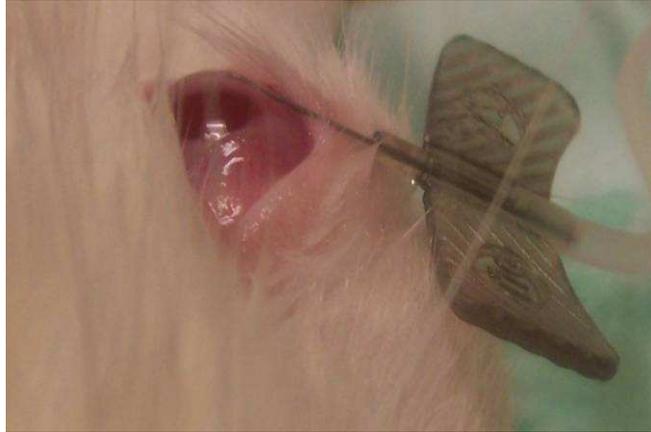


Fig 21: Detalle en el que se aprecia la situación intraestromal de la cánula de 27G.



Fig 22: Imagen en la que se aprecia la colocación a nivel corneal de la cánula de 27G y como esta se encuentra conectada al barotransductor.

5.2.2. Medida de la presión intraocular

Para realizar la medida de la PIO la cánula de 27G se insertaba a nivel de la cámara anterior a través de una incisión en la esclera perilímbica, dicha incisión se sellaba mediante una gota de cianocrilato para asegurarnos de su estanqueidad y entonces se procedía al registro de las medidas de la PIO durante el tiempo de realización del experimento, esta medida era la que utilizábamos como guía para poder realizar los cambios de PIO a los niveles que nosotros deseábamos.

5.2.3. Cambios de la presión intraocular

En el estudio realizado en conejos tratados con travatan® se sometió a los ojos de conejo a aumentos de la PIO, dichos aumentos se realizaron introduciendo en la cámara anterior una tercera cánula de 21G que fue sellada de la misma manera con cianocrilato. Esta cánula estaba conectada a una columna externa de suero en el que se podían producir incrementos variables de presión. En este experimento se generaba una presión constante a través de un esfingomanómetro que rodeaba el reservorio de suero para estabilizar la PIO primero a 15mmHg durante 10 minutos y posteriormente a 30mmHg durante otros 10 minutos. Antes de realizar el experimento una válvula entre la cánula y la columna de suero impedía el paso de de suero al interior del ojo. Las medidas de PIO se obtenían mediante manometría en cámara anterior como ha sido explicado previamente.

6. Grupos de estudio

Se han realizado estudios con distintos tipos de tratamiento como se explican a continuación:

6.1. Medida de la presión intraestromal corneal

El primer estudio consistió en comprobar que podíamos realizar medidas de la PIC en ojos de conejo que no eran sometidos a ningún tipo de tratamiento. Para ello se procedió a la determinación de la medida de la PIC como se ha explicado previamente en el apartado 5.2.1.

La puesta en marcha de este estudio consistió en realizar distintas pruebas para ver con que cánulas eramos capaces de realizar el registro de la medida de la PIC y que las condiciones fueran reproducibles. Así para realizar la medida de la PIC se seguían las instrucciones del fabricante explicadas anteriormente para conseguir un sistema libre de burbujas en el barotransductor, al principio lo que hicimos fue seleccionar que agujas, cánulas y tubos de silicona ibamos a utilizar, así en un primer momento utilizamos agujas de insulina 25G unidas al sensor del barotransductor, la aguja era insertada directamente en una cánula de silicona (Laboratorios Isaza Ref. 2110030249) y en su final se insertaba una aguja de insulina (en esta ocasión sólo la parte metálica, cuya medida es de 0,5mmx16mm y que separabamos del cono de acoplamiento de plástico que sirve para unirla a los conos hembra tipo luer de las jeringas) (Fig 23), con ello conseguimos realizar mediciones pero el montaje era muy complicado al tener que separar la aguja de insulina del plástico, era muy fácil perforar la cánula de silicona cuando la uníamos a las agujas de insulina y que hubiera entonces que cortarla para evitar las fugas que se producían, por lo tanto la longitud de dicha cánula variaba en los distintos intentos y también era muy difícil que el sistema no tuviera fugas a nivel de las uniones (Fig 24).



Fig 23: Imagen en la que se observa la aguja de insulina insertada a nivel corneal y unida a la cánula de silicona que utilizamos inicialmente en la preparación de los experimentos



Fig 24: Imagen en la que se observa como una aguja de insulina se unia al barotransductor y a la cánula de silicona en los primeros intentos de medida que se realizaron. .

Dada la dificultad para obtener resultados con las agujas y cánulas comentadas decidimos utilizar una cánula de 27G, llena de suero fisiológico, con la que sí conseguimos realizar las medidas sin problemas y manteníamos constante la longitud de la cánula de silicona al ser la que viene ya unida a la cánula de 27G. Para realizar el registro de la PIC la cánula era insertada a nivel del estroma corneal, ubicándose en la media periferia. En todos los casos el bisel de la cánula de 27G se colocaba orientado hacia el epitelio y se utilizó una gota de cianocrilato en la zona de la entrada de la cánula a nivel corneal para asegurarnos un sistema hermético. (Fig 20,21)

Una vez que el sistema estaba preparado se empezaba a registrar la medida de la presión que nos detecta la cánula situada a nivel intraestromal a intervalos de un minuto durante 45 minutos. Este tiempo fue el que decidimos examinar tras realizar diversas medidas, pues el mantener el registro más tiempo implicaba movimientos del conejo que hacía que la cánula no permaneciera estable en su situación y nos impidiera continuar con las mediciones que estábamos realizando, por lo que decidimos que 45 minutos era un tiempo suficiente para poder detectar diferencias entre los distintos grupos estudiados y nos permitía una adecuada estabilidad en el sistema para realizar las medidas.

6.2. Tratamiento con inhibidores de la anhidrasa carbónica

El estudio con inhibidores de la anhidrasa carbónica se ha realizado con 7 conejos de la raza New Zealand.

Dichos conejos han sido sometidos a tratamiento tópico con un IAC (Trusopt®: Merck Sharp & Dohme de España, S.A., Madrid, España) 3 veces al día durante 3 días

consecutivos. Una vez finalizado el tratamiento se procedía a realizar las medidas de la PIC como se ha explicado anteriormente.

El grupo control lo formaban 7 ojos de conejo New Zealand que eran tratados con lágrimas artificiales (Acuolens®: Alcon cusí S.A., El Masnou, Barcelona, España) 3 veces al día durante 3 días consecutivos y posteriormente se procedía a realizar las medidas de la PIC.

6.3. Tratamiento con α 2agonistas

El estudio con agonistas α 2 se ha realizado con 8 conejos de la raza New Zealand.

Dichos conejos han sido sometidos a tratamiento tópico con un agonista α 2 (Alphagan®: Allergan, S.A., Madrid, España) 3 veces al día durante 3 días consecutivos en su ojo derecho. El ojo izquierdo era sometido a tratamiento tópico con lágrimas artificiales (Acuolens®: Alcon cusí S.A., El Masnou, Barcelona, España) 3 veces al día durante 3 días consecutivos, constituyendo el grupo control. Una vez finalizado el tratamiento se procedía a realizar las medidas de la PIC como se ha explicado anteriormente.

6.4. Tratamiento con prostaglandinas

A los conejos sometidos a tratamiento con prostaglandinas (Travatan®. Alcon S.A. El Masnou, Barcelona. España) se les administraba dicho tratamiento una vez al día durante un mes en el ojo derecho. El ojo izquierdo era sometido a tratamiento con lágrimas artificiales (Acuolens®: Alcon cusí S.A., El Masnou, Barcelona, España) 1 vez

al día durante un mes y constituía el grupo control. Realizamos tres estudios distintos en este grupo:

6.4.1. Estudio de la presión intraestromal corneal

En este grupo se incluyeron 6 conejos. Una vez finalizado el tratamiento se procedía a realizar las medidas de la PIC como ha sido explicado anteriormente.

6.4.2. Estudio de la paquimetría con cambios agudos de la presión intraocular

En este grupo de estudio se incluyeron 6 conejos.

Una vez finalizado el tratamiento se procedía a realizar medidas de la paquimetría de forma basal y posteriormente tras realizar cambios a nivel de la PIO, que era registrada gracias a la inserción de una cánula de 27G a nivel de la cámara anterior a través de la esclera perilímbica, como ha sido explicado previamente. Posteriormente se procedía a realizar un cambio de la PIO, primero a 15mmHg, para ello se procedía a abrir la válvula que permitía el paso de suero fisiológico a la cámara anterior a través de una aguja de 21G, la presión inicial que establecíamos era de 15mmHg y se conseguía gracias a un esfingomanómetro que rodeaba el depósito de suero, se esperaban unos 10 minutos para estabilizar el sistema y se realizaba un registro de la paquimetría. Una vez realizada dicha medida se volvía a proceder de la misma manera que se ha explicado a aumentar la PIO a 30mmHg, nuevamente se dejaban pasar unos 10 minutos para estabilizar el sistema y se procedía de nuevo a registrar la medida de la paquimetría. Por

lo tanto se obtenían registros de la paquimetría basal, a 15mmHg y a 30mmHg, tanto en los ojos sometidos a tratamiento con prostaglandina como en los ojos control.

Los ojos eran randomizaban para ser el primero o el último en ser examinados.

6.4.3. Estudio de la presión intraestromal corneal con cambios agudos de la presión intraocular

En este grupo de estudio se incluyeron 6 conejos.

Una vez finalizado el tratamiento se procedía a realizar medidas de forma basal y posteriormente tras realizar cambios a nivel de la PIO, que era registrada gracias a la inserción de una cánula de 27G a nivel de la cámara anterior a través de la esclera perilímbica. Una vez registrada la PIC basal se procedía a abrir la válvula que permitía el paso de suero fisiológico a la cámara anterior a través de una aguja de 21G, la presión inicial que establecíamos era de 15mmHg y se conseguía gracias a un esfingomanómetro que rodeaba el depósito de suero, se esperaban unos 10 minutos para estabilizar el sistema y se realizaba un registro de la PIC. Una vez realizada dicha medida se volvía a proceder de la misma manera que se ha explicado a aumentar la PIO a 30mmHg, nuevamente se dejaban pasar unos 10 minutos para estabilizar el sistema y se procedía de nuevo a registrar la medida de la PIC. Por lo tanto se obtenían registros de la PIC basal, a 15mmHg y a 30mmHg, tanto en los ojos sometidos a tratamiento con prostaglandina como en los ojos control.

El ojo de cada conejo en el que se comenzaba a realizar las medidas era seleccionado de forma aleatoria.

7. Tomografía de coherencia óptica de segmento anterior (Visante®)

En los distintos estudios para la medida de la PIC la aguja era situada a nivel del estroma corneal. Decidimos hacer una OCT de segmento anterior (Visante®) para determinar la posición de la cánula insertada a nivel del estroma. Para ello se procedió a anestésiar a un conejo y se introdujo la cánula de 27G a nivel corneal de igual forma que cuando se hacía para registrar la medida de la PIC, sólo que en esta ocasión posicionamos al conejo en una OCT de segmento anterior (Visante®), obteniendo imágenes de la situación de dicha cánula.

8. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó usando el programa estadístico Statview SE + Graphics (Abacus Concept Inc., Berkeley, CA), software del ordenador personal Macintosh Power Book 1400 cs/117 (Apple Computer Inc., Cupertino, CA). Los resultados se han mostrado expresados como media \pm DE y rango.

Se han empleado para las comparaciones estadísticas los test no paramétricos de Mann-Whitney y el test de Wilcoxon de rangos señalados.

Se ha expresado el valor de p exacto para cada comparación, considerando significativo un valor de $p < 0.05$.

B) ESTUDIO EN SERES HUMANOS

1. Población muestral

Se realizó un estudio en un grupo de 40 pacientes consecutivos que fueron diagnosticados “de novo” bien de GPAA o bien de HTO en la Unidad de glaucoma del Hospital Universitario Príncipe de Asturias entre Enero y Octubre de 2005.

Para poder comprobar la reproducibilidad de las medidas ultrasónicas se analizó las medidas en un grupo control de 20 pacientes que no recibieron ningún tratamiento.

2. Diseño del estudio

Estudio prospectivo, no aleatorizado, autocomparativo.

El observador que realizaba todas las medidas se encontraba enmascarado para el tratamiento.

3. Criterios de inclusión

Los pacientes seleccionados en este estudio cumplieron una serie de criterios de inclusión detallados a continuación. Cuando ambos ojos del mismo paciente cumplían los criterios de inclusión, sólo el ojo derecho se incluía en el estudio.

1. Acceder libre y desinteresadamente a participar en el estudio, quedando constancia de tal hecho mediante firma de consentimiento informado elaborado a

propósito y aprobado por el comité de ética del Hospital Universitario Príncipe de Asturias.

2. Presentar glaucoma o HTO definidos como:

Glaucoma: Combinación de neuropatía óptica glaucomatosa típica y el correspondiente defecto de CV. El CV analizado (Humphrey Visual Field Analyzer, Carl Zeiss Meditec, Oberkochen, Alemania) fue la estrategia 24-2 SITA standard blanco-blanco. El nivel de PIO no se utilizó como criterio para el diagnóstico de glaucoma, por lo tanto, en alguno de los pacientes los niveles de PIO se encuentran dentro de rangos normales.

HTO: Nivel de PIO superior a 24mmHg en al menos 2 medidas distintas realizadas en 2 días distintos, sin signos de neuropatía óptica glaucomatosa y con CV 24-2 SITA standard blanco-blanco normales.

4. Criterios de exclusión

Fueron criterios de exclusión para este estudio la presencia de otra enfermedad ocular, la historia de trauma ocular, de síndrome de pseudoexfoliación, de signos de debilidad zonular o de alguna alteración a nivel corneal.

Sólo se incluyeron pacientes con un diagnóstico de glaucoma o HTO “de novo”, con la finalidad de que ningún paciente hubiera sido sometido a ningún tipo de tratamiento antiglaucomatoso previamente.

5. Datos recogidos

5.1. Visita basal

Se recogían la edad del paciente, sexo, tratamientos oculares previos, tipo de glaucoma, PIO (medida mediante TAG), mejor agudeza visual corregida (MAVC) (mediante el Early Diabetic Treatment Study reading chart 1 (Precise Vision, La Salle, IL), a una distancia de 4 metros), profundidad de cámara anterior, espesor cristaliniano, y profundidad de cámara anterior y espesor cristaliniano un hora después de la instilación de pilocarpina al 2%.

5.2. Visita al mes

Tras un mes de tratamiento con latanoprost 0.005% (Xalatan®, Pfizer Inc, New York, NY) se obtenían la PIO (mediante TAG), MAVC (con la misma refracción que en la visita basal), profundidad de cámara anterior y espesor cristaliniano antes y una hora después de la instilación de pilocarpina al 2% y se registraron los posibles efectos secundarios del tratamiento con latanoprost 0.005%.

6. Medidas con ecógrafo modo A

Se utilizó un ecógrafo modo A de contacto (Ofuscan Ophthalmic Ultrasound System; Alcon, Fort Worth, TX).

Durante las medidas se pedía al paciente que se fijara en un optotipo C de Landot, posicionado a 6 metros, con el ojo estudiado, el ojo contralateral era ocluido para evitar la convergencia durante las medidas.

Se registraba la medida de la profundidad de cámara anterior, definida como la distancia entre los ecos de la superficie corneal posterior y la superficie anterior del cristalino, y del espesor del cristalino, definido como la distancia entre los ecos centrales de la cápsula cristaliniiana anterior y la posterior, tanto en la visita basal como en la visita tras un mes de tratamiento con latanoprost 0.005%.

Además en ambas visitas tras registrar dichas medidas se instilaba pilocarpina tópica al 2% (Colicursi Pilocarpina 2%; Alcon, El Masnou, Spain) y se volvían a realizar las mismas medidas cuando había transcurrido una hora tras la instilación.

El ecógrafo se utilizaba en modo automático, de manera que se obtenían 10 medidas de ambos parámetros a estudio y éstas 10 medidas eran utilizadas para calcular la media de la profundidad de cámara anterior y del espesor del cristalino en cada examen.

7. Reproducibilidad de las medidas con ecógrafo tipo A

Para comprobar la reproducibilidad de las medidas mediante el ecógrafo se estableció un grupo control, constituido por 20 pacientes diagnosticados “de novo” de GPAA o HTO que no habían sido tratados con ningún fármaco antiglaucomatoso. Se obtuvieron medidas de la profundidad de cámara anterior y del espesor cristaliniiano antes y una hora después de la instilación de pilocarpina al 2%, en dos visitas realizadas con una diferencia de 1 semana, de la misma manera que en el grupo tratado con latanoprost 0.005% y por el mismo examinador.

8. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó usando el programa estadístico SPSS 10.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL).

Se utilizó el Test T-Student para muestras pareadas y el coeficiente de correlación de Pearson.

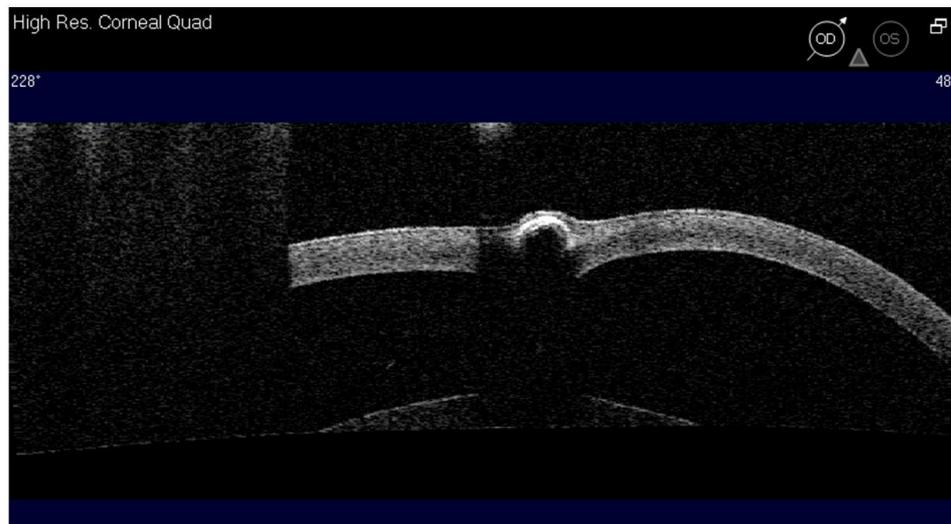
RESULTADOS

A) ESTUDIO ANIMAL

1. Medida de la presión intraestromal corneal

Como ha sido comentado en el apartado material y métodos decidimos intentar medir la PIC “in vivo” en córneas de conejos siguiendo un método muy similar al publicado por Hedbys⁸⁰, aunque en nuestro caso decidimos registrar las medidas de la PIC durante 45 minutos.

Una de las comprobaciones que hemos realizado para constatar que efectivamente la medida que estábamos obteniendo era la de la PIC fue el determinar donde se situaba exáctamente la cánula a nivel del estroma corneal, ya que estamos introduciendo una cánula de 27G (0.4mm) en una córnea de conejo que mide según algunos autores no menos de 0.3mm en el centro y normalmente no más de 0.4mm⁴¹⁷, para ello hicimos una OCT de segmento anterior (Visante®), gracias a la cual comprobamos el correcto posicionamiento de la cánula, que como queda reflejado en las imágenes, se encuentra ocupando unos 2/3 del estroma corneal.



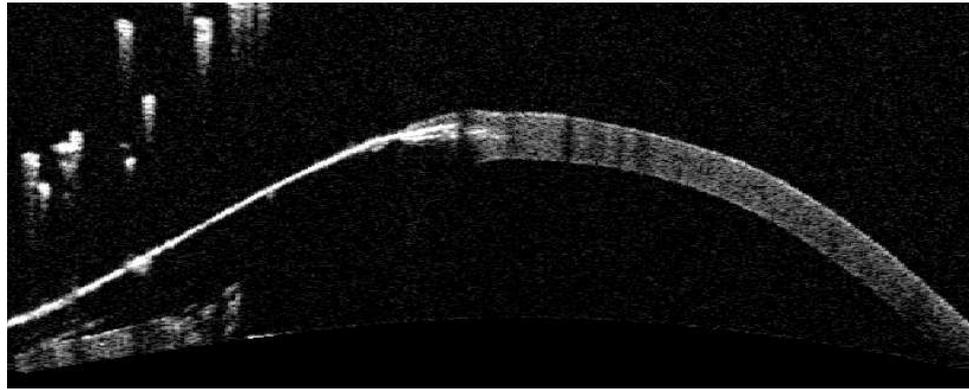


Fig 25: Imágenes del Visante® en el se observa que la cánula utilizada en los experimentos para la medida de la PIC está situada a nivel del estroma corneal ocupando aproximadamente 2/3 de este.

Una vez comprobada la correcta situación de la cánula a nivel del estroma corneal procedimos a realizar la medida de la PIC mediante canulación, obteniendo el registro de una presión negativa que va aumentado lentamente a lo largo del tiempo, como se puede observar en la Fig 26 en la que se muestra el registro de la PIC de dos conejos.

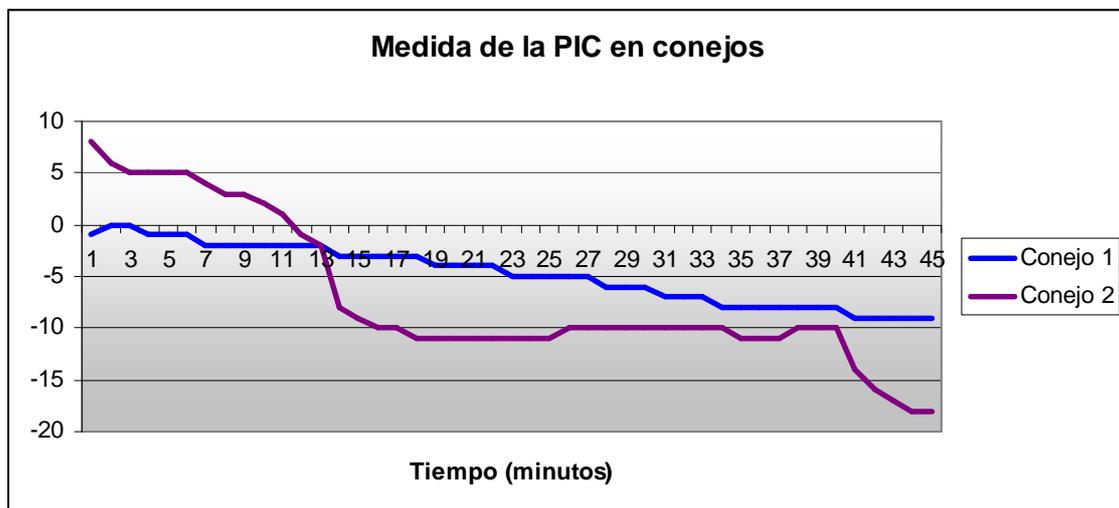


Fig 26: Medida de la PIC (en mmHg) mediante canulación a lo largo del tiempo

2. Grupo con inhibidores de la anhidrasa carbónica

Se registró la medida de la PIC durante 45 minutos en el grupo de 7 conejos tratados con IAC tópicos (dorzolamida) y en 7 conejos tratados con lágrima artificial (grupo control), obteniéndose los siguientes resultados: (Fig 27 y 28 respectivamente).

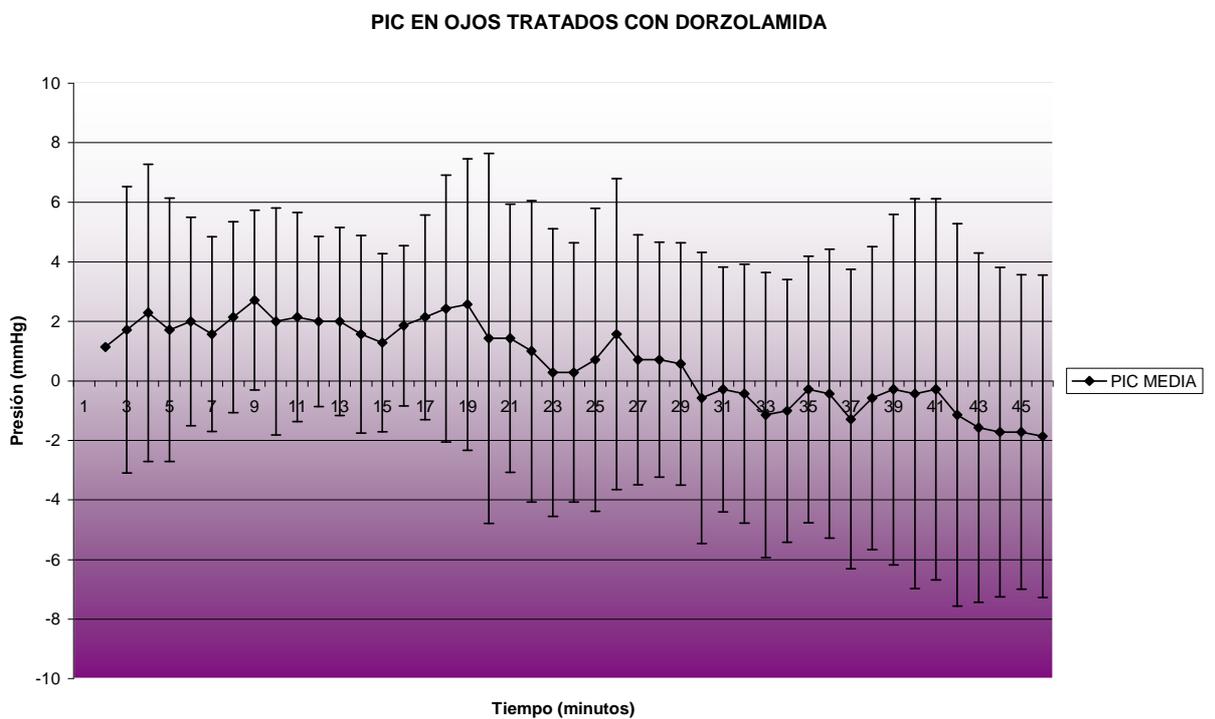


Fig 27: Representación gráfica de la PIC media y la DE en el grupo tratado con dorzolamida.

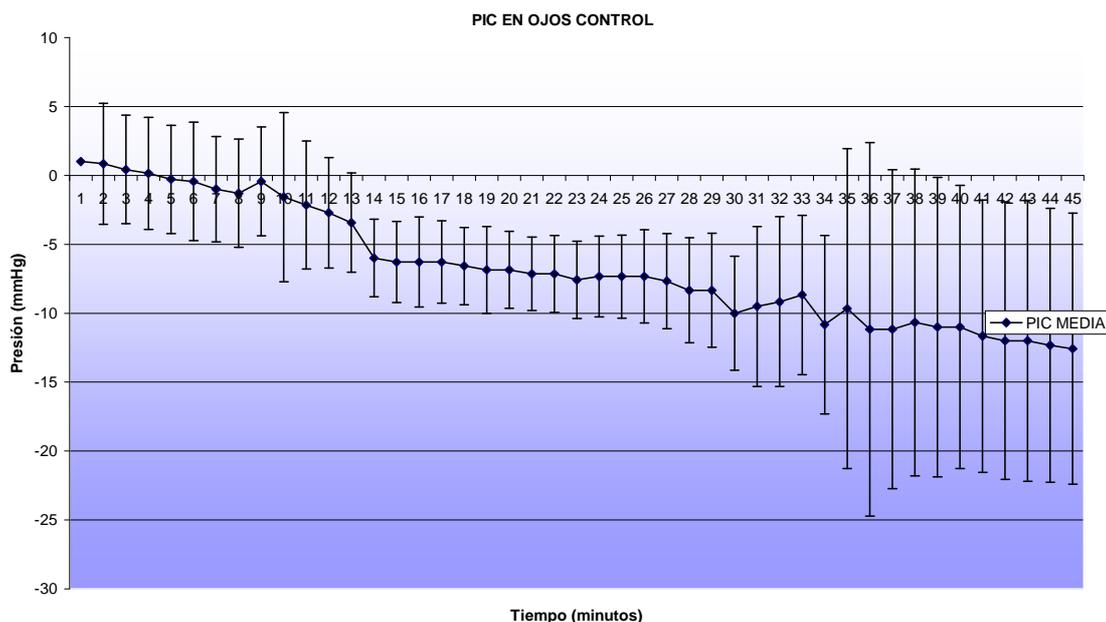


Fig 28: Representación gráfica de la PIC media y la DE del grupo control.

Se decidió comparar las medidas de la PIC entre ambos grupos a los 15,30 y 45 minutos, obteniendo una PIC media de -6.2 ± 3.2 mmHg, -10 ± 5.8 mmHg y -12.5 ± 8.7 mmHg en el grupo control en dichos tiempos y de $+1.8 \pm 3.4$ mmHg, -0.28 ± 4.3 mmHg y -1.8 ± 5.3 mmHg en el grupo tratado con dorzolamida en los mismos tiempos.

	Control	Dorzolamida	p
15 minutos	$-6,2 \pm 3,2$ mmHg	$1,8 \pm 3,4$ mmHg	$p = 0,004$
30 minutos	$-10 \pm 5,8$ mmHg	$-0,28 \pm 4,3$ mmHg	$p = 0,005$
45 minutos	$-12,5 \pm 8,7$ mmHg	$-1,8 \pm 5,3$ mmHg	$p = 0,02$

Tabla 1: Tabla comparativa de los resultados de la PIC en el grupo tratado con dorzolamida y el grupo control a los 15, 30 y 45 minutos, así como los valores de p.

Fig 29: PIC EN OJOS TRATADOS CON DORZOLAMIDA Y OJOS CONTROL

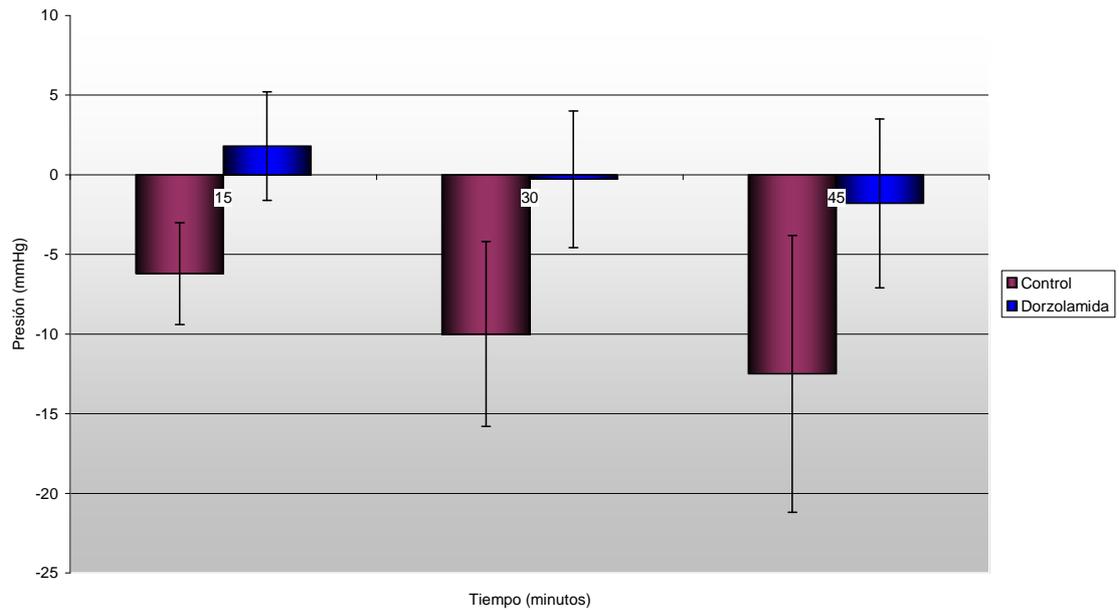


Fig 29: Representación gráfica de las diferencias de la media de la PIC entre el grupo control y el grupo tratado con dorzolamida a los 15, 30 y 45 minutos. Las barras de error muestran la DE. Estas diferencias son estadísticamente significativas ($p=0.004$, $p=0.005$ y $p=0.02$ respectivamente).

Como podemos comprobar obtenemos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en la medida de la PIC, tanto a los 15 ($p=0.004$), como a los 30 ($p=0.005$) y a los 45 minutos ($p=0.02$).

3. Grupo con agonistas α_2 adrenérgicos

Se registró la medida de la PIC durante 45 minutos en el ojo derecho de 8 conejos tratados con α_2 agonistas (brimonidina) y en el ojo izquierdo de estos conejos que fue tratado con lágrima artificial (grupo control).

La PIC media fue de -4 ± 2.9 mmHg, -6.7 ± 3 mmHg y de -9 ± 4.5 mmHg a los 15, 30 y 45 minutos respectivamente en el grupo control. En el grupo tratado con brimonidina

la PIC media fue de 2.75 ± 2.9 mmHg, -2.5 ± 3 mmHg y -8.5 ± 5 mmHg para los mismos tiempos. (Tabla 2)

	Control	Brimonidina	p
15 minutos	$-4 \pm 2,9$ mmHg	$+2,75 \pm 2,9$ mmHg	0,01
30 minutos	$-6,7 \pm 3$ mmHg	$-2,5 \pm 3$ mmHg	0,2
45 minutos	$-9 \pm 4,5$ mmHg	$-8,5 \pm 5$ mmHg	0,8

Tabla 2: Tabla comparativa de los resultados de la PIC en el grupo tratado con brimonidina y el grupo control a los 15, 30 y 45 minutos, así como los valores de p.

En este caso encontramos que las diferencias entre grupos en los valores de PIC obtenidos fueron estadísticamente significativas a los 15 minutos ($p=0.01$), pero no a los 30 ($p=0.20$) ni a los 45 minutos ($p=0.80$)

Figure 30

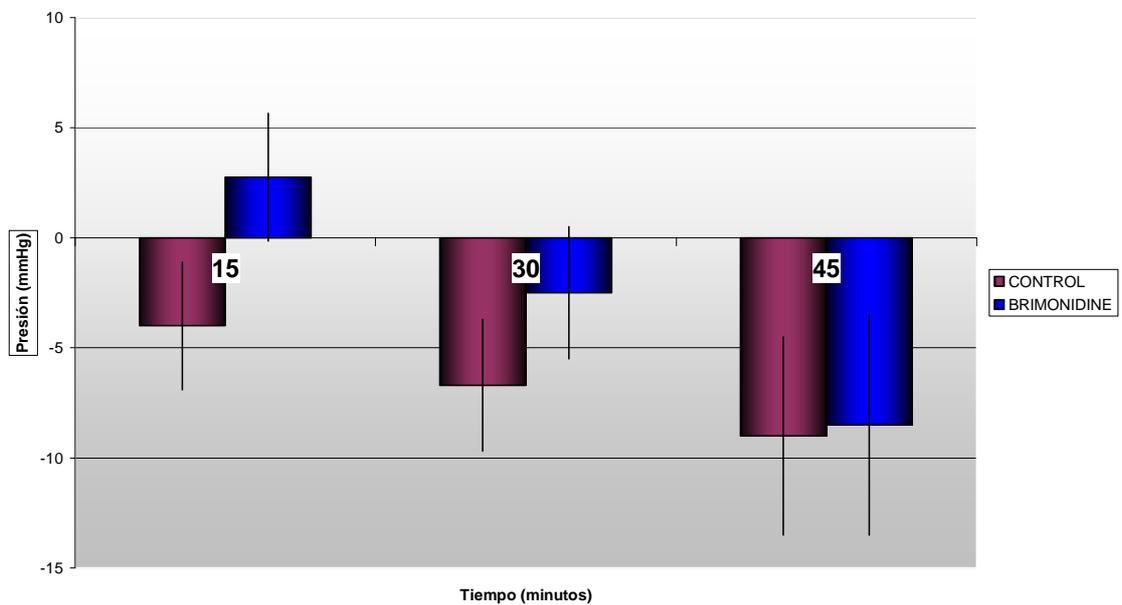


Figura 30: Representación gráfica de la diferencia de la media de la PIC entre el grupo control y el grupo tratado con brimonidina a los 15, 30 y 45 minutos. Las barras de error representan la DE.

4. Grupo con prostaglandinas

4.1. Presión intraestromal

Se registró la medida de la PIC durante 45 minutos en el grupo de 6 conejos tratados con travoprost en el ojo derecho y con lágrima artificial (grupo control) en el ojo izquierdo.

La PIC media para el grupo control fue de $-3.33 \pm 7.06 \text{ mmHg}$, $-6.8 \pm 8.75 \text{ mmHg}$ y $-9.4 \pm 12.34 \text{ mmHg}$ a los 15, 30 y 45 minutos. En el grupo tratado con travoprost la PIC media fue de $-5.83 \pm 2.78 \text{ mmHg}$, $-8.33 \pm 4.96 \text{ mmHg}$ y de $-10.33 \pm 6.74 \text{ mmHg}$ para los mismos tiempos. (Tabla 3)

	Control	Travatan	p
15 minutos	$- 3,33 \pm 7,06 \text{ mmHg}$	$- 5,83 \pm 2,78 \text{ mmHg}$	$p = 0,5$
30 minutos	$- 6,8 \pm 8,75 \text{ mmHg}$	$- 8,33 \pm 4,96 \text{ mmHg}$	$p = 0,7$
45 minutos	$- 9,4 \pm 12,34 \text{ mmHg}$	$- 10,33 \pm 6,74 \text{ mmHg}$	$p = 0,6$

Tabla 3: Tabla comparativa de los resultados de la PIC en el grupo tratado con travatan y el grupo control a los 15, 30 y 45 minutos, así como los valores de p.

Como se puede observar no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en la PIC media ni a los 15, ni a los 30 ni a los 45 minutos ($p=0.5$, $p=0.7$ y $p=0.6$ respectivamente).

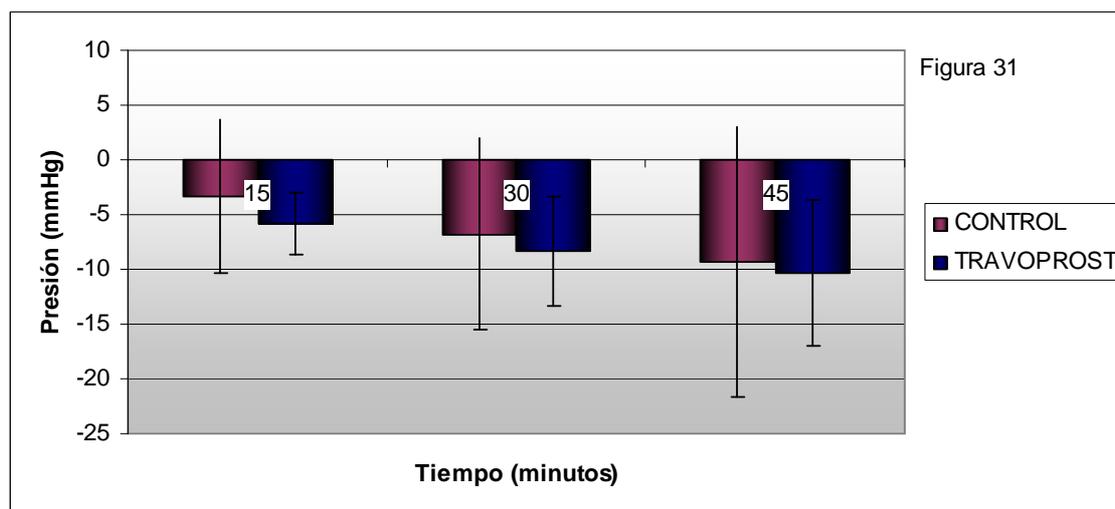


Figura 31: Representación gráfica de la diferencia de la PIC media entre el grupo control y el grupo tratado con travoprost a los 15, 30 y 45 minutos. Las barras de error representan la DE.

4.2. Paquimetría

Se registró la medida de la paquimetría basal así como la paquimetría tras estabilizar la PIO a 15mmHg y posteriormente a 30mmHg en el grupo de 6 conejos tratados con travoprost en el ojo derecho y con lágrima artificial en el ojo izquierdo (grupo control).

Los resultados de la paquimetría basal fueron de $408 \pm 30.9 \mu\text{m}$ y $373 \pm 15.5 \mu\text{m}$ para el grupo tratado con travoprost y el grupo control respectivamente, siendo las diferencias entre ambos grupos estadísticamente significativas ($p < 0.01$). Tras estabilizar la PIO a 15mmHg encontramos una disminución de la paquimetría en ambos grupos, siendo los resultados de $342 \pm 25 \mu\text{m}$ y $350.5 \pm 5 \mu\text{m}$ para el grupo tratado con travoprost y el grupo control respectivamente. Tras estabilizar la PIO a 30mmHg encontramos una disminución de la paquimetría a valores de $300 \pm 25 \mu\text{m}$ y $299 \pm 15 \mu\text{m}$ en el grupo tratado con travoprost y el grupo control respectivamente. (Tabla 4)

	Control	Travatan	P
Basal	373 ± 15.5µm rango: 351 a 390µm	408 ± 30.9µm rango: 387 a 470µm	P<0.01
15mmHg	350.5 ± 5µm rango: 304 a 384µm	342 ± 25µm rango: 317 a 379µm	P=0.5
30mmHg	299 ± 15µm rango: 275 a 318µm	300 ± 25µm rango: 267 a 326µm	P=0.5

Tabla 4: Tabla comparativa de los valores de paquimetría media tanto basales como tras estabilizar la PIO a 15mmHg y a 30mmHg en el grupo tratado con travoprost y el grupo control, así como los valores de p.

No existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los valores de paquimetría media en ninguna de las PIO establecidas (p=0.5 para ambas comparaciones). Sin embargo la disminución del ECC desde los valores basales fue mayor en el grupo tratado con travoprost que en el grupo control tanto para la PIO de 15mmHg como para la PIO de 30mmHg (p=0.01 y p=0.02 respectivamente).(Fig 32)

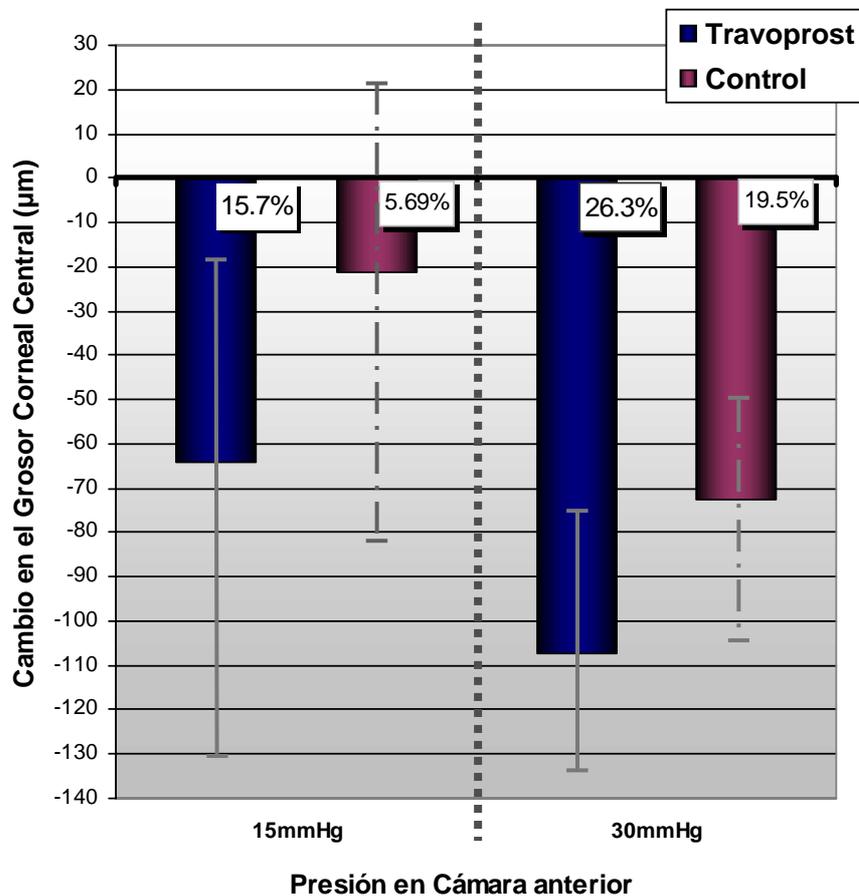


Fig 32: Gráfico de barras que representa la cantidad de disminución del EC (tanto en micras como en porcentaje) desde los valores basales a los valores obtenidos tras el aumento de PIO a 15mmHg y a 30mmHg en el grupo tratado con travoprost y el grupo estudio. El rango de la disminución del EC (en micras) se representa con barras punteadas y solidas para el grupo control y el grupo de travoprost respectivamente.

4.3. Cambios en la presión intraestromal corneal con incrementos agudos de la presión intraocular

En 6 conejos tratados con travoprost en el ojo derecho y con lágrima artificial en el ojo izquierdo (grupo control) se registró la medida de la PIC basal (a los 5 minutos), posteriormente se aumentaba la PIO a 15mmHg dejando unos 10 minutos para que el sistema se estabilizara y se registraba la medida de la PIC en ambos grupos (PIC a los 20 minutos), posteriormente se aumentaba la PIO a 30mmHg, se dejaban unos 10 minutos para la estabilización del sistema y se registraba la PIC en ambos grupos (PIC a los 35 minutos).

Los resultados obtenidos fueron una PIC basal de -3.33 ± 2.42 mmHg y -3.83 ± 3.43 mmHg para el grupo tratado con travatan y el grupo control respectivamente. Diez minutos después de aumentar la PIO a 15mmHg encontramos una PIC de -3.33 ± 1.96 mmHg y -6.33 ± 3.32 mmHg en el grupo tratado con travoprost y el grupo control respectivamente. Diez minutos después de aumentar la PIO a 30mmHg encontramos una PIC de -5 ± 1.09 mmHg y -7.16 ± 3.97 mmHg en el grupo tratado con travoprost y el grupo estudio respectivamente. (Tabla 5).

Como observamos no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en ninguno de los tiempos estudiados ($p=0.6$, $p=0.1$ y $p=0.36$ respectivamente).

	Control	Travatan	P
Basal	- 3.83 ± 3.43mmHg	-3.33 ± 2.42mmHg	p=0.6
20 minutos	- 6.33 ± 3.32mmHg	-3.33 ± 1.96mmHg	p=0.1
35 minutos	-7.16 ± 3.97mmHg	-5 ± 1,09mmHg	p=0.36

Tabla 5: Tabla comparativa de los valores de PIC media basal, a los 20 y a los 35 minutos en el grupo tratado con travoprost y el grupo control.

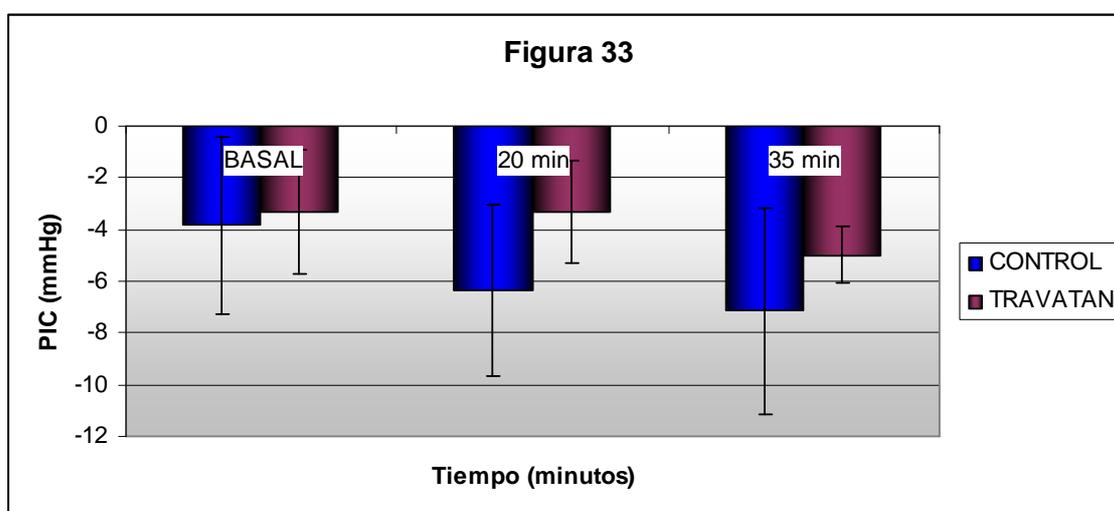


Fig 33. Tabla comparativa de la PIC en ojos control y ojos tratados con travoprost y sometidos a incrementos de PIO a 15mmHg y a 30mmHg. Las barras de error muestran la DE.

4.4 Influencia del aumento agudo de la presión intraocular sobre la presión intraestromal corneal en conejos en tratamiento con travoprost

Se registró la medida de la PIC en 6 conejos que habían sido tratados durante un mes con travoprost en el ojo derecho y en 6 conejos tratados con travoprost en el ojo derecho durante 1 mes y a los que se les sometía a aumentos de la PIO a 15mmHg y a 30mmHg como ha sido explicado previamente.

Comparamos la medidas de la PIC entre ambos grupos a los 5 minutos (basal), así como la registrada a los 20 minutos (correspondiente a una PIO de 15mmHg en el grupo en el que aumentabamos la PIO) y la registrada a los 35 minutos (correspondiente a una PIO de 30mmHg en el grupo en el que aumentabamos la PIO), los resultados obtenidos son los siguientes:

	Travatan	Travatan + aumento PIO	p
Basal	-5 ± 2,09	-3.33 ± 2.42mmHg	p=0.1
20 minutos	-6,8 ± 3,1mmHg	-3.33 ± 1.96mmHg	p=0.2
35 minutos	-9,16 ± 5,67mmHg	-5 ± 1.09mmHg	p=0.1

Tabla 6: Tabla comparativa de los valores de PIC media tanto basal, como a los 20 y a los 35 minutos en ojos tratados con travoprost y en ojos tratados con travoprost y sometidos a un aumento de PIO.

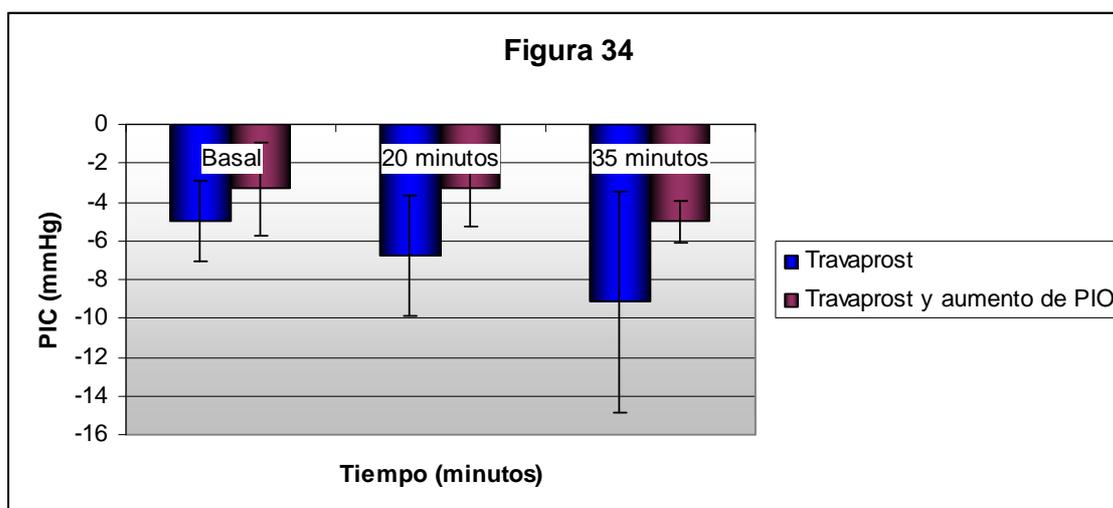


Fig 34: Representación gráfica de la diferencia de la PIC media entre el grupo tratado con travoprost y el grupo tratado con travoprost y sometido a aumentos de PIO a 15mmHg y a 30mmHg. Las barras de error muestran la DE.

Como observamos no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en ninguno de los tiempos estudiados (p=0.1, p=0.2 y p=0.1 respectivamente).

B) ESTUDIO EN HUMANOS

1. Datos demográficos y características de la población

Se han estudiado un total de 60 ojos de 60 pacientes (40 en el grupo tratado con latanoprost: grupo 1, y 20 en el grupo control: grupo 2).

La tabla 7 muestra las características demográficas de ambos grupos. Todos los pacientes eran de raza caucásica y ningún paciente había recibido tratamiento previo al estudio.

Parámetros	Grupo 1 (n=40)		Grupo 2 (n = 20)	
	n	%	n	%
Sexo				
Masculino	16	40	12	60
Femenino	24	60	8	40
Tipo de glaucoma				
GCAA	26	65	15	75
HTO	14	35	5	25
Medicamentos usados antes del estudio	0	100	0	100
	Media ± DE	Rango	Media ± DE	Rango
Edad (años)	65,9 ± 8,3	44 – 88	57,1 ± 14,14	34 - 81
PIO (mmHg.)	25,58 ± 4,43	19 – 38	22,25 ± 2,53	18 - 27
MAVC	20/32 ± 0,31	20/63–20/20	20/20 ± 0,22	20/63-20/20

Tabla 7: Datos demográficos y características de la población del estudio.

2. Medida de la presión intraocular

En el grupo 1 la media de la PIO antes de iniciar el tratamiento era de 25.58 ± 4.43 mmHg (rango 19-38), la cuál disminuyó a 16.70 ± 6.56 mmHg tras un mes de tratamiento con latanoprost ($p=0.000$). La disminución media de PIO fue de 34.71%.

En el grupo 2 la media de la PIO fue de 22.25 ± 2.53 mmHg (rango 18-27) en la primera visita, y de 22.56 ± 3 mmHg (rango 17-28) en la segunda visita una semana después ($p=0.7$).

3. Mejor agudeza visual corregida

En el grupo 1 la MAVC fue de $20/32 \pm 0.31$ (rango 20/63-20/20) en la visita basal y del $20/32 \pm 0.28$ (rango 20/62-20/20) tras el tratamiento. Las diferencias no son estadísticamente significativas ($p=0.66$).

En el grupo 2 la MAVC fue de $20/20 \pm 0,22$ (rango 20/63-20/20) en la primera visita.

4. Profundidad de la cámara anterior

En el grupo 1 en la visita basal y previa a la instilación de pilocarpina al 2% la media de la profundidad de cámara anterior era de 3.14 ± 0.46 mm, mientras que tras un mes de tratamiento con latanoprost la profundidad de cámara fue de 2.98 ± 0.44 mm ($p=0.05$)

En la visita basal y una hora después de la instilación de pilocarpina al 2%, la media de la profundidad de cámara anterior era de 3.04 ± 0.46 mm y tras un mes de tratamiento con latanoprost dicha medida fue de 2.91 ± 0.49 ($p=0.024$). (Tabla 8)

Parámetros	Basal (previo a latanoprost)	1 mes (tras tratamiento con latanoprost)	p
Profundidad cámara anterior (PCA) (mm)			
Previo a pilocarpina	$3,14 \pm 0,46$	$2,98 \pm 0,44$	0,05
Tras pilocarpina	$3,04 \pm 0,46$	$2,91 \pm 0,49$	0,024
p*	0,03	0,008	
Diferencia media en la PCA (mm) antes vs. tras pilocarpina	$-0,10 \pm 0,0$	$-0,07 \pm 0,03$	0,09
Grosor cristalino (mm)			
Previo a pilocarpina	$4,50 \pm 0,5$	$4,45 \pm 0,5$	0,6
Tras pilocarpina	$4,59 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,64$	0,5
p*	0,6	0,5	

Tabla 8: Grupo 1: PCA y grosor cristalino antes y después del tratamiento con latanoprost. (* La probabilidad representa las comparaciones antes y después de la pilocarpina).

En el grupo 1, en la visita basal, la disminución de la profundidad de cámara anterior inducida por la pilocarpina fue de -0.10 ± 0.0 mm. Tras el tratamiento con latanoprost dicha disminución fue de $-0,07 \pm 0.03$ mm. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,09$) (Tabla 8).

En el grupo 2 durante la visita basal la medida de profundidad de cámara anterior fue de 2.99 ± 0.38 mm y durante el segundo examen realizado una semana después fue de 2.99 ± 0.39 mm ($p=0.94$).

La profundidad de cámara anterior una hora después de la instilación de pilocarpina al 2% fue en la visita basal de 2.88 ± 0.34 mm y la misma medida en el segundo examen fue de 2.89 ± 0.38 mm ($p=0.84$) (Tabla 9).

5. Grosor cristaliniario

En el grupo 1 en la visita basal y previamente a la instilación de pilocarpina al 2% la media del grosor cristaliniario era de 4.50 ± 0.5 mm y tras un mes de tratamiento con latanoprost fue de 4.45 ± 0.5 mm ($p=0.6$).

En la visita basal y una hora después de la instilación de pilocarpina al 2% el grosor cristaliniario era 4.59 ± 0.5 mm, mientras que la misma medida un mes después del tratamiento con latanoprost fue de 4.6 ± 0.64 mm ($p=0.5$). (Tabla 8).

En el grupo 2 en la primera visita y previamente a la instilación de pilocarpina el grosor cristaliniario fue de 4.5 ± 0.42 mm, y en la segunda visita de 4.5 ± 0.46 mm ($p=0.9$).

En dicho grupo el grosor cristaliniario tras la instilación de pilocarpina 2% fue en la primera visita de 4.56 ± 0.43 mm, y la misma medida durante la segunda visita fue de 4.56 ± 0.39 mm ($p=0.9$) (Tabla 9).

Parámetros	Primer examen	Segundo examen	p
(PCA) (mm)			
Previo a pilocarpina	$2,99 \pm 0,38$	$2,99 \pm 0,39$	0,94
Tras pilocarpina	$2,88 \pm 0,34$	$2,89 \pm 0,38$	0,84
Grosor cristaliniario (mm)			
Previo a pilocarpina	$4,50 \pm 0,42$	$4,50 \pm 0,46$	0,9
Tras pilocarpina	$4,56 \pm 0,43$	$4,56 \pm 0,39$	0,9

Tabla 9: Grupo 2: PCA y grosor cristaliniario durante el primer y segundo examen.

DISCUSIÓN

1. Medida de la presión intraestromal corneal “in vivo”

Como ya ha sido comentado previamente la medida de la PI despertó interés hace ya bastantes años, junto con los estudios de la PE, en los trabajos realizados para comprender el estado de la hidratación corneal.

En nuestro estudio hemos hallado, a través de la canulación del estroma corneal, una presión negativa en dicho estroma corneal que muestra un lento aumento de la negativización a lo largo del tiempo, hasta alcanzar unos valores estables. Estos resultados son compatibles con los presentados previamente por Hedbys⁸⁰, cuyo método nos ha servido de modelo para la realización de nuestro trabajo, aunque con algunas modificaciones como son el manómetro utilizado y el tiempo durante el que hemos registrado la PIC. En su trabajo Hedbys y col. hallaron que el cambio de presión a lo largo del tiempo tenía una tendencia a la forma exponencial, aunque frecuentemente irregular. También comentaban que aunque la tasa de movimiento variaba, en los casos con una hidratación normal y con el mejor desplazamiento de volumen se tendía a la mitad del equilibrio en 15-30 minutos y se mantenía en 1 ó 2 mmHg del valor extremo en una hora y media a 3 horas. Realizaron tanto medidas “in vitro” como “in vivo”, encontrando que en las medidas “in vivo” (en torno de -40 a -50 mmHg) los valores de la medida de PI eran menores que los hallados “in vitro” (unos -60mmHg), y relacionan la PI con la PE según la fórmula: $PI = PIO - PE$, sin embargo los intentos que realizaron para ver la influencia de la PIO sobre la PI fueron infructuosos.

A lo largo de la historia, la presión en el estroma corneal ha sido medida con mayor frecuencia de forma indirecta, conociéndose entonces como PE. En la mayoría de los trabajos realizados las PE tenían valores bastante similares, en torno a 60mmHg, si bien la mayoría de las medidas eran realizadas “in vitro” y en córneas de ternera¹⁴²,

pero ya algunos autores observaron que el estroma se edematiza más o menos rápidamente según se encuentren o no dañadas las membranas limitantes, se asume que el estroma “in vivo” está sometido a fuerzas de deshidratación en una o ambas membranas y si esto ocurre este mecanismo de deshidratación dará lugar a la PE succionando líquido fuera del tejido y comprimiendo la estructura del estroma. Así midiendo la PE del estroma “in vivo”, se puede obtener un valor aproximado de la presión del mecanismo de deshidratación¹⁴².

Sin embargo también existe alguna determinación de la PE “in vivo”, la realizó Klyce SD. y col.¹⁴⁸, ellos introducían discos de hidrogel en el estroma corneal de ojos de conejo, en este trabajo encontraban que la PE rondaba en torno a los 50mmHg, aunque ellos no encuentran una explicación para la discrepancia con los valores hallados por Hedbys y Dohlman salvo el margen de error de los distintos métodos empleados.

En el trabajo de Hedbys la presión hallada era de menor cantidad que en los expuestos previamente (con medidas de -41 a -46mmHg), pero esto puede deberse según los autores a ser un trabajo realizado “in vivo”, en el cuál el escenario fisiológico en el que se realizan las mediciones difiere del resto, entre otras cosas está presente la PIO, y como hemos comentado, cuando se tiene en cuenta a dicha presión la PE se iguala a la PI.

Según lo publicado por algunos autores^{80, 418}, la medida de la PI muestra una disminución lenta hasta que alcanza una estabilidad después de horas, en nuestro trabajo decidimos realizar la medición de la PIC únicamente durante 45 minutos en los diversos estudios llevados a cabo, pues determinamos que era un tiempo suficiente para detectar posibles diferencias entre los distintos grupos de estudio, esta es una posible

causa para explicar porque nuestros resultados de PIC no alcanzan valores tan negativos como en los trabajos publicados previamente.

Históricamente la presión a la que el tejido absorbe el suero salino de una aguja insertada a nivel del estroma se ha denominado PI, aunque nosotros hemos preferido utilizar el término PIC por ser este más descriptivo.

Para asegurarnos que la medida que realizabamos era intraestromal, ya que introducimos una cánula de 27G (0,40mm) en una córnea de conejo que mide también unos 0.40mm⁴¹⁷, y aunque era la aguja que usaban Hedbys y col.⁸⁰ en su experimento realizado también en conejos, decidimos localizar la posición exacta de la cánula mediante OCT de cámara anterior (Visante) gracias a la cual corroboramos su correcta situación en el estroma corneal ocupando unos dos tercios del espesor corneal, como se puede apreciar en la figura 25.

Por lo tanto una vez que comprobamos que con el método explicado previamente para realizar medidas de PIC eramos capaces de registrar esta, decidimos realizar el resto de estudios descritos previamente.

2. Efectos del tratamiento agudo con inhibidores de la anhidrasa carbónica sobre la presión intraestromal corneal “in vivo”

En nuestro trabajo encontramos que el tratamiento tópico con dorzolamida disminuye significativamente la presión negativa del estroma corneal, sugiriendo que la función endotelial se encuentra afectada por dicho fármaco.

Nuestro hallazgo es consistente con los casos publicados de edema corneal inducido por dorzolamida en pacientes susceptibles por tener un endotelio corneal comprometido, en los que se observaba como el tratamiento tópico con dorzolamida

producía un edema corneal irreversible^{405, 407}, aunque este es un tema controvertido, porque la mayoría de los pacientes reportados presentaban varios factores de riesgo para el desarrollo de edema corneal⁴⁰⁶. Los efectos a largo plazo de la dorzolamida sobre el endotelio corneal no han sido dilucidados totalmente, aunque se conoce que la dorzolamida produce una inhibición de la AC del endotelio corneal que causa una disminución del 50% del transporte de fluido en el endotelio^{89, 92} y edematización corneal⁸⁹.

Existen otros métodos indirectos de evaluar la función endotelial, como puede ser la medida del ECC. En diversos estudios se ha observado que los IAC producen un aumento del ECC cuando son administrados tópicamente, tanto en córneas con patología endotelial como la córnea guttata, en los que se produce un aumento leve (12µm) pero estadísticamente significativo frente a córneas sanas (1µm) en las primeras 24 horas de tratamiento⁴¹¹, como en córneas sanas. Así Inoue y col.⁴⁰⁹ encontraron un aumento significativo, de 7µm tras 3 meses de tratamiento, Wilkerson y col.⁴⁰⁸ hallaron un aumento leve aunque significativo (de 0.007mm a 0.009mm) tras un mes de tratamiento, Herndon y col.¹⁶³ encontraron que los ojos con glaucoma tratados con dorzolamida tenían un ECC mayor que los ojos con glaucoma tratados con otros fármacos, sugiriendo que en las córneas con tratamiento el contenido de agua aumenta debido a una disminución de la función endotelial inducida por dicho fármaco. Sin embargo, como hemos comentado es un tema controvertido, y otros autores no han encontrado cambios significativos en el EC tras el tratamiento incluso de un año con dorzolamida como son los trabajos de Lass y col.⁴¹⁹, Egan y col.⁴¹² o Giasson⁴⁰⁴ y col.

De todos modos, debido a que la cantidad de aumento de EC es pequeña, el número de ojos que necesitan ser analizados para obtener una significación estadística es relativamente grande.

Existen también trabajos en los que se ha estudiado la respuesta del EC al tratamiento con dorzolamida en conejos, así en el trabajo de Almeida GC y col.⁴²⁰ no encontraban diferencias estadísticamente significativas en el ECC en el grupo tratado con dorzolamida y el grupo placebo tras 18 semanas de tratamiento, sin embargo en el trabajo presentado por Chiaradia y col.⁴²¹, que se realizó en ojos de conejos sometidos a un trasplante corneal, sí existe un aumento del EC y un mayor edema corneal en los ojos tratados con dorzolamida frente al otro grupo del estudio que recibe tratamiento con latanoprost.

Otro método utilizado para evaluar la función endotelial es la tasa de desedematización tras la inducción de edema corneal^{118, 119, 412}, aunque teóricamente este método evalúa de forma precisa la función endotelial total (tanto la función barrera como la función bomba endotelial), Egan y col.⁴¹² no hallaron que el tratamiento tópico con dorzolamida produjera un efecto significativo en la tasa de desedematización en humanos, aunque una diferencia menor a 12 micras en el edema corneal no sería detectable en su estudio debido a la escasa muestra del mismo, por lo que quizás un leve efecto del fármaco sobre la función endotelial podría haber pasado inadvertido.

Esto está en desacuerdo con nuestros hallazgos, lo que sugiere que la medida de la PIC es un método mucho más sensible que otros para la evaluación del efecto de la dorzolamida sobre la función endotelial, ya que obtenemos resultados estadísticamente significativos con sólo 7 ojos de conejo.

La PIC es de gran interés a la hora de estudiar los mecanismos responsables de mantener la hidratación corneal constante. Aunque la regulación del contenido de agua de la córnea se mantiene en gran parte por las células endoteliales, la hidratación corneal es el resultado de diversos factores, entre los que se incluyen la PE estromal, la barrera epitelial, la superficie de evaporación y la PIO.

El contenido de glicosaminoglicanos del estroma corneal juega un papel fundamental en el equilibrio homeostático, porque pueden absorber y retener grandes cantidades de agua. La tendencia de dichas sustancias a edematizarse es el resultado de las cargas negativas que existen en los glicosaminoglicanos (principalmente queratán sulfato y condroitín sulfato) que se repelen entre ellas, y así expanden el estroma corneal (incrementando el EC). Esta tendencia a la edematización es la referida como PE y es independiente de la función bomba endotelial.

El papel fisiológico más importante del endotelio corneal es regular el contenido de agua del estroma corneal. Las células endoteliales contienen sistemas transportadores de iones que contrarrestan la PE estromal y la tendencia del humor acuoso a penetrar en la córnea debido a la PIO. Así, si la función de bomba endotelial disminuye, la córnea se edematiza y el ECC aumenta, debido a un aumento en la irregularidad de las distancias que existen entre las fibras de colágeno. Por lo tanto, el mecanismo de bomba del endotelio corneal en última instancia determina la distancia entre las fibras de colágeno y, junto a la regulación del metabolismo del agua por los glicosaminoglicanos, la transparencia y el EC.

Tanto la hidratación corneal como la PIC dependen claramente de diversos factores, no sólo de la función endotelial. Por ejemplo, cambios en la barrera epitelial o en el contenido corneal de glicosaminoglicanos podrían afectar a la PIC. Sin embargo, debido a que en el estudio que hemos realizado las condiciones se mantuvieron de la misma manera cuando se medía la PIC en ambos grupo, el grupo control y el grupo estudio, creemos que nuestros resultados reflejan el hecho de que la dorzolamida induce una disminución en la función bomba endotelial, y que no se deben a cambios en la barrera epitelial. Además, aunque teóricamente un cambio en el contenido de glicosaminoglicanos podría afectar a la PIC, creemos que es altamente improbable que

un tratamiento de 3 días con dorzolamida tópica pudiera inducir un cambio en la composición bioquímica de la córnea.

3. Efectos del tratamiento agudo con agonistas α_2 adrenérgicos sobre la presión intraestromal corneal “in vivo”

En nuestro estudio encontramos a los 15 minutos una menor negativización de la PIC en el grupo tratado frente al grupo control, sin embargo no encontramos diferencias entre el grupo estudio y el grupo control ni a los 30 ni a los 45 minutos, por lo que observamos que existe un leve retraso en la negativización de la PIC.

Según nuestros resultados la aplicación tópica de brimonidina produce una modificación en la PIC, este resultado apoyaría los hallazgos referidos por diversos autores, que han encontrado un aumento de la tasa de desplazamientos del flap corneal tras el tratamiento tópico con brimonidina ^{222, 422}.

La bomba endotelial se ha propuesto como un importante mecanismo del mantenimiento del flap corneal en el periodo postoperatorio temprano tras la cirugía LASIK, existiendo una mayor tasa de desplazamientos de flap en ojos con endotelios dañados ²²¹, además Bissen-Miyajima y col. ⁴²³ demostraron su papel fundamental en la adhesión del flap al medir la fuerza necesaria para despegar el flap corneal tanto en córneas con un endotelio intacto como en córneas cuyo endotelio estaba dañado bien mecánicamente o bien por la utilización de ouabaina y observaron que era necesaria una fuerza menor para conseguir separar el flap corneal del lecho estromal en los grupos con la bomba endotelial inhibida bien por la ouabaina o bien por un daño mecánico

Nuestros resultados muestran como la aplicación tópica de brimonidina produce una alteración a nivel de la PIC cuando es medida mediante canulación directa del

estroma corneal, sugiriendo así que este fármaco afecta a la función bomba del endotelio corneal que, como acabamos de comentar, es un mecanismo fundamental en la adhesión del flap corneal. El efecto sobre la función endotelial parece ser leve, pues lo que encontramos es un retraso en el tiempo necesario para alcanzar los valores negativos de la PIC en comparación con el grupo control.

Existen diversos mecanismos que pueden explicar la mayor tasa de desplazamiento del flap por parte de la brimonidina, uno de ellos es que la vasoconstricción inducida por la brimonidina en los vasos anteriores oculares puede producir un grado relativo de hipoxia que puede causar una disminución en la función de la bomba endotelial, siendo otra posibilidad que la brimonidina pueda tener un efecto tóxico directo en las células endoteliales y también se ha postulado una posible función lubricante ^{222, 424-426}. Desafortunadamente nuestro método no nos proporciona información sobre el mecanismo que produce la disfunción endotelial, además, debido a que el efecto que hallamos de la brimonidina sobre la bomba endotelial es leve, no podemos excluir que existan otros mecanismos que también jueguen un papel, como un efecto mecánico de la brimonidina en la superficie corneal.

4. Efectos del tratamiento con prostaglandinas sobre la presión intraestromal corneal “in vivo”

Encontramos en los ojos que han recibido tratamiento durante un mes con travoprost una PIC negativa que va aumentando a lo largo del tiempo, sin embargo, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que recibía dicho tratamiento y el grupo control.

Al contrario que en los trabajos que se han realizado con otros fármacos que, como ha sido explicado en los apartados previos, producen alteraciones sobre la bomba endotelial, el travoprost, y posiblemente el resto prostaglandinas al compartir el mecanismo de acción, no parece producir ningún efecto directo sobre dicha bomba endotelial, que como ya se ha comentado es la principal responsable de la PIC, siendo los hallazgos de nuestro trabajo consistentes con este hecho al no encontrar diferencias significativas entre el grupo que recibe tratamiento con travoprost.

Como ha sido comentado previamente en el apartado de introducción las prostaglandinas producen una disminución de la PIO al aumentar la salida del humor acuoso a través de la vía uveoescleral gracias a la remodelación de la matriz extracelular del músculo ciliar y la esclera, lo que da lugar a cambios en la permeabilidad de estos tejidos, ampliando los espacios de tejido conectivo entre los haces del músculo ciliar⁴²⁷. En nuestra búsqueda hemos encontrado pocos trabajos que midan directamente la conductividad hidráulica en la esclera, como el presentado por Jackson y col.⁴²⁸ y previamente el realizado por Fatt y Hedbys⁴²⁹ en el que más que el flujo de agua escleral miden la presión de edematización. Una posibilidad es que al igual que en la esclera las prostaglandinas también aumenten la conductividad hidráulica en el estroma corneal, pues en él también se encuentra colágeno tipo III, y por lo tanto puede ser degradado por las MMPs, habiéndose encontrado en distintos trabajos un aumento en la producción de MMPs y una disminución del EC, por lo tanto es posible que exista también en el estroma corneal una mayor conductividad hidráulica con un mayor movimiento de agua y que esto de alguna manera pudiera afectar a la hidratación corneal y quizás producir cambios a nivel de la bomba endotelial para conseguir mantener constante la hidratación corneal, sin embargo en nuestro estudio no hemos detectado diferencias significativas en la medida de la PIC entre ambos grupos, bien

porque no existan o bien porque no puedan ser detectadas por nuestro método, quizás un trabajo que midiera el grado de hidratación corneal o bien directamente la conductividad hidráulica de la córnea hubiera podido encontrar diferencias, pero estas medidas quedaban fuera de los objetivos de nuestro trabajo.

5. Efectos de tratamiento con prostaglandinas sobre el espesor corneal central

En nuestro estudio encontramos un mayor ECC en los ojos que han recibido tratamiento tópico con travoprost durante un mes que en el grupo control.

Nuestros resultados difieren con lo publicado por la mayoría de autores, los cuales tras el tratamiento con prostaglandinas encuentran una disminución del ECC, así Hatanaka y col.⁴³⁰ realizan un estudio prospectivo en el que encuentran una disminución estadísticamente significativa del EC en ojos tratados durante ocho semanas tanto con latanoprost (de $548,57 \pm 32,4 \mu\text{m}$ a $543,88 \pm 35,6 \mu\text{m}$), como con bimatoprost (de $544,41 \pm 35,4 \mu\text{m}$ a $540,35 \pm 35,9 \mu\text{m}$) o con travoprost (de $538,47 \pm 32,0 \mu\text{m}$ a $532,25 \pm 30,4 \mu\text{m}$) y explican que puede deberse al efecto sobre la córnea que pueden tener las MMPs activadas por las prostaglandinas. Harasymowycz y col.⁴³¹ encontraron en el estudio prospectivo que realizaron una disminución media de $6,9 \mu\text{m}$ tras seis semanas de tratamiento con travoprost en 379 pacientes con diagnóstico de GCAA o HTO, ellos también proponen que la activación de las MMPs pueden producir cambios físicos en la arquitectura corneal, aunque también dan otra explicación independiente del fármaco y es que la bajada de la PIO posiblemente produce una disminución de la hidratación corneal que se pueden manifestar como una disminución

del ECC. Sen y col.⁴³² realizaron un trabajo con un seguimiento de hasta 24 meses en pacientes con latanoprost y bimatoprost y observaron que en el grupo de latanoprost el ECC basal era de $559\pm 35,3\mu\text{m}$ disminuyendo a $555,5\pm 33,0\mu\text{m}$ a los 6 meses, a $552,6\pm 33,7\mu\text{m}$ a los 12 meses y a $552,8\pm 33,7\mu\text{m}$ a los 24 meses mientras que en el grupo con bimatoprost el ECC basal era de $553,4\pm 31,7\mu\text{m}$ que disminuía a $544,0\pm 32,8\mu\text{m}$ tras 6 meses de tratamiento, situándose en $549,0\pm 30,0\mu\text{m}$ a los 12 meses y de $545,7\pm 32,9\mu\text{m}$ a los 24 meses.

El hecho de que estos estudios sean prospectivos eliminan el posible sesgo de selección de los primeros estudios transversales, en los cuales los pacientes con córneas más finas y peores glaucomas podrían haber sido seleccionados para el tratamiento con análogos de prostaglandinas^{346, 347}.

Sin embargo hay otros autores que al igual que en nuestro trabajo han encontrado un aumento del EC con tratamiento con prostaglandinas, así Bafa³⁴⁸ realiza un estudio en pacientes con GCAA y compara grupos tratados con prostaglandinas: latanoprost, travoprost y bimatoprost, con un grupo control que recibía tratamiento con timolol 0,5%. Hallaron un aumento leve pero significativo en el ECC en el grupo de prostaglandinas frente al control, y más concretamente hallaron un aumento en el grupo tratado con bimatoprost tanto al mes, 3 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses y 24 meses, mientras que en el grupo de latanoprost sólo se encontró aumento en el ECC al mes, 3 meses, 9 meses y 12 meses de tratamiento, sin embargo no encuentran diferencias significativas en el ECC en ninguno de los tiempos estudiados en el grupo con travoprost. Los autores exponen como una posible causa del aumento de EC que encuentran el cambio en la forma de las células que se ha descrito que se produce con la instilación de latanoprost al aumentarse la concentración intracelular de calcio libre y la activación de la proteína kinasa c^{433, 434}, y aunque refieren que no encuentran una

explicación obvia de por qué el ECC no fue afectado por el travoprost, sí comentan que los tres fármacos aún perteneciendo a la misma familia y teniendo una acción similar presentan diferencias en cuanto a la estructura química y a las cantidades de principios activos y conservantes que presentan, siendo el travoprost el que contiene mayor concentración de cloruro de benzalconio y el único de los tres que tiene enlaces CF₃ en su estructura molecular.

También Schacar R. y col. han presentado recientemente en el congreso de la Academia Americana de Oftalmología una comunicación en panel en el que están investigando un agonista de los receptores EP₂, taprenepag, y encuentran un aumento del ECC en el grupo tratado con taprenepag bien en monoterapia o bien en combinación con latanoprost, frente al grupo tratado con latanoprost (comunicación en el congreso de la Academia Americana de Oftalmología, Chicago 2010. Schacar R, Raber S., Zhang M. A randomized, multicenter clinical trial of the IOP-reducing effect of the EP₂ agonist Taprenepag Isopropyl (PF-04217329).

Existen diversos factores que podrían explicar las diferencias entre los estudios comentados y nuestros resultados, uno de ellos es que nuestro estudio ha sido realizado en animales, mientras que la mayoría de los estudios se refieren a humanos y esto podría explicar que existan diferencias, pues ya se ha observado que las distintas especies de animales poseen distintos tipos de sistemas visuales que han ido evolucionando para adaptarse a los diferentes comportamientos de los vertebrados, y así Bito y col.⁴³⁵ defienden que los conejos podrían dar lugar a hallazgos similares sólo en especies con una adaptación de comportamiento similar a ellos. También se han encontrado diferencias fundamentales en la especificidad de los receptores de los varios efectos oculares de las prostaglandinas⁴³⁶, así las prostaglandinas que tenían un efecto colateral mínimo en los conejos a dosis hipotensivas efectivas mostraban tener efectos

adversos mayores y podían incrementar la PIO en ojos humanos⁴³⁷, sin embargo dado el carácter invasivo de nuestro método y que los conejos han sido y siguen siendo ampliamente utilizados en el estudio de las prostaglandinas decidimos usar esta especie en nuestro trabajo.

En nuestro estudio el tratamiento se mantenía durante un mes, mientras que vemos que en los distintos trabajos que han sido previamente comentados el tiempo de tratamiento era mayor, habiendo podido esto influir en los resultados hallados.

Otra diferencia sustancial es que las medidas eran realizadas bajo anestesia general, que modifica la PIO y por lo tanto podría influir en el ECC, así es conocido que la anestesia general disminuye la PIO, aunque este efecto es mayor con los gases como el sevoflurano y menor con la ketamina, al menos en humanos^{264, 438}, por lo que es posible que si el experimento se hubiera realizado con el animal despierto el resultado hubiera sido distinto.

Otra posible explicación sería que el travoprost produjera una alteración epitelial y un posible edema corneal, sin embargo aunque esta explicación sea posible parece poco probable, pues no observamos ningún signo de irritación ocular y las córneas se encontraban transparentes durante la realización del experimento, existiendo además trabajos en los que se observa una función de barrera epitelial intacta tras instilación de latanoprost⁴³⁹.

También hay que tener en cuenta un error en la medida del ECC, aunque la medida en este trabajo fue realizada siempre por la misma persona, se han encontrado variaciones de hasta 15µm en medidas realizadas por distintos operadores o bien por el mismo⁴⁴⁰, que además puede verse incrementado por la variabilidad del ECC⁴⁴¹.

6. Efectos del tratamiento con prostaglandinas sobre el complejo zónulo-cristaliniano

Nuestros resultados muestran que el tratamiento tópico con latanoprost disminuye la profundidad de cámara anterior en pacientes con GCAA o con HTO sin afectar a la agudeza visual ni al grosor cristaliniano. También encontramos que el efecto de la pilocarpina tópica sobre la profundidad de cámara anterior es igual tanto antes como después del tratamiento con latanoprost.

El ecógrafo ultrasónico utilizado en este estudio da resultados consistentes con una buena reproducibilidad, así no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en las medidas de la profundidad de cámara anterior y del grosor del cristalino realizadas en dos exámenes repetidos en el mismo ojo control en dos días distintos, de hecho los resultados fueron prácticamente los mismos (tabla 9). En base a estos resultados creemos que las diferencias encontradas en este estudio reflejan cambios reales en los parámetros que analizamos.

Existen estudios que han identificado cambios biológicos inducidos por las prostaglandinas en las fibras ciliares de la zónula^{313, 338, 343, 442-445}. Nuestros resultados son consistentes con los hallazgos de estos estudios y podrían reflejar el efecto mecánico de estos cambios bioquímicos.

Hay tres posibles mecanismos mediante los cuales el latanoprost puede disminuir la profundidad de la cámara anterior y son: un engrosamiento a nivel del cristalino, la contracción del músculo ciliar o la relajación zonular.

De acuerdo con los resultados de nuestro trabajo, la disminución de la profundidad de la cámara anterior inducido por el latanoprost no se debe a un cambio a

nivel de la forma del cristalino, ya que el latanoprost no produce cambios significativos en el grosor cristaliniano.

El segundo de los mecanismos comentados para explicar la disminución de la profundidad de la cámara anterior por parte del latanoprost es la contracción del músculo ciliar. En nuestro trabajo hemos realizado las medidas tanto en el grupo control como en el grupo con tratamiento con latanoprost una hora después de instilarles pilocarpina al 2%, que produce una contracción del músculo ciliar, como es sabido la zónula forma el ligamento suspensorio del cristalino y se encuentra anclada al cuerpo ciliar y a la cápsula cristaliniana, siendo su principal función mediar en los cambios de forma, curvatura y posición de la lente. Así la contracción zonular induce un adelgazamiento del cristalino y su posicionamiento más posterior, mientras que la relajación permite la vuelta a una forma más esférica del cristalino. Si el latanoprost indujera una contracción del músculo ciliar, entonces el efecto de la pilocarpina sobre la profundidad de la cámara anterior antes y tras un mes de tratamiento con latanoprost probablemente habría sido distinto, y según nuestros resultados, la disminución en la profundidad de la cámara anterior se mantuvo sin cambios tras el tratamiento con latanoprost, por lo que este tampoco parece ser el mecanismo. Además algunos estudios han mostrado que el latanoprost no causa una contracción significativa del músculo ciliar^{446, 447}, así Yamaji y col.⁴⁴⁶ investigaron los efectos de diversas prostaglandinas y del latanoprost sobre la respuesta contráctil evocada eléctricamente de músculo ciliar aislado en monos rhesus y mostraron que el latanoprost no cambiaba de forma significativa la amplitud de respuesta de este músculo. Además, Yoshitomi y col.⁴⁴⁷ publicaron que el latanoprost no afectaba a la contracción evocada por estimulación de campo, lo que indica que este fármaco no tiene efecto presináptico.

El otro posible mecanismo por el cual el latanoprost podría modificar la profundidad de cámara anterior es mediante la relajación de la zónula. Alguno de los componentes zonulares como la fibrilina 1 y el colágeno IV^{444, 445} pueden ser modificados por las prostaglandinas y las MMPs⁴⁴⁸. La glicoproteína fibrilina es el componente principal de la zónula y juega un importante papel en la fuerza y la elasticidad de los tejidos conectivos oculares. Las microfibrillas de la zónula están compuestas casi exclusivamente de fibrilina-1 (Mayne R. y col. IOVS 1997; 38: ARVO abstract 1399)⁴⁴⁹, que puede proporcionar la fuerza de soporte estructural a los tejidos. Un estudio mostró como miembros de la familia de enzimas MMPs pueden degradar las moléculas de fibrilina 1 y romper las microfibrillas ricas en fibrilina⁴⁵⁰ así como romper la ultraestructura de los haces zonulares intactos⁴⁴⁵. Por lo tanto, las MMPs juegan un papel en el recambio de microfibrillas de fibrilina en la matriz extracelular ocular y en la zónula ciliar. El latanoprost aumenta la actividad de las MMPs en el músculo ciliar, y podría hacer lo mismo en la zónula, cambiando su estructura y por lo tanto su fuerza y elasticidad. Estos cambios podrían explicar la disminución de la profundidad de cámara anterior tras el tratamiento con latanoprost que hemos encontrado en nuestro estudio.

Además, el colágeno IV, otro componente zonular que sirve como recubrimiento alrededor de las fibras, es también degradado por la prostaglandina F_{2α} en la vía de salida uveoescleral, y eso podría ocurrir también en las fibras zonulares y debilitarlas aún más.

Existe un estudio que no encontró ningún cambio significativo en la profundidad de cámara anterior 50 – 60 minutos después de una simple aplicación de latanoprost, creemos que estos resultados no son contradictorios con nuestros hallazgos, porque

cualquier cambio bioquímico asociado con las MMPs que el latanoprost pueda causar en tejidos oculares podría necesitar días o semanas para aparecer.

Otros autores también han encontrado, al igual que nosotros, una profundidad de cámara anterior menor en pacientes tratados tanto con latanoprost como con bimatoprost⁴⁵¹ durante más de un año.

Como ya ha sido comentado la contracción zonular produce un adelgazamiento del cristalino y lo empuja hacia atrás, mientras que la relajación zonular permite al cristalino volver a su forma más esférica de reposo. Si el latanoprost produjera cambios estructurales a nivel zonular debilitándola más, su fuerza y elasticidad podrían también cambiar, y esto podría explicar los resultados hallados en nuestro estudio.

7. Efectos del tratamiento con prostaglandinas sobre los cambios de espesor corneal central ante cambios agudos de la presión intraocular

En nuestro estudio hallamos que los incrementos agudos de la PIO producen una disminución del ECC, siendo la disminución de ECC mayor a mayor PIO. Además observamos que la disminución del ECC es mayor en el grupo que ha recibido tratamiento con travoprost durante un mes que en el grupo control.

Nuestros resultados son acordes con los estudios realizados previamente en los que se encontraba una relación inversa entre el aumento de la PIO y el EC, así por ejemplo Ehlers encontró córneas más gruesas en pacientes con desprendimiento de retina que tenían una PIO baja, así como que en ojos con PIO elevada la disminución de esta producía un aumento de EC^{147, 188, 194}. Existen estudios más recientes, como el

realizado por Dawson y col.¹⁹³, quienes evaluaron los efectos del edema corneal en córneas humanas que habían sido intervenidas de LASIK, siendo el edema corneal inducido de dos maneras, bien produciendo un daño endotelial o bien produciendo un aumento de PIO. Para ello crearon un grupo con daño endotelial y un grupo control en el que mantenían una presión de 15mmHg, mientras que en el grupo de alta presión las córneas eran sometidas a una presión de 55mmHg. En este trabajo el ECC se medía mediante microscopía confocal y, al igual que nosotros, hallaron una disminución en el ECC total en el grupo de presión elevada frente al grupo control, aunque sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas. Una característica de este estudio es que se realiza en pacientes con una cirugía LASIK y los autores observan que las córneas se edematizan principalmente en la cicatriz de LASIK, zona con un deficiente número de fibras de colágeno. Según sus resultados apuntan que una presión elevada comprime el fluido fuera del estroma corneal.

Por su parte Hennighausen y col.¹⁹² investigan como los cambios de presión producidos en córneas edematosas y no edematosas afectan a la deformación corneal tanto anterior como posterior, en lo que se refiere al EC en su trabajo encuentran una disminución cuando la PIO aumenta desde 5mmHg a 65mmHg, tanto en las córneas edematosas (42 μ m) como en las córneas normales (27 μ m) y dicha disminución con el aumento de la PIO se ve generalmente como resultado de la incompresibilidad del tejido.

En nuestro trabajo observamos también que los ojos que han sido sometidos a tratamiento con travoprost presentan un mayor porcentaje de disminución de EC con los aumentos de PIO, así en el grupo control la disminución de EC desde la paquimetría basal a la paquimetría registrada a 30mmHg de PIO es del 19,5% (de 373 \pm 15,5 μ m a

299±15µm), mientras que en el grupo que recibió tratamiento con travoprost la disminución fue del 26,3% (de 408±30,9µm a 300±25µm).

Pueden existir varias explicaciones para estas diferencias, una de ellas es que exista una mayor desecación durante la realización del experimento, pero no parece que sea la causa probable por varias razones: en primer lugar mantenemos las córneas de ambos grupos hidratadas durante todo el tiempo de realización del experimento y en ningún momento apreciamos signos de irritación ocular ni de desecación en ninguno de los dos grupos, también el hecho de que ambos ojos eran randomizados para ser el primero o el último en ser examinado hace que sea improbable, en nuestra opinión, que este factor de confusión afecte nuestros resultados. Además en el trabajo que hemos comentado de Hennighausen ¹⁹² utiliza ojos en los que desepiteliza la córnea para conseguir una edematización, y no encuentra diferencias significativas en el porcentaje de reducción del EC entre el grupo control y el grupo con córneas edematosas.

Otra posible causa en la diferencia encontrada entre el grupo control y el grupo tratado con travoprost es que dicho fármaco produzca cambios a nivel histológico, como ya ha sido comentado previamente las prostaglandinas producen cambios en la córnea a nivel de la composición del colágeno, y existen trabajos en los que se ha visto tanto el incremento de ciertas MMPs tras el tratamiento con prostaglandinas, produciendo degradación de las fibras de colágeno y dando lugar a un aumento de la permeabilidad escleral ³⁴⁵, como trabajos en los que el cross-linking del colágeno disminuye la permeabilidad corneal, se cree que por la restricción del espacio intersticial del estroma ⁴⁵². Además se ha publicado el caso de un rápida progresión de un queratocono tras instaurarse tratamiento con prostaglandinas ³⁵³ y se ha observado también que la disminución de la PIO puede producir regresiones en la ectasia post LASIK ²²⁴.

Así una posible explicación al distinto comportamiento encontrado en nuestro trabajo entre el grupo control y el grupo con tratamiento con travoprost ante los cambios agudos de PIO es que los cambios que produce dicho fármaco a nivel del colágeno en el estroma corneal den lugar a cambios en la hidratación estromal y a cambios en la deformación elástica de la córnea.

8. Efectos de los cambios agudos de la presión intraocular sobre presión intraestromal corneal en ojos tratados con prostaglandinas

En nuestro trabajo los incrementos agudos de PIO no producen diferencias estadísticamente significativas en la PIC en los ojos tratados con travoprost.

En ambos grupos encontramos una PIC negativa que va aumentando con el paso del tiempo, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en ninguno de los tiempos registrados. El mecanismo de acción de las prostaglandinas parece ser un incremento de la salida de humor acuoso tanto a través de la vía presión-independiente, la uveoescleral, como por la vía presión-dependiente, la trabecular o convencional ⁴²⁷, gracias al remodelamiento que producen en distintos tejidos oculares al unirse los principios activos de las prostaglandinas a sus receptores. Que sepamos no existen receptores a nivel corneal, por lo que las prostaglandinas no ejercen ningún efecto sobre el endotelio y no afectan el mecanismo de bomba que este posee y que es responsable de la PIC.

Sí que sabemos que el tratamiento con prostaglandinas produce un remodelamiento a nivel del estroma corneal y también se ha visto que hay un aumento de la conductividad hidráulica a nivel escleral. Una posibilidad es que se produzca también un aumento de la conductividad hidráulica a nivel del estroma corneal, pues

sabemos que las prostaglandinas producen también un remodelado corneal, similar al de esclera, aunque, hasta donde alcanza nuestro conocimiento, no existen trabajos sobre cambios en la conductividad hidráulica corneal tras el tratamiento con prostaglandinas. Este remodelado y posible aumento de la permeabilidad corneal podría hacer que el agua no se encuentre tan unida a sus enlaces en la córnea y que fuera más fácil su movimiento a través de la bomba endotelial y por lo tanto que se encontraran cambios a nivel de la PIC, pero nuestro trabajo, como hemos comentado, no encuentra diferencias entre ambos grupos. Sin embargo si observamos (como hemos explicado en apartados previos) que existe la disminución del EC esperada por la compresión del aumento de la PIO.

Nuestros resultados difieren a los hallazgos de los estudios previos realizados por Ytteborg y col., quienes concluyeron que la presión del fluido intersticial estromal alcanzaba valores positivos cuando la PIO era mayor que la presión de edematización del estroma corneal, sin embargo existen diferencias sustanciales con nuestro trabajo, ya que mientras ellos realizaban los estudios en córneas humanas “in vitro” nuestro estudio se ha realizado en animales “in vivo” y los rangos de PIO analizados también son diferentes.

CONCLUSIONES

Como resumen del análisis del presente trabajo, se señalan las siguientes conclusiones como principales:

1.- La medida de la PIC por canulación es reproducible en el animal de experimentación, teniendo un valor negativo que va aumentando a lo largo del tiempo.

2.- La medida de la PIC es un método válido y sensible para evaluar la función endotelial y detectar los cambios que el tratamiento tópico con dorzolamida produce en dicha función en conejos.

3.- La PIC se afecta por el tratamiento tópico con brimonidina en conejos.

4.- La PIC no se ve afectada por el tratamiento tópico con travoprost durante un mes en conejos.

5.- El tratamiento con travoprost durante un mes produce un aumento del EC en las córneas de conejos.

6.- El tratamiento con latanoprost durante un mes en afectos de GCAA o HTO produce una disminución de la profundidad de la cámara anterior y podría deberse a modificaciones a nivel del diafragma zónulo-ciliar.

7.- El tratamiento con travoprost durante un mes en córneas de conejos modifica la compresibilidad corneal ante incrementos agudos de PIO.

8.- El tratamiento con travoprost durante un mes en córneas de conejos no implica cambios de la PIC ante incrementos agudos de la PIO.

BIBLIOGRAFÍA

1. Española RA. *Diccionario de la lengua española*. 22 ed; 2001.
2. Tahsman W, Jaeger EA. *Duane's ophthalmology 2006 Edition*. 2006 ed: LWW; 2006.
3. Krachmer JH MM, Holland EJ. *Cornea. Fundamentals of cornea and external disease*. Sant Lous: Mosby; 1997.
4. *Refractive Surgery (Basic and Clinicial Science Course)*: American Academy of ophthalmology; 2008.
5. Maurice D. *The cornea and sclera*. New York; 1984.
6. Smolek MK, Klyce SD. Is keratoconus a true ectasia? An evaluation of corneal surface area. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1179-1186.
7. *Adler Fisiología del ojo*. 10 ed: Elsevier España; 2003.
8. Von Bahr G. Corneal thickness; its measurement and changes. *Am J Ophthalmol* 1956;42:251-266.
9. Maurice DM, Giardini AA. A simple optical apparatus for measuring the corneal thickness, and the average thickness of the human cornea. *Br J Ophthalmol* 1951;35:169-177.
10. Martola EL, Baum JL. Central and peripheral corneal thickness. A clinical study. *Arch Ophthalmol* 1968;79:28-30.
11. Mishima S. Corneal thickness. *Surv Ophthalmol* 1968;13:57-96.
12. Mishima S, Gasset A, Klyce SD, Jr., Baum JL. Determination of tear volume and tear flow. *Invest Ophthalmol* 1966;5:264-276.
13. Scherz W, Doane MG, Dohlman CH. Tear volume in normal eyes and keratoconjunctivitis sicca. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1974;192:141-150.
14. Holly FJ, Lemp MA. Tear physiology and dry eyes. *Surv Ophthalmol* 1977;22:69-87.
15. Barraquer RI, de Toledo MC, Torres E. *Distrofias y degeneraciones corneales. Atlas y texto*. Barcelona; 2004.
16. Tiffany JM. The normal tear film. *Dev Ophthalmol* 2008;41:1-20.
17. Doane MG. Interactions of eyelids and tears in corneal wetting and the dynamics of the normal human eyeblink. *Am J Ophthalmol* 1980;89:507-516.
18. Ffooks OO. DACRYOCYSTITIS IN INFANCY. *Br J Ophthalmol* 1962;46:422-434.
19. Friedenwald JS, Buschke W. Some Factors Concerned in the Mitotic and Wound-Healing Activities of the Corneal Epithelium. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1944;42:371-383.
20. Hanna C, Bicknell D, O'Brien J. Cell turnover in the adult human eye. *Archives Ophthalmology* 1961;99:599.
21. Hanna C, O'Brien JE. Cell production and migration in the epithelial layer of the cornea. *Arch Ophthalmol* 1960;64:536-539.
22. Khodadoust AA, Silverstein AM, Kenyon DR, Dowling JE. Adhesion of regenerating corneal epithelium. The role of basement membrane. *Am J Ophthalmol* 1968;65:339-348.
23. Hogan M, Alvarado J, Weddel E. *Histology of the Human Eye*. Philadelphia; 1971.
24. Buck RC. Measurement of centripetal migration of normal corneal epithelial cells in the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985;26:1296-1299.
25. Schermer A, Galvin S, Sun TT. Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *J Cell Biol* 1986;103:49-62.

26. Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983;24:1442-1443.
27. Konomi H, Hayashi T, Nakayasu K, Arima M. Localization of type V collagen and type IV collagen in human cornea, lung, and skin. Immunohistochemical evidence by anti-collagen antibodies characterized by immunoelectroblotting. *Am J Pathol* 1984;116:417-426.
28. Marshall GE, Konstas AG, Lee WR. Immunogold fine structural localization of extracellular matrix components in aged human cornea. I. Types I-IV collagen and laminin. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1991;229:157-163.
29. Marshall GE, Konstas AG, Lee WR. Immunogold fine structural localization of extracellular matrix components in aged human cornea. II. Collagen types V and VI. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1991;229:164-171.
30. Newsome DA, Foidart JM, Hassell JR, Krachmer JH, Rodrigues MM, Katz SI. Detection of specific collagen types in normal and keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;20:738-750.
31. Nakayasu K, Tanaka M, Konomi H, Hayashi T. Distribution of types I, II, III, IV and V collagen in normal and keratoconus corneas. *Ophthalmic Res* 1986;18:1-10.
32. Komai Y, Ushiki T. The three-dimensional organization of collagen fibrils in the human cornea and sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:2244-2258.
33. Tripathi RC, Bron AJ. Secondary anterior crocodile shagreen of Vogt. *Br J Ophthalmol* 1975;59:59-63.
34. Hayashi S, Osawa T, Tohyama K. Comparative observations on corneas, with special reference to Bowman's layer and Descemet's membrane in mammals and amphibians. *J Morphol* 2002;254:247-258.
35. Labbe A, Liang H, Martin C, Brignole-Baudouin F, Warnet JM, Baudouin C. Comparative anatomy of laboratory animal corneas with a new-generation high-resolution in vivo confocal microscope. *Curr Eye Res* 2006;31:501-509.
36. Marshall GE, Konstas AG, Lee WR. Collagens in ocular tissues. *Br J Ophthalmol* 1993;77:515-524.
37. Meek KM, Boote C. The organization of collagen in the corneal stroma. *Exp Eye Res* 2004;78:503-512.
38. Hirsch M, Renard G, Faure JP, Pouliquen Y. Study of the ultrastructure of the rabbit corneal endothelium by the freeze-fracture technique: apical and lateral junctions. *Exp Eye Res* 1977;25:277-288.
39. Wessel H, Anderson S, Fite D, Halvas E, Hempel J, SundarRaj N. Type XII collagen contributes to diversities in human corneal and limbal extracellular matrices. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2408-2422.
40. Maurice DM. The structure and transparency of the cornea. *J Physiol* 1957;136:263-286.
41. Hamada R, Giraud JP, Graf B, Pouliquen Y. [Analytical and statistical study of the lamellae, keratocytes and collagen fibrils of the central region of the normal human cornea. (Light and electron microscopy)]. *Arch Ophthalmol Rev Gen Ophthalmol* 1972;32:563-570.
42. Smolek MK. Interlamellar cohesive strength in the vertical meridian of human eye bank corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:2962-2969.
43. Smolek MK, McCarey BE. Interlamellar adhesive strength in human eye bank corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:1087-1095.
44. Randleman JB, Dawson DG, Grossniklaus HE, McCarey BE, Edelhauser HF. Depth-dependent cohesive tensile strength in human donor corneas: implications for refractive surgery. *J Refract Surg* 2008;24:S85-89.

45. Liu J, Roberts CJ. Influence of corneal biomechanical properties on intraocular pressure measurement: quantitative analysis. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:146-155.
46. Buzard KA. Introduction to biomechanics of the cornea. *Refract Corneal Surg* 1992;8:127-138.
47. Jue B, Maurice DM. The mechanical properties of the rabbit and human cornea. *J Biomech* 1986;19:847-853.
48. Hoeltzel DA, Altman P, Buzard K, Choe K. Strip extensimetry for comparison of the mechanical response of bovine, rabbit, and human corneas. *J Biomech Eng* 1992;114:202-215.
49. Hamilton KE, Pye DC. Young's modulus in normal corneas and the effect on applanation tonometry. *Optom Vis Sci* 2008;85:445-450.
50. Glass DH, Roberts CJ, Litsky AS, Weber PA. A viscoelastic biomechanical model of the cornea describing the effect of viscosity and elasticity on hysteresis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. United States; 2008:3919-3926.
51. Kotecha A. What biomechanical properties of the cornea are relevant for the clinician? *Surv Ophthalmol* 2007;52 Suppl 2:S109-114.
52. Wilson SE, Netto M, Ambrosio R, Jr. Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease. *Am J Ophthalmol*. United States; 2003:530-536.
53. Jester JV. Corneal crystallins and the development of cellular transparency. *Semin Cell Dev Biol*. England; 2008:82-93.
54. Du Y, Funderburgh ML, Mann MM, SundarRaj N, Funderburgh JL. Multipotent stem cells in human corneal stroma. *Stem Cells* 2005;23:1266-1275.
55. Scott JE, Bosworth TR. The comparative chemical morphology of the mammalian cornea. *Basic Appl Histochem* 1990;34:35-42.
56. Johnson D, Bourne W, Campbell R. The ultrastructure of Descemet's membrane. I. Changes with age in normal cornea. *Archives Ophthalmology* 1982;100.
57. Tamura Y, Konomi H, Sawada H, Takashima S, Nakajima A. Tissue distribution of type VIII collagen in human adult and fetal eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:2636-2644.
58. Nakagawa T, Maeda N, Okazaki N, Hori Y, Nishida K, Tano Y. Ultrasound biomicroscopic examination of acute hydrops in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2006;141:1134-1136.
59. Obata H, Tsuru T. Corneal wound healing from the perspective of keratoplasty specimens with special reference to the function of the Bowman layer and Descemet membrane. *Cornea* 2007;26:S82-89.
60. MJ. H, JA. A, E. W. Histology of the human eye. Philadelphia: WB Saunders; 1971.
61. Edelhauser HF. The resiliency of the corneal endothelium to refractive and intraocular surgery. *Cornea* 2000;19:263-273.
62. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 1985;4:671-678.
63. Mishima S. Clinical investigations on the corneal endothelium-XXXVIII Edward Jackson Memorial Lecture. *Am J Ophthalmol* 1982;93:1-29.
64. Laule A, Cable MK, Hoffman CE, Hanna C. Endothelial cell population changes of human cornea during life. *Arch Ophthalmol* 1978;96:2031-2035.
65. Hedbys BO, Mishima S. The thickness-hydration relationship of the cornea. *Exp Eye Res* 1966;5:221-228.
66. Olsen T. Corneal thickness and endothelial damage after intracapsular cataract extraction. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1980;58:424-433.

67. Cheng H, Bates AK, Wood L, McPherson K. Positive correlation of corneal thickness and endothelial cell loss. Serial measurements after cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 1988;106:920-922.
68. Waring GO, 3rd, Bourne WM, Edelhauser HF, Kenyon KR. The corneal endothelium. Normal and pathologic structure and function. *Ophthalmology* 1982;89:531-590.
69. Foster CS AD, Dohlman CH. *Smolin and Thoft's the cornea: Scientific foundations and clinical practice*. Fourth edition ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
70. Iwamoto T, Smelser GK. ELECTRON MICROSCOPY OF THE HUMAN CORNEAL ENDOTHELIUM WITH REFERENCE TO TRANSPORT MECHANISMS. *Invest Ophthalmol* 1965;4:270-284.
71. Kreutziger GO. Lateral membrane morphology and gap junction structure in rabbit corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1976;23:285-293.
72. Kaye GI, Mishima S, Cole JD, Kaye NW. Studies on the cornea. VII. Effects of perfusion with a Ca⁺⁺-free medium on the corneal endothelium. *Invest Ophthalmol* 1968;7:53-66.
73. Kaye GI, Sibley RC, Hoefle FB. Recent studies on the nature and function of the corneal endothelial barrier. *Exp Eye Res* 1973;15:585-613.
74. Stern ME, Edelhauser HF, Pederson HJ, Stataz WD. Effects of ionophores X537a and A23187 and calcium-free medium on corneal endothelial morphology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;20:497-508.
75. Edelhauser HF, Van Horn DL, Miller P, Pederson HJ. Effect of thiol-oxidation of glutathione with diamide on corneal endothelial function, junctional complexes, and microfilaments. *J Cell Biol* 1976;68:567-578.
76. Whikehart DR, Soppet DR. The effects of glutathione and adenosine on plasma membrane ATPases of the corneal endothelium. An hypothesis on the stimulatory mechanism of perfused glutathione upon deturgescence. *Curr Eye Res* 1981;1:451-455.
77. Hull DS, Chemotti MT, Edelhauser HF, Van Horn DL, Hyndiuk RA. Effect of epinephrine on the corneal endothelium. *Am J Ophthalmol* 1975;79:245-250.
78. Van Horn DL, Edelhauser HF, Prodanovich G, Eiferman R, Pederson HF. Effect of the ophthalmic preservative thimerosal on rabbit and human corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:273-280.
79. Green K, Hull DS, Vaughn ED, Malizia AA, Jr., Bowman K. Rabbit endothelial response to ophthalmic preservatives. *Arch Ophthalmol* 1977;95:2218-2221.
80. Hedbys BO, Mishima S, Maurice DM. The inhibition pressure of the corneal stroma. *Exp Eye Res* 1963;2:99-111.
81. Harris JE, Nordquist LT. The hydration of the cornea. I. The transport of water from the cornea. *Am J Ophthalmol* 1955;40:100-110.
82. Hodson S. The endothelial pump of the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:589-591.
83. Mayes KR, Hodson S. An in vivo demonstration of the bicarbonate ion pump of rabbit corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1979;28:699-707.
84. Mishima S, Maurice DM. The effect of normal evaporation on the eye. *Exp Eye Res* 1961;1:46-52.
85. Mayes KR, Hodson S. Some effects of hydrostatic pressure on corneal hydration during specular microscopy. *Exp Eye Res* 1978;26:141-145.
86. Bonanno JA. Identity and regulation of ion transport mechanisms in the corneal endothelium. *Prog Retin Eye Res* 2003;22:69-94.
87. Tuft SJ, Coster DJ. The corneal endothelium. *Eye* 1990;4 (Pt 3):389-424.

88. Hodson S, Miller F. The bicarbonate ion pump in the endothelium which regulates the hydration of rabbit cornea. *J Physiol* 1976;263:563-577.
89. Hull DS, Green K, Boyd M, Wynn HR. Corneal endothelium bicarbonate transport and the effect of carbonic anhydrase inhibitors on endothelial permeability and fluxes and corneal thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:883-892.
90. Hodson S. Evidence for a bicarbonate-dependent sodium pump in corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1971;11:20-29.
91. Dikstein S, Maurice DM. The metabolic basis to the fluid pump in the cornea. *J Physiol* 1972;221:29-41.
92. Fischbarg J, Lim JJ. Role of cations, anions and carbonic anhydrase in fluid transport across rabbit corneal endothelium. *J Physiol* 1974;241:647-675.
93. Hodson S, Wigham C, Williams L, Mayes KR, Graham MV. Observation on the human cornea in vitro. *Exp Eye Res* 1981;32:353-360.
94. Fischbarg J, Lim JJ, Bourguet J. Adenosine stimulation of fluid transport across rabbit corneal endothelium. *J Membr Biol* 1977;35:95-112.
95. Neuwirth O, Dikstein S. The effect of cyclic AMP on the rabbit corneal endothelial fluid pump. *Curr Eye Res* 1982;2:565-567.
96. Barfort P, Maurice D. Electrical potential and fluid transport across the corneal endothelium. *Exp Eye Res*. England; 1974:11-19.
97. Riley MV. Anion-sensitive ATPase in rabbit corneal endothelium and its relation to corneal hydration. *Exp Eye Res* 1977;25:483-494.
98. Lonnerholm G. Carbonic anhydrase in the cornea. *Acta Physiol Scand* 1974;90:143-152.
99. Yokota S, Waller WK. Electron microscopic localization of carbonic anhydrase (CA) activity in rabbit cornea. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1975;197:145-152.
100. Kuang KY, Xu M, Koniarek JP, Fischbarg J. Effects of ambient bicarbonate, phosphate and carbonic anhydrase inhibitors on fluid transport across rabbit corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1990;50:487-493.
101. Rae JL, Dewey J, Cooper K. Properties of single potassium-selective ionic channels from the apical membrane of rabbit corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1989;49:591-609.
102. Bourne WM, McLaren JW. Clinical responses of the corneal endothelium. *Exp Eye Res* 2004;78:561-572.
103. Maurice DM. Cellular membrane activity in the corneal endothelium of the intact eye. *Experientia* 1968;24:1094-1095.
104. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. Clinical specular microscopy. I. Optical principles. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1714-1719.
105. Sherrard ES, Buckley RJ. Clinical specular microscopy of the corneal endothelium. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1981;101:156-162.
106. Rao GN, Lohman LE, Aquavella JV. Cell size-shape relationships in corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1982;22:271-274.
107. Matsuda M, Suda T, Manabe R. Serial alterations in endothelial cell shape and pattern after intraocular surgery. *Am J Ophthalmol* 1984;98:313-319.
108. Eire JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology. *Ophthalmology* 2009;148:639-646.
109. Rigal D, Coulangeon LM, Menerath JM. [Fluorophotometry and corneal endothelium]. *J Fr Ophtalmol* 1991;14:624-628.
110. Jones RF, Maurice DM. New methods of measuring the rate of aqueous flow in man with fluorescein. *Exp Eye Res* 1966;5:208-220.

111. Langham M, Wybar KC. Fluorophotometric apparatus for the objective determination of fluorescence in the anterior chamber of the living eye. *Br J Ophthalmol* 1954;38:52-57.
112. Munnerlyn CR, Gray JR, Hennings DR. Design considerations for a fluorophotometer for ocular research. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1985;222:209-211.
113. Zeimer RC, Blair NP, Rusin MM, Cunha-Vaz JG. The performance of a new commercial ocular fluorophotometer in the clinical environment. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1985;222:223-224.
114. Bourne WM, Nagataki S, Brubaker RF. The permeability of the corneal endothelium to fluorescein in the normal human eye. *Curr Eye Res* 1984;3:509-513.
115. Tasman W, Jaeger EA. *Duane's ophthalmology 2008 Edition*. 2008 ed: LWW; 2008.
116. Klyce SD. Stromal lactate accumulation can account for corneal oedema osmotically following epithelial hypoxia in the rabbit. *J Physiol* 1981;321:49-64.
117. Weissman BA, Fatt I, Horn B. Reversal of anoxic corneal swelling by breathing oxygen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1982;22:124-127.
118. Bourne WM. Clinical estimation of corneal endothelial pump function. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1998;96:229-239; discussion 239-242.
119. Bourne WM, Hodge DO, McLaren JW. Estimation of corneal endothelial pump function in long-term contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:603-611.
120. Von Bahr G. Measurements of the thickness of the cornea. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1948;26:247-266.
121. Olsen T, Ehlers N. The thickness of the human cornea as determined by a specular method. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1984;62:859-871.
122. Bovelle R, Kaufman SC, Thompson HW, Hamano H. Corneal thickness measurements with the Topcon SP-2000P specular microscope and an ultrasound pachymeter. *Arch Ophthalmol* 1999;117:868-870.
123. Swartz T, Marten L, Wang M. Measuring the cornea: the latest developments in corneal topography. *Curr Opin Ophthalmol* 2007;18:325-333.
124. Pentacam: guía de interpretación clínica: www.pentacam.es.
125. Fishman GR, Pons ME, Seedor JA, Liebmann JM, Ritch R. Assessment of central corneal thickness using optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:707-711.
126. Solomon OD. Corneal indentation during ultrasonic pachometry. *Cornea* 1999;18:214-215.
127. Cheng AC, Rao SK, Lau S, Leung CK, Lam DS. Central corneal thickness measurements by ultrasound, Orbscan II, and Visante OCT after LASIK for myopia. *J Refract Surg* 2008;24:361-365.
128. Gao L, Fan H, Cheng AC, Wang Z, Lam DS. The effects of eye drops on corneal thickness in adult myopia. *Cornea* 2006;25:404-407.
129. Montero JA, Ruiz-Moreno JM, Fernandez-Munoz M, Rodriguez-Palacios MI. Effect of topical anesthetics on intraocular pressure and pachymetry. *Eur J Ophthalmol* 2008;18:748-750.
130. Urbak SF. Ultrasound biomicroscopy. I. Precision of measurements. *Acta Ophthalmol Scand* 1998;76:447-455.
131. Ytteborg J, Dohlman C. CORNEAL EDEMA AND INTRAOCULAR PRESSURE. 1. ANIMAL EXPERIMENTS. *Arch Ophthalmol* 1965;74:375-381.
132. VE K, DG C. The cornea IV. Hydration properties of the whole cornea. *Arch Ophthalmol* 1942;28.

133. Gehrshitz L, Gruber L, Harris JE. The hydration of the cornea. II. The effect of the intraocular pressure. *Am J Ophthalmol* 1956;42:325-329.
134. Anseth A, Dohlman CH. Influence of the intraocular pressure on hydration of the corneal stroma. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1957;35:85-90.
135. Potts AM, Friedman BC. Studies on corneal transparency. *Am J Ophthalmol* 1959;48(5)Pt 2:480-487.
136. Maurice DM. The permeability to sodium ions of the living rabbit's cornea. *J Physiol* 1951;112:367-391.
137. Kanai A, Kaufman HE. Electron microscopic studies of swollen corneal stroma. *Ann Ophthalmol* 1973;5:178-190.
138. Friedman MH, Green K. Swelling rate of corneal stroma. *Exp Eye Res* 1971;12:239-250.
139. Hodson S. Why the cornea swells. *J Theor Biol* 1971;33:419-427.
140. Elliott GF, Goodfellow JM, Woolgar AE. Swelling studies of bovine corneal stroma without bounding membranes. *J Physiol* 1980;298:453-470.
141. Ehlers N. Variations in hydration properties of the cornea. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1966;44:461-471.
142. Dohlman CH, Hedbys BO, Mishima S. The swelling pressure of the corneal stroma. *Invest Ophthalmol* 1962;1:158-162.
143. VE K, DG C. The cornea III. Hydration properties of excised corneal pieces. *Arch Ophthalmol* 1942;28.
144. Pau H. [Physiology and pathology of the cornea.]. *Albrecht Von Graefes Arch Ophthalmol* 1953;154:579-602.
145. Dohlman CH, Anseth A. The swelling pressure of the ox corneal stroma. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1957;35:73-84.
146. Hedbys BO, Dohlman CH. A new method for the determination of the swelling pressure of the corneal stroma in vitro. *Exp Eye Res* 1963;2:122-129.
147. Ytteborg J, Dohlman CH. Corneal edema and intraocular pressure. II. Clinical results. *Arch Ophthalmol* 1965;74:477-484.
148. Klyce SD, Dohlman CH, Tolpin DW. In vivo determination of corneal swelling pressure. *Exp Eye Res* 1971;11:220-229.
149. Mandell RB, Fatt I. Thinning of the human cornea on awakening. *Nature* 1965;208:292-293.
150. Fatt I. Dynamics of water transport in the corneal stroma. *Exp Eye Res* 1968;7:402-412.
151. Meek KM, Leonard DW, Connon CJ, Dennis S, Khan S. Transparency, swelling and scarring in the corneal stroma. *Eye (Lond)* 2003;17:927-936.
152. Fronimopoulos J, Lascaratos J. The terms glaucoma and cataract in the ancient Greek and Byzantine writers. *Doc Ophthalmol* 1991;77:369-375.
153. Van Buskirk EM, Cioffi GA. Glaucomatous optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 1992;113:447-452.
154. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol* 1996;80:389-393.
155. Friedman DS, Wolfs RC, O'Colmain BJ, et al. Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. *Arch Ophthalmol* 2004;122:532-538.
156. Leske MC, Wu SY, Honkanen R, et al. Nine-year incidence of open-angle glaucoma in the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology* 2007;114:1058-1064.
157. de Voogd S, Ikram MK, Wolfs RC, Jansonius NM, Hofman A, de Jong PT. Incidence of open-angle glaucoma in a general elderly population: the Rotterdam Study. *Ophthalmology* 2005;112:1487-1493.

158. Mukesh BN, McCarty CA, Rait JL, Taylor HR. Five-year incidence of open-angle glaucoma: the visual impairment project. *Ophthalmology* 2002;109:1047-1051.
159. Anton A, Andrada MT, Mujica V, Calle MA, Portela J, Mayo A. Prevalence of primary open-angle glaucoma in a Spanish population: the Segovia study. *J Glaucoma* 2004;13:371-376.
160. Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, et al. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002;120:714-720; discussion 829-730.
161. Goldmann H, Schmidt T. [Applanation tonometry.]. *Ophthalmologica* 1957;134:221-242.
162. Ehlers N, Bramsen T, Sperling S. Applanation tonometry and central corneal thickness. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1975;53:34-43.
163. Herndon LW, Choudhri SA, Cox T, Damji KF, Shields MB, Allingham RR. Central corneal thickness in normal, glaucomatous, and ocular hypertensive eyes. *Arch Ophthalmol* 1997;115:1137-1141.
164. Doughty MJ, Zaman ML. Human corneal thickness and its impact on intraocular pressure measures: a review and meta-analysis approach. *Surv Ophthalmol* 2000;44:367-408.
165. Emara B, Probst LE, Tingey DP, Kennedy DW, Willms LJ, Machat J. Correlation of intraocular pressure and central corneal thickness in normal myopic eyes and after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 1998;24:1320-1325.
166. Whitacre MM, Stein RA, Hassanein K. The effect of corneal thickness on applanation tonometry. *Am J Ophthalmol* 1993;115:592-596.
167. Rosa N, Cennamo G, Breve MA, La Rana A. Goldmann applanation tonometry after myopic photorefractive keratectomy. *Acta Ophthalmol Scand* 1998;76:550-554.
168. Feltgen N, Leifert D, Funk J. Correlation between central corneal thickness, applanation tonometry, and direct intracameral IOP readings. *Br J Ophthalmol* 2001;85:85-87.
169. Johnson M, Kass MA, Moses RA, Grodzki WJ. Increased corneal thickness simulating elevated intraocular pressure. *Arch Ophthalmol* 1978;96:664-665.
170. Sommer A, Tielsch JM, Katz J, et al. Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1090-1095.
171. Leske MC, Heijl A, Hyman L, Bengtsson B, Komaroff E. Factors for progression and glaucoma treatment: the Early Manifest Glaucoma Trial. *Curr Opin Ophthalmol* 2004;15:102-106.
172. Chihara E. Assessment of true intraocular pressure: the gap between theory and practical data. *Surv Ophthalmol* 2008;53:203-218.
173. Dueker DK, Singh K, Lin SC, et al. Corneal thickness measurement in the management of primary open-angle glaucoma: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 2007;114:1779-1787.
174. Miglior S, Pfeiffer N, Torri V, Zeyen T, Cunha-Vaz J, Adamsons I. Predictive factors for open-angle glaucoma among patients with ocular hypertension in the European Glaucoma Prevention Study. *Ophthalmology* 2007;114:3-9.
175. Medeiros FA, Sample PA, Weinreb RN. Corneal thickness measurements and frequency doubling technology perimetry abnormalities in ocular hypertensive eyes. *Ophthalmology* 2003;110:1903-1908.
176. Medeiros FA, Sample PA, Weinreb RN. Corneal thickness measurements and visual function abnormalities in ocular hypertensive patients. *Am J Ophthalmol* 2003;135:131-137.

177. Francis BA, Varma R, Chopra V, Lai MY, Shtir C, Azen SP. Intraocular pressure, central corneal thickness, and prevalence of open-angle glaucoma: the Los Angeles Latino Eye Study. *Am J Ophthalmol* 2008;146:741-746.
178. Leske MC, Wu SY, Hennis A, Honkanen R, Nemesure B. Risk factors for incident open-angle glaucoma: the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology* 2008;115:85-93.
179. Leske MC, Heijl A, Hyman L, Bengtsson B, Dong L, Yang Z. Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology* 2007;114:1965-1972.
180. Mohamed-Noor J, Bochmann F, Siddiqui MA, et al. Correlation between corneal and scleral thickness in glaucoma. *J Glaucoma* 2009;18:32-36.
181. Henderson PA, Medeiros FA, Zangwill LM, Weinreb RN. Relationship between central corneal thickness and retinal nerve fiber layer thickness in ocular hypertensive patients. *Ophthalmology* 2005;112:251-256.
182. Jonas JB, Berenshtein E, Holbach L. Lamina cribrosa thickness and spatial relationships between intraocular space and cerebrospinal fluid space in highly myopic eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:2660-2665.
183. Mitchell P, Hourihan F, Sandbach J, Wang JJ. The relationship between glaucoma and myopia: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 1999;106:2010-2015.
184. Burgoyne CF, Downs JC, Bellezza AJ, Suh JKF, Hart RT. The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. *Prog Retin Eye Res* 2005;24:39-73.
185. Lesk MR, Hafez AS, Descovich D. Relationship between central corneal thickness and changes of optic nerve head topography and blood flow after intraocular pressure reduction in open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Arch Ophthalmol* 2006;124:1568-1572.
186. Burgoyne CF, Morrison JC. The anatomy and pathophysiology of the optic nerve head in glaucoma. *J Glaucoma* 2001;10:S16-18.
187. Agoumi Y, Sharpe GP, Hutchison DM, Nicoleta MT, Artes PH, Chauhan BC. Lamellar and prelaminar tissue displacement during intraocular pressure elevation in glaucoma patients and healthy controls. *Ophthalmology* 2011;118:52-59.
188. Ehlers N. On corneal thickness and intraocular pressure. II. A clinical study on the thickness of the corneal stroma in glaucomatous eyes. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1970;48:1107-1112.
189. Olsen T. The endothelial cell damage in acute glaucoma. On the corneal thickness response to intraocular pressure. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1980;58:257-266.
190. McPhee TJ, Bourne WM, Brubaker RF. Location of the stress-bearing layers of the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985;26:869-872.
191. Olson RJ, Kaufman HE. Intraocular pressure and corneal thickness after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1978;86:97-100.
192. Hennighausen H, Feldman ST, Bille JF, McCulloch AD. Anterior-posterior strain variation in normally hydrated and swollen rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:253-262.
193. Dawson DG, Schmack I, Holley GP, Waring GO, 3rd, Grossniklaus HE, Edelhauser HF. Interface fluid syndrome in human eye bank corneas after LASIK: causes and pathogenesis. *Ophthalmology* 2007;114:1848-1859.

194. Ehlers N, Riise D. On corneal thickness and intraocular pressure: a clinical study on the thickness of the cornea in eyes with retinal detachment. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1967;45:809-813.
195. Dada T, Konkal V, Tandon R, Singh R, Sihota R. Corneal topographic response to intraocular pressure reduction in patients with vernal keratoconjunctivitis and steroid-induced glaucoma. *Eye* 2007;21:158-163.
196. McMillan F, Forster RK. Comparison of MacKay-Marg, Goldmann, and Perkins tonometers in abnormal corneas. *Arch Ophthalmol* 1975;93:420-424.
197. Moses RA. The Goldmann applanation tonometer. *Am J Ophthalmol* 1958;46:865-869.
198. Park HJ, Uhm KB, Hong C. Reduction in intraocular pressure after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:303-309.
199. Kirwan C, O'Keefe M. Corneal hysteresis using the Reichert ocular response analyser: findings pre- and post-LASIK and LASEK. *Acta Ophthalmol* 2008;86:215-218.
200. Ortiz D, Pinero D, Shabayek MH, Arnalich-Montiel F, Alio JL. Corneal biomechanical properties in normal, post-laser in situ keratomileusis, and keratoconic eyes. *J Cataract Refract Surg* 2007;33:1371-1375.
201. Pepose JS, Feigenbaum SK, Qazi MA, Sanderson JP, Roberts CJ. Changes in corneal biomechanics and intraocular pressure following LASIK using static, dynamic, and noncontact tonometry. *Am J Ophthalmol* 2007;143:39-47.
202. Hernandez-Verdejo JL, Teus MA, Roman JM, Bolivar G. Porcine model to compare real-time intraocular pressure during LASIK with a mechanical microkeratome and femtosecond laser. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:68-72.
203. Bissen-Miyajima H, Suzuki S, Ohashi Y, Minami K. Experimental observation of intraocular pressure changes during microkeratome suctioning in laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:590-594.
204. Kasetsuwan N, Pangilinan RT, Moreira LL, et al. Real time intraocular pressure and lamellar corneal flap thickness in keratomileusis. *Cornea* 2001;20:41-44.
205. Cameron BD, Saffra NA, Strominger MB. Laser in situ keratomileusis-induced optic neuropathy. *Ophthalmology* 2001;108:660-665.
206. Lee AG, Kohlen T, Ebner R, et al. Optic neuropathy associated with laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2000;26:1581-1584.
207. Bushley DM, Parmley VC, Paglen P. Visual field defect associated with laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2000;129:668-671.
208. Ahmadi H, Javadi MA. Cilioretinal artery occlusion following laser in situ keratomileusis. *Retina* 2005;25:533-537.
209. Demytyev DD, Kourenkov VV, Rodin AS, Fadeykina TL, Diaz Martinez TE. Retinal nerve fiber layer changes after LASIK evaluated with optical coherence tomography. *J Refract Surg* 2005;21:S623-627.
210. Zangwill LM, Abunto T, Bowd C, Angeles R, Schanzlin DJ, Weinreb RN. Scanning laser polarimetry retinal nerve fiber layer thickness measurements after LASIK. *Ophthalmology* 2005;112:200-207.
211. Tsai YY, Lin JM. Effect of laser-assisted in situ keratomileusis on the retinal nerve fiber layer. *Retina* 2000;20:342-345.
212. J F. Cortisone et tension oculaire. *Ann Oculist* 1954;187.
213. Jones R, 3rd, Rhee DJ. Corticosteroid-induced ocular hypertension and glaucoma: a brief review and update of the literature. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17:163-167.

214. Lyle WA, Jin GJ. Interface fluid associated with diffuse lamellar keratitis and epithelial ingrowth after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:1009-1012.
215. Hamilton DR, Manche EE, Rich LF, Maloney RK. Steroid-induced glaucoma after laser in situ keratomileusis associated with interface fluid. *Ophthalmology* 2002;109:659-665.
216. Galal A, Artola A, Belda J, et al. Interface corneal edema secondary to steroid-induced elevation of intraocular pressure simulating diffuse lamellar keratitis. *J Refract Surg* 2006;22:441-447.
217. Najman-Vainer J, Smith RJ, Maloney RK. Interface fluid after LASIK: misleading tonometry can lead to end-stage glaucoma. *J Cataract Refract Surg* 2000;26:471-472.
218. Benitez del Castillo Sánchez J, Belda Sanchíz JI. *Glaucoma y cirugía refractiva: Sociedad Española e Oftalmología*; 2008.
219. McCarty TM, Hardten DR, Anderson NJ, Rosheim K, Samuelson TW. Evaluation of neuroprotective qualities of brimonidine during LASIK. *Ophthalmology* 2003;110:1615-1625.
220. Norden RA. Effect of prophylactic brimonidine on bleeding complications and flap adherence after laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg* 2002;18:468-471.
221. Solomon R, Donnenfeld ED, Perry HD, Nirankari VS. Post-LASIK corneal flap displacement following penetrating keratoplasty for bullous keratopathy. *Cornea* 2005;24:874-878.
222. Walter KA, Gilbert DD. The adverse effect of perioperative brimonidine tartrate 0.2% on flap adherence and enhancement rates in laser in situ keratomileusis patients. *Ophthalmology* 2001;108:1434-1438.
223. Randleman JB, Woodward M, Lynn MJ, Stulting RD. Risk assessment for ectasia after corneal refractive surgery. *Ophthalmology* 2008;115:37-50.
224. Hiatt JA, Wachler BS, Grant C. Reversal of laser in situ keratomileusis-induced ectasia with intraocular pressure reduction. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:1652-1655.
225. Kamiya K, Aizawa D, Igarashi A, Komatsu M, Shimizu K. Effects of antiglaucoma drugs on refractive outcomes in eyes with myopic regression after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2008;145:233-238.
226. Javier JA, Lee JB, Oliveira HB, Chang JH, Azar DT. Basement membrane and collagen deposition after laser subepithelial keratomileusis and photorefractive keratectomy in the leghorn chick eye. *Arch Ophthalmol* 2006;124:703-709.
227. Wollensak G, Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract Refract Surg* 2009;35:540-546.
228. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17:356-360.
229. DA L. Reichert Ocular Response Analyzer measures corneal biomechanical properties and intraocular pressure. White paper from Reichert Ophthalmic Instruments Inc.; 2006.
230. Martinez-de-la-Casa JM, Garcia-Feijoo J, Fernandez-Vidal A, Mendez-Hernandez C, Garcia-Sanchez J. Ocular response analyzer versus Goldmann applanation tonometry for intraocular pressure measurements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4410-4414.
231. Hager A, Loge K, Schroeder B, Fullhas MO, Wiegand W. Effect of central corneal thickness and corneal hysteresis on tonometry as measured by dynamic contour

- tonometry, ocular response analyzer, and Goldmann tonometry in glaucomatous eyes. *J Glaucoma* 2008;17:361-365.
232. Medeiros FA, Weinreb RN. Evaluation of the influence of corneal biomechanical properties on intraocular pressure measurements using the ocular response analyzer. *J Glaucoma* 2006;15:364-370.
233. Kotecha A, Elsheikh A, Roberts CR, Zhu H, Garway-Heath DF. Corneal thickness- and age-related biomechanical properties of the cornea measured with the ocular response analyzer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:5337-5347.
234. Congdon NG, Broman AT, Bandeen-Roche K, Grover D, Quigley HA. Central corneal thickness and corneal hysteresis associated with glaucoma damage. *Am J Ophthalmol* 2006;141:868-875.
235. Sullivan-Mee M, Billingsley SC, Patel AD, Halverson KD, Alldredge BR, Qualls C. Ocular Response Analyzer in subjects with and without glaucoma. *Optom Vis Sci* 2008;85:463-470.
236. Bochmann F, Ang GS, Azuara-Blanco A. Lower corneal hysteresis in glaucoma patients with acquired pit of the optic nerve (APON). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008.
237. Kirwan C, O'Keefe M, Lanigan B. Corneal hysteresis and intraocular pressure measurement in children using the reichert ocular response analyzer. *Am J Ophthalmol* 2006;142:990-992.
238. Touboul D, Roberts C, Kerautret J, et al. Correlations between corneal hysteresis, intraocular pressure, and corneal central pachymetry. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:616-622.
239. Detry-Morel M, Jamart J, Pourjavan S. Evaluation of corneal biomechanical properties with the Reichert Ocular Response Analyzer. *European journal of ophthalmology* 2011;21:138-148.
240. Kaufmann C, Bachmann LM, Thiel MA. Intraocular pressure measurements using dynamic contour tonometry after laser in situ keratomileusis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3790-3794.
241. Martinez-de-la-Casa JM, Garcia-Feijoo J, Vico E, et al. Effect of corneal thickness on dynamic contour, rebound, and goldmann tonometry. *Ophthalmology* 2006;113:2156-2162.
242. Schneider E, Grehn F. Intraocular pressure measurement-comparison of dynamic contour tonometry and goldmann applanation tonometry. *J Glaucoma* 2006;15:2-6.
243. Ku JY, Danesh-Meyer HV, Craig JP, Gamble GD, McGhee CN. Comparison of intraocular pressure measured by Pascal dynamic contour tonometry and Goldmann applanation tonometry. *Eye (Lond)* 2006;20:191-198.
244. Kotecha A, White ET, Shewry JM, Garway-Heath DF. The relative effects of corneal thickness and age on Goldmann applanation tonometry and dynamic contour tonometry. *Br J Ophthalmol* 2005;89:1572-1575.
245. Erdurmus M, Totan Y, Hepsen IF, Yagci R. Comparison of dynamic contour tonometry and noncontact tonometry in ocular hypertension and glaucoma. *Eye (Lond)* 2009;23:663-668.
246. Siganos DS, Papastergiou GI, Moedas C. Assessment of the Pascal dynamic contour tonometer in monitoring intraocular pressure in unoperated eyes and eyes after LASIK. *J Cataract Refract Surg*. United States; 2004:746-751.
247. Kniestedt C, Nee M, Stamper RL. Accuracy of dynamic contour tonometry compared with applanation tonometry in human cadaver eyes of different hydration states. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:359-366.

248. Kontiola A. A new electromechanical method for measuring intraocular pressure. *Doc Ophthalmol* 1996;93:265-276.
249. *Terminology and guidelines for glaucoma*. Third ed: Dogma; 2008.
250. Mao LK, Stewart WC, Shields MB. Correlation between intraocular pressure control and progressive glaucomatous damage in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1991;111:51-55.
251. The effectiveness of intraocular pressure reduction in the treatment of normal-tension glaucoma. Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group. *Am J Ophthalmol* 1998;126:498-505.
252. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, et al. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002;120:701-713; discussion 829-730.
253. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. The AGIS Investigators. *Am J Ophthalmol* 2000;130:429-440.
254. Leske MC, Heijl A, Hussein M, Bengtsson B, Hyman L, Komaroff E. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment: the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol* 2003;121:48-56.
255. Tielsch JM, Katz J, Singh K, et al. A population-based evaluation of glaucoma screening: the Baltimore Eye Survey. *Am J Epidemiol* 1991;134:1102-1110.
256. *Glaucoma (Basic and Clinical Science Course)*; 2008.
257. *Glaucoma (Essentials in Ophthalmology)*: Springer; 2004.
258. *Glaucoma medical therapy. Principles and management*. Second edition ed: Oxford University Press; 2008.
259. Phillips CI, Howitt G, Rowlands DJ. Propranolol as ocular hypotensive agent. *Br J Ophthalmol* 1967;51:222-226.
260. Sonntag JR, Brindley GO, Shields MB. Effect of timolol therapy on outflow facility. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978;17:293-296.
261. Yablonski ME, Zimmerman TJ, Waltman SR, Becker B. A fluorophotometric study of the effect of topical timolol on aqueous humor dynamics. *Exp Eye Res* 1978;27:135-142.
262. Bartels SP, Roth HO, Jumblatt MM, Neufeld AH. Pharmacological effects of topical timolol in the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980;19:1189-1197.
263. Nathanson JA. Adrenergic regulation of intraocular pressure: identification of beta 2-adrenergic-stimulated adenylate cyclase in ciliary process epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77:7420-7424.
264. Shaarawy TM, Sherwood MB, Hitchings RA, Crowston JG. *Glaucoma. Medical diagnosis & therapy.*; 2009.
265. Radius RL, Diamond GR, Pollack IP, Langham ME. Timolol. A new drug for management of chronic simple glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1978;96:1003-1008.
266. Sonntag JR, Brindley GO, Shields MB, Arafat NI, Phelps CD. Timolol and epinephrine. Comparison of efficacy and side effects. *Arch Ophthalmol* 1979;97:273-277.
267. Stamper RL, Lieberman MF, Drake MV. *Becker-Shaffer's diagnosis ad therapy of the glaucomas*: Mosby-Elsevier; 2009.
268. Schoene RB, Martin TR, Charan NB, French CL. Timolol-induced bronchospasm in asthmatic bronchitis. *JAMA* 1981;245:1460-1461.
269. Charan NB, Lakshminarayan S. Pulmonary effects of topical timolol. *Arch Intern Med* 1980;140:843-844.

270. Burggraf GW, Munt PW. Topical timolol therapy and cardiopulmonary function. *Can J Ophthalmol* 1980;15:159-160.
271. Leier CV, Baker ND, Weber PA. Cardiovascular effects of ophthalmic timolol. *Ann Intern Med* 1986;104:197-199.
272. Van Buskirk EM. Adverse reactions from timolol administration. *Ophthalmology* 1980;87:447-450.
273. Shore JH, Fraunfelder FT, Meyer SM. Psychiatric side effects from topical ocular timolol, a beta-adrenergic blocker. *J Clin Psychopharmacol* 1987;7:264-267.
274. Lynch MG, Whitson JT, Brown RH, Nguyen H, Drake MM. Topical beta-blocker therapy and central nervous system side effects. A preliminary study comparing betaxolol and timolol. *Arch Ophthalmol* 1988;106:908-911.
275. Safran AB, Simona F, Sansonetti A, Pometta D, James R. Topical timolol maleate might adversely affect serum lipoproteins. *Int Ophthalmol* 1993;17:109-110.
276. Herreras JM, Pastor JC, Calonge M, Asensio VM. Ocular surface alteration after long-term treatment with an antiglaucomatous drug. *Ophthalmology* 1992;99:1082-1088.
277. Van Buskirk EM. Corneal anesthesia after timolol maleate therapy. *Am J Ophthalmol* 1979;88:739-743.
278. Kass MA, Korey M, Gordon M, Becker B. Timolol and acetazolamide. A study of concurrent administration. *Arch Ophthalmol* 1982;100:941-942.
279. Alm A, Widengard I, Kjellgren D, et al. Latanoprost administered once daily caused a maintained reduction of intraocular pressure in glaucoma patients treated concomitantly with timolol. *Br J Ophthalmol* 1995;79:12-16.
280. Robin AL, Burnstein Y. Selectivity of site of action and systemic effects of topical alpha agonists. *Curr Opin Ophthalmol* 1998;9:30-33.
281. Chien DS, Homsy JJ, Gluchowski C, Tang-Liu DD. Corneal and conjunctival/scleral penetration of p-aminoclonidine, AGN 190342, and clonidine in rabbit eyes. *Curr Eye Res* 1990;9:1051-1059.
282. Burke J, Schwartz M. Preclinical evaluation of brimonidine. *Surv Ophthalmol* 1996;41 Suppl 1:S9-18.
283. David R, Spaeth GL, Clevenger CE, et al. Brimonidine in the prevention of intraocular pressure elevation following argon laser trabeculoplasty. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1387-1390.
284. Angeles R, Abunto T, Bowd C, Zangwill LM, Schanzlin DJ, Weinreb RN. Corneal changes after laser in situ keratomileusis: measurement of corneal polarization magnitude and axis. *Am J Ophthalmol* 2004;137:697-703.
285. Araujo SV, Bond JB, Wilson RP, Moster MR, Schmidt CM, Jr., Spaeth GL. Long term effect of apraclonidine. *Br J Ophthalmol* 1995;79:1098-1101.
286. Rosenberg LF, Krupin T, Ruderman J, et al. Apraclonidine and anterior segment laser surgery. Comparison of 0.5% versus 1.0% apraclonidine for prevention of postoperative intraocular pressure rise. *Ophthalmology* 1995;102:1312-1318.
287. Adkins JC, Balfour JA. Brimonidine. A review of its pharmacological properties and clinical potential in the management of open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Drugs Aging* 1998;12:225-241.
288. Toris CB, Camras CB, Yablonski ME. Acute versus chronic effects of brimonidine on aqueous humor dynamics in ocular hypertensive patients. *Am J Ophthalmol* 1999;128:8-14.
289. Camras CB, Podos SM. The role of endogenous prostaglandins in clinically-used and investigational glaucoma therapy. *Prog Clin Biol Res* 1989;312:459-475.

290. Konstas AG, Stewart WC, Topouzis F, Tersis I, Holmes KT, Stangos NT. Brimonidine 0.2% given two or three times daily versus timolol maleate 0.5% in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2001;131:729-733.
291. Barnes SD, Campagna JA, Dirks MS, Doe EA. Control of intraocular pressure elevations after argon laser trabeculoplasty: comparison of brimonidine 0.2% to apraclonidine 1.0%. *Ophthalmology* 1999;106:2033-2037.
292. Schuman JS. Clinical experience with brimonidine 0.2% and timolol 0.5% in glaucoma and ocular hypertension. *Surv Ophthalmol* 1996;41 Suppl 1:S27-37.
293. Enyedi LB, Freedman SF. Safety and efficacy of brimonidine in children with glaucoma. *J AAPOS* 2001;5:281-284.
294. van der Valk R, Webers CA, Schouten JS, Zeegers MP, Hendrikse F, Prins MH. Intraocular pressure-lowering effects of all commonly used glaucoma drugs: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Ophthalmology* 2005;112:1177-1185.
295. Eisenberg DL, Toris CB, Camras CB. Bimatoprost and travoprost: a review of recent studies of two new glaucoma drugs. *Surv Ophthalmol* 2002;47 Suppl 1:S105-115.
296. Sherwood M, Brandt J. Six-month comparison of bimatoprost once-daily and twice-daily with timolol twice-daily in patients with elevated intraocular pressure. *Surv Ophthalmol* 2001;45 Suppl 4:S361-368.
297. Ambache N. Irin, a smooth-muscle contracting substance present in rabbit iris. *J Physiol* 1955;129:65-66P.
298. Bito LZ. Prostaglandins. Old concepts and new perspectives. *Arch Ophthalmol* 1987;105:1036-1039.
299. Beitch BR, Eakins KE. The effects of prostaglandins on the intraocular pressure of the rabbit. *Br J Pharmacol* 1969;37:158-167.
300. Waitzman MB, King CD. Prostaglandin influences on intraocular pressure and pupil size. *Am J Physiol* 1967;212:329-334.
301. Camras CB, Bito LZ, Eakins KE. Reduction of intraocular pressure by prostaglandins applied topically to the eyes of conscious rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:1125-1134.
302. Woodward DF, Krauss AH, Chen J, et al. The pharmacology of bimatoprost (Lumigan). *Surv Ophthalmol* 2001;45 Suppl 4:S337-345.
303. Wan Z, Woodward DF, Cornell CL, et al. Bimatoprost, prostamide activity, and conventional drainage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4107-4115.
304. Woodward DF, Krauss AH, Chen J, et al. Pharmacological characterization of a novel antiglaucoma agent, Bimatoprost (AGN 192024). *J Pharmacol Exp Ther* 2003;305:772-785.
305. Matias I, Chen J, De Petrocellis L, et al. Prostaglandin ethanolamides (prostamides): in vitro pharmacology and metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;309:745-757.
306. Berglund BA, Boring DL, Howlett AC. Investigation of structural analogs of prostaglandin amides for binding to and activation of CB1 and CB2 cannabinoid receptors in rat brain and human tonsils. *Adv Exp Med Biol* 1999;469:527-533.
307. Ross RA, Craib SJ, Stevenson LA, et al. Pharmacological characterization of the anandamide cyclooxygenase metabolite: prostaglandin E2 ethanolamide. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;301:900-907.
308. Ota T, Aihara M, Narumiya S, Araie M. The effects of prostaglandin analogues on IOP in prostanoid FP-receptor-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4159-4163.

309. Crowston JG, Lindsey JD, Morris CA, Wheeler L, Medeiros FA, Weinreb RN. Effect of bimatoprost on intraocular pressure in prostaglandin FP receptor knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4571-4577.
310. Liang Y, Woodward DF, Guzman VM, et al. Identification and pharmacological characterization of the prostaglandin FP receptor and FP receptor variant complexes. *Br J Pharmacol* 2008;154:1079-1093.
311. Camras CB, Toris CB, Sjoquist B, et al. Detection of the free acid of bimatoprost in aqueous humor samples from human eyes treated with bimatoprost before cataract surgery. *Ophthalmology* 2004;111:2193-2198.
312. Camras CB, Siebold EC, Lustgarten JS, et al. Maintained reduction of intraocular pressure by prostaglandin F2 alpha-1-isopropyl ester applied in multiple doses in ocular hypertensive and glaucoma patients. *Ophthalmology* 1989;96:1329-1336; discussion 1336-1327.
313. Ziai N, Dolan JW, Kacere RD, Brubaker RF. The effects on aqueous dynamics of PhXA41, a new prostaglandin F2 alpha analogue, after topical application in normal and ocular hypertensive human eyes. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1351-1358.
314. Brubaker RF, Schoff EO, Nau CB, Carpenter SP, Chen K, Vandenberg AM. Effects of AGN 192024, a new ocular hypotensive agent, on aqueous dynamics. *Am J Ophthalmol* 2001;131:19-24.
315. Christiansen GA, Nau CB, McLaren JW, Johnson DH. Mechanism of ocular hypotensive action of bimatoprost (Lumigan) in patients with ocular hypertension or glaucoma. *Ophthalmology* 2004;111:1658-1662.
316. Toris CB, Camras CB, Yablonski ME. Effects of PhXA41, a new prostaglandin F2 alpha analog, on aqueous humor dynamics in human eyes. *Ophthalmology* 1993;100:1297-1304.
317. Toris CB, Zhan GL, Zhao J, Camras CB, Yablonski ME. Potential mechanism for the additivity of pilocarpine and latanoprost. *Am J Ophthalmol* 2001;131:722-728.
318. Weinreb RN, Toris CB, Gabelt BT, Lindsey JD, Kaufman PL. Effects of prostaglandins on the aqueous humor outflow pathways. *Surv Ophthalmol* 2002;47 Suppl 1:S53-64.
319. Toris CB, Camras CB, Yablonski ME, Brubaker RF. Effects of exogenous prostaglandins on aqueous humor dynamics and blood-aqueous barrier function. *Surv Ophthalmol* 1997;41 Suppl 2:S69-75.
320. Gabelt BT, Kaufman PL. The effect of prostaglandin F2 alpha on trabecular outflow facility in cynomolgus monkeys. *Exp Eye Res* 1990;51:87-91.
321. Toris CB, Zhan GL, Camras CB, McLaughlin MA. Effects of travoprost on aqueous humor dynamics in monkeys. *J Glaucoma* 2005;14:70-73.
322. Bahler CK, Howell KG, Hann CR, Fautsch MP, Johnson DH. Prostaglandins increase trabecular meshwork outflow facility in cultured human anterior segments. *Am J Ophthalmol* 2008;145:114-119.
323. Lim KS, Nau CB, O'Byrne MM, et al. Mechanism of action of bimatoprost, latanoprost, and travoprost in healthy subjects. A crossover study. *Ophthalmology* 2008;115:790-795 e794.
324. Schachtschabel U, Lindsey JD, Weinreb RN. The mechanism of action of prostaglandins on uveoscleral outflow. *Curr Opin Ophthalmol* 2000;11:112-115.
325. Clark IM, Swingler TE, Sampieri CL, Edwards DR. The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40:1362-1378.
326. Sivak JM, Fini ME. MMPs in the eye: emerging roles for matrix metalloproteinases in ocular physiology. *Prog Retin Eye Res* 2002;21:1-14.

327. Wong TT, Sethi C, Daniels JT, Limb GA, Murphy G, Khaw PT. Matrix metalloproteinases in disease and repair processes in the anterior segment. *Surv Ophthalmol* 2002;47:239-256.
328. Crawford HC, Matrisian LM. Mechanisms controlling the transcription of matrix metalloproteinase genes in normal and neoplastic cells. *Enzyme Protein* 1996;49:20-37.
329. Brew K, Dinakarpandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000;1477:267-283.
330. Murphy G, Willenbrock F. Tissue inhibitors of matrix metalloendopeptidases. *Methods Enzymol* 1995;248:496-510.
331. Mackiewicz Z, Maatta M, Stenman M, Konttinen L, Tervo T, Konttinen YT. Collagenolytic proteinases in keratoconus. *Cornea* 2006;25:603-610.
332. Gabison EE, Huet E, Baudouin C, Menashi S. Direct epithelial-stromal interaction in corneal wound healing: Role of EMMPRIN/CD147 in MMPs induction and beyond. *Prog Retin Eye Res*. England; 2009:19-33.
333. Ocklind A. Effect of latanoprost on the extracellular matrix of the ciliary muscle. A study on cultured cells and tissue sections. *Exp Eye Res* 1998;67:179-191.
334. Weinreb RN, Kashiwagi K, Kashiwagi F, Tsukahara S, Lindsey JD. Prostaglandins increase matrix metalloproteinase release from human ciliary smooth muscle cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2772-2780.
335. Lindsey JD, Kashiwagi K, Boyle D, Kashiwagi F, Firestein GS, Weinreb RN. Prostaglandins increase proMMP-1 and proMMP-3 secretion by human ciliary smooth muscle cells. *Curr Eye Res* 1996;15:869-875.
336. Gatton DD, Sagara T, Lindsey JD, Gabelt BT, Kaufman PL, Weinreb RN. Increased matrix metalloproteinases 1, 2, and 3 in the monkey uveoscleral outflow pathway after topical prostaglandin F(2 alpha)-isopropyl ester treatment. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1165-1170.
337. Oh DJ, Martin JL, Williams AJ, et al. Analysis of expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human ciliary body after latanoprost. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:953-963.
338. Anthony TL, Lindsey JD, Weinreb RN. Latanoprost's effects on TIMP-1 and TIMP-2 expression in human ciliary muscle cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:3705-3711.
339. Wang NL, Lu QJ, Li JH, Wang L. Prostaglandin induces the expression of matrix metalloproteinase-1 in ciliary melanocytes. *Chin Med J (Engl)* 2008;121:1173-1176.
340. Anthony TL, Pierce KL, Stamer WD, Regan JW. Prostaglandin F2 alpha receptors in the human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:315-321.
341. Sharif NA, Kelly CR, Crider JY. Human trabecular meshwork cell responses induced by bimatoprost, travoprost, unoprostone, and other FP prostaglandin receptor agonist analogues. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:715-721.
342. Oh DJ, Martin JL, Williams AJ, Russell P, Birk DE, Rhee DJ. Effect of latanoprost on the expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in human trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3887-3895.
343. Weinreb RN, Lindsey JD, Marchenko G, Marchenko N, Angert M, Strongin A. Prostaglandin FP agonists alter metalloproteinase gene expression in sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4368-4377.
344. Kim JW, Lindsey JD, Wang N, Weinreb RN. Increased human scleral permeability with prostaglandin exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1514-1521.

345. Lindsey JD, Crowston JG, Tran A, Morris C, Weinreb RN. Direct matrix metalloproteinase enhancement of transscleral permeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:752-755.
346. Wierzbowska J, Stankiewicz A. [Topical prostaglandins influence over cornea--preliminary report]. *Klin Oczna* 2006;108:479-481.
347. Viestenz A, Martus P, Schlotzer-Schrehardt U, Langenbucher A, Mardin CY. [Impact of prostaglandin-F(2alpha)-analogues and carbonic anhydrase inhibitors on central corneal thickness -- a cross-sectional study on 403 eyes]. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2004;221:753-756.
348. Bafa M, Georgopoulos G, Mihas C, Stavarakas P, Papaconstantinou D, Vergados I. The effect of prostaglandin analogues on central corneal thickness of patients with chronic open-angle glaucoma: a 2-year study on 129 eyes. *Acta Ophthalmol* 2009.
349. Ocklind A, Lake S, Wentzel P, Nister M, Stjernschantz J. Localization of the prostaglandin F2 alpha receptor messenger RNA and protein in the cynomolgus monkey eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:716-726.
350. Reviglio VE, Rana TS, Li QJ, Ashraf MF, Daly MK, O'Brien TP. Effects of topical nonsteroidal antiinflammatory drugs on the expression of matrix metalloproteinases in the cornea. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:989-997.
351. Liu Y, Yanai R, Lu Y, Hirano S, Sagara T, Nishida T. Effects of antiglaucoma drugs on collagen gel contraction mediated by human corneal fibroblasts. *J Glaucoma* 2006;15:255-259.
352. Bergonzi C, Giani A, Blini M, Marchi S, Luccarelli S, Staurenghi G. Evaluation of prostaglandin analogue effects on corneal keratocyte density using scanning laser confocal microscopy. *J Glaucoma* 2010;19:617-621.
353. Amano S, Nakai Y, Ko A, Inoue K, Wakakura M. A case of keratoconus progression associated with the use of topical latanoprost. *Jpn J Ophthalmol* 2008;52:334-336.
354. Honda N, Miyai T, Nejima R, et al. Effect of latanoprost on the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 on the ocular surface. *Arch Ophthalmol*. United States; 2010:466-471.
355. Camras CB. Comparison of latanoprost and timolol in patients with ocular hypertension and glaucoma: a six-month masked, multicenter trial in the United States. The United States Latanoprost Study Group. *Ophthalmology* 1996;103:138-147.
356. Alm A, Stjernschantz J. Effects on intraocular pressure and side effects of 0.005% latanoprost applied once daily, evening or morning. A comparison with timolol. Scandinavian Latanoprost Study Group. *Ophthalmology* 1995;102:1743-1752.
357. Watson P, Stjernschantz J. A six-month, randomized, double-masked study comparing latanoprost with timolol in open-angle glaucoma and ocular hypertension. The Latanoprost Study Group. *Ophthalmology* 1996;103:126-137.
358. Arranz Marquez E, Teus Guezala MA, Canseco Gonzalez F. [Respiratory effects of chronic therapy with latanoprost in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD)]. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2002;77:553-558.
359. Hedner J, Everts B, Moller CS. Latanoprost and respiratory function in asthmatic patients: randomized, double-masked, placebo-controlled crossover evaluation. *Arch Ophthalmol* 1999;117:1305-1309.
360. Waldock A, Snape J, Graham CM. Effects of glaucoma medications on the cardiorespiratory and intraocular pressure status of newly diagnosed glaucoma patients. *Br J Ophthalmol* 2000;84:710-713.
361. Incidence of a latanoprost-induced increase in iris pigmentation in Japanese eyes. *Jpn J Ophthalmol* 2006;50:96-99.

362. Teus MA, Arranz-Marquez E, Lucea-Suescun P. Incidence of iris colour change in latanoprost treated eyes. *Br J Ophthalmol* 2002;86:1085-1088.
363. Wistrand PJ, Stjernschantz J, Olsson K. The incidence and time-course of latanoprost-induced iridial pigmentation as a function of eye color. *Surv Ophthalmol* 1997;41 Suppl 2:S129-138.
364. Arranz-Marquez E, Teus MA. Effect of age on the development of a latanoprost-induced increase in iris pigmentation. *Ophthalmology* 2007;114:1255-1258.
365. Grierson I, Lee WR, Albert DM. The fine structure of an iridectomy specimen from a patient with latanoprost-induced eye color change. *Arch Ophthalmol* 1999;117:394-396.
366. Albert DM, Gangnon RE, Zimbric ML, et al. A study of iridectomy histopathologic features of latanoprost- and non-latanoprost-treated patients. *Arch Ophthalmol* 2004;122:1680-1685.
367. Arranz-Marquez E, Teus MA, Saornil MA, Mendez MC, Gil R. Analysis of irises with a latanoprost-induced change in iris color. *Am J Ophthalmol* 2004;138:625-630.
368. Tsai JC, Sivak-Callcott JA, Haik BG, Zhang J, McLean IW. Latanoprost-induced iris heterochromia and open-angle glaucoma: a clinicopathologic report. *J Glaucoma* 2001;10:411-413.
369. Pfeiffer N, Grierson I, Goldsmith H, Hochgesand D, Winkgen-Bohres A, Appleton P. Histological effects in the iris after 3 months of latanoprost therapy: the Mainz 1 study. *Arch Ophthalmol* 2001;119:191-196.
370. Wand M, Ritch R, Isbey EK, Jr., Zimmerman TJ. Latanoprost and periocular skin color changes. *Arch Ophthalmol* 2001;119:614-615.
371. Herndon LW, Robert DW, Wand M, Asrani S. Increased periocular pigmentation with ocular hypotensive lipid use in African Americans. *Am J Ophthalmol* 2003;135:713-715.
372. Demitsu T, Manabe M, Harima N, Sugiyama T, Yoneda K, Yamada N. Hypertrichosis induced by latanoprost. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:721-723.
373. Johnstone MA. Hypertrichosis and increased pigmentation of eyelashes and adjacent hair in the region of the ipsilateral eyelids of patients treated with unilateral topical latanoprost. *Am J Ophthalmol* 1997;124:544-547.
374. Parrish RK, Palmberg P, Sheu WP. A comparison of latanoprost, bimatoprost, and travoprost in patients with elevated intraocular pressure: a 12-week, randomized, masked-evaluator multicenter study. *Am J Ophthalmol* 2003;135:688-703.
375. Noecker RS, Dirks MS, Choplin NT, Bernstein P, Batoosingh AL, Whitcup SM. A six-month randomized clinical trial comparing the intraocular pressure-lowering efficacy of bimatoprost and latanoprost in patients with ocular hypertension or glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2003;135:55-63.
376. Miyake K, Ibaraki N. Prostaglandins and cystoid macular edema. *Surv Ophthalmol* 2002;47 Suppl 1:S203-218.
377. Altintas O, Yuksel N, Karabas VL, Demirci G. Cystoid macular edema associated with latanoprost after uncomplicated cataract surgery. *Eur J Ophthalmol* 2005;15:158-161.
378. Ahad MA, McKee HD. Stopping prostaglandin analogues in uneventful cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:2644-2645.
379. Moroi SE, Gottfredsdottir MS, Schteingart MT, et al. Cystoid macular edema associated with latanoprost therapy in a case series of patients with glaucoma and ocular hypertension. *Ophthalmology* 1999;106:1024-1029.

380. Schumer RA, Camras CB, Mandahl AK. Latanoprost and cystoid macular edema: is there a causal relation? *Curr Opin Ophthalmol* 2000;11:94-100.
381. Warwar RE, Bullock JD, Ballal D. Cystoid macular edema and anterior uveitis associated with latanoprost use. Experience and incidence in a retrospective review of 94 patients. *Ophthalmology* 1998;105:263-268.
382. Fechtner RD, Khouri AS, Zimmerman TJ, et al. Anterior uveitis associated with latanoprost. *Am J Ophthalmol* 1998;126:37-41.
383. Kumarasamy M, Desai SP. Anterior uveitis is associated with travoprost. *BMJ* 2004;329:205.
384. Packer M, Fine IH, Hoffman RS. Bilateral nongranulomatous anterior uveitis associated with bimatoprost. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:2242-2243.
385. Wand M, Gilbert CM, Liesegang TJ. Latanoprost and herpes simplex keratitis. *Am J Ophthalmol* 1999;127:602-604.
386. Morales J, Shihab ZM, Brown SM, Hodges MR. Herpes simplex virus dermatitis in patients using latanoprost. *Am J Ophthalmol* 2001;132:114-116.
387. Krohn J, Hove VK. Recurring iris pigment epithelial cyst induced by topical prostaglandin F2 alpha analogues. *Arch Ophthalmol* 2008;126:867-868.
388. Pruthi S, Kashani S, Ruben S. Bilateral iris cyst secondary to topical latanoprost. *Acta Ophthalmol* 2008;86:233-234.
389. Lai IC, Kuo MT, Teng LM. Iris pigment epithelial cyst induced by topical administration of latanoprost. *Br J Ophthalmol* 2003;87:366.
390. Browning DJ, Perkins SL, Lark KK. Iris cyst secondary to latanoprost mimicking iris melanoma. *Am J Ophthalmol* 2003;135:419-421.
391. Galin MA, Baras I, Zweifach P. Diamox-induced myopia. *Am J Ophthalmol* 1962;54:237-240.
392. Vela MA, Campbell DG. Hypotony and ciliochoroidal detachment following pharmacologic aqueous suppressant therapy in previously filtered patients. *Ophthalmology* 1985;92:50-57.
393. Becker B. Decrease in intraocular pressure in man by a carbonic anhydrase inhibitor, diamox; a preliminary report. *Am J Ophthalmol* 1954;37:13-15.
394. Maren TH. The kinetics of HCO₃⁻ synthesis related to fluid secretion, pH control, and CO₂ elimination. *Annu Rev Physiol* 1988;50:695-717.
395. Benedikt O, Zirm M, Harnoncourt K. [Relations between metabolic acidosis and intraocular pressure after inhibition of carboanhydrase with acetazolamide (author's transl)]. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1974;190:247-255.
396. Zimmerman TJ, Garg LC, Vogh BP, Maren TH. The effect of acetazolamide on the movements of anions into the posterior chamber of the dog eye. *J Pharmacol Exp Ther* 1976;196:510-516.
397. Becker B. The mechanism of the fall in intraocular pressure induced by the carbonic anhydrase inhibitor, diamox. *Am J Ophthalmol* 1955;39:177-184.
398. Maren TH. The rates of movement of Na⁺, Cl⁻, and HCO₃⁻ from plasma to posterior chamber: effect of acetazolamide and relation to the treatment of glaucoma. *Invest Ophthalmol* 1976;15:356-364.
399. Hageman GS, Zhu XL, Waheed A, Sly WS. Localization of carbonic anhydrase IV in a specific capillary bed of the human eye. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:2716-2720.
400. Wistrand PJ, Schenholm M, Lonnerholm G. Carbonic anhydrase isoenzymes CA I and CA II in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:419-428.

401. Nagelhus EA, Mathiesen TM, Bateman AC, et al. Carbonic anhydrase XIV is enriched in specific membrane domains of retinal pigment epithelium, Muller cells, and astrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:8030-8035.
402. Adamsons I, Clineschmidt C, Polis A, Taylor J, Shedden A, Laibovitz R. The efficacy and safety of dorzolamide as adjunctive therapy to timolol maleate gellan solution in patients with elevated intraocular pressure. Additivity Study Group. *J Glaucoma* 1998;7:253-260.
403. Srinivas SP, Ong A, Zhai CB, Bonanno JA. Inhibition of carbonic anhydrase activity in cultured bovine corneal endothelial cells by dorzolamide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:3273-3278.
404. Giasson CJ, Nguyen TQ, Boisjoly HM, Lesk MR, Amyot M, Charest M. Dorzolamide and corneal recovery from edema in patients with glaucoma or ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 2000;129:144-150.
405. Konowal A, Morrison JC, Brown SV, et al. Irreversible corneal decompensation in patients treated with topical dorzolamide. *Am J Ophthalmol* 1999;127:403-406.
406. Adamsons I. Irreversible corneal decompensation in patients treated with topical dorzolamide. *Am J Ophthalmol* 1999;128:774-776.
407. Domingo Gordo B, Urcelay Segura JL, Conejero Arroyo J, Balado Vazquez P, Rodriguez Ausin P. [Corneal descompensation in patients with endothelial compromise treated with topical dorzolamide]. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2002;77:139-144.
408. Wilkerson M, Cyrlin M, Lippa EA, et al. Four-week safety and efficacy study of dorzolamide, a novel, active topical carbonic anhydrase inhibitor. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1343-1350.
409. Inoue K, Okugawa K, Oshika T, Amano S. Influence of dorzolamide on corneal endothelium. *Jpn J Ophthalmol* 2003;47:129-133.
410. Kaminski S, Hommer A, Koyuncu D, Biowski R, Barisani T, Baumgartner I. Influence of dorzolamide on corneal thickness, endothelial cell count and corneal sensibility. *Acta Ophthalmol Scand* 1998;76:78-79.
411. Wirtitsch MG, Findl O, Kiss B, Petternel V, Heinzl H, Drexler W. Short-term effect of dorzolamide hydrochloride on central corneal thickness in humans with cornea guttata. *Arch Ophthalmol* 2003;121:621-625.
412. Egan CA, Hodge DO, McLaren JW, Bourne WM. Effect of dorzolamide on corneal endothelial function in normal human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:23-29.
413. Sall K. The efficacy and safety of brinzolamide 1% ophthalmic suspension (Azopt) as a primary therapy in patients with open-angle glaucoma or ocular hypertension. Brinzolamide Primary Therapy Study Group. *Surv Ophthalmol* 2000;44 Suppl 2:S155-162.
414. Silver LH. Clinical efficacy and safety of brinzolamide (Azopt), a new topical carbonic anhydrase inhibitor for primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. Brinzolamide Primary Therapy Study Group. *Am J Ophthalmol* 1998;126:400-408.
415. Ingram CJ, Brubaker RF. Effect of brinzolamide and dorzolamide on aqueous humor flow in human eyes. *Am J Ophthalmol* 1999;128:292-296.
416. Silver LH. Ocular comfort of brinzolamide 1.0% ophthalmic suspension compared with dorzolamide 2.0% ophthalmic solution: results from two multicenter comfort studies. Brinzolamide Comfort Study Group. *Surv Ophthalmol* 2000;44 Suppl 2:S141-145.
417. Prince JH. *The rabbit in eye research*: Springfield, Thomas.; 1964.
418. Wiig H. Cornea fluid dynamics. I: measurement of hydrostatic and colloid osmotic pressure in rabbits. *Exp Eye Res* 1989;49:1015-1030.

419. Lass JH, Khosrof SA, Laurence JK, Horwitz B, Ghosh K, Adamsons I. A double-masked, randomized, 1-year study comparing the corneal effects of dorzolamide, timolol, and betaxolol. Dorzolamide Corneal Effects Study Group. *Arch Ophthalmol* 1998;116:1003-1010.
420. Almeida GCJ, Faria e Souza SJ. Effect of topical dorzolamide on rabbit central corneal thickness. *Braz J Med Biol Res* 2006;277-281.
421. Chiaradia PA, Casiraghi JF, Fischbarg J, Lavena PI. [Comparative study of the effects of two anti-glaucomatous drugs on the corneal thickness in rabbits with corneal autografts.]. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2008;83:257-262.
422. Munoz G, Albarran-Diego C, Sakla HF, Javaloy J. Increased risk for flap dislocation with perioperative brimonidine use in femtosecond laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2009;35:1338-1342.
423. Bissen-Miyajima H, Nakamura K, Kaido M, Shimmura S, Tsubota K. Role of the endothelial pump in flap adhesion after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:1989-1992.
424. Wu KY, Wang HZ, Hong SJ. Cellular cytotoxicity of antiglaucoma drugs in cultured corneal endothelial cells. *Kaohsiung J Med Sci* 2007;23:105-111.
425. Wu KY, Hong SJ, Wang HZ. Effects of antiglaucoma drugs on calcium mobility in cultured corneal endothelial cells. *Kaohsiung J Med Sci* 2006;22:60-67.
426. Grueb M, Bartz-Schmidt KU, Rohrbach JM. Adrenergic regulation of cAMP/protein kinase A pathway in corneal epithelium and endothelium. *Ophthalmic Res* 2008;40:322-328.
427. Toris CB, Gabelt BT, Kaufman PL. Update on the mechanism of action of topical prostaglandins for intraocular pressure reduction. *Surv Ophthalmol* 2008;53 Suppl1:S107-120.
428. Jackson TL, Hussain A, Hodgetts A, et al. Human scleral hydraulic conductivity: age-related changes, topographical variation, and potential scleral outflow facility. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006 47:4942-4946.
429. Fatt I, Hedbys BO. Flow of water in the sclera. *Exp Eye Res* 1970;10:243-249.
430. Hatanaka M, Vessani RM, Elias IR, Morita C, Susanna RJ. The effect of prostaglandin analogs and prostamide on central corneal thickness. *J Ocul Pharmacol Ther* 2009;25:51-53.
431. Harasymowycz PJ, Papamatheakis DG, Ennis M, Brady M, Gordon KD. Relationship between travoprost and central corneal thickness in ocular hypertension and open-angle glaucoma. *Cornea* 2007;26:34-41.
432. Sen E, Nalcacioglu P, Yazici A, et al. Comparison of the effects of latanoprost and bimatoprost on central corneal thickness. *J Glaucoma* 2008;17:398-402.
433. Sugimoto Y, Hasumoto K, Namba T, et al. Cloning and expression of a cDNA for mouse prostaglandin F receptor. *J Biol Chem* 1994;269:1356-1360.
434. Lake S, Gullberg H, Wahlqvist J, et al. Cloning of the rat and human prostaglandin F2 alpha receptors and the expression of the rat prostaglandin F2 alpha receptor. *FEBS Lett* 1994;355:317-325.
435. Bito LZ. Species differences in the responses of the eye to irritation and trauma: a hypothesis of divergence in ocular defense mechanisms, and the choice of experimental animals for eye research. *Exp Eye Res* 1984;39:807-829.
436. Woodward DF, Regan JW, Lake S, Ocklind A. The molecular biology and ocular distribution of prostanoid receptors. *Survey of ophthalmology* 1997;41:s15-21.
437. Bito LZ. Prostaglandins: a new approach to glaucoma management with a new, intriguing side effect. *Surv Ophthalmol* 1997;41 Suppl 2:S1-14.

438. Blumberg D, Congdon N, Jampel H, et al. The effects of sevoflurane and ketamine on intraocular pressure in children during examination under anesthesia. *Am J Ophthalmol* 2007;143:494-499.
439. Ishibashi T, Yokoi N, Ohtsuki M, Mori K, Komuro A, Kinoshita S. Influence of latanoprost on the corneal epithelial barrier function in glaucoma patients. *Ophthalmologica* 2002;216:351-354.
440. Miglior S, Albe E, Guareschi M, Mandelli G, Gomasasca S, Orzalesi N. Intraobserver and interobserver reproducibility in the evaluation of ultrasonic pachymetry measurements of central corneal thickness. *Br J Ophthalmol* 2004;88:174-177.
441. Wickham L, Edmunds B, Murdoch IE. Central corneal thickness: will one measurement suffice? *Ophthalmology* 2005;112:225-228.
442. Weinreb RN, Lindsey JD. Metalloproteinase gene transcription in human ciliary muscle cells with latanoprost. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:716-722.
443. Lindsey JD, Kashiwagi K, Kashiwagi F, Weinreb RN. Prostaglandin action on ciliary smooth muscle extracellular matrix metabolism: implications for uveoscleral outflow. *Surv Ophthalmol* 1997;41 Suppl 2:S53-59.
444. Los LI, van der Worp RJ, van Luyn MJA, Hooymans JMM. Presence of collagen IV in the ciliary zonules of the human eye: an immunohistochemical study by LM and TEM. *J Histochem Cytochem* 2004;52:789-795.
445. Ashworth JL, Kielty CM, McLeod D. Fibrillin and the eye. *Br J Ophthalmol* 2000;84:1312-1317.
446. Yamaji K, Yoshitomi T, Ishikawa H, Usui S. Prostaglandins E1 and E2, but not F2alpha or latanoprost, inhibit monkey ciliary muscle contraction. *Curr Eye Res* 2005;30:661-665.
447. Yoshitomi T, Yamaji K, Ishikawa H, Ohnishi Y. Effect of latanoprost, prostaglandin F(2)alpha and nipradilol on isolated bovine ciliary muscle. *Jpn J Ophthalmol* 2002;46:401-405.
448. Sagara T, Gatton DD, Lindsey JD, Gabelt BT, Kaufman PL, Weinreb RN. Topical prostaglandin F2alpha treatment reduces collagen types I, III, and IV in the monkey uveoscleral outflow pathway. *Arch Ophthalmol* 1999;117:794-801.
449. Wright DW, McDaniels CN, Swasdison S, Accavitti MA, Mayne PM, Mayne R. Immunization with undenatured bovine zonular fibrils results in monoclonal antibodies to fibrillin. *Matrix Biol* 1994;14:41-49.
450. Ashworth JL, Murphy G, Rock MJ, et al. Fibrillin degradation by matrix metalloproteinases: implications for connective tissue remodelling. *Biochem J* 1999;15:171-181.
451. Simsek S, Yulek F, Cakmak HB, Midillioglu IK. Long-term effects of prostaglandin analogues on the anterior chamber depth of patients with primary open-angle glaucoma. *Cutan Ocul Toxicol* 2009;28:125-128.
452. Stewart JM, Schultz DS, Lee O-T, Trinidad ML. Collagen cross-links reduce corneal permeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:1606-1612.