



Universidad de Valladolid



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID  
INSTITUTO UNIVERSITARIO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA  
Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión

**EFFECTO DE LA DEXAMETASONA TÓPICA PREOPERATORIA  
EN EL ENDOTELIO CORNEAL Y EN BIOMARCADORES  
INFLAMATORIOS DE CÁMARA ANTERIOR EN LA CIRUGÍA  
DE LA CATARATA DEL PACIENTE DIABÉTICO**



*David Peña Ruiz*  
2017





## AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

(Art. 7.2 de la Normativa para la presentación y defensa de la Tesis Doctoral en la UVa)

D. David José Galarreta Mira con D.N.I./Pasaporte 32802259G, profesor del departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia, Facultad de Medicina, con dirección a efecto de notificaciones en el Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada, Paseo de Belén 17,47011 Valladolid, y e-mail: davidgalarreta@hotmail.com, como Director de la Tesis Doctoral titulada:

*“Efecto de la dexametasona tópica preoperatoria en el endotelio corneal y en biomarcadores inflamatorios de cámara anterior en la cirugía de la catarata del paciente diabético”.*

Realizada por D. David Peña Ruiz, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión,

**Autoriza** su presentación, considerando que el trabajo de investigación realizado, con su documento final, cumple todos los requisitos necesarios para presentarlo como una tesis doctoral y que es **APTA** para su defensa.

Valladolid, 11 de Septiembre de 2017

El Director de la Tesis

Fdo.: Dr. David José Galarreta Mira

SR/SRA. PRESIDENTE/A DE LA COMISIÓN DE DOCTORADO





**Universidad de Valladolid**



**INSTITUTO UNIVERSITARIO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA VISIÓN**

**TESIS DOCTORAL:**

**EFECTO DE LA DEXAMETASONA TÓPICA PREOPERATORIA EN  
EL ENDOTELIO CORNEAL Y EN BIOMARCADORES  
INFLAMATORIOS DE CÁMARA ANTERIOR EN LA CIRUGÍA DE  
LA CATARATA DEL PACIENTE DIABÉTICO.**

Trabajo de investigación presentado por el licenciado **DAVID PEÑA RUIZ**,  
para optar al grado de Doctor por la **UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**,  
dentro del programa de doctorado en Ciencias de la Visión.

Director:

**Dr. DAVID JOSÉ GALARRETA MIRA**

Tutora:

**Dra. YOLANDA DIEBOLD LUQUE**

*Valladolid 2017*



**A mis padres, Javier y Pili**





**A mis hermanos, Sergio y Noemi**



# AGRADECIMIENTOS

La elaboración de esta tesis doctoral, me ha regalado muchas experiencias positivas. Una importante lección que he aprendido es que, como en la vida, aunque a veces no ves el final hay que tener paciencia para poder llegar y alcanzar así tus objetivos. Aunque ha sido un camino largo, el haber llegado hasta aquí se lo debo a mucha gente de mi vida diaria y sin la cual esto no habría sido posible.

En primer lugar, querría dar las gracias a David Galarreta. Tú me diste la oportunidad de aprender a tu lado, confiaste en mí y me enseñaste todo lo que sabías sin esperar nada a cambio. Me diste las herramientas para crecer como oftalmólogo y como persona. No imagino un maestro mejor. Sin ti nunca habría llegado tan lejos.

Gracias a todos mis compañeros del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Todos fuisteis aportando vuestro granito de arena al preocuparos de mi formación.

Gracias a mis padres. Es un inmenso orgullo ser vuestro hijo, siempre habéis sido mi ejemplo a seguir. Me enseñasteis a no rendirme nunca, y que con esfuerzo y perseverancia, todo puede ser posible. Nunca os faltaron unas palabras de ánimo o un buen consejo cuando lo necesite. Gracias por ser mis padres.

Gracias a mis hermanos, Sergio y Noemi. Sois dos pilares fundamentales en mi vida y mis mejores amigos. Siempre lo hemos compartido todo y por eso quería que esta tesis fuera también un poco vuestra al dedicaros estas líneas.

Gracias a mi familia. Siempre han estado ahí para apoyarme.

Gracias a todo el personal de quirófano por su ayuda.

Gracias al Dr Garrote, Dra Almansa y al laboratorio de investigación clínica del Hospital Clínico Universitario de Valladolid por el análisis de las muestras y darme todas las explicaciones necesarias.

Gracias a Carla Marco y a la Dra. Pinazo por su ayuda desde Valencia, y por abrir vías de colaboración.

Gracias a Marife y al servicio de estadística. Sin su ayuda los datos recogidos simplemente serían números. Gracias por hacerme la estadística un poco más fácil.

Gracias a todo el personal del IOBA que nos ha ayudado en todo lo que hemos necesitado.

Gracias a mis amigos por animarme a no rendirme cuando las fuerzas me fallaban.

Gracias a los pacientes por su colaboración.

# FINANCIACIÓN

El siguiente trabajo de investigación ha podido ser realizado gracias a las siguientes fuentes de financiación:

- Proyecto de investigación en Biomedicina, Biotecnología y Ciencias de la Salud, a desarrollar en la Gerencia de Atención Especializada, concedido por la Gerencia Regional de Salud de Castilla y León con la referencia GRS 472/A/10.
- Laboratorios Thea España, por la aportación desinteresada de la dexametasona empleada en el proyecto.
- Laboratorio de investigación médica en infección e inmunología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
- Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.





*ÍNDICE*





## ÍNDICE

RESUMEN / ABSTRACT .....	17
<b>1. ABREVIATURAS</b> .....	19
<b>1.A. ABREVIATURAS</b> .....	21
<b>1.B. CÓDIGO DE COLORES PARA LA LECTURA DE LAS GRÁFICAS</b> .....	25
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	27
<b>2.A. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN, JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	29
<b>2.A.1. Pregunta de investigación</b> .....	29
<b>2.A.2. Justificación</b> .....	31
<b>2.A.3. Hipótesis</b> .....	35
<b>2.A.4. Objetivos</b> .....	37
<b>2.B. ESTADO ACTUAL DEL TEMA</b> .....	39
<b>2.B.1. Cornea</b> .....	39
<b>2.B.1.A. Estructura de la cornea</b> .....	39
<b>2.B.1.B. Inervación y vascularización corneal</b> .....	39
<b>2.B.1.C. Capas de la córnea</b> .....	40
<b>2.B.1.D. Queratopatía diabética</b> .....	45
<b>2.B.2. Microscopía endotelial</b> .....	46
<b>2.B.3. Cámara anterior y humor acuoso</b> .....	48
<b>2.B.4. Capsula anterior del cristalino</b> .....	50
<b>2.B.5. Facoemulsificación</b> .....	51
<b>2.B.6. Marcadores inflamatorios y antioxidantes</b> .....	53
<b>2.B.7. Estrés oxidativo y daño endotelial</b> .....	58
<b>2.B.8. Influencia de los corticoides sobre las expresión enzimática y su acción en cámara anterior y en células endoteliales corneales.</b> .....	58
<b>3. MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	61
<b>3.A. DISEÑO DEL ESTUDIO</b> .....	63
<b>3.B. SUJETOS</b> .....	63
<b>3.C. PAUTA DE VISITAS Y PRUEBAS REALIZADAS</b> .....	65
<b>3.C.1. Evaluación preoperatoria</b> .....	65
<b>3.C.2. Intraoperatorio</b> .....	66
<b>3.C.3. Seguimiento postoperatorio</b> .....	67
<b>3.D. PRUEBAS REALIZADAS</b> .....	67
<b>3.D.1. Historia clínica</b> .....	67
<b>3.D.2. Refracción</b> .....	67
<b>3.D.3. Valoración de la biomicroscopía de polo anterior</b> .....	68

3.D.4.	Biometría óptica .....	69
3.D.5.	Paquimetría corneal ultrasónica central.....	69
3.D.6.	Microscopía endotelial corneal .....	69
3.D.7.	Toma de muestras de humor acuoso y epitelio de cápsula anterior del cristalino y facoemulsificación torsional de la catarata .....	71
3.E.	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS .....	74
3.E.1.	Determinación de los niveles de moléculas proinflamatorias en humor acuoso .....	75
3.E.2.	Determinación de la capacidad total antioxidante del humor acuoso.....	77
3.E.3.	Determinación cuantitativa de expresión de genes de enzimas antioxidantes en cápsula anterior del cristalino .....	78
3.E.3.A.	Aislamiento del ARN Total .....	78
3.E.3.B.	Recogida y homogenización de la muestra .....	79
3.E.3.C.	Precipitación de las muestras .....	79
3.E.3.D.	Reacción en cadena de la polimerasa .....	80
3.F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	83
4.	<b>RESULTADOS</b> .....	85
4.A.	GRUPOS MUESTRALES.....	87
4.A.1.	Análisis Multivariante .....	90
4.A.2.	Análisis de las variables de facodinamia.....	91
4.A.3.	Reajuste de la población.....	96
4.B.	RESULTADOS DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS.....	98
4.B.1.	Agudeza visual y presión intraocular .....	99
4.B.2.	Paquimetría corneal Ultrasónica y con Microscopía Especular de no contacto.....	100
4.B.3.	Microscopia Especular .....	102
4.B.4.	Análisis Lineal de los Datos.....	113
4.B.5.	Humor Acuoso .....	118
4.B.5.A.	Determinación de los niveles de moléculas proinflamatorias en humor acuoso.....	118
4.B.5.B.	Capacidad total antioxidante.....	122
4.B.6.	Cápsula Anterior del Cristalino .....	124
4.B.7.	Coeficientes de correlación.....	125
5.	<b>DISCUSIÓN</b> .....	127
5.A.	GRUPOS MUESTRALES. DIABETES Y DEXAMETASONA .....	129
5.B.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN .....	130
5.C.	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS.....	131
5.C.1.	Valoración de la biomicroscopía de polo anterior.....	131

5.C.2.	Facoemulsificación torsional de la catarata.....	132
5.C.3.	Microscopía endotelial corneal de no contacto .....	132
5.C.4.	Paquimetría corneal ultrasónica.....	133
5.C.5.	Determinación de los niveles de citocinas inflamatorias en humor acuoso .....	134
5.C.6.	Determinación de la capacidad antioxidante del humor acuoso ....	157
5.C.7.	Determinación cuantitativa de expresión de genes de enzimas antioxidantes en cápsula anterior del cristalino.....	136
5.D.	RESULTADOS .....	138
5.D.1.	Agudeza visual y presión intraocular.....	138
5.D.2.	Parámetros funcionales indirectos del endotelio corneal .....	138
5.D.3.	Parametros morfológicos y métricos del endotelio corneal .....	140
5.D.4.	Determinación de citoquinas y factores de crecimiento .....	142
5.D.5.	Determinacion de capacidad total antioxidante del humor acuoso .....	149
5.D.6.	Determinacion de expresión de proteínas en cápsula anterior del cristalino .....	148
5.E.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO .....	150
5.F.	FUTUROS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.....	150
6.	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>153</b>
7.	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>157</b>
8.	<b>ANEXOS .....</b>	<b>177</b>
8.A.	ANEXO 1 .....	179
8.B.	ANEXO 2 .....	182



## **RESUMEN**

Se presenta un trabajo de investigación que pretende comprobar el efecto de la dexametasona tópica aplicada en el preoperatorio de la cirugía de la catarata en el paciente diabético. La supervivencia del endotelio corneal tras la agresión quirúrgica ha sido una de las grandes preocupaciones de los cirujanos. La mayor parte de todos los trabajos están encaminados a comprobar la eficacia de los distintos tratamientos postoperatorios. Sin embargo, la modulación farmacológica en el preoperatorio se presenta como un arma interesante para intentar acondicionar el medio en el que se va a realizar la cirugía. La tecnología actual, tanto en la clínica como en el laboratorio de biología molecular, permite responder a muchas de las cuestiones planteadas en el pasado de una manera objetiva. La dexametasona es un potente corticoide empleado de manera habitual en el ámbito de la cirugía de la catarata, y ha demostrado ser capaz de modificar tanto la expresión de genes como las concentraciones de múltiples moléculas implicadas en la muerte celular. Debido a las características del endotelio corneal, y a las peculiaridades que presenta en el paciente diabético, todos estos datos son tremendamente interesantes para conocer si podemos mejorar la viabilidad endotelial tras la cirugía de la catarata en el paciente diabético.

Con la presente Tesis Doctoral, se plantea que una pauta terapéutica preoperatoria con dexametasona podría mejorar la supervivencia endotelial asociada a un incremento de la expresión de moléculas antioxidantes, de la capacidad total antioxidante del humor acuoso y un descenso de las moléculas inflamatorias presentes en la cámara anterior. Las múltiples variables evaluadas comprobaron que la aplicación de dexametasona tópica prequirúrgica no aportaba beneficios en la supervivencia endotelial en los grupos de pacientes estudiados.

## **ABSTRACT**

We present a research whose aim is to check the effects of topical dexamethasone in ophthalmic solution as preoperative treatment in the cataract surgery of the diabetic patient. Endothelial survival has been always one of the main concerns of surgeons. The research has been focused mainly in postoperative treatments. However, preoperative treatment is a

very interesting way to modulate the environment where the surgery happens. Improvements in clinical examination and lab technology let to answer many questions in an objective way. Dexamethasone is a corticosteroid commonly prescribed around cataract surgery that has shown power enough to modify expression of many genes, including antioxidants and molecules involved in cellular death. Due to endothelium characteristics, especially in diabetic patients, all these data will be very useful to check if it is possible to improve the endothelium viability after the cataract surgery in the diabetic patient.

This Doctoral Thesis presents a preoperative treatment based on topical dexamethasone that try to improve the endothelium viability associated to an upregulation of antioxidants enzyme genes, an increase in the total antioxidant capacity and a decrease in pro-inflammatory molecules of the anterior chamber. Multiple evaluated variables showed that preoperative topical dexamethasone did not offer any clinical benefits in endothelium survival after cataract surgery in diabetic patients.



# *1. ABREVIATURAS*





1.A. ABREVIATURAS











AV	Agudeza Visual
ACTB	<i>Beta-Actin</i> : Beta Actina
ADNc	Acido DesoxirriboNucleico complementario
AGEs	<i>Advanced Glycation End products</i> : Productos finales de la glicosilación avanzada
Arg	Arginina
ARN	Ácido RiboNucleico
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
ATP	<i>Adenosin Triphosphate</i> : Trifosfato de adenosina
BHA	Barrera HematoAcuosa
CA	Cámara Anterior
CAT	Catalasa
CTA	Capacidad Total Antioxidante
CCC	Capsulorrexis Circular Continua
CCL	Quimiocinas CC
CDC	Citotoxicidad Dependiente del Complemento
CDE	<i>Cumulative Dissipated Energy</i> : Energía disipada acumulada
CEC	Células Endoteliales Corneales
Cl <sup>-</sup>	Cloro
CRE	<i>Copper Reducing Equivalents</i> : Equivalentes reductores del cobre
CSF 2	<i>Colony Stimulating Factor 2</i> : Factor estimulante de colonias 2
CV	Coefficiente de Variación
CXCL	Quimiocinas CXC
DCE	Densidad Celular Endotelial
DM	Diabetes Mellitus
DT	Desviación típica
EAO	Enzimas AntiOxidantes
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> : Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
EO	Estrés oxidativo
FGF basic	<i>Fibroblast Growth Factor basic</i> : Factor de crecimiento de fibroblastos basico

FIA	Fluoroimmunoanálisis
FO	Fondo de Ojo
Fig.	Figura
G-1	Grupo 1
G-2	Grupo 2
G-3	Grupo 3
G-4	Grupo 4
GAG	GlicosAminoGlicano
GAPDH	GlicerAldehido 3-Fosfato DesHidrogenasa
G-CSF/CSF-3	<i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor / Colony Stimulating Factor 3</i> : Factor estimulador de colonias de granulocitos / Factor estimulador de colonias 3
Glu	Ácido gutámico
GM-CSF/CSF-2	<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor / Colony Stimulating Factor 2</i> ): Factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos / Factor estimulador de colonias 2
H <sup>+</sup>	Protones
HA	Humor Acuoso
HbA1c	Hemoglobina Glicosilada
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bicarbonato
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
I	Inferior
IFN- $\gamma$	<i>InterFeroN gamma</i> : Interferón gamma
IL	<i>InterLeukin</i> : Interleucina
IL-1 $\beta$	<i>InterLeukin 1beta</i> : Interleucina 1beta
IL-1ra	<i>InterLeukin -1 receptor antagonist</i> : Antagonista del receptor de Interleucina 1
IL-2	<i>InterLeukin 2</i> : Interleucina 2
IL-4	<i>InterLeukin 4</i> : Interleucina 4
IL-5	<i>InterLeukin 5</i> : Interleucina 5
IL-6	<i>InterLeukin 6</i> : Interleucina 6
IL-7	<i>InterLeukin 7</i> : Interleucina 7
IL-8	<i>InterLeukin 8</i> : Interleucina 8
IL-9	<i>InterLeukin 9</i> : Interleucina 9
IL-10	<i>InterLeukin 10</i> : Interleucina 10
IL-12p70	<i>InterLeukin 12 p70</i> : Interleucina 12 p70
IL-13	<i>InterLeukin 13</i> : Interleucina 13
IL-15	<i>InterLeukin 15</i> : Interleucina 15
IL-17	<i>InterLeukin 17</i> : Interleucina 17

IP-10	<i>Interferon gamma-inducible Protein 10:</i> Proteína 10 inducida por interferón gamma
K <sup>+</sup>	Potasio
Leu	Leucina
MCP-1/MACF	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1 / Monocyte Activating and Chemotactic Factor:</i> Proteína quimiotáctica de monocitos-1 / quimiotáctico y factor activador de monocitos
Mg <sup>2+</sup>	Magnesio
MIP-1 $\alpha$ /CCL3	<i>Macrophage Inflammatory Proteins 1 alpha / Chemokine (C-C motif) ligand 3:</i> Proteínas inflamatorias de macrófagos 1 alfa / Ligando de Quimiocina (Motivo C-C) 3
MIP-1 $\beta$ /CCL4	<i>Macrophage Inflammatory Proteins 1 beta / Chemokine (C-C motif) ligand 4:</i> proteínas inflamatorias de macrófagos 1 beta / Ligando de Quimiocina (Motivo C-C) 4
ME	Microscopio Especular
MENC	Microscopio Especular de No Contacto
MEC	Microscopio Especular de Contacto
mm <sup>2</sup>	Milímetros cuadrados
mm	Milímetros
mmHg	Milímetros de mercurio
ml	Mililitro
N	Nasal
Na <sup>+</sup>	Sodio
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anión superóxido
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Átomo de Oxígeno
-OH	Radical hidroxilo
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction:</i> Reacción en cadena de la polimerasa
PDGF	<i>Platelet-Derived Growth Factor:</i> Factor de crecimiento derivado de plaquetas
pg	Picogramo
PH	Porcentaje de Hexagonalidad
PIO	Presión IntraOcular
QX	Cirugía
RANTES/CCL5	<i>Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted / Chemokine (C-C motif) ligand 5:</i> quimiocina de regulación

	por activación expresada y secretada por los linfocitos T / Ligando de Quimiocina (Motivo C-C) 5
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> : Especies reactivas de oxígeno
RPM	Revoluciones Por Minuto
S	Superior
SASP	<i>Senescence-Associated Secretory Phenotype</i> : fenotipo secretor asociado a la senescencia
SNR	<i>Signal to Noise Ratio</i> : Proporción de Señal Ruido
SOD	<i>SuperOxide Dismutase</i> : superóxido dismutasa
SOD2	<i>SuperOxide Dismutase 2</i> : superóxido dismutasa 2
T	Temporal
TAC	<i>Total Antioxidant Capacity</i> : Capacidad total antioxidante
Th	T helper
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i> : Factor de necrosis tumoral alfa
TNF- $\beta$ /LT- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor beta / Lymphotoxin-alpha</i> : Factor de necrosis tumoral beta / Linfotóxina alfa
U	Ultrasónica
UAE	<i>Uric Acid Equivalents</i> : Equivalentes de ácido úrico
US	Ultrasonidos
UV	UltraVioleta
$\mu$ l	Microlitros
U/S total time	<i>Total time Ultrasound</i> : Tiempo total de ultrasonidos
V-0	Visita 0
V-1	Visita 1
V-2	Visita 2
V-3	Visita 3
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> : Factor de crecimiento endotelial vascular
XCL	Quimiocinas C

## 1.B. CÓDIGO DE COLORES PARA LA LECTURA DE LAS GRÁFICAS

	Amarillo: Pacientes no diabéticos
	Azul: Pacientes diabéticos
	Naranja: Grupo 1 (No DM - No Dexametasona)
	Verde: Grupo 2 (DM - No Dexametasona)
	Rojo: Grupo 3 (No DM - Dexametasona)
	Morado: Grupo 4 (DM - Dexametasona)
	Azul: Visita 0
	Granate: Visita 1
	Verde: Visita 2
	Marrón: Visita 3





## *2. INTRODUCCIÓN*





## 1. INTRODUCCIÓN

### 2.A. PREGUNTA DE INVESTIGACION, JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 2.A.1. Pregunta de investigación

*Enunciado:*

La presente tesis doctoral se plantea como consecuencia de la siguiente pregunta de investigación:

¿Es posible mejorar farmacológicamente el ambiente en el que transcurre la cirugía de la catarata para lograr una mejor supervivencia endotelial ante la agresión quirúrgica?

*Motivación:*

La cirugía de la catarata es la más frecuente de todas las oftalmológicas. Los pacientes diabéticos tienen una mayor incidencia de catarata y un microambiente metabólico que confiere a la córnea una serie de características especiales que dan lugar a la queratopatía diabética. Esta población de pacientes se postula como excelente para comprobar, por sus características, si esa modulación farmacológica es posible.



## 2.A.2. Justificación

La cirugía de la catarata es la que una persona tiene más probabilidad de necesitar a lo largo de su vida, siendo cada vez diagnosticada y tratada más precozmente. Además, existen una serie de grupos de población que presentan una incidencia más alta, entre los que destacan los diabéticos <sup>1,2</sup>.

Esta cirugía se realiza en una localización muy especial, la cámara anterior (CA). La parte anterior de la misma es el endotelio corneal. Se trata de una monocapa de células que carece, en condiciones normales, de capacidad de replicación, y que se encarga, entre otras funciones, de mantener una correcta proporción hídrica de la córnea para permitir su normal funcionamiento. El número de células endoteliales corneales (CEC) disminuye progresivamente desde el nacimiento de una forma constante y, en ausencia de una patología endotelial, suele ser suficiente para mantener su función en el periodo de expectativa vital del paciente. Sin embargo, la realización de una cirugía intraocular, en algún momento de la vida, condiciona una reducción del número de células, lo que puede comprometer la función corneal <sup>3-5</sup>. La cirugía moderna de la catarata, a pesar de los múltiples avances, todavía condiciona una pérdida entre un 5-15% de las células endoteliales<sup>6,7</sup>. No obstante, es un porcentaje menor que el que ocasionaban las técnicas más antiguas como la extracción extracapsular o la intracapsular del cristalino <sup>3-5,8-10</sup>.

Además, existen una serie de condicionantes preoperatorios, como la presencia de cualquier enfermedad endotelial, que ocasionan una reducción en el número basal de esas células. En estos casos, la córnea es más susceptible a que la pérdida originada tras una cirugía intraocular, como la de la catarata, condicione su correcto funcionamiento <sup>11,12</sup>.

El mecanismo por el que las células endoteliales mueren tras una intervención es múltiple<sup>13,14</sup>. El contacto directo con el terminal de facoemulsificación es excepcional y suele ser derivado de una cirugía complicada. Sin embargo, el daño indirecto originado por un exceso de energía empleada en la facoemulsificación suele ser la causa más común <sup>4</sup>. Entre los mecanismos celulares iniciados en ese momento destacan el aumento de estrés oxidativo (EO) y la inflamación, que pueden condicionar una muerte endotelial por apoptosis<sup>4,15</sup>.

La cirugía de la catarata ocasiona un cambio en la composición del humor acuoso (HA). Durante la

facoemulsificación el HA es reemplazado por soluciones salinas balanceadas que, evidentemente, tienen una formulación más limitada. Por ejemplo, desaparecen la mayor parte de las moléculas antioxidantes presentes en la CA, que precisan un tiempo para su nueva síntesis o reposición <sup>16</sup>. Por otro lado, la pérdida de la barrera hematoacuosa (BHA) origina que aparezcan células inflamatorias en CA, y con ellas, múltiples moléculas proinflamatorias y pro-oxidantes, que contribuyen al incremento de la inflamación y del EO <sup>16</sup>.

Así pues, el endotelio corneal se encuentra en un ambiente muy hostil nada más finalizar la cirugía de la catarata, y eso es una de las causas, probablemente, de la muerte celular<sup>17</sup>.

En el caso de los pacientes diabéticos esto es especialmente notable, ya que tienen un endotelio más vulnerable a cualquier agresión <sup>18,19</sup>. Esto está ocasionado, entre otros motivos, por una disminución de la capacidad total antioxidante (CTA) y a un acúmulo de moléculas, potencialmente tóxicas, debido al microambiente creado por las condiciones metabólicas de su enfermedad <sup>1,20</sup>. De hecho, todos esos cambios originan alteraciones en casi todas las capas de la córnea, y dan lugar a lo que se conoce como queratopatía diabética<sup>21</sup>.

La posibilidad de dotar a la CA en el postoperatorio inmediato de una mayor concentración de antioxidantes y una menor de moléculas proinflamatorias, se presenta como una atractiva opción para intentar reducir la muerte celular endotelial. Esto puede ser especialmente importante en una extirpe sin capacidad de autorrenovación, y que, a largo plazo, puede precisar de una reserva celular suficiente para poder superar posibles futuros compromisos. Algunas soluciones empleadas durante la cirugía incorporan antioxidantes, como el glutatión o el ascorbato, en un intento de compensar esta alteración<sup>17,22</sup>.

Existen múltiples estudios sobre EO y, en concreto, sobre la expresión de las enzimas antioxidantes (EAO) encargadas de la protección frente a las agresiones pro-oxidantes. Sin embargo, aún no se conoce bien como se expresan todas estas proteínas, ni como está regulada dicha producción en la CA <sup>23-25</sup>.

Los estudios en expresión de EAO, con otras estirpes celulares, han permitido conocer que existen una serie de fármacos capaces de modificar la regulación de los genes de EAO, como ocurre con la dexametasona, que es capaz de incrementar esa expresión <sup>24,26</sup>.

Basados en todos estos antecedentes, se plantea este estudio para comprobar si la administración preoperatoria a la cirugía de la catarata de dexametasona en colirio, incrementa la CTA en la CA, modifica la expresión de las enzimas implicadas y reduce la presencia de moléculas proinflamatorias. La íntima relación entre la cascada inflamatoria y los daños inducidos por el EO hace ideal el estudio de ambas familias de moléculas. El posible inicio de los procesos de síntesis de las EAO inducido por la dexametasona previo a la cirugía, puede ser vital, para empezar cuanto antes la compensación del incremento del EO en CA, desencadenado por la facoemulsificación, y con ello mejorar la viabilidad del endotelio corneal.



### **2.A.3. Hipótesis**

La administración de dexametasona tópica preoperatoria en la cirugía de la catarata del paciente con diabetes mellitus tipo 2 sin retinopatía diabética incrementa la expresión de los genes de enzimas antioxidantes en la cápsula anterior del cristalino y la capacidad total antioxidante del humor acuoso, y además, disminuye la expresión de proteínas proinflamatorias en la cápsula anterior del cristalino y los niveles de moléculas proinflamatorias en el humor acuoso, lo que permite una mejor viabilidad postquirúrgica del endotelio corneal.





### **2.A.4. Objetivos**

El principal objetivo de esta tesis doctoral es comprobar el efecto del pre-tratamiento con dexametasona tópica en la cirugía de la catarata en pacientes sin y con diabetes mellitus tipo 2 sin retinopatía diabética en los siguientes aspectos:

1. En los parámetros morfológicos de las células endoteliales corneales valoradas mediante microscopía especular de no contacto y en la paquimetría corneal como índice indirecto de la función endotelial.
2. En la capacidad total antioxidante del humor acuoso determinada mediante la reducción del cobre.
3. En las concentraciones de elementos de la cascada inflamatoria en el humor acuoso determinadas mediante tecnología fluoroinmunoanálisis Multiplex.
4. En la expresión relativa de genes de enzimas antioxidantes y de moléculas proinflamatorias en las células del epitelio de la cápsula anterior del cristalino mediante la reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real.



## **2.B. ESTADO ACTUAL DEL TEMA**

### **2.B.1. Córnea**

#### **2.B.1.A. Estructura de la córnea**

La córnea está formada según el concepto clásico por 5 capas, tres capas con componentes celulares diferentes, el epitelio, el estroma y el endotelio, y dos capas acelulares, la capa de Bowman y la membrana de Descemet <sup>27-29</sup>.

Recientemente, debido al desarrollo de las queratoplastias laminares corneales, se ha caracterizado una nueva capa entre el estroma profundo y la membrana de Descemet. Es una capa predescemética conocida con el nombre de su descubridor, la capa de Dua <sup>30,31</sup>.

#### **2.B.1.B. Inervación y vascularización corneal**

La córnea es un tejido muy especial, que presenta la inervación más compleja y densa del organismo y, a la vez, ausencia de vascularización en condiciones normales.

La inervación corneal es imprescindible para funciones tan distintas como la percepción de dolor o la reparación celular, especialmente la epitelial. La córnea es uno de los tejidos más densamente inervados del cuerpo. La densidad de las terminaciones nerviosas de la córnea es de 300 a 400 veces mayor que en la piel <sup>32,33</sup>. La mayoría de los nervios sensoriales de la córnea derivan de los nervios ciliares de la rama oftálmica del nervio trigémino. Los nervios ciliares largos forman el anillo nervioso perilimbal, y las fibras nerviosas penetran en el estroma corneal profundo radialmente, para luego ascender, formando el plexo subepitelial terminal y el plexo subbasal <sup>34</sup>.

La degeneración o disfunción de los nervios sensoriales de la córnea puede dar lugar a retrasos en la cicatrización de las lesiones corneales, e incluso patología de origen puramente neurotrófico. El correcto funcionamiento de este plexo nervioso es esencial para el mantenimiento de la fisiología de la córnea.

En condiciones normales, la córnea es un tejido avascular. La obtención de las múltiples moléculas necesarias para mantener su homeostasis se hace de una manera alternativa a la que lo hace la mayor parte del organismo.

En ciertas condiciones patológicas, el estroma corneal puede ser invadido por neovasos que crecen desde el limbo y alteran la función corneal al perder su valor más preciado, la transparencia corneal.

### 2.B.1.C. Capas de la córnea

#### 1. Epitelio corneal

El epitelio corneal es una multicapa de células epiteliales escamosas estratificadas no queratinizadas, localizadas debajo de la película lagrimal, con la que constituyen el primer sistema de defensa biológica de la superficie ocular tras los párpados<sup>35,36</sup>.

El espesor del epitelio de la córnea es de aproximadamente 50 micras, y representa aproximadamente el 10% del total de la paquimetría<sup>29</sup>.

El epitelio corneal presenta tres tipos de células diferentes: una o dos capas de células escamosas superficiales finas, dos o tres capas de células alares anchas poligonales, intermedias, y en lo más profundo, una capa de células basales columnares unidas a la membrana basal. Estas células tienen su origen en las células madres del limbo esclerocorneal, desde donde migran y maduran en dirección centripeta y hacia las capas superficiales de la córnea<sup>29,37</sup>.

#### 2. Capa de Bowman

La capa de Bowman es una matriz extracelular situada entre el epitelio corneal y el estroma. Tiene aproximadamente 12  $\mu\text{m}$  de espesor y está compuesta básicamente de fibras de colágeno y proteoglicanos. Su aspecto macroscópico es muy regular y liso.

La capa de Bowman carece de capacidad regenerativa, y cuando se daña, es sustituida por tejido cicatricial, por lo que pierde su cualidad de transparencia<sup>29,37</sup>.

### 3. Estroma corneal

El estroma constituye la capa más gruesa de la córnea, representando más de 90% de su espesor. La mayor parte de las características de la córnea, incluyendo su biomecánica y su transparencia, son atribuibles en gran parte a las propiedades anatómicas y bioquímicas del estroma <sup>37-39</sup>.

El estroma está formado por un componente celular minoritario de queratocitos rodeados de una matriz extracelular de colágeno, que está dispuesta en láminas siguiendo un patrón ortogonal. La disposición uniforme y la baja tasa de recambio de las fibras de colágeno en el estroma son esenciales para su transparencia.

Estas fibras de colágeno, sintetizadas por los queratocitos, presentan un tamaño homogéneo, así como una distribución en empalizadas dispuestas de manera regular <sup>39,40</sup>. Tanto el diámetro medio de las fibras de colágeno, como la distancia media entre ellas, son relativamente homogéneas y miden menos de la mitad de la longitud de onda de la luz visible (400-700 nm). Las fibras de colágeno forman láminas de orientación oblicua en el tercio anterior del estroma, y láminas paralelas en los dos tercios posteriores. Esta disposición anatómica influye en la manera en la que la luz atraviesa la córnea y en sus características biomecánicas <sup>41</sup>.

El segundo componente más abundante de la matriz extracelular, también sintetizado por los queratocitos, son los proteoglicanos. Los proteoglicanos confieren propiedades hidrófilas al estroma. Son proteínas glicosiladas con, al menos, una cadena de glicosaminoglicano (GAG), que está unida covalentemente al núcleo proteico. Los GAG están formados por disacáridos repetidos. Los GAG que se encuentran en el estroma corneal incluyen el queratán, el condriotín y el dermatán-sulfato<sup>29,42</sup>.

### 4. Membrana de Descemet

La membrana de Descemet es la membrana basal del endotelio corneal. Está situada entre el estroma posterior y el endotelio corneal, y tiene unas 10-15  $\mu\text{m}$  de espesor que incrementa con la edad del paciente <sup>37</sup>. Es sintetizada por el endotelio y se compone principalmente de colágeno tipo IV y VIII y laminina, pero también contiene fibronectina. Está formada por

una zona estriada anterior que se forma durante la vida intrauterina, de unas 3  $\mu\text{m}$  de espesor, y una zona no estriada posterior que aumenta progresivamente durante toda la vida <sup>29,43</sup>.

### 5. Endotelio Corneal

#### 5.1. Conceptos generales.

La capa más interna de la córnea está compuesta por una monocapa de CEC. Las CEC tienen su origen embrionario en la cresta neural. Estas células son poligonales, en su mayor parte hexagonales, con aproximadamente 5 micras de grosor y 20 micras de anchura. Su distribución es uniforme en condiciones normales <sup>44</sup>.

La densidad media al nacimiento es de 3500-4000 cel/ $\text{mm}^2$  <sup>45</sup>. Su capacidad proliferativa in vivo es muy baja, o nula, una vez que adquieren su forma madura. Las células permanecen en un estado no replicativo, detenidas en la fase G1, durante todo el período de vida normal. Por lo tanto, el número de CEC disminuye gradualmente con la edad. La pérdida celular es más rápida los primeros años de vida, aproximadamente hasta la segunda o tercera década de la vida. La pérdida media de CEC es de un 0.3-0.6% por año <sup>45,46</sup>. El resultado es una densidad celular en la edad adulta de unas 2500 – 3000 células/ $\text{mm}^2$  <sup>29,37,47-49</sup>.

#### 5.2. Evaluación morfológica con microscopia endotelial

La morfología de las CEC se puede evaluar in vivo de una manera no invasiva mediante la microscopía endotelial. Las imágenes obtenidas en esta exploración permiten obtener diferentes índices del endotelio corneal<sup>48</sup>.

El índice más empleado es la densidad celular endotelial (DCE). El procesamiento informático de la imagen obtenida permite el reconocimiento de los límites de las CEC, y hacer un conteo automático de las células presentes por  $\text{mm}^2$ . Sin embargo, la densidad celular no ofrece ningún dato directo de la funcionalidad.

Otro índice que normalmente ofrecen los microscopios especulares es el área media celular, expresada en  $\text{mm}^2$  por célula. El coeficiente de variación (CV) es el valor resultante del cociente de la desviación estándar de la media del área de la célula y la media del área de la célula. El CV es un marcador clínicamente

muy valioso, y es una medida objetiva del polimegetismo, que expresa las diferencias en el tamaño de las células individuales. Se considera:

- Normal: = 35 %
- Patológico: > 35 %

Finalmente, el otro parámetro morfométrico del estado del endotelio más empleado habitualmente es el porcentaje de hexagonalidad (PH). Este valor informa del porcentaje de células con morfología hexagonal. Se considera:

- Normal: = 50 %
- Patológico: < 50 %

Las variaciones del PH se conocen como polimorfismo<sup>44,48,50-52</sup>.

El daño endotelial por cualquier causa puede provocar un incremento del polimegetismo y del polimorfismo endotelial, que no dejan de representar los mecanismos compensadores celulares para mantener la fisiología corneal.

### 5.3. Fisiología endotelial

Las CEC contienen un gran núcleo y orgánulos citoplasmáticos abundantes, incluyendo las mitocondrias, retículo endoplasmático, ribosomas libres, y el aparato de Golgi, que son indicadores de la alta actividad metabólica de estas células.

Las CEC presentan diversos complejos de unión entre ellas, como las uniones estrechas (*zonula occludens*), uniones membrana-membrana o uniones gap (*macula occludens*), y los desmosomas (*macula adherens*). Las uniones gap permiten la transferencia de moléculas pequeñas y electrolitos entre las CEC.

La capa de CEC proporciona una barrera permeable al HA, pero impide el flujo libre. Esta circulación permite el paso de nutrientes a la córnea avascular desde la CA<sup>45</sup>.

Las CEC contienen sistemas de transporte de iones que contrarrestan la imbibición de agua en el estroma. Existe un gradiente osmótico de Na<sup>+</sup> entre el HA (143 mEq/L) y el estroma (134 mEq/L) que genera un flujo de Na<sup>+</sup> desde el HA hacia el estroma y un flujo de K<sup>+</sup> en dirección opuesta. La bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> dependiente de la ATPasa extrae Na<sup>+</sup> de la célula e introduce K<sup>+</sup>. El intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> introduce Na<sup>+</sup> en las CEC y saca H<sup>+</sup>. Ambos, son expresados en la membrana basolateral de las CEC<sup>53</sup>.

El dióxido de carbono también difunde al citoplasma de estas células, que junto con agua, genera iones bicarbonato

( $\text{HCO}_3^-$ ) en una reacción catalizada por la anhidrasa carbónica. El  $\text{HCO}_3^-$  es difundido o transportado, e intercambiado con  $\text{Cl}^-$ , al HA. Junto con este movimiento de  $\text{HCO}_3^-$  se genera un flujo de agua a través de las células endoteliales hacia el HA que permite mantener la transparencia corneal.

El endotelio actúa por tanto, como una barrera de permeabilidad selectiva entre el HA y el estroma corneal, y como bomba que mantiene la cornea en un estado parcialmente deshidratado<sup>37</sup>.

La principal encargada de crear un gradiente que favorezca el paso de agua desde el estroma a la CA es la bomba endotelial, que depende principalmente de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPasa}$ <sup>40,54</sup>. Este gradiente, a su vez, depende también de otros iones como  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{H}^+$ . La alteración de cualquiera de estos mecanismos produce una disminución de la actividad de la bomba endotelial que originaría un acúmulo de agua en el estroma corneal.

El sistema de transporte de iones es dependiente de la energía celular, por lo que situaciones que originan un enlentecimiento metabólico, como la refrigeración de la córnea, genera un engrosamiento y opacificación a expensas de un exceso de hidratación estromal. El retorno de la córnea a la temperatura corporal normal genera el fenómeno conocido como inversión de la temperatura, con la restauración de su espesor y transparencia.

#### 5.4. Cirugía y endotelio.

Las CEC en estado maduro carecen de capacidad proliferativa en los seres humanos. La densidad de las CEC disminuye en el proceso de envejecimiento tisular<sup>55</sup>. Pero además, está perdida constante en condiciones normales en el tiempo, se puede ver acelerada en una serie de circunstancias. Traumatismos, enfermedades corneales como las distrofias endoteliales, el uso de lentes de contacto<sup>52</sup>, o enfermedades sistémicas como la diabetes<sup>18,56,57</sup> pueden ser causas de contajes bajos de CEC. Sin embargo, la causa más común de pérdida endotelial es la cirugía intraocular y, entre ellas, la más frecuente es la facoemulsificación del cristalino<sup>3,5,9,10</sup>. La protección de las CEC durante la cirugía es vital para minimizar el daño<sup>13,14,16</sup>.

La córnea reacciona a los daños producidos quirúrgicamente con una serie de mecanismos compensadores como respuesta a la disminución del número de CEC que cubren



un área determinada. Las células que sobreviven del área afectada incrementan su tamaño y migran para cubrir las áreas denudadas tras el daño pero, lamentablemente, sin un aumento en su número. La función celular se adapta a las crecientes demandas que siguen a la pérdida de células mediante un aumento del número de sitios de transporte de iones en la membrana de cada célula endotelial.

Una lesión severa endotelial puede condicionar la aparición de una respuesta inflamatoria que se acompaña de un infiltrado de leucocitos polimorfonucleares. En algunos casos, estos cambios pueden llegar a inducir a las CEC a que se conviertan en células fibroblásticas e incluso a sintetizar una membrana fibrosa retrocorneal.

Para que la transparencia corneal sea óptima, se debe mantener constante el contenido de agua del estroma en aproximadamente un 78%. El nivel de hidratación es controlado, principalmente, por el bombeo activo de agua desde el estroma al HA por las células endoteliales, y por la barrera mecánica que supone tanto el epitelio corneal, como el endotelio al paso de fluidos<sup>58</sup>. Si aumenta el contenido de agua estromal, disminuirá la transparencia de la córnea. Para que esto se produzca, la densidad celular tiene que disminuir por debajo de, aproximadamente, el 15% de las cifras consideradas como normales, que supone un recuento de alrededor de 500 células por mm<sup>2</sup>. Existe, por tanto, una considerable reserva fisiológica<sup>44</sup>.

### **2.B.1.D. Queratopatía diabética**

La complicación ocular más conocida de la diabetes mellitus (DM) es la retinopatía. Sin embargo, hasta un 70% de los pacientes diabéticos pueden tener afectada la córnea, aunque este diagnóstico es pocas veces realizado<sup>21</sup>.

Las alteraciones en la córnea pueden ser en los nervios, el epitelio, el estroma o el endotelio. Además, también pueden asociar cambios en la película lagrimal, las células dendríticas o problemas biomecánicos.

*Epitelio:* Los problemas epiteliales corneales de los pacientes diabéticos son los más conocidos, y de hecho, se refieren en algunas publicaciones como queratopatía diabética. Entre estos signos se incluyen la fragilidad epitelial, los defectos epiteliales recurrentes y persistentes, el edema epitelial por alteración de la

barrera, las queratitis punteadas superficiales, la baja densidad de células en la capa basal y la labilidad epitelial<sup>21,59-63</sup>.

*Nervios corneales:* La disminución de la sensibilidad corneal está publicada hace ya más de 40 años<sup>64</sup>. Esta alteración normalmente va correlacionada con la severidad de la enfermedad e influenciada por la edad<sup>21</sup>, aunque pueden aparecer en estadios muy tempranos en los que ni siquiera existe la retinopatía<sup>65</sup>. Estudios mediante microscopia confocal permiten observar alteraciones en la densidad nerviosa, la longitud y densidad de ramificaciones, así como la tortuosidad y grosor de las fibras. Los mayores cambios ocurren en el plexo sub-basal cerca del epitelio<sup>66,67</sup>.

*Estroma:* Los cambios estromales han sido poco estudiados hasta ahora. Las fibras de colágeno pueden presentar estructuras y grosores anormales<sup>68</sup>. El estroma corneal diabético puede acumular productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs: *Advanced Glycation End products*), que tiene la capacidad de originar un crosslinking corneal<sup>69</sup>, con el consiguiente cambio en el espesor corneal y en su comportamiento biomecánico<sup>70,71</sup>.

*Endotelio:* Múltiples estudios han evaluado la morfología, número y funcionamiento del endotelio corneal en los pacientes diabéticos. El incremento del polimegetismo y del polimorfismo son muy característicos aunque normalmente la densidad celular no se ve afectada<sup>56,72-77</sup>. La función celular puede también estar comprometida con una menor función de la bomba endotelial, con los riesgos que pueden suponer para el normal funcionamiento de la córnea<sup>21</sup>. La cirugía de facoemulsificación supone el más claro ejemplo de estrés para el endotelio corneal, y en el caso de los pacientes diabéticos su función puede verse más comprometida<sup>78</sup>.

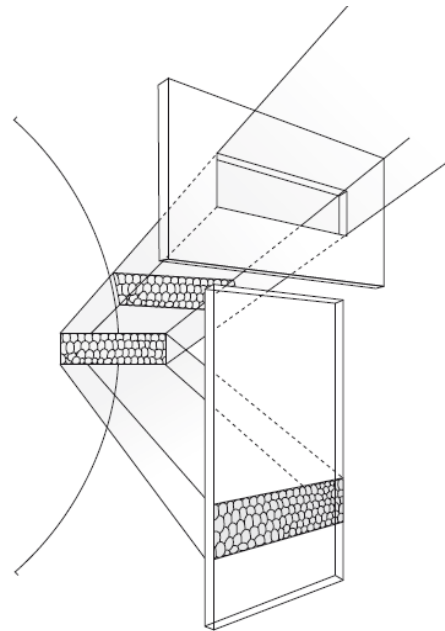
### 2.B.2. Microscopía endotelial

El microscopio especular (ME) es un dispositivo que obtiene sus imágenes de una manera completamente distinta a la mayoría de los microscopios. El ME se basa en la reflexión de un haz de luz para obtener imágenes en una interfase óptica, en lugar de obtener imágenes por la luz transmitida a través de una sustancia<sup>48</sup>.

La luz al atravesar una superficie puede ser reflejada, transmitida o absorbida. La luz reflejada especularmente es la que tiene importancia en la clínica para la microscopía especular, en la

que el ángulo de reflexión es igual al ángulo de incidencia. La luz capturada por el ME es empleada para la creación de la imagen de interés (Fig. 1) <sup>79</sup>.

**FIGURA 1.**  
Representación de la  
formación de imágenes  
mediante luz especular.



La ME permite tomar una fotografía en vivo de las células que recubren la capa interna de la córnea. La interfase entre el endotelio corneal y el HA es la más estudiada con esta técnica, aunque también se pueden obtener imágenes del cristalino, del epitelio o del estroma.

Para llegar al endotelio, el rayo incidente tiene que atravesar múltiples capas transparentes, en condiciones normales, desde la película lagrimal hasta la capa de células endoteliales.

La calidad de imagen por ME depende de la cantidad de luz reflejada a nivel de las diferentes interfases del camino transcurrido. Existen 3 interfases que tienen un papel óptico determinante: la primera entre el objetivo del microscopio y la película lagrimal, la segunda entre la lágrima y el epitelio corneal, y la tercera entre el endotelio y el HA. En cada una de ellas, una parte de la luz es reflejada en modo especular, hacia el microscopio, y la otra parte continua su camino a través de la córnea. A mayor diferencia entre los índices de refracción de las diferentes capas, más será la reflexión luminosa. Además de estas reflexiones, la luz dispersada por las opacidades o irregularidades encontradas por el rayo incidente interfiere en la formación de la imagen. Esta luz dispersa altera la imagen endotelial y, en casos de

edema estromal corneal, puede enmascarar totalmente la imagen<sup>79-82</sup>.

La imagen obtenida de un endotelio joven sano mediante esta técnica permite apreciar un mosaico de células hexagonales con límites bien definidos y rectilíneos. Al envejecer, el tamaño de las células aumenta como consecuencia de la disminución de su número. Además, hay una tendencia a perder la forma hexagonal al perder la regularidad de los ángulos entre las paredes de las células endoteliales. La diferencia de tamaño de las células endoteliales, conocido como polimegetismo, y las diferentes formas, conocido como polimorfismo, son parámetros que podemos conocer gracias a esta tecnología<sup>48</sup>.

La mayoría de los microscopios especulares modernos proporcionan análisis morfométricos automáticos, o semiautomáticos, de las imágenes, con las que se calcula la DCE, el CV, y el PH <sup>50,83,84</sup>. Entre las funciones del ME, está también la de permitir el cálculo de la paquimetría corneal <sup>73,85,86</sup>.

Existen microscopios especulares de no contacto (MENC) <sup>87</sup> y de contacto (MEC) <sup>88</sup>. La tendencia en el mercado es a una mayor presencia de MENC para mejorar la comodidad del paciente y evitar los riesgos asociados al contacto <sup>51,74,89-93</sup>.

La obtención de una imagen óptima mediante una correcta realización de la prueba es esencial para el análisis exacto automatizado del endotelio corneal. Por ello, es necesaria la formación de los técnicos para reconocer cuando el sistema automático ha cometido algún error. Los errores más comunes son la omisión de células, el doble contaje, o el fallo cometido al reconocer mal los límites celulares <sup>48</sup>.

### 2.B.3. Cámara anterior y humor acuoso

La CA está delimitada por delante por el endotelio corneal y por detrás por el iris y la pupila.

La profundidad de la CA es variable, es más profunda en ojos miopes o en pseudofáquicos, y menor en ojos hipermetropes. En el ojo emétrope adulto la profundidad en el ápex de la CA es de, aproximadamente, 3mm. El volumen de la CA en el ojo emétrope es alrededor de 200  $\mu$ l <sup>37</sup>.

La CA contiene el HA, que es producido por el epitelio del cuerpo ciliar. El HA llega a la CA a través de la pupila desde la cámara posterior <sup>94</sup>. El HA es la fuente de nutrientes para el cristalino y la córnea, ya que ambas estructuras son avasculares.

De la misma manera, proporciona una vía para la eliminación de productos de desecho. La composición y el volumen del HA está en un equilibrio dinámico, determinado tanto por su velocidad de producción y de salida, como por intercambios continuos con los tejidos del segmento anterior.

La composición iónica de HA está determinada por sistemas de transporte activo selectivo que participan en su secreción por parte del epitelio ciliar. Entre sus componentes destacan iones inorgánicos y aniones orgánicos, carbohidratos, glutatión, urea, proteínas, factores moduladores del crecimiento, oxígeno y dióxido de carbono.

Las concentraciones de sodio ( $\text{Na}^+$ ), potasio ( $\text{K}^+$ ) y magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) en el HA son similares a las del plasma. Los dos aniones principales son cloro ( $\text{Cl}^-$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ). El lactato es el más abundante de los aniones orgánicos del HA, siendo su concentración siempre mayor que la del plasma.

El ácido ascórbico, en forma de ascorbato, es el constituyente con una concentración más distinta respecto al plasma del HA. Se trata de un potente antioxidante, presente tanto en el HA como en los tejidos del segmento anterior, y su concentración en el HA es unas veinte veces superior a la del plasma<sup>95</sup>.

El glutatión es otro antioxidante presente en el HA. Actúa como estabilizador del estado de oxidación-reducción del HA, reconvirtiendo el ascorbato en su forma funcional después de su oxidación. Su otra función principal es la de eliminar el exceso de peróxido de hidrógeno en la CA<sup>96</sup>.

La concentración de proteínas en el HA es muy inferior a la del plasma para poder garantizar su transparencia. Múltiples factores de crecimiento han sido detectados en el HA <sup>94</sup>, y la composición de estas proteínas cambia drásticamente en diferentes condiciones oculares, especialmente en procesos inflamatorios<sup>97</sup>, en el glaucoma <sup>98</sup> o tras una agresión externa como una cirugía intraocular <sup>16,99</sup>. Del mismo modo, en el HA se pueden detectar multitud de citocinas cuya composición se puede ver afectada por procesos inflamatorios, enfermedades como la diabetes <sup>100-102</sup>, o agresiones externas como una cirugía intraocular <sup>103</sup>. En el HA existen también EAO, como la familia de la superóxido dismutasa (SOD) o la catalasa (CAT), que nos protegen frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS) <sup>104,105</sup>.

La CA es acelular en condiciones normales y posee un privilegio inmune debido a la BHA. Cuando se produce una

alteración de esta barrera, en situaciones como una agresión ocular, traumatismo, cirugía intraocular, uveítis u otros trastornos inflamatorios, el contenido de proteínas del HA puede aumentar de una manera notable. La mencionada ruptura de la BHA modifica la composición del HA, desde la concentración de ácido ascórbico, hasta la concentración de EAO o citocinas<sup>16,105,106</sup>.

La composición tan especial del HA, como acaba de ser descrita, lo dota de propiedades que permiten la protección de las estructuras de la CA frente a multitud de agresiones.

### 2.B.4. Capsula anterior del cristalino

El cristalino es una estructura biconvexa, transparente y avascular, localizada detrás del iris y que constituye la pared posterior de la cámara posterior<sup>37</sup>.

La cápsula del cristalino está constituida por dos componentes: la membrana basal y el epitelio del cristalino.

La membrana basal es producto del epitelio del cristalino. Es elástica, rica en colágeno tipo IV y otras proteínas de matriz. La síntesis de la cápsula anterior del cristalino, que recubre el epitelio, continúa durante toda la vida, de modo que su grosor aumenta, mientras que el de la cápsula posterior, donde no hay epitelio, permanece relativamente constante. Los valores estimados son de unas 15-20  $\mu\text{m}$  para el grosor de la cápsula anterior y de unos 3  $\mu\text{m}$  para la posterior en el cristalino del adulto.

El epitelio del cristalino se encuentra en íntima relación con la superficie interna de la membrana basal. Únicamente se dispone a nivel de la superficie anterior y del ecuador del cristalino, terminando aproximadamente 0,5 mm por detrás del ecuador. Se trata de una monocapa de células cúbicas con fuertes uniones (*zonula occludens*) y con uniones comunicantes (*gap junctions*) por las caras laterales. Por similitud con otros epitelios y endotelios que separan compartimentos, el epitelio lenticular se puede considerar como una barrera capaz de transportar solutos y agua unidireccionalmente. Esta función la logran a través de una distribución asimétrica de la ATPasa Na/K-dependiente de las células.

Las fibras zonulares mantienen suspendido el cristalino y se insertan en la cápsula, cerca del ecuador, en los lados anterior y posterior.

## 2.B.5. Facoemulsificación

La cirugía de la catarata es, con diferencia, la que una persona tiene en su vida más posibilidades de necesitar.

Actualmente, el método más ampliamente utilizado para dicha cirugía es la facoemulsificación mediante ultrasonidos (US). Sin embargo, en los últimos años se ha desarrollado la tecnología de láser de femtosegundo, con una serie de supuestas ventajas que está todavía pendiente de confirmar, sobre todo en el aspecto de coste-beneficio <sup>2,107-109</sup>.

La técnica consiste en la emulsificación y aspiración del contenido del saco cristalino a través de una pequeña incisión<sup>110</sup>. Desde su introducción a finales de 1960 hasta la actualidad, la facoemulsificación se ha convertido en el método más eficaz para la extracción de cataratas. Los avances en la técnica quirúrgica y modificación de la tecnología han permitido un aumento de la seguridad y la eficacia. Entre los avances que han dado forma a la facoemulsificación moderna se encuentran la realización de la incisión, la capsulorrexis circular continua (CCC), la hidrodissección, la hidrodelineación y las diferentes técnicas para fragmentar el cristalino. El refinamiento de la técnica ha permitido una rápida rehabilitación visual y una excelente estabilidad de la estructura ocular <sup>6,7,11</sup>.

La fragmentación del cristalino se consigue mediante la aplicación de energía ultrasónica desde la punta del facoemulsificador. Actualmente existen tres tipos de energía, la longitudinal, la transversal y la torsional <sup>3,5,8,9,111</sup>.

En el modo longitudinal, la potencia de ultrasonidos necesaria para emulsificar el cristalino, para su posterior aspiración y eliminación, se produce por el desplazamiento longitudinal de la aguja del facoemulsificador. La punta se mueve hacia adelante y hacia atrás con una alta frecuencia para actuar sobre el material cristalino antes de aspirarlo por el mismo terminal <sup>111</sup>.

EL modo transversal realiza un movimiento de lado a lado en vez del longitudinal, aunque pueden ir ambos asociados<sup>112</sup>.

La tercera manera de generar ultrasonidos es mediante el movimiento torsional de la punta del facoemulsificador. En la actualidad este método está disponible en las piezas de mano Ozil de las plataformas Infinity Vision System, Centurión y Constellation (Laboratorios Alcon, Fort Worth, Texas, Estados

Unidos). Las oscilaciones giratorias de la punta de facoemulsificación tienen una frecuencia de 32 Khz, generando energía ultrasónica torsional. El efecto de oscilación de la plataforma de torsión Ozil, y las mejoras incorporadas, reducen la cantidad de energía de facoemulsificación requerida y aumentan la eficiencia para retirar el núcleo del cristalino. Esto es debido a que la repulsión apenas existe, a diferencia de lo que ocurre con la energía longitudinal. La fractura de la catarata ocurre por cizallamiento y no solamente por el efecto de martillo neumático convencional <sup>3,5,8-10,111,113,114</sup>.

La energía empleada para la facoemulsificación del cristalino origina una pérdida de células endoteliales. La reducción de potencia de los US y la mejora de su eficiencia son los principales objetivos para reducir este efecto. A pesar de todos los avances, la cirugía moderna de la catarata condiciona una pérdida de un 5-15% de las CEC, frente a las técnicas más antiguas que condicionaban una mayor pérdida endotelial <sup>3-11,113-115</sup>.

La pérdida de las células endoteliales en la cirugía de la catarata puede estar originada por múltiples factores. El daño directo por contacto mecánico es excepcional, y el mecanismo más comúnmente implicado es el indirecto inducido por la cascada inflamatoria y de EO <sup>4,15,116,117</sup>.

Algunos de los factores que van a inducir ese daño, pueden intentar reducirse para minimizar la muerte endotelial, como la disminución del tiempo quirúrgico, de la energía empleada e incluso la utilización de energía torsional en vez de longitudinal <sup>3,5,9,10,115</sup>. Otros factores, como la experiencia del cirujano, condicionan un mejor pronóstico endotelial, debido al bajo número de complicaciones intraoperatorias y la rapidez de la intervención <sup>13,14</sup>.

La capacidad antioxidante que tiene la CA para protegerse de la cascada oxidativa originada, y de la cascada inflamatoria asociada durante la intervención, se ve alterada durante la cirugía de la catarata, y puede comprometer la supervivencia endotelial de una manera permanente y afectar a la función visual <sup>4,15,116,117</sup>.



## 2.B.6. Marcadores inflamatorios y antioxidantes

### 1. Marcadores inflamatorios:

La ruptura de la BHA durante la cirugía de la catarata causa la aparición de células inflamatorias en CA, y con ellas, múltiples citocinas y moléculas pro-oxidantes, que provocan un mayor EO <sup>16,118</sup>.

Las citocinas son moléculas que están presentes en casi todos los procesos biológicos <sup>119-121</sup>, siendo las responsables de la comunicación intercelular y actuando fundamentalmente como reguladores de las respuestas inmunitaria e inflamatoria. Son proteínas de bajo peso molecular que se unen a receptores específicos. Están involucradas en procesos biológicos como el crecimiento celular, la diferenciación y la supervivencia. Las citocinas también han sido implicadas en la regulación de la hematopoyesis, la inflamación y la reacción inmunitaria frente a las infecciones <sup>122,123</sup>.

Las citocinas son producidas principalmente por los linfocitos y macrófagos, aunque también pueden hacerlo otras células. Son proteínas similares a las hormonas, capaces de amplificar una respuesta inmune, y también la supresión de la misma. Sintetizadas principalmente por los linfocitos T helper (Th), se agrupan en patrones Th1, Th2 y Th 17 dependiendo de la familia que las produzcan. Las citocinas Th1 y Th 17, son consideradas proinflamatorias y favorecen la respuesta inmune celular. Las Th2 son responsables de la transformación de las células B y de las respuestas de hipersensibilidad. Durante mucho tiempo se ha pensado que ambos tipos de respuesta inflamatoria se inhibían mutuamente. Sin embargo, se ha demostrado que ambos tipos de citocinas interactúan entre sí, lo que demuestra una compleja regulación <sup>119,124-127</sup>.

Las citocinas se dividen en familias de moléculas reguladoras como los interferones, las interleucinas (IL), las quimiocinas, los factores de crecimiento y los factores estimulantes de colonias, de acuerdo a la clasificación histórica de sus funciones. El número de citocinas purificadas y para las que han sido descritos efectos continúa creciendo rápidamente <sup>124,128,129</sup>.

Los **interferones** (IFN) son proteínas que actúan en las células estimulando la defensa intracelular frente a los virus. El IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , and IFN- $\lambda$  son producidos en respuesta a

infecciones virales para prevenir su replicación. Además, los IFN son capaces de regular las respuestas inmunes, especialmente el IFN- $\gamma$ , que puede activar células fagocíticas como los macrófagos en los tejidos y ser un inmunorregulador importante por su potente capacidad de inducir la expresión de antígenos de clase II en las células.

Las **interleucinas** son proteínas de bajo peso molecular que ejecutan múltiples funciones vinculadas al crecimiento celular, la inmunidad, la diferenciación tisular, la inflamación o la modulación de otras citocinas. Las IL son principalmente factores de crecimiento hemotopoyético, dentro de las cuales se encuentran distintos grupos.

- a. *IL-1-like*: consiste en la IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1RA) y la IL-18. Estas proteínas son fundamentales en la producción de fiebre, la inducción de genes implicados en la respuesta de fase aguda y la activación de linfocitos.
- b. Cadena  $\gamma$  común: Entre las citocinas que usan la cadena  $\gamma$  común (CD-132) en su receptor se encuentran la IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13 e IL-15. Estas citocinas provocan la activación y diferenciación de linfocitos.
- c. *IL-6-like*: este grupo incluye la IL-6, IL-11, el factor inhibidor de leucemia (LIF), oncostatina M (OSM), G-CSF e IL-12, siendo la IL-6 la citocina prototipo. Tienen funciones superpuestas y son los mediadores en varios procesos inmunes, incluyendo la hematopoyesis y la producción de la respuesta de fase aguda.
- d. *IL-10-like*: IL-10, IL-19 e IL-20 son los miembros de este grupo. Juegan un papel fundamental en la supresión de respuestas inflamatorias, a través de la inhibición de la síntesis de IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-3, TNF- $\alpha$  y GM-CSF por células como macrófagos y células Th1.

Las **quimiocinas** son citocinas quimiotácticas, de ahí su nombre, de pequeño tamaño. Dependiendo de la posición de los 2 primeros residuos de cisteína en su estructura primaria, pueden clasificarse en 4 grupos: quimiocinas C, quimiocinas CC, quimiocinas CXC y quimiocinas CX3C<sup>120</sup>:

- a. Quimiocinas C (XCL): Formado por las linfotactinas. La linfotactina a y b que atraen linfocitos, pero no monocitos o neutrófilos.
- b. Quimiocinas CC (CCL): Son al menos 27 miembros. Sus dianas incluyen monocitos, células T, células dendríticas, eosinófilos y células NK. Entre las más representativas están las proteínas quimiotácticas de monocitos (MCP), las proteínas inhibitoras de macrófagos (MIP), RANTES/CCL5 y eotaxina/CCL11.
- c. Quimiocinas CXC (CXCL) Constituidos al menos por 14 ligandos. Median principalmente la quimiotaxis de neutrófilos. Las más representativas son IL-8/CXCL8, monocina inducida por IFN- $\gamma$  (MIG)/CXCL9, la proteína 10 inducida por IFN- $\gamma$  (IP-10)/CXCL10, y el factor derivado de estroma-1 (SDF-1)/CXCL12.d
- d. Quimiocinas CX3C, el único representante es la denominada fractalcina/CX3CL1. Es un quimioatrayente para linfocitos intraepiteliales derivada de células epiteliales y endoteliales. Interacciona con su único receptor CX3CR1 que se expresa en monocitos, células NK, y otras células T.

Su acción biológica está mediada por la interacción con los receptores transmembrana unidos a proteínas G. Su función más importante es la de regular la migración celular, al actuar como quimiotácticos. Sin embargo, estas moléculas están implicados en muchas otras actividades como la hematopoyesis, la angiogénesis, la degranulación, la fagocitosis y la regulación del crecimiento o el desarrollo celular <sup>119,122,128,130,131</sup>.

Según la función que desempeñen se pueden dividir en dos grupos: constitutivas e inflamatorias.

Las *quimiocinas constitutivas* mantienen la correcta organización del sistema linfoide y permiten la correcta migración de los linfocitos al sistema circulatorio y a los órganos linfoides secundarios, así como su regreso.

Las *quimiocinas inflamatorias* participan en las respuestas inflamatorias actuando como quimiotácticos para los leucocitos, reclutando monocitos, neutrófilos y otras células efectoras desde la sangre hasta el lugar de la infección o daño tisular, a través del endotelio vascular localizado en el tejido inflamado <sup>122,130-132</sup>.

**Factor de necrosis tumoral (TNF):** Los miembros más representativos de esta familia son TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , y Fas ligando (FasL)/CD-178. Entre ellos destaca el TNF- $\alpha$  que es una citocina pro-inflamatoria que fue originariamente identificada como mediador en la muerte de células tumorales. Lo producen principalmente los macrófagos activados, células NK y células T (principalmente Th1). El TNF- $\alpha$  juega un papel en la activación endotelial y movimiento de linfocitos, siendo este uno de los mediadores cruciales en la inflamación aguda y crónica y la autoinmunidad. Como otros miembros de la familia, TNF- $\alpha$  puede inducir apoptosis en algunas dianas celulares.

**Factor de crecimiento transformante (TGF)- $\beta$ :** La familia del TGF- $\beta$  incluye un gran número de factores, estructural y funcionalmente relacionados, que actúan como reguladores multifuncionales de un amplio rango de procesos biológicos. Los miembros de la familia del TGF- $\beta$  están implicados, entre otras funciones en la morfogénesis, el desarrollo embrionario, la proliferación celular, la regulación inmune, la reparación de tejidos, la inflamación y el cáncer. Existen cinco isoformas del TGF- $\beta$ , designadas como TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, TGF- $\beta$ 4 y TGF- $\beta$ 5. Son expresados por múltiples tipos celulares, y están involucrados en el desarrollo, regulación inmune, tolerancia inmune, carcinogénesis, reparación de tejidos, y generación y diferenciación de muchos tipos celulares.

## 2. Antioxidantes:

El EO puede ser definido como la situación en la que la producción de ROS excede a los mecanismos defensivos antioxidantes del organismo <sup>23</sup>.

Las ROS son una serie de moléculas con alta capacidad oxidante como el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ), o el átomo de oxígeno ( $^1O_2$ ) que pueden dañar los tejidos <sup>133,134</sup>. Los organismos vivos han desarrollado complejos sistemas antioxidantes para contrarrestar las ROS<sup>135</sup>. Estos sistemas antioxidantes incluyen enzimas tales como la SOD <sup>136</sup>, la CAT <sup>137</sup> y la glutatión peroxidasa <sup>138</sup>; macromoléculas como albúmina, la ceruloplasmina y la ferritina; y una serie de pequeñas moléculas, incluyendo el ácido ascórbico, el glutatión <sup>139</sup>, el ácido úrico y la bilirrubina <sup>96,140,141</sup>. Las ROS se producen constantemente, no sólo como resultado de condiciones patológicas, como la isquemia y la exposición a la luz ultravioleta

(UV) <sup>142</sup>, sino también como parte del metabolismo normal de las mitocondrias <sup>105,143</sup>.

Las acciones de cada una de ellas son distintas, y así, por ejemplo, la SOD, se encarga de descomponer el  $O_2^-$  en  $H_2O_2$ , mientras que la CAT descompone el  $H_2O_2$  en agua.

El incremento de las ROS se ha visto implicado en múltiples enfermedades <sup>23,144,145</sup>. Igualmente, existen múltiples estudios que han demostrado el papel de las ROS en enfermedades oculares <sup>121,133,146-148</sup>.

La agresión oxidativa que más comúnmente recibe las estructuras de la CA está directamente relacionada con su función. La luz se transmite a través de ella para que la información pueda llegar a la retina. Uno de los componentes de la luz es la radiación UV, que es preciso filtrar para compensar los procesos secundarios de EO que inicia en las estructuras de la CA.

La mayor parte de radiación UV se filtra en el cristalino, que es rico en antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos <sup>25,133,149</sup>. La CA, y en concreto el HA, que está en contacto directo con el cristalino, es rico en ácido ascórbico. El ascorbato, es un potente antioxidante y es la prueba más clara de la especial condición del HA. La función de la alta concentración de ácido ascórbico es ayudar al endotelio corneal en los procesos oxidativos ligados a su normal funcionamiento, y a la radiación UV procedente de la luz <sup>22,141</sup>. Además, existen una serie de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, ya mencionados, que también ayudaran a compensar los ROS procedentes del metabolismo normal de las células, así como los procedentes de la exposición a la radiación. <sup>104</sup>

En el proceso de envejecimiento existen además otra serie de factores que pueden acelerar ese proceso, como la presencia de diabetes, cuyas numerosas consecuencias en el ojo son bien conocidas <sup>20,105</sup>. En el caso de los pacientes diabéticos esto es especialmente notable, ya que tienen una capacidad antioxidante menor, debido a todo el microambiente creado por su enfermedad <sup>20,101</sup>.

En la génesis de las cataratas seniles también tienen un papel importante las ROS <sup>105,150</sup>. La aceleración de la oxidación del cristalino y la disminución de la capacidad para eliminar productos oxidativos causados por la radiación UV y el envejecimiento, conducirán a cambios en la opacidad del cristalino<sup>149,151</sup>.

La fuente más común inductora iatrogénicamente de EO es la cirugía. La facoemulsificación del cristalino genera múltiples ROS por la energía liberada, que han de ser compensadas por los antioxidantes presentes en la CA para evitar un daño oxidativo secundario sobre el endotelio corneal <sup>16,116,152</sup>.

### 2.B.7. Estrés oxidativo y daño endotelial

El EO está implicado en multitud de procesos patológicos tanto sistémicos <sup>23,144</sup> como oculares <sup>25,105,146-148</sup>. El EO puede alterar las células a través de daño mediado en proteínas, lípidos de las membranas celulares o ADN.

El endotelio corneal es la capa más interna de la córnea y a la vez la capa más sensible al daño debido a su incapacidad de replicación. Su morfología, así como su funcionalidad, se pueden alterar por multitud de procesos <sup>44,52,153</sup> como la edad, un aumento de la presión intraocular (PIO) <sup>154</sup>, traumatismos, enfermedades sistémicas como la diabetes <sup>155</sup>, distrofias endoteliales <sup>156,157</sup>, cirugías como la de catarata <sup>19,158</sup> o las queratoplastias <sup>159</sup>.

Durante la cirugía de la catarata las células endoteliales se pueden dañar por distintos mecanismos, incluyendo la duración excesiva de la facoemulsificación, los traumas debidos al impacto de fragmentos nucleares, las burbujas de aire, los daños mecánicos o por el calor generado por el terminal. Estos factores son capaces de inducir la formación de ROS <sup>4,15,16,96</sup>. Las ROS generadas durante la facoemulsificación son, en parte, responsables del daño que sufren las CEC <sup>160</sup>. El objetivo principal de las ROS son las membranas celulares, como la membrana plasmática celular, la nuclear y la de las mitocondrias, aunque también pueden alterar el ADN. Las ROS producen reacciones tóxicas en la membrana plasmática de las CEC que conducen al edema o a la muerte celular.

El EO está también implicado en otra serie de patologías corneales como la distrofia endotelial de Fuchs <sup>156</sup>, el queratocono, el síndrome de ojo seco o en agresiones externas producidas por álcalis o la radiación UV <sup>142,161</sup>.

### 2.B.8. Influencia de los corticoides sobre las expresión enzimática y su acción en cámara anterior y en las células endoteliales corneales

Los corticoesteroides son producidos por el organismo de forma natural y su expresión aumenta ante estímulos como el

estrés. Niveles altos de corticoesteroides sistémicos mantenidos durante largos periodos de tiempo se ha visto que están relacionados con múltiples procesos patológicos. Igualmente la exposición prolongada a los corticoesteroides suprime el sistema inmunológico, haciendo a los individuos más susceptibles de infecciones. Aunque no todos son efectos nocivos y también tienen efectos beneficiosos, como es la inducción de la expresión de enzimas gluconeogénicas para favorecer el almacenamiento de energía a través de la síntesis de ácidos grasos <sup>24</sup>.

Aprovechando los mecanismos de actuación de los corticoesteroides, se han producido moléculas sintéticas que han sido utilizadas como fármacos para el tratamiento de múltiples enfermedades inflamatorias, como la artritis reumatoide, las uveítis o el trasplante de órganos <sup>162-164</sup>.

Existen múltiples estudios en los que se comprueba la influencia de los corticoides sobre el EO, la expresión de las citocinas y las EAO encargadas de la protección frente a las agresiones oxidativas. Sin embargo, aún no se conoce bien como pueden regular dicha producción en la CA <sup>23-25,165</sup>.

Estudios de expresión de EAO a nivel sistémico y con otras estirpes celulares, han permitido conocer que, entre los corticoides, la dexametasona es capaz de incrementar la expresión de los genes de EAO <sup>24,166-169</sup>.

Existen estudios que demuestran que la aplicación tópica de dexametasona aumenta la expresión de la bomba endotelial  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa y mejora su función, lo que favorecería una más rápida recuperación del edema corneal incluso en situaciones en las que el número de células se vea disminuido, siempre y cuando el conteo de células endoteliales este dentro de un número aceptable <sup>170,171</sup>.

Estudios en animales de experimentación han demostrado una mejoría en la curación del endotelio corneal, tras una agresión por álcalis, al aplicar dexametasona tópica<sup>172</sup>. De manera paradójica, la administración tópica o sistémica de corticoides, produce también una disminución de la concentración de ácido ascórbico en la CA. No se sabe muy bien la relación que puede haber entre esta disminución y la mejoría en la cicatrización del endotelio corneal <sup>173</sup>.

La aplicación tópica en el preoperatorio de la cirugía de la catarata podría ayudar a una mejor recuperación del edema corneal, así como reducir la pérdida endotelial al mejorar los mecanismos de defensa ante el EO que se produce durante la

cirugía, mediante el aumento de la expresión de EAO y la modulación de las moléculas inflamatorias.





### *3. MATERIAL Y MÉTODO*



## **2. MATERIAL Y MÉTODO**

### **2.A. DISEÑO Y ÉTICA DEL ESTUDIO.**

Estudio clínico exploratorio intervencional prospectivo aleatorizado enmascarado.

El estudio fue aprobado mediante informe favorable por el Comité ético de investigación clínica del área de salud de Valladolid este (CEIC-VA-ESTE-HCUV), considerando que contempla los convenios y las normas establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica.

### **2.B. SUJETOS**

El estudio fue diseñado para ochenta sujetos que fueron reclutados de manera aleatoria de entre todos los pacientes candidatos a cirugía de catarata y que cumplían los criterios de inclusión que acudieron a la consulta en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Únicamente se seleccionó un ojo por paciente.

Se estableció un grupo reserva de 6 individuos para posibles abandonos o falta de cumplimiento de los criterios de inclusión.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para participar en el estudio (Anexos 1 y 2), y se siguió las recomendaciones de la Declaración de Helsinki.

Los sujetos seleccionados fueron distribuidos en cuatro grupos:

- Grupo 1: 20 ojos de 20 pacientes no diabéticos que van a ser sometidos a facoemulsificación de la catarata con premedicación tópica con suero fisiológico.
- Grupo 2: 20 ojos de 20 pacientes diabéticos tipo 2, sin retinopatía y en tratamiento con antidiabéticos orales, que van a ser sometidos a facoemulsificación de la catarata con premedicación tópica con suero fisiológico.
- Grupo 3: 20 ojos de 20 pacientes no diabéticos que va a ser sometidos a facoemulsificación de la catarata con premedicación con dexametasona tópica.
- Grupo 4: 20 ojos de 20 pacientes diabéticos tipo 2, sin retinopatía y en tratamiento con antidiabéticos orales que va a ser

sometidos a facoemulsificación de la catarata con premedicación con dexametasona tópica.

### **Criterios de inclusión**

- Edad mayor de 18 años
- Presencia de catarata con indicación quirúrgica de acuerdo a los criterios de inclusión en lista de espera del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
- Presencia de DM tipo 2 sin retinopatía diabética en tratamiento solamente con antidiabéticos orales para el grupo de pacientes diabéticos.
- Que entendiesen y firmasen el consentimiento informado por escrito.
- Autorización a la inclusión de sus datos en una base.

### **Criterios de exclusión**

- Cirugía previa en el ojo de estudio.
- Pacientes con ojo único.
- Pacientes con enfermedades inflamatorias intraoculares o de la superficie ocular.
- Pacientes con grandes posibilidades, a juicio del investigador, de no poder o querer seguir el estudio.
- Pacientes que tengan complicaciones intraoperatorias durante la cirugía de la catarata.
- Pacientes alérgicos a penicilinas, cefalosporinas o aminoglucósidos.
- Pacientes con enfermedades endoteliales corneales.

### **Criterios para abandonar el ensayo**

- Cuando el paciente así lo deseó, sin tener que dar ninguna explicación al respecto.
- Incumplimiento o necesidad de cambiar la pauta de tratamiento preoperatorio y postoperatorio.
- Cuando el paciente no asistiera a las revisiones pautados para realizar los controles correspondientes.
- Incumplimiento de algún criterio de inclusión durante el seguimiento.

- Cumplimiento de alguno de los criterios de exclusión a lo largo del estudio.

## 2.C. PAUTA DE VISITAS Y PRUEBAS REALIZADAS EN ELLAS

La cronología de las visitas y de las pruebas realizadas fue realizada de acuerdo al siguiente esquema.

**Tabla 1.**  
Esquema de las pruebas realizadas según la visita.

PRUEBAS REALIZADAS	VISITAS				
	V-0	QX	V-1	V-2	V-3
Historia clínica	X		X	X	X
Refracción	X		X	X	X
AV con corrección	X		X	X	X
Biomicroscopía de polo anterior	X		X	X	X
Biometría óptica	X		X	X	X
PIO	X		X	X	X
Fondo de ojo	X		X	X	X
Microscopia endotelial	X		X	X	X
Paquimetría ultrasónica	X		X	X	X
Recogida de HA		X			
Recogida de cápsula anterior de cristalino		X			
Recogida de variables de facodinamia		X			

V-0: Visita 0, QX: Cirugía, V-1: Visita 1, V-2: Visita 2, V-3: Visita 3

### 2.C.1. Evaluación Preoperatoria (Visita 0)

Todo sujeto candidato al estudio fue sometido a una exploración ocular, en el orden que se detalla, que incluía:

- Historia clínica.
- Refracción objetiva.
- Agudeza Visual (AV) con corrección.
- Biomicroscopía de polo anterior.
- Biometría óptica.
- Presión intraocular (PIO).
- Fondo de Ojo (FO).

Aquellos individuos que cumplieran los criterios para el estudio y consintieron formar parte de él, se distribuyeron en los

4 grupos mencionados previamente según sus características, y se realizaron las siguientes pruebas:

- MENC.
- Paquimetría ultrasónica (U) central.

### Aplicación de tratamientos:

A los pacientes reclutados se les asignó aleatoriamente, y de manera enmascarada para los cirujanos, un tratamiento con dexametasona colirio o con suero fisiológico según está descrito en el apartado 2B.

La pauta de tratamiento en todos los grupos, con dexametasona o suero fisiológico tópicos, fue de 1 gota cada 2 horas, mientras el paciente estuviese despierto, en el ojo a operar, desde 48 horas antes de la cirugía de catarata.

Le dexametasona empleada fue Dexafree® (Dexametasona fosfato sódico 1mg/1 ml, 0,4 ml) (Laboratorios Thea, Barcelona, España), aplicada en monodosis.

El suero fisiológico utilizado fue Phylarm® (suero fisiológico 0,9% ClNa, 10ml) (LCA-Pharma, LCA SL, Badalona, Barcelona, España) en envase desechable tras un uso.

Los pacientes fueron instruidos para el día de la cirugía instilarse una gota de Colircusí ciclopléjico® (Ciclopentolato hidrocioruro 10mg/1ml) (Laboratorios Alcon, El Masnou, Barcelona, España) cada 15 minutos desde una hora antes de la intervención.

Los pacientes recibieron instrucciones para no comunicar en ninguna de las revisiones que tratamiento habían recibido en el preoperatorio.

## **2.C.2. Intraoperatorio**

La técnica quirúrgica fue la misma en todos los casos y se detalla en los siguientes apartados.

Intraoperatoriamente se realizó en todos y cada una de las cirugías:

- Recolección de HA.
- Capsulorrexis circular continúa (CCC) y recogida de la cápsula anterior del cristalino.
- Recogida de las variables de facodinamia.

### **2.C.3. Seguimiento postoperatorio (Visitas 1, 2 y 3)**

La pauta de seguimiento de los pacientes una vez intervenidos fue la siguiente:

- Visita 1 (V-1): Al mes de la cirugía.
- Visita 2 (V-2): A los tres meses de la cirugía.
- Visita 3 (V-3): A los seis meses de la cirugía.

En las tres visitas se realizaron los siguientes estudios a los sujetos en el orden siguiente:

- Refracción
- AV con corrección
- Biomicroscopía de polo anterior
- MENC
- Paquimetría central U
- PIO
- FO

Las pruebas, en todos los casos, fueron realizadas por un oftalmólogo que desconocía el tratamiento prescrito en el preoperatorio.

## **2.D. PRUEBAS REALIZADAS**

### **2.D.1. Historia clínica**

Previa a la realización de las pruebas preoperatorias y, posteriormente, en cada una de las visitas se hizo una anamnesis a los sujetos para descartar cualquiera de los criterios de exclusión del estudio y comprobar que seguía cumpliendo los de inclusión.

Igualmente en la historia clínica se recogió información para poder luego clasificar a los sujetos candidatos a estudio en diabéticos y no diabéticos.

También se recogió el nivel de hemoglobina glicosilada (HbA1c) como indicador del estado del control metabólico del paciente diabético.

### **2.D.2. Refracción**

A todos los sujetos se les realizó una refracción basada en autorefractómetro (Auto Kerato-Refractometer 8100P, Topcon, Topcon Corporation, Tokio, Japón) en la visita cero (V-0) para poder valorar su máxima AV con su mejor corrección.

En las sucesivas visitas postoperatorias, se realizaron nuevas refracciones para valorar la mejoría de la AV tras la cirugía.

En todas las visitas la manera de realizar la refracción fue la misma. El paciente estaba sentado con la cabeza apoyada en el frontal y en la mentonera del autorefractómetro. Acto seguido se le pedía que mirara al punto de fijación y se activaba la captura del autorefractómetro. En todos los casos se realizaban como mínimo 3 mediciones.

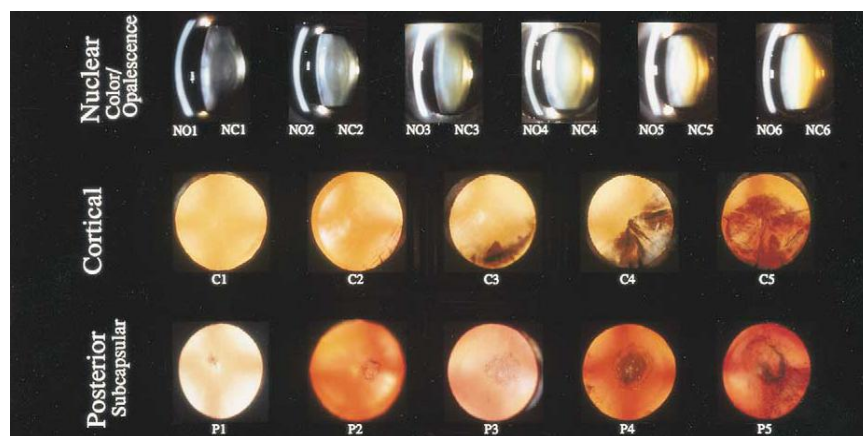
En el caso de que no se pudiese obtener una lectura en el preoperatorio, debido a la densidad de la catarata, se procedió a la copia de la refracción que el paciente llevaba prescrita en su montura mediante frontofocómetro automático.

### **2.D.3. Valoración de la biomicroscopía de polo anterior**

Se valoraron los siguientes parámetros mediante la exploración con la lámpara de hendidura:

- Presencia de inflamación ocular activa o antigua en superficie ocular o intraocular. Se valoró la presencia de sinequias de iris anteriores o posteriores, células o fibrina en CA, precipitados retroqueráticos, fibrosis conjuntival o subconjuntival, acortamiento de fondos de saco o simbléfaron.
- Presencia de patología de la córnea como distrofias corneales, leucomas previos o úlceras.
- Clasificación del grado de opacidad cristalina: Para ello se utilizó la clasificación Lens Opacities Classification System III (LOCS III) <sup>174</sup> (Fig. 2).

**FIGURA 2.**  
Lens Opacities  
Classification  
System III (LOCS  
III).





#### **2.D.4. Biometría óptica**

Para el cálculo de la lente intraocular se utilizó en todos los casos el biómetro óptico IOLMaster (Carl Zeiss IOLMaster®, Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Alemania).

En todas las visitas la manera de realizar la biometría fue la misma. El paciente estaba sentado con la cabeza apoyada en el frontal y en la mentonera del biómetro. Al paciente se le pedía que mirara al punto de fijación y se realizaban todos los pasos de la biometría.

Todos los cálculos biométricos tenían una proporción de Señal-Ruido (SNR) mayor de 2,2 para dotarlo de la fiabilidad exigida por el fabricante.

#### **2.D.5. Paquimetría corneal ultrasónica central**

La determinación del espesor corneal central se realizó a todos los sujetos, en todas las visitas, con un paquímetro ultrasónico de contacto (Ultrasonic Pachymeter, Pachette™, Model-DGH-500, DGH technology, inc., Exton, Pensilvania, EEUU)

Previa a la medición se instiló una gota de anestésico tópico de lidocaína hidrocloreto al 5% (Braun Medical SA, Barcelona, España). Tras la espera de 10 segundos aproximadamente, se le pidió al paciente que fijara la mirada en posición primaria y, seguidamente, se aplicó la sonda perpendicular a la superficie corneal central. Se realizaron siete determinaciones paquimétricas, de las que se desecharon las medidas extremas, y se obtuvo una media de las 5 medidas restantes.

#### **2.D.6. Microscopía endotelial corneal**

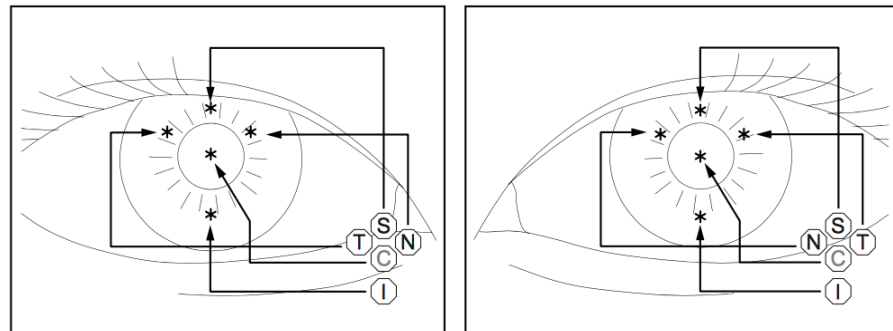
La microscopía endotelial corneal se realizó con el microscopio de no contacto SP 3000P (Topcon, Topcon Corporation, Tokio, Japón)(Fig.3). Para la toma de todas estas medidas, se colocaba al paciente sentado y con la cabeza apoyada en la mentonera se le pedía que fijara la mirada en el punto de fijación. La realización de la prueba se hizo en modo automático.

**FIGURA 3.**  
MENC SP 3000P  
(Topcon, Topcon  
Corporation,  
Tokio, Japón).



Se realizaron mediciones en 5 áreas de la córnea con el programa prediseñado según el diagrama adjunto (Fig. 4):

**FIGURA 4.**  
Representación  
de las áreas  
medidas.

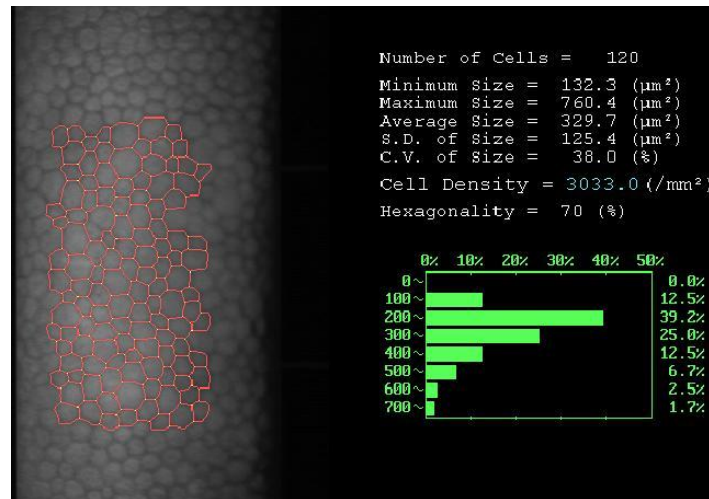


- Central (C)
- Superior(S), que corresponde a las 12 h del reloj
- Temporal (T), que corresponde con las 2 h del reloj
- Inferior (I), que corresponde con las 6 h del reloj
- Nasal (N), que corresponde con las 10 h del reloj

Las cinco medidas se hacían consecutivamente y en el orden descrito. Las imágenes se transmitieron y se almacenaron en un ordenador para su posterior análisis.

Para el estudio del endotelio corneal se empleó el software de IMAGEnet. El análisis se realizó sobre el área más amplia que permitía el programa informático. Se obtuvieron los datos correspondientes a las cinco áreas descritas de: la DCE, el CV celular, el PH (Fig. 5) y la paquimetría.

**FIGURA 5.**  
Captura de  
pantalla del  
MENC.



### 2.D.7. Toma de muestras de humor acuoso y epitelio de cápsula anterior del cristalino y facoemulsificación torsional de la catarata.

Para excluir sesgos, la cirugía fue llevada a cabo siempre por el mismo cirujano y utilizando la misma técnica quirúrgica.

La cirugía se llevó a cabo con las medidas de asepsia estándar con la limpieza de la piel del área con Betadine® (Povidona iodada 10%, Meda Pharma SAU, San Fernando de Henares, Madrid, España) y de los fondos de saco conjuntivales con povidona iodada local al 5% obtenida mediante la dilución de Betadine® en solución salina balanceada BSS® (Laboratorios Alcon). Todas las cirugías se realizaron con anestesia tópica con lidocaína al 5% (Braun).

La primera maniobra quirúrgica que se realizó fue la incisión principal con un cuchillete de 2,75mm, siempre con localización superior para evitar diferencias en la lateralidad. Tras su realización se procedió a la toma del HA con una cánula de 27G montada en una jeringa de 1 ml a través de la incisión principal. La muestra se depositó en un tubo *Eppendorf* de 1 ml estéril vacío. Inmediatamente tras su extracción se almacenó a -80°C hasta la consecución de todas las muestras.

El siguiente paso fue la introducción del viscoelástico dispersivo DiscoVisc® (Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, Texas, EEUU), para posteriormente realizar la paracentesis de ayuda con el cuchillete de 15º.

A continuación se procedió a la realización de la CCC, y tras el lavado del viscoelástico sobrante que impregnaba la capsula anterior, se depositó en un tubo *Eppendorf* con RNA later

(Qiagen). Se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta la recolección de todas las muestras.

Tras la toma de las muestras se procedió a la facoemulsificación del cristalino mediante técnica convencional con ultrasonidos torsionales Infinity® Vision System, (Alcon, El Masnou, España) mediante los siguientes pasos:

- Retirada de DiscoVisc®.
- Hidrodissección e hidrod laminación.
- Facoemulsificación mediante la técnica “*faco-chop*” o “*chip and flip*” dependiendo de la catarata.
- Irrigación / aspiración.
- Inyección de viscoelástico cohesivo Amvisc® (Bausch and Lomb España SA, Alcobendas, España).
- Inyección de lente intraocular Acrysof IQ®-SN60WF (Alcon, El Masnou, España), personalizada según los cálculos biométricos preoperatorios. Estas lentes intraoculares son acrílicas hidrofóbicas esféricas monobloque de diseño en C con filtro para la luz azul incorporada de 6mm de diámetro en la zona óptica y de 13 mm de diámetro total y fueron introducidas plegadas con el inyector Monarch II suministrado por la casa.
- Aspiración de material viscoelástico por debajo y por encima de la lente.
- Hidratación de la incisión principal
- Inyección de 0,1 ml de cefuroxima 1mg/0,1 ml reconstituida en todos los pacientes a partir de cefuroxima en polvo para inyectable Cefuroxima Normon® 750mg. EFG (Laboratorios Normon, Tres Cantos, Madrid, España) con suero fisiológico CINA 0,9% (Laboratorios Braun)
- Aplicación tópica de 1 gota de Tobradex® (Alcon, El Masnou, España)

Al finalizar la cirugía se recogieron las variables de facodinamia siguientes, obtenidas en la pantalla de métrica del facoemulsificador Infinity® Vision System (Figura 6):

- Tiempo total de cirugía: El temporizador comienza cuando se selecciona el primer paso de la cirugía y se presiona el pedal por primera vez. El tiempo, para,

cuando el cassette para la facoemulsificación y la pieza de mano (Facoemulsificador, aspirador, etc) son retiradas.

- *Variables de ultrasonidos:*
  - Tiempo total de US: Es la suma del tiempo de Faco (ultrasonidos longitudinales) más el tiempo de torsional (ultrasonidos oscilatorios)
  - Potencia total: Se obtiene del cociente entre energía disipada acumulada (CDE) y el tiempo total de ultrasonidos (U/S total time).

$$\frac{\text{CDE}}{\text{U/S total time}}$$

- Energía disipada acumulada (CDE): Es la energía total con el pedal en posición 3 (Ambas Faco y torsional) calculada como:  
(Tiempo de Faco x Potencia promedio de Faco) +  
(Tiempo de Torsional x 0,4 x Promedio de la Amplitud Torsional)  
El factor de 0,4 representa una reducción aproximada del calor disipado en la incisión en comparación con la faco convencional.
- Tiempo de Faco: Tiempo total en el que la energía Faco (energía ultrasónica longitudinal) esta activa. Este tiempo es registrado en minutos y segundos.
- Potencia media de Faco: Es la potencia faco media (energía longitudinal) cuando son activados los ultrasonidos longitudinales. Se mide en tanto por ciento del recorrido longitudinal total de la punta de facoemulsificación.
- Potencia media de faco posición 3: Es la potencia faco media (energía longitudinal) utilizada realmente durante el momento en que se activan los ultrasonidos longitudinales con el pedal en posición tres.
- Tiempo torsional: Tiempo total en el que la energía torsional (energía ultrasónica oscilatoria) esta activa. Este tiempo es registrado en minutos y segundos.
- Amplitud media torsional: Amplitud media de la energía torsional cuando esta energía es aplicada.

- Amplitud media torsional en posición 3: Es la amplitud torsional media utilizada realmente mientras que esta activa la energía torsional con el pedal en posición tres.
- Equivalente amplitud media torsional posición 3: Es la energía torsional media utilizada con el pedal en posición tres, calculado como:  

$$0,4 \times \text{Amplitud media torsional en posición 3}$$
- *Variables de fluídica:*
  - Tiempo de aspiración: Tiempo total en el que el sistema estuvo aspirando
  - Estimación de fluido utilizado: Estimación del volumen de líquido aspirado basada en la configuración del sistema y el tiempo.

**FIGURA 6.**  
 Pantalla de los datos de métrica del Infinity® Vision System, Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, Texas, EEUU.



El tratamiento postoperatorio en todos los pacientes fue realizado con colirio de Tobradex® (Tobramicina 3mg/ml y dexametasona 1mg/ml). La pauta utilizada fue de 1 gota cuatro veces al día durante tres semanas.

## 2.E. ANALISIS DE LAS MUESTRAS

Todas las muestras permanecieron congeladas a -80°C hasta que se completó la recolección de las mismas.

La cantidad recogida de HA varió en cada paciente dependiendo de las circunstancias de recolección. Para la realización de la tecnología Multiplex se tomaron 0,1ml y el

restante fue empleado para la determinación de la CTA del HA. Esta es la razón por la que no se consiguió la realización de esta última determinación en todos los pacientes debido a una muestra insuficiente.

### **2.E.1. Determinación de los niveles de moléculas proinflamatorias en humor acuoso**

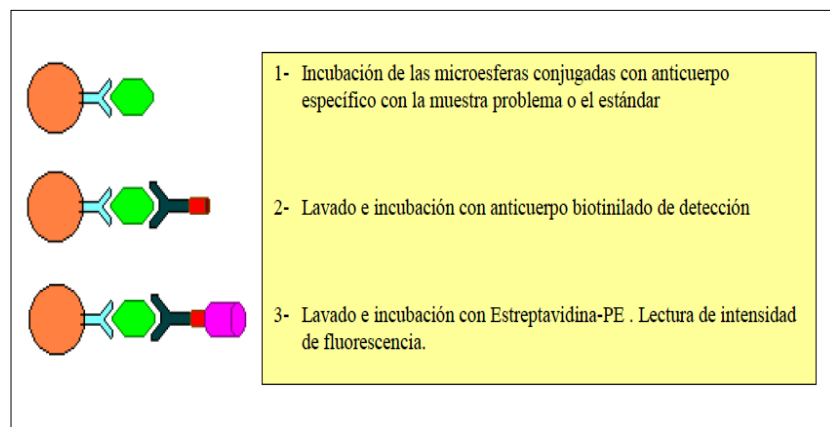
Los niveles de citocinas se determinaron en las muestras de HA usando la tecnología fluoroinmunoanálisis (FIA) Multiplex, mediante el uso de ensayos comerciales, y se analizaron en un Luminex® IS-100 (Luminex Corporation, Autin TX, EEUU).

Se midieron un total de 27 citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, eotaxin, FGF basic, G-CSF, GM-CSF/CSF 2, IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1/MCAF, MIP-1 $\alpha$ /CCL3, PDGF-BB, MIP-1 $\beta$ /CCL4, RANTES/CCL5, TNF- $\alpha$ , VEGF). Para ello se empleó, siguiendo las instrucciones del fabricante, un ensayo multianálisis comercial, el kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay #M500KCAF0Y.

Se trata de un sistema multiplex basado en citometría de flujo que permite la medición cuantitativa de múltiples citocinas consumiendo una pequeña cantidad de material biológico. El principio de este análisis es similar a un inmunoensayo tipo sandwich.

Los anticuerpos dirigidos contra las citocinas diana están unidos covalentemente a microesferas magnéticas teñidas internamente. Las microesferas reaccionan con las biomoléculas diana que estén presentes en la muestra. El planteamiento es similar al de un microarray pero con la ventaja de utilizar sondas impresas sobre partículas en suspensión en lugar de fijarlas sobre la superficie, con objeto de aumentar su sensibilidad (Fig. 7).

**FIGURA 7.**  
Representación gráfica del método utilizado para la detección multiplex de mediadores inmunológicos.

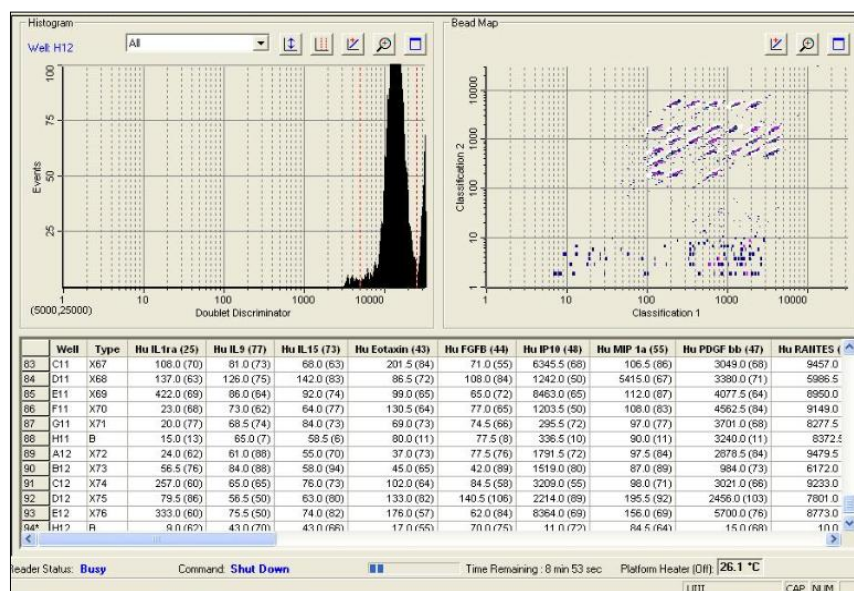


Los datos de la reacción se adquieren usando el sistema xMAP Luminex®, instrumento que permite cuantificar la intensidad de las reacciones bioquímicas que tienen lugar en la superficie de las microesferas. Este aparato emite una radiación con una longitud de onda capaz de excitar las moléculas de fluorocromo contenidas en las microesferas. La intensidad de la fluorescencia emitida por éstas permite diferenciar el analito que se mide en cada caso. Otro láser excita las moléculas de ficoeritrina que se añaden al final del ensayo y mediante el sistema óptico de detección del xMAP Luminex® la intensidad de la reacción que tiene lugar en la superficie de las microesferas se revela y el software del xMAP Luminex® calcula automáticamente la concentración de cada citocina en la muestra problema, empleando una curva estándar derivada de una suspensión de citocinas estándar, de concentración conocida y de la que se hacen diluciones seriadas.

Para una adecuada adquisición de los datos, las microesferas están teñidas con una combinación de dos colorantes fluorescentes en proporciones conocidas de manera que cada microesfera tiene asignado un número (región de la microesfera) del 1 al 100 según el ratio de los dos colorantes fluorescentes (Fig. 8).

FIGURA 8.

Programa donde se recogen en una tabla los valores de cada citocina y en los gráficos las regiones en que se distribuyen las esferas así como la intensidad luminosa que emite la muestra.



Las muestras se midieron siguiendo el protocolo del fabricante. En el caso del acuoso, 25 µl no diluidos se incubaron con microesferas recubiertas de anticuerpos específicos para cada molécula durante 18 horas a 4º C bajo agitación. Después de la



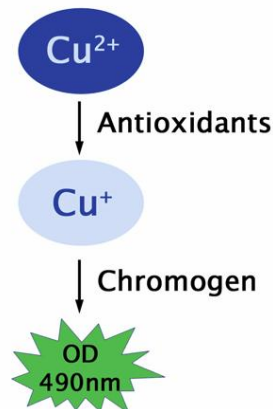
incubación de las microesferas, con las muestras se realizó un lavado y se incubaron las microesferas con anticuerpos biotinilados anti-citocinas/quimiocinas durante 1 hora. Después se incubaron con estreptavidina-ficoeritrina durante 30 minutos. Una vez filtradas y resuspendidas en buffer, las microesferas se analizaron en un Luminex IS-100. Se utilizaron curvas estándar obtenidas a partir de muestras de concentración conocida de citocinas/quimiocinas para convertir las unidades de fluorescencia en valores de concentración (pg/ml). Los datos se almacenaron y analizaron usando el "Bead View Software" (Upstate-Millipore, Watford, Reino Unido).

## 2.E.2. Determinación de la capacidad total antioxidante del humor acuoso

Para calcular la capacidad antioxidante del HA se usó el OxiSelect™ Total Antioxidant Capacity (TAC) Assay Kit (Cell Biolabs, Inc., San Diego, California, EEUU). Este kit mide la capacidad total antioxidante (CTA) de una gran variedad de biomoléculas.

El TAC Assay se basa en la reducción del cobre (Cu), de  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{+}$ , por un antioxidante, como puede ser el ácido úrico o las moléculas de las muestras de la que queremos conocer la CTA.

**FIGURA 9.**  
Reducción de  
 $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{+}$



Tras la reacción de reducción, el ion Cu reacciona con un reactivo cromogénico que produce un color con su máxima absorbancia a 490nm (Fig. 7). Los valores de absorbancia obtenidos son proporcionales a la capacidad reductiva total de la muestra. Conociendo los valores de absorbancia netos de la muestra podemos compararlos con los valores de absorbancia de concentraciones conocidas de ácido úrico.

Extrapolando a partir de la curva del ácido úrico, y conociendo las absorbancias de la muestra, podemos obtener la concentración de la misma en mM equivalentes de ácido úrico (UAE “uric acid equivalents”). Posteriormente se hallan los equivalentes de reducción del cobre (CRE “copper reducing equivalents”), sabiendo que 1mM de ácido úrico corresponde a 2189 $\mu$ M de CRE.

En este estudio una vez obtenida la absorbancia neta para cada muestra, calculada como la diferencia entre la absorbancia inicial y la final, se obtuvo la absorbancia media ya que cada muestra se hizo por duplicado.

Posteriormente, se calculó la concentración de cada muestra en UAE extrapolando de la recta de absorbancias del ácido úrico de la que se conocen las concentraciones. Las muestras se multiplicaron por el factor de dilución (1:3), ya que habían sido diluidas para obtener valores fiables dentro del patrón y para optimizar la cantidad.

Sabiendo las concentraciones se obtuvieron los CRE de cada muestra, que son proporcionales a la capacidad o poder total antioxidante.

### **2.E.3. Determinación cuantitativa de expresión de genes de enzimas antioxidantes en cápsula anterior del cristalino**

La selección de los genes estudiados mediante reacción en cadena de la polimerasa estuvo condicionada a los resultados obtenidos con el xMAP Luminex. Los genes seleccionados fueron elegidos entre las moléculas que al menos fueron detectadas en un 50% de las muestras de HA mediante el Luminex y considerando las acciones teóricas de cada molécula. Además, se seleccionaron la CAT y la SOD 2 como enzimas antioxidantes.

Los genes seleccionados para el análisis fueron los mencionados de la CAT y la SOD2, y los de la IL17, el MIP-1b/CCL4, la IL2 y el GM-CSF /CSF2.

Se realizaron las fases de aislamiento del ARN total, recogida y homogeneización de las muestras, precipitación de las muestras y PCR a tiempo real.

#### **2.E.3.A. Aislamiento del ARN Total**

El aislamiento del ARN total de las muestras se realizó con el kit de extracción comercial Rneasy Micro Kit (Quiagen,

Hilden, Alemania), que permite obtener ARN total a partir de diversas fuentes y en un tiempo mínimo. Los ARNs de pequeño tamaño, como el ribosomal o el de transferencia, así como los nucleótidos, no se unen a la columna en las condiciones utilizadas durante la purificación, por lo que el tamaño de los ARN purificados por este método es mayor de 200 nucleótidos.

Todo el procedimiento se llevó a cabo a temperatura ambiente, en una cabina de flujo laminar vertical (Euro-aire, TDI, Madrid, España) y en el menor tiempo posible. Las centrifugaciones se efectuaron utilizando una microcentrífuga (MSE Microcentaur, Sanyo, Madrid, España).

### **2.E.3.B. Recogida y homogenización de la muestra**

Los criotubos que contenían la capsula anterior se calentaron en una estufa (P-Selecta, Barcelona, España) a 37°C durante 10 minutos. Se agitaron las muestras en un vórtex (V-3, Iberlabo, Madrid, España) para que fuesen más homogéneas. Se introdujeron 700µl del tampón de lisis por una columna de homogeneización QIAshredder (Qiagen) y se centrifugó a 13.000 revoluciones por minuto (rpm) durante 2 minutos. Esto fue repetido hasta terminar el contenido de cada criotubo.

### **2.E.3.C. Precipitación de las muestras**

Una vez homogeneizadas las muestras, se añadió la misma cantidad de etanol al 70% que la utilizada de tampón de lisis, mezclándolo correctamente. A continuación, se introdujeron 700 µl de muestra a la columna RNAeasy-mini column (Qiagen) y se centrifugó a 10.000 rpm durante 15 segundos, repitiendo este proceso hasta terminar toda la muestra.

Posteriormente, se procedió a lavar la columna tres veces. Primero se añadieron 700 µl de tampón RW1 (Qiagen) y se centrifugó a 10.000 rpm durante 15 segundos. Después, se añadieron 500 µl de tampón RPE (Qiagen) y se centrifugó a 10.000 rpm durante 15 segundos. Por último, se pipetearon otros 500 µl de tampón RPE (Qiagen) y se centrifugó a 13.000 rpm durante 15 segundos.

Con objeto de secar la membrana de la columna, se centrifugó a 13.000 rpm durante 1 minuto. Para eluir el ARN enlazado en dicha membrana, se añadieron 150 µl de agua libre de ARNasas, se incubó durante 10 minutos y se centrifugó a 10.000

rpm durante 1 minuto. El ARN se trató con 0,5 µl de ADNasa (10 U/µl) (Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, EEUU) a 37°C durante 45 minutos y a 85°C durante 15 minutos. Por último, se guardó el ARN a -80°C hasta su uso.

**2.E.3.D. Reacción en cadena de la polimerasa**

La PCR a tiempo real detecta el producto de amplificación específico al mismo tiempo que se produce, de manera que la comparación de su nivel de amplificación con los estándares adecuados proporciona una medida cuantitativa del proceso de amplificación. Es decir, esta técnica está diseñada para realizar una PCR cuantitativa y cualitativa, combinando tecnologías de fluorescencia y amplificación, y un paso final de desnaturalización lenta del fragmento amplificado.

*Retrotranscripción:* Se realizó la síntesis del ADN complementario (ADNc) al ARN total extraído para todas las muestras. Para ello se utilizó el kit Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (cat. no. 04897 030 001) versión 6 (Roche, Mannheim, Alemania). Este kit permite hacer 16 reacciones a la vez de síntesis de ADNc

Para poder realizar la técnica de PCR posteriormente, se necesitan un total de 45µl de ADNc. La muestra inicial fue de 12µl de ARN por cada muestra. Cada reacción llevada a cabo con el kit anterior necesita 4µl de muestra de ARN y produjo 20µl de ADNc. Por lo tanto por cada muestra se realizaron tres reacciones para poder obtener suficiente ADNc. Como cada kit permitía hacer 16 reacciones a la vez, se realizó la síntesis de 5 muestras llevando a cabo 3 reacciones de cada muestra. Así se obtuvieron 60µl de ADNc de cada muestra.

El primer paso, para realizar la síntesis de ADNc, fue elaborar una mezcla con los componentes que figuran en la tabla 2:

**TABLA 2.**  
Mezcla para la síntesis de ADNc. Primer paso.

<b>Componente</b>	<b>Volumen</b>
Anchored-oligo(dT)18primer, 50 pmol/ µl (vial 5)	17 µl
AND random hexamer primer, 600 pmol/ µl (vial 6)	34 µl
Water, PCR-grade (vial 7 o 9)	102 µl
Volumen total	153 µl

En cada tubo se añadieron 9µl de la mezcla y 4µl de ARN y se calentaron los tubos a 65°C durante 10 minutos. Inmediatamente después se conservaron los tubos en hielo.

El segundo paso fue elaborar una nueva mezcla con los componentes que figuran en la tabla 3:

**TABLA 3.**  
Mezcla para la síntesis de ADNc.  
Segundo paso.

<b>Componente</b>	<b>Volumen</b>
Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer, 5x conc. (vial2)	68 µl
Protector RNase Inhibitor, 40U/ µl (vial 3)	8.5 µl
Deoxinucleotide Mix, 10mM each (vial 4)	34 µl
Transcriptor Reverse Transcriptase, 20 U/µl (vial 1)	8.5 µl
Volumen total	119 µl

En cada tubo del paso anterior se añadieron 7µl de esta mezcla. Cada tubo se calentó durante 10 minutos a 25°C. Luego 60 minutos a 50°C. Y por último 5 minutos a 85°C. Inmediatamente después los tubos se conservaron en hielo.

Seguidamente se realizó una cuantificación del ADNc mediante un espectrofotómetro de amplio espectro (220-270nm) (Nanodrop, NanoDrop products, Wilmington, EEUU).

A continuación, se llevó a cabo la reacción de PCR con oligonucleótidos específicos para cada gen de enzimas antioxidantes, citocinas, para el de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y la beta actina (ACTB) humana cuyas secuencias fueron obtenidas con un software para el diseño de primers o cebadores que está disponible en la página [https://configurator.realtimeready.roche.com/assaysupply\\_cp/](https://configurator.realtimeready.roche.com/assaysupply_cp/) a partir del número de acceso del Genbank de las secuencias de cada ADN; esta base de datos es de dominio público y está disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (Tabla 4).

**TABLA 4.**  
Número de GenBank e ID assay para cada gen empleados en la PCR a tiempo real.

Nombre de Gen	ID Assay	Número de acceso del Genbank (NCBI RefSeq)
CSF2 - GM-CSF	110860	NM_000758.3
CAT	111786	NM_001752.1
SOD2	111256	NM_000636.1
IL-2	100958	NM_000586.3
IL-17α	136839	NM_002190.2
MIP-1b - CCL4	136209	NM_002984.3
GADPH	141139	NM_002046.5
ACTB	143636	NM_001101.3

NCBI RefSeq: National Center for Biotechnology Information Reference Sequence

El gen de la GAPDH y el de la ACTB se utilizaron como control interno de cada reacción, para poder normalizar los niveles de ARNm estudiados respecto al obtenido por dicho control, y corregir las posibles diferencias en la cantidad de ADN añadido. Este gen también informó de la eficacia de la reacción. El control negativo utilizado fue agua.

Para llevar a cabo la PCR a tiempo real se utilizaron los siguientes kits:

- LightCycler 480 Probes Master (ref. 04707494001) (Roche, Mannheim, Alemania)
- Real Time Ready Custom Panel 96 (ref. 05532850001) (Roche, Mannheim, Alemania)

Para llevar a cabo la PCR se emplearon 8 placas de 96 pocillos. Se realizaron 8 reacciones, 1 por cada gen a estudiar más los genes de control. Por lo tanto en cada placa se incluyeron 11 muestras más una en blanco y de cada muestra se realizaron las 8 reacciones (8 reacciones X 12 muestras =96 pocillos). Para poder analizar las 86 muestras disponibles se necesitaron 8 placas.

El primer paso, para realizar la PCR, fue preparar un tubo eppendorf (1.5 ml) por cada muestra con los componentes de la tabla 5:

**TABLA 5.**  
Primer paso para la PCR.

<b>Componente</b>	<b>Volumen (por muestra)</b>
H2O, PCR Grade (vial2)	5 µl
LightCycler 480 Probes Master 2x con.(vial1)	10 µl
Muestra cDNA	5 µl
Vol. total	20 µl

El segundo paso fue añadir los 20 µl de mezcla dentro del pocillo correspondiente sin tocar el fondo de dicho pocillo. Después se centrifugó la placa a 1500 revoluciones por minuto (rpm) durante 2 minutos.

El siguiente paso fue introducir la placa en la Plataforma LightCycler 480 (Roche, Mannheim, Alemania) para que fuera leída por el programa durante 45 minutos.

Utilizando el software del LightCycler 480 se puede realizar el análisis de los resultados de forma rápida y

automatizada. De esta manera se obtiene el ratio: Concentración del gen de interés/ Concentración del gen de referencia.

La cuantificación relativa, realizado mediante el método delta delta Ct, consiste en comparar los niveles de dos secuencias diferentes medidas en una misma muestra, una de ellas correspondientes a un gen de referencia y la otra a un gen de interés. El gen de referencia, también conocido como control endógeno, mantiene constante el número de copias bajo las condiciones de prueba y proporciona una base para la normalización de las diferencias de la muestra.

Se utilizaron dos genes de referencia, GAPDH y ACTB, pero se utilizó finalmente para los resultados el GAPDH porque se comprobó que tenía un mejor comportamiento. La cantidad de producto de la PCR se expresó como la fracción entre los genes de las enzimas antioxidantes (EAO) o citocinas y el de la GAPDH (EAO o citocinas/GAPDH).

## **2.F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las variables cuantitativas se presentan con la media y la desviación típica y las cualitativas según su distribución de frecuencias.

Las comparaciones de los valores cuantitativos se ha realizado mediante la prueba T de Student o el ANOVA de un factor para muestras independientes según si el número de grupos a comparar era dos o mayor. Las pruebas a posteriori en el ANOVA han sido DM y T2 de Tamhame.

Se han utilizado las alternativas no paramétricas U de Mann Whitney y H de Kruskal Wallis para dos o más grupos respectivamente.

La evolución de los parámetros analizados se ha realizado mediante un modelo lineal general de medidas repetidas o las pruebas de Friedman y de Wilcoxon como alternativas no paramétricas.

Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov se ha comprobado la normalidad de las variables.

Se empleó el coeficiente de correlación de Pearson para la medida de la relación lineal entre variables.

Los datos han sido analizados con el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 20.0 para Windows. Aquellos valores de  $p < 0,05$  han sido considerados estadísticamente significativos.







## *4. RESULTADOS*



## **4. RESULTADOS**

### **4.A. GRUPOS MUESTRALES**

Entre todos los pacientes candidatos a cirugía de catarata que acudieron a la consulta, se obtuvieron los ochenta sujetos que cumplían los criterios de inclusión y de exclusión, además de los seis individuos que constituyeron el grupo reserva.

El periodo comprendido entre el inicio del reclutamiento de los pacientes, la realización de la cirugía de catarata, así como las tres visitas de control postquirúrgicas al mes, tres meses y seis meses de la cirugía, fue de tres años.

A lo largo del estudio un paciente abandono el estudio por decisión propia, dicho paciente pertenecía al grupo 1, que fue sustituido por un suplente correspondiente.

De cada uno de los sujetos solo se introdujo en el estudio uno de los dos ojos.

Los símbolos utilizados son los mismos en todas las tablas y gráficas, y el color depende de cada grupo. En las gráficas donde se analizan los datos en función de si eran diabéticos o no, el grupo de pacientes sin diabetes mellitus (No DM) está en color amarillo y el grupo de pacientes que presenta DM está en color azul.

En las gráficas donde los datos están divididos según los cuatro grupos de estudio, en función de si eran o no diabéticos y si estaban o no tratados con dexametasona previa a la cirugía, los colores son:

- Naranja en el Grupo 1 (pacientes no diabéticos y con premedicación con suero fisiológico).
- Verde en el grupo 2 (pacientes diabéticos y con premedicación con suero fisiológico).
- Rojo en el Grupo 3 (pacientes no diabéticos y con premedicación con dexametasona).
- Morado en el Grupo 4 (pacientes diabéticos y con premedicación con dexametasona).

Las características de la población de estudio se reflejan en las tablas 6, 7, 8 y 9:

**TABLA 6.**  
 Características de la población de estudio (No DM y DM).

Variables		No DM	DM
Varones		20	20
Mujeres		20	20
Edad		73,5	74,2
Ojo Derecho		28	17
Ojo Izquierdo		12	23
AV con corrección		0,4	0,4
Profundidad CA (media)		3,2	3,2
Potencia lente intraocular (media)		20,6	20,4
Refracción	Esfera (media)	0,08	-0,14
	Cilindro (media)	-0,6   81°	-3   89°
No retinopatía diabética		40	40
HbA1c			7,2%

**TABLA 7.**  
Características de la población de estudio (Grupos de Estudio).

Variables		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Total
NO DM		20	0	20	0	40
DM		0	20	0	20	40
Pretratados con dexametasona		0	0	20	20	40
Pretratados con suero fisiológico		20	20	0	0	40
Ojo Derecho		17	8	11	9	45
Ojo Izquierdo		3	12	9	11	35
Mujeres		12	9	8	11	40
Varones		8	11	12	9	40
Edad		73,7	73,9	73,4	74,4	73,8
AV con corrección		0,45	0,41	0,37	0,36	0,40
Profundidad CA (media)		3,14	3,24	3,20	3,23	3,20
Potencia lente intraocular (media)		20,52	20,45	20,66	20,42	20,51
Refracción	Esfera (media)	-0,67	0,13	0,96	-0,39	-0,04
	Cilindro (media)	-0,5	-1,1	-0,7	-4,7	-1,9
		88°	84°	73°	94°	85°
No retinopatía diabética		20	20	20	20	80
HbA1c			7,37%		7,21%	

**TABLA 8.**  
Clasificación de las cataratas (LOCS III) en la población de estudio (No DM y DM) (Media).

Catarata Clasificación	No Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus
Cortical (C)	1,7	1,4
Nuclear (N)	2,6	2,9
Subcapsular (Sc)	0,5	0,6
C+N+Sc	4,8	4,9

**TABLA 9.**  
Clasificación de las cataratas (LOCS III) en la población de estudio (Grupos de Estudio) (Media).

Catarata Clasificación	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Cortical (C)	1,4	1,2	2,1	1,5
Nuclear (N)	2,7	2,9	2,5	3
Subcapsular (Sc)	0,4	0,6	0,5	0,6
C+N+Sc	4,6	4,7	5	5,1

#### 4.A.1. Análisis Multivariante

Con toda la población realizamos un análisis multivariante. Como variable dependiente utilizamos la densidad celular endotelial central en las visitas V-1, V-2 y V-3. Como variables dependientes utilizamos la aplicación previa o no de dexametasona, el ser diabético o no y los datos de facodinamia.

Primero se realizó un análisis univariante (tabla 10) y con las variables que resultaron ser estadísticamente significativas hicimos un análisis multivariante (Tabla 11).

**TABLA 10.**  
Análisis Univariante.

Análisis univariante	Significación
Diabetes	0,636
Dexametasona previa	0,414
Paquimetría M.E C V-0	0,927
Media paquimetría corneal U V-0	0,883
Tiempo Total de US (segundos)	<0,001
Potencia total US	0,016
Energía disipada acumulada	<0,001
Tiempo Facó (segundos)	0,001
Potencia media de facó	<0,001
Potencia media de facó posición 3	0,899
Tiempo Torsional (segundos)	<0,001
Amplitud media torsional	<0,001
Amplitud media torsional posición 3	<0,001
Equivalente amplitud media torsional posición 3	<0,001
Fluídica Tiempo de Aspiración (segundos)	0,294
Estimación de fluido utilizado	0,043

**TABLA 11.**  
Análisis  
Multivariante.

Análisis Multivariante	Significación
(Constante)	<0,001
Diabetes	0,434
Dexametasona previa	0,597
Tiempo total de US (segundos)	0,005
Amplitud media torsional	0,013

El resultado fue que el factor más importante, que condicionaba una mayor o menor pérdida de células durante la cirugía, era la energía utilizada durante la facoemulsificación.

#### **4.A.2. Análisis de las variables de facodinamia**

Tras los resultados del análisis multivariante decidimos analizar si existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la energía utilizada y otras variables de facodinamia (Tablas 12 y 13).

**TABLA 12.**  
Variables de  
facodinamía  
(No DM y DM).

Variables de facodinamia con toda la población	DM				p
	No DM		DM		
	Media	DT	Media	DT	
Tiempo total de cirugía(s)	676,93	148,11	643,50	115,69	0,264
Tiempo total de US (ss)	53,26	26,31	79,71	55,40	0,007
Tiempo torsional (s)	51,97	25,73	75,89	53,21	0,010
Tiempo faco (s)	1,22	,78	1,79	1,23	0,014
Potencia total US	13,98	5,15	17,40	11,06	0,072
Energía disipada acumulada	8,24	6,14	16,09	15,27	0,003
Potencia media de faco	35,68	13,34	39,60	19,74	0,288
Potencia media de faco posición 3	1,39	3,15	3,00	9,84	0,321
Amplitud media torsional	34,37	12,08	38,86	16,73	0,161
Amplitud media torsional posición 3	32,29	12,84	36,84	17,28	0,174
Equivalente amplitud media torsional posición 3	13,27	4,76	15,19	6,56	0,128
Flúidica tiempo de aspiración (s)	226,41	64,68	271,95	120,43	0,033
Estimación de fluido utilizado	78,00	18,76	89,98	34,23	0,050

Desviación Típica (DT)



**TABLA 13.**  
Variables de  
facodinamia  
(Grupos de  
Estudio).

Variables de facodinamia con toda la población	DIABETES MELLITUS								p
	NO				SI				
	DEXAMETASONA PREVIA								
	No (G-1)		Si G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)		
Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT		
Tiempo total de cirugía (s)	698,52	163,11	653,05	129,71	662,39	106,70	628,05	122,81	0,503
Tiempo total de US (s)	54,92	26,21	51,34	27,01	81,64	57,60	78,19	54,80	0,140
Tiempo torsional (s)	53,74	25,59	49,92	26,45	78,11	59,37	74,14	49,03	0,257
Tiempo faco (s)	1,31	0,79	1,12	0,76	1,65	1,05	1,89	1,37	0,160
Potencia total US	15,32	5,80	12,42	3,85	14,63	7,33	19,58	13,04	0,113
Energía disipada acumulada	9,14	6,53	7,21	5,65	14,79	14,82	17,13	15,85	0,127
Potencia media de faco	38,36	14,37	32,58	11,66	35,47	19,31	42,88	19,86	0,282
Potencia media de faco posición 3	1,32	2,23	1,47	4,03	5,74	14,53	,83	,76	0,199
Amplitud media torsional	37,68	13,50	30,53	9,09	37,79	16,50	39,71	17,21	0,324
Amplitud media torsional posición 3	36,27	13,46	27,68	10,64	35,37	16,75	38,00	17,96	0,240
Equivalente amplitud media torsional posición 3	14,55	5,38	11,79	3,51	14,21	6,70	15,96	6,48	0,254
Fluídica tiempo de aspiración (s)	225,18	61,66	227,84	69,69	283,63	136,71	262,71	107,96	0,237
Estimación de fluido utilizado	76,14	18,66	80,16	19,16	91,21	33,33	89,00	35,61	0,446

Observamos que existían diferencias estadísticamente significativas en varios parámetros de facodinamia entre diabéticos y no diabéticos. En el que la diferencia era mayor, era en la energía disipada acumulada con una  $p=0,003$ . Por lo tanto decidimos igualar los grupos eliminando los 6 pacientes con más energía utilizada y los seis pacientes donde menos energía se hubiera utilizado.

Después de eliminarlos volvimos a analizar si existían diferencias entre los grupos (tablas 14 y 15).

**TABLA 14.**  
Variables de facodinamia después de eliminar los pacientes después del ajuste (No DM y DM).

Variables de facodinamia después de eliminar los pacientes	DM				p
	No DM		DM		
	Media	DT	Media	DT	
Tiempo total de cirugía (s)	685,18	140,14	647,85	112,96	0,231
Tiempo total de US (s)	58,56	24,46	60,38	32,40	0,791
Tiempo torsional (s)	57,11	24,00	60,70	32,25	0,596
Tiempo faco (s)	1,33	0,76	1,50	0,85	0,368
Potencia total US	15,06	4,66	16,22	11,29	0,571
Energía disipada acumulada	9,37	5,94	10,64	8,62	0,472
Potencia media de faco	38,49	12,28	35,11	17,56	0,353
Potencia media de faco posición 3	1,60	3,37	1,61	3,80	0,990
Amplitud media torsional	36,91	10,92	34,81	14,61	0,494
Amplitud media torsional posición 3	35,26	10,98	32,61	15,09	0,402
Equivalente amplitud media torsional posición 3	14,23	4,36	13,58	5,71	0,595
Fluídica tiempo de aspiración (s)	226,20	64,44	264,83	119,07	0,094
Estimación de fluido utilizado	78,37	17,29	84,81	33,75	0,315

**TABLA 15.**  
Variables de facodinamia después del ajuste (Grupos De Estudio).

Variables de facodinamia después de eliminar los pacientes	DIABETES MELLITUS								p
	NO				SI				
	DEXAMETASONA PREVIA								
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)		
Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT		
Tiempo total de cirugía (s)	711,56	137,55	655,50	141,38	658,69	108,35	638,22	119,18	0,353
Tiempo total de US (s)	60,11	23,75	56,73	25,93	62,23	31,55	58,89	33,79	0,959
Tiempo torsional (s)	58,79	23,22	55,11	25,51	58,59	34,37	62,39	31,26	0,903
Tiempo faco (s)	1,38	0,79	1,26	0,75	1,61	,92	1,42	0,81	0,683
Potencia total US	16,47	5,24	13,38	3,28	13,56	5,94	18,35	14,01	0,246
Energía disipada acumulada	10,32	6,23	8,25	5,57	9,56	6,74	11,50	9,97	0,622
Potencia media de faco	41,84	12,04	34,50	11,70	31,19	16,47	38,25	18,18	0,185
Potencia media de faco posición 3	1,47	2,37	1,75	4,36	2,75	5,52	,70	,73	0,400
Amplitud media torsional	40,37	12,13	32,81	7,77	34,13	13,98	35,35	15,44	0,319
Amplitud media torsional posición 3	38,89	12,19	30,94	7,65	31,44	13,89	33,55	16,29	0,254
Equivalent e amplitud media torsional posición 3	15,58	4,90	12,63	3,03	12,63	5,55	14,35	5,87	0,236
Flúídica tiempo de aspiración (s)	222,42	63,78	230,69	67,01	288,81	132,70	245,65	106,51	0,204
Estimación de fluido utilizado	76,74	17,39	80,31	17,53	85,50	32,33	84,25	35,66	0,764

**4.A.3. Reajuste de la Población**

Tras el nuevo análisis vimos que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los grupos quedando una población con las características reflejadas en la tabla 16, 17, 18 y 19.

**TABLA 16.**  
Características de la población de estudio (No DM y DM).

Variables		No Diabetes Mellitus		Diabetes Mellitus	
Varones		18		17	
Mujeres		16		17	
Edad		74		73,2	
Ojo Derecho		25		15	
Ojo Izquierdo		9		20	
AV con corrección		0,4		0,38	
Profundidad CA (media)		3,1		3,2	
Potencia lente intraocular (media)		20,4		20,4	
Refracción	Esfera (media)	-0,27		-0,13	
	Cilindro (media)	-0,7	80,6°	-3,2	86,4°
No retinopatía diabética		34		34	
HbA1c				7,28%	

**TABLA 17.**  
Características de la población de estudio (Grupos de Estudio).

Variables	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Total	
No DM	17	0	17	0	34	
DM	0	17	0	17	34	
Pretratados con dexametasona	0	0	17	17	34	
Pretratados con suero fisiológico	17	17	0	0	34	
Ojo Derecho	16	7	9	7	39	
Ojo Izquierdo	1	10	8	10	29	
Mujeres	10	7	7	10	34	
Varones	7	10	11	7	34	
Edad	73,9	72,9	74,1	73,4	73,6	
AV con corrección	0,45	0,45	0,35	0,37	0,40	
Profundidad CA (media)	3,15	3,20	3,15	3,21	3,18	
Potencia lente intraocular (media)	20,28	20,31	20,56	20,50	20,41	
Refracción	Esfera (media)	-1,08	0,14	0,71	-0,36	-0,14
	Cilindro (media)	-0,6	-1,1	-0,9	-4,9	-1,9
		89°	83°	71°	89°	83°
No retinopatía diabética	17	17	17	17	68	
HbA1c		7,38%		7,21%		

**TABLA 18.**  
Clasificación de las cataratas en la población de estudio (No DM y DM).

Catarata Clasificación	No Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus
Cortical (C)	1,7	1,4
Nuclear (N)	2,6	2,9
Subcapsular (Sc)	0,5	0,6
C+N+Sc	4,8	4,9

**TABLA 19.**  
Clasificación de las cataratas en la población de estudio (Grupos de Estudio).

Catarata Clasificación	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Cortical (C)	1,3	1,2	2,1	1,5
Nuclear (N)	2,7	2,9	2,5	2,9
Subcapsular (Sc)	0,4	0,6	0,6	0,5
C+N+Sc	4,5	4,7	5,1	5

#### **4.B. RESULTADOS DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS**

A continuación, se exponen las gráficas y las tablas de cada una de las variables estudiadas y su variación durante el seguimiento.

Mediante columnas se representan las medias de los valores, con sus respectivas desviaciones típicas (DT) de cada una de las variables en cada una de las visitas.

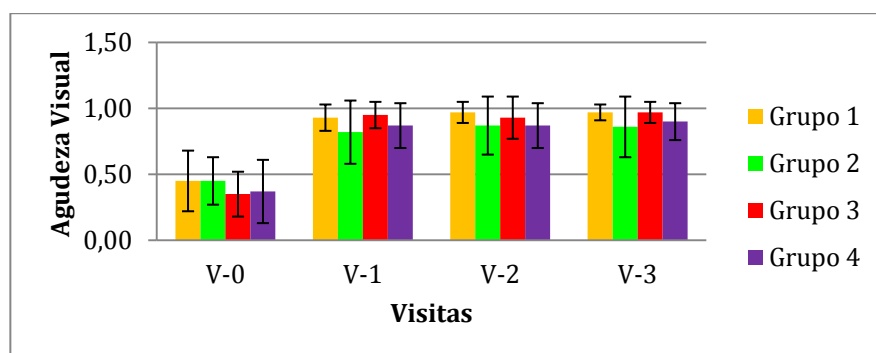
En el eje de ordenadas, figura la variable estudiada y la unidad correspondiente. En el eje de abscisas aparecen los tiempos en meses en los cuales se realizó cada visita. Los tiempos reflejados en las gráficas son:

- Visita 0 (mes 0) (V-0)
- Visita 1 (al mes) (V-1)
- Visita 2 (a los 3 meses) (V-2)
- Visita 3 (a los 6 meses) (V-3)

Las diferencias entre los grupos en la visita 0 fueron determinadas sobre los valores absolutos que figuran en las tablas. Para una mejor comprensión y visualización de los datos, en las visitas 1,2 y 3, figuran datos de los valores obtenidos, pero el estudio estadístico se realizó sobre las diferencias de los valores entre cada visita para comprobar el efecto de las distintas variables.

### 4.B.1. Agudeza visual y presión intraocular

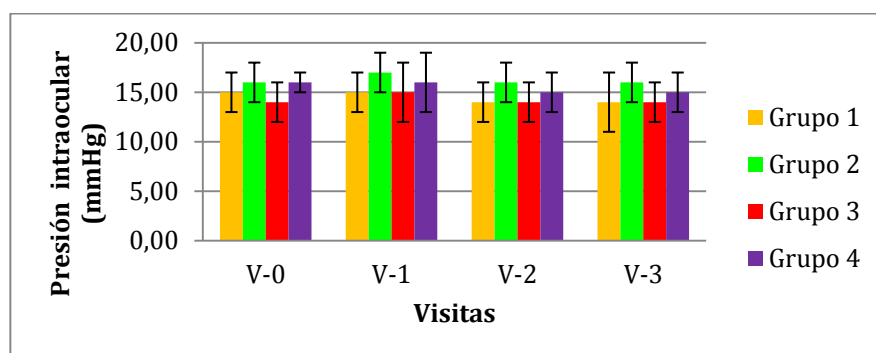
**FIGURA 10.**  
Agudeza Visual  
(Grupos de  
Estudio).



**TABLA 20.**  
Agudeza Visual  
(Grupos de  
Estudio).

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No		Sí		No		Sí	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
Agudeza Visual V-0	0,45	0,23	0,35	0,17	0,45	0,18	0,37	0,24
Agudeza Visual V-1	0,93	0,10	0,95	0,10	0,82	0,24	0,87	0,17
Agudeza Visual V-2	0,97	0,08	0,93	0,16	0,87	0,22	0,87	0,17
Agudeza Visual V-3	0,97	0,06	0,97	0,08	0,86	0,23	0,90	0,14

**FIGURA 11.**  
Presión  
Intraocular  
(Grupos de  
Estudio).



**TABLA 21.**  
Presión  
Intraocular  
(Grupos de  
Estudio).

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No		Sí		No		Sí	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
Presión Intraocular V-0	15	2	14	2	16	2	16	1
Presión Intraocular V-1	15	2	15	3	17	2	16	3
Presión Intraocular V-2	14	2	14	2	16	2	15	2
Presión Intraocular V-3	14	3	14	2	16	2	15	2

**4.B.2. Paquimetría Corneal Ultrasónica y con microscopía especular de no contacto**

**TABLA 22.**  
Paquimetría  
Corneal Central  
U (No DM y  
DM).

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
PAQUIMETRIA CORNEAL U V-0	541,06	33,04	553,47	30,31	0,098

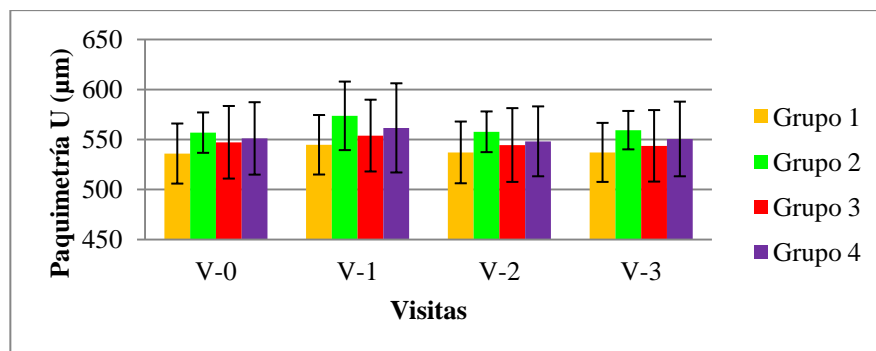
**TABLA 23.**  
Paquimetría  
Corneal  
MENC (No  
DM y DM).

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
PAQUIMETRIA MENC C V-0 *	521,80	31,50	537,05	30,01	0,038

\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre paciente con DM y sin DM



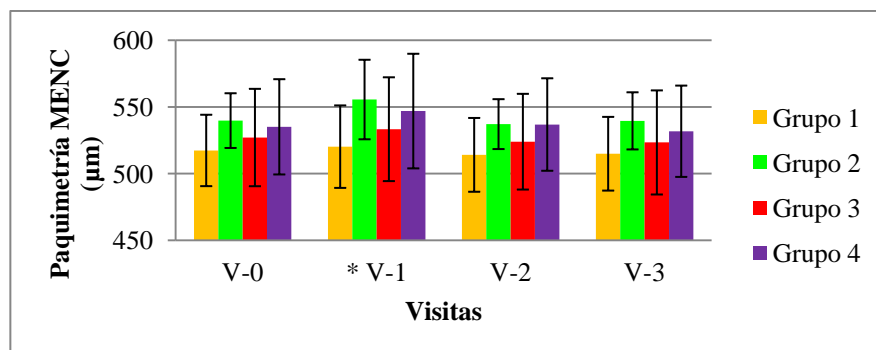
**FIGURA 12.**  
Paquimetría  
Corneal Central U  
(Grupos de  
estudio).



**TABLA 24.**  
Paquimetría  
Corneal Central U  
(Grupos de  
Estudio).

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
PAQUIMETRIA CORNEAL U V-0	535,89	30,04	547,19	36,30	556,81	20,20	551,05	36,23
PAQUIMETRIA CORNEAL U V-1	544,68	29,77	553,88	35,90	573,63	34,27	561,59	44,60
PAQUIMETRIA CORNEAL U V-2	537,05	30,87	544,44	36,90	557,69	20,36	548,14	34,95
PAQUIMETRIA CORNEAL U V-3	537,05	29,53	543,63	35,77	559,31	19,21	550,50	37,32

**FIGURA 13.**  
Paquimetría  
Corneal MENC  
(Grupos de  
Estudio).



\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los Grupos

**TABLA 25.**  
Paquimetría  
Corneal MENC  
(Grupos de  
Estudio).

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
PAQUIMET RIA MENC C V-0	517,37	26,78	527,06	36,52	539,75	20,52	535,09	35,73
PAQUIMET RIA MENC C V-1 *	520,21	30,93	533,31	38,94	555,56	29,83	546,91	42,99
PAQUIMET RIA MENC C V-2	514,05	27,69	523,94	35,90	537,13	18,70	536,81	34,69
PAQUIMET RIA MENC C V-3	514,89	27,65	523,38	39,05	539,56	21,44	531,77	34,25

\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los Grupo

La paquimetría corneal calculada mediante MENC presento diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en la diferencia entre V-1 y V-0 entre los siguientes grupos: Entre el grupo 1 con el grupo 2 y el 4.

### 4.B.3. Microscopía Especular

**TABLA 26.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (No DM y  
DM), CV.

	DIABETES MELLITUS				p
	No		Si		
	Media	DT	Media	DT	
CV TAMAÑO C V-0	37,46	6,10	40,53	6,95	0,50

**TABLA 27.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (No DM  
y DM), DCE.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
DENSIDAD C V-0	2586,71	296,22	2554,74	385,60	0,691

**TABLA 28.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (No  
DM y DM), PH.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
HEXAGONAL C V-0	54,49	8,17	52,84	7,21	0,364

**TABLA 29.**  
Microscopio  
Especular Área  
Superior (No  
DM y DM), CV.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
CV TAMAÑO S V-0	37,51	6,49	39,68	5,94	0,140

**TABLA 30.**  
Microscopio  
Especular Área  
Superior (No  
DM y DM), DCE.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
DENSIDAD S V-0	2593,20	299,66	2585,47	400,13	0,926

**TABLA 31.**  
Microscopio  
Especular Área  
Superior (No DM  
y DM), PH.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
HEXAGONAL S V-0	54,49	7,93	52,74	7,35	0,331

**TABLA 32.**  
Microscopio  
Especular Área  
Temporal (No  
DM y DM), CV.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
CV TAMAÑO T V-0	38,00	5,67	40,24	6,01	0,107

**RESULTADOS**

**TABLA 33.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Temporal (No  
DM y DM), DCE.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
DENSIDAD T V-0	2608,94	286,54	2629,18	472,99	0,824

**TABLA 34.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Temporal (No  
DM y DM), PH.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
HEXAGONAL T V-0	52,63	8,77	51,95	7,69	0,725

**TABLA 35.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Inferior (No DM  
y DM), CV.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
CV TAMAÑO I V-0	38,14	6,67	39,79	6,01	0,271

**TABLA 36.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Inferior (No DM  
y DM), DCE.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
DENSIDAD I V-0	2636,49	325,00	2584,37	423,13	0,559

**TABLA 37.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Inferior (No  
DM y DM), PH.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
HEXAGONAL I V-0	52,49	8,18	49,50	8,27	0,126

**TABLA 38.**  
Microscopio  
Especular Área  
Nasal (No DM y  
DM), CV.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
CV TAMAÑO N V-0	37,46	6,07	39,50	7,38	0,203

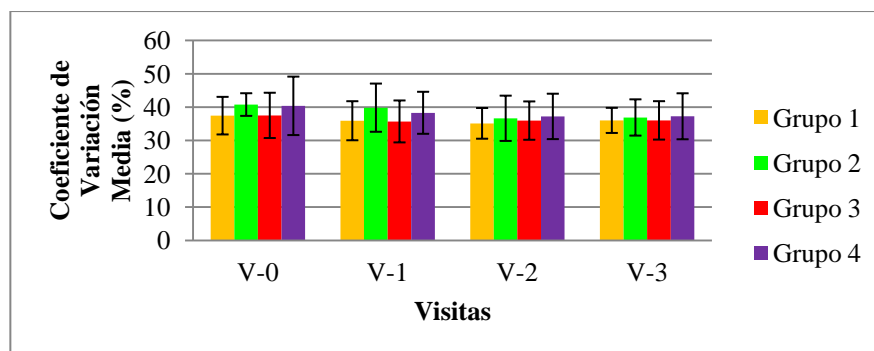
**TABLA 39.**  
Microscopio  
Especular Área  
Nasal (No DM y  
DM), DCE.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
DENSIDAD N V-0	2594,46	334,16	2585,05	412,13	0,915

**TABLA 40.**  
Microscopio  
Especular Área  
Nasal (No DM y  
DM), PH.

	DIABETES MELLITUS				p
	NO		SI		
	Media	DT	Media	DT	
HEXAGONAL N V-0	55,43	9,82	52,03	8,32	0,114

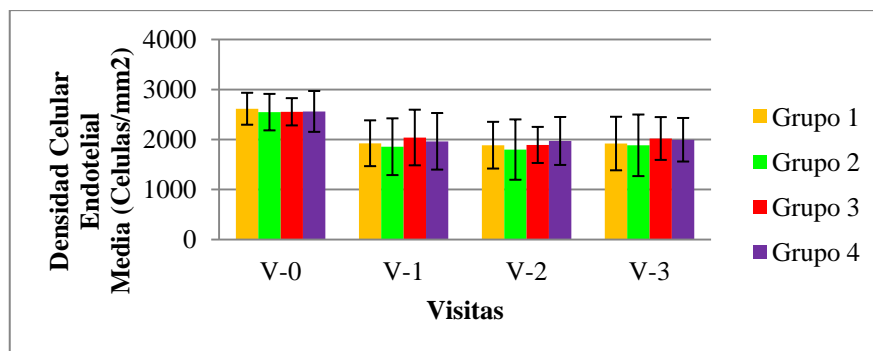
**FIGURA 14.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (Grupos  
de Estudio), CV.



**TABLA 41.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (Grupos  
de Estudio), CV.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CV TAMAÑO C V-0	37,42	5,64	37,50	6,79	40,75	3,40	40,36	8,77
CV TAMAÑO C V-1	35,89	5,86	35,69	6,29	39,81	7,23	38,27	6,30
CV TAMAÑO C V-2	35,11	4,61	35,94	5,76	36,63	6,79	37,19	6,81
CV TAMAÑO C V-3	36,00	3,77	36,00	5,76	36,88	5,44	37,23	6,90

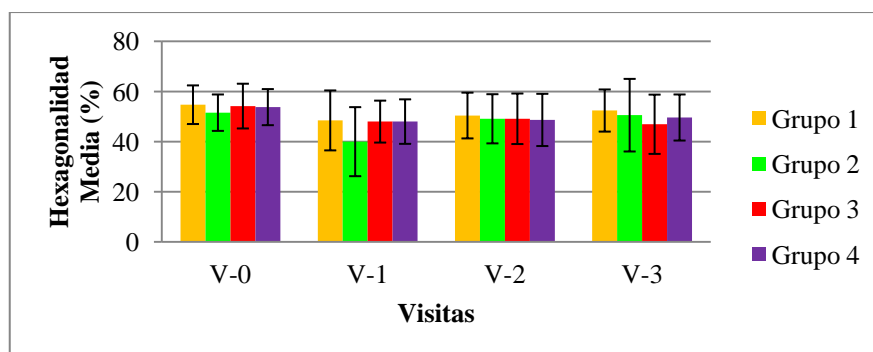
**FIGURA 15.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (Grupos  
de Estudio), DCE.



**TABLA 42.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (Grupos  
de Estudio), DCE.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
DENSIDAD C V-0	2.614,42	319,46	2.553,81	272,59	2.546,56	364,62	2.560,68	408,55
DENSIDAD C V-1	1.924,37	458,23	2.039,06	556,09	1.854,88	567,62	1.963,00	565,96
DENSIDAD C V-2	1.885,42	467,03	1.890,38	360,70	1.797,25	603,99	1.969,90	479,68
DENSIDAD C V-3	1.918,37	535,69	2.019,19	428,36	1.883,00	615,98	1.994,18	435,64

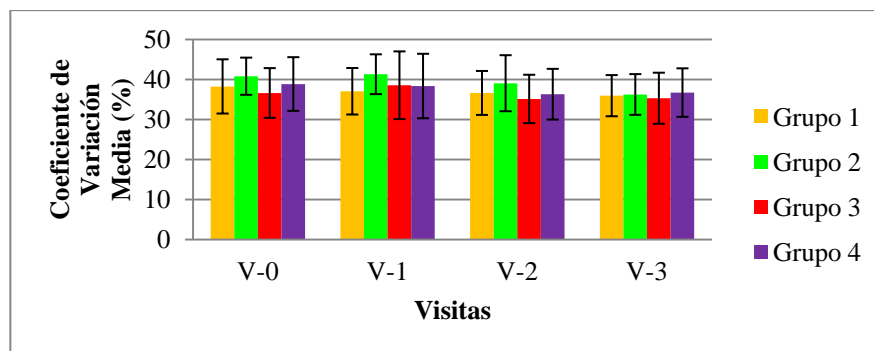
**FIGURA 16.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (Grupos  
de Estudio), PH.



**TABLA 43.**  
Microscopio  
Especular Área  
Central (Grupos  
de Estudio), PH.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
HEXAGONAL C V-0	54,74	7,71	54,19	8,92	51,56	7,27	53,77	7,20
HEXAGONAL C V-1	48,47	11,96	48,00	8,37	40,00	13,77	48,00	8,88
HEXAGONAL C V-2	50,42	9,12	49,13	10,08	49,13	9,80	48,67	10,41
HEXAGONAL C V-3	52,42	8,41	46,94	11,82	50,56	14,48	49,64	9,19

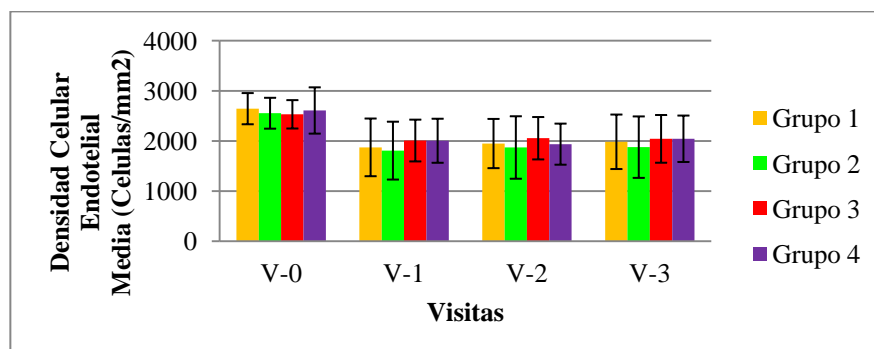
**FIGURA 17.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Superior (Grupos  
de Estudio), CV.



**TABLA 44.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Superior  
(Grupos de  
Estudio), CV.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CV TAMAÑO S V-0	38,26	6,78	36,63	6,22	40,81	4,65	38,86	6,71
CV TAMAÑO S V-1	37,05	5,82	38,56	8,46	41,31	4,98	38,36	8,06
CV TAMAÑO S V-2	36,63	5,50	35,13	6,05	39,06	7,01	36,32	6,33
CV TAMAÑO S V-3	35,95	5,15	35,31	6,38	36,25	5,09	36,73	6,06

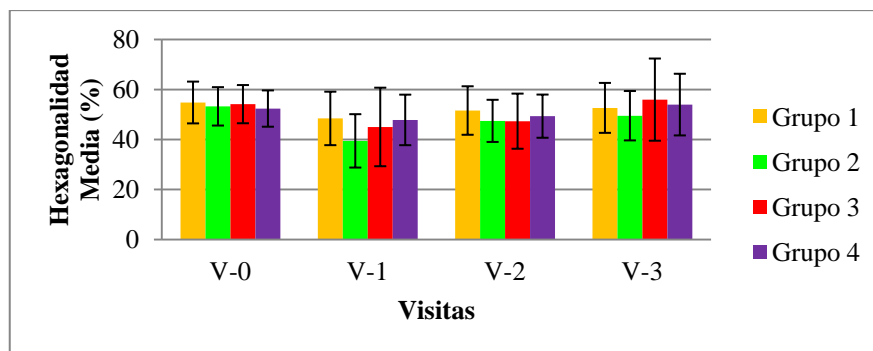
**FIGURA 18.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Superior  
(Grupos de  
Estudio), DCE.



**TABLA 45.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Superior  
(Grupos de  
Estudio), DCE.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
DENSIDAD S V-0	2.644,63	310,98	2.532,13	283,11	2.553,88	307,96	2.608,45	461,56
DENSIDAD S V-1	1.872,63	575,36	2.009,00	416,48	1.807,63	577,14	2.004,68	439,39
DENSIDAD S V-2	1.949,26	491,08	2.055,00	422,93	1.870,13	622,97	1.936,77	409,70
DENSIDAD S V-3	1.984,11	543,22	2.042,31	476,15	1.877,13	613,18	2.044,41	462,97

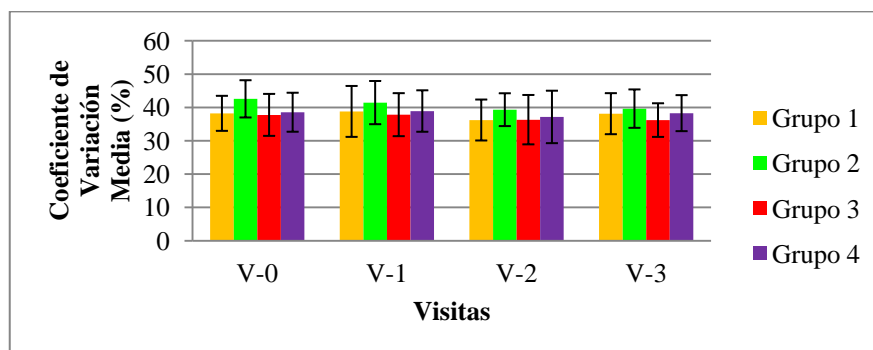
**FIGURA 19.**  
Microscopio  
Especular Área  
Superior (Grupos  
de Estudio), PH.



**TABLA 46.**  
Microscopio  
Especular Área  
Superior (Grupos  
de Estudio), PH.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
HEXAGONAL S V-0	54,79	8,36	54,13	7,64	53,25	7,68	52,36	7,26
HEXAGONAL S V-1	48,42	10,69	45,00	15,71	39,44	10,68	47,82	10,11
HEXAGONAL S V-2	51,58	9,70	47,31	11,03	47,44	8,43	49,32	8,64
HEXAGONAL S V-3	52,63	9,99	55,94	16,44	49,50	9,88	53,95	12,33

**FIGURA 20.**  
Microscopio  
Especular Área  
Temporal (Grupos  
de Estudio), CV.

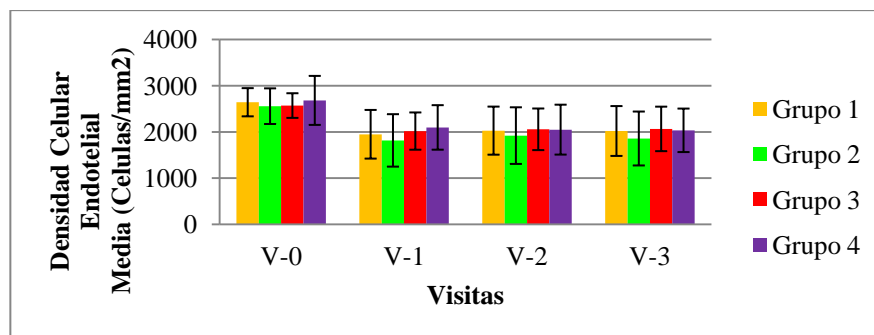


**TABLA 47.**  
Microscopio  
Especular Área  
Temporal  
(Grupos de  
Estudio), CV.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CV TAMAÑO T V-0	38,21	5,26	37,75	6,30	42,56	5,59	38,55	5,85
CV TAMAÑO T V-1	38,79	7,64	37,81	6,45	41,44	6,48	38,90	6,22
CV TAMAÑO T V-2	36,21	6,14	36,31	7,41	39,31	4,92	37,14	7,87
CV TAMAÑO T V-3	38,11	6,15	36,19	5,05	39,63	5,76	38,27	5,40



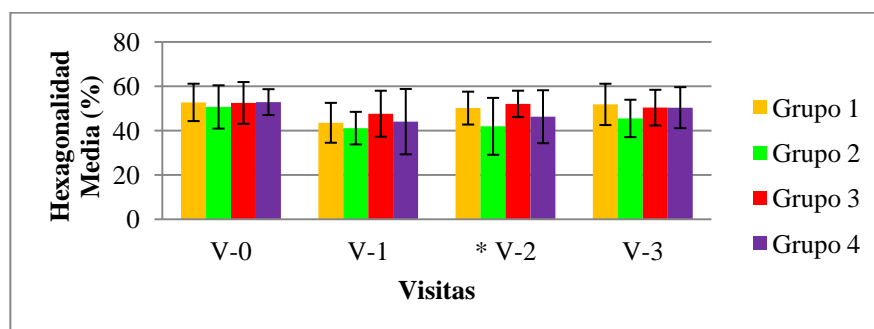
**FIGURA 21.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Temporal  
(Grupos de  
Estudio), DCE.



**TABLA 48.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Temporal  
(Grupos de  
Estudio), DCE.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
DENSIDAD T V-0	2.641,84	305,33	2.569,88	266,90	2.556,81	385,63	2.681,82	530,15
DENSIDAD T V-1	1.948,63	526,39	2.017,75	403,23	1.815,94	567,45	2.097,00	481,76
DENSIDAD T V-2	2.027,16	520,08	2.056,19	450,33	1.919,69	612,74	2.048,86	539,96
DENSIDAD T V-3	2.019,39	539,45	2.064,88	481,30	1.857,06	583,45	2.034,32	470,54

**FIGURA 22.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Temporal  
(Grupos de  
Estudio), PH.



\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los Grupos

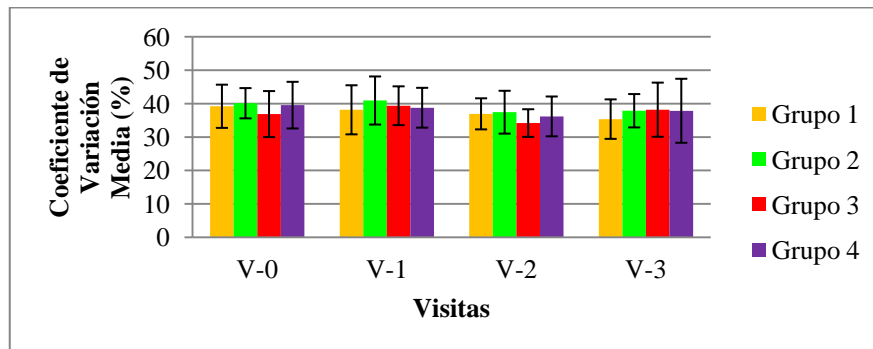
**TABLA 49.**  
Microscopio  
Espectral Área  
Temporal (Grupos  
de Estudio), PH.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
HEXAGONAL T V-0	52,74	8,44	52,50	9,42	50,69	9,76	52,86	5,84
HEXAGONAL T V-1	43,53	9,00	47,63	10,38	41,13	7,35	44,05	14,76
HEXAGONAL T V-2 *	50,16	7,43	52,06	5,95	41,94	12,84	46,27	11,95
HEXAGONAL T V-3	51,83	9,33	50,38	8,05	45,50	8,43	50,36	9,25

\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los Grupos

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los datos de PH del área temporal en la diferencia entre V-2 y V-0 entre los siguientes grupos: Entre los grupo 2 y 3.

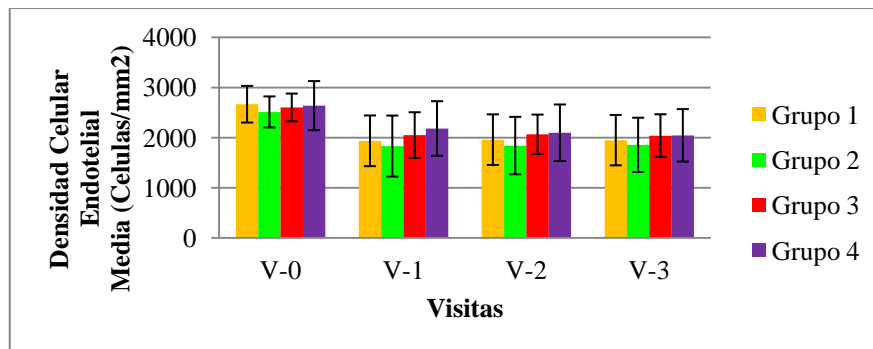
**FIGURA 23.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Inferior (Grupos  
de Estudio), CV.



**TABLA 50.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Inferior  
(Grupos de  
Estudio), CV.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CV TAMAÑO I V-0	39,21	6,47	36,88	6,89	40,13	4,53	39,55	6,98
CV TAMAÑO I V-1	38,16	7,34	39,38	5,81	40,94	7,20	38,77	5,96
CV TAMAÑO I V-2	36,95	4,65	34,19	4,13	37,44	6,41	36,18	5,96
CV TAMAÑO I V-3	35,37	5,91	38,19	8,10	37,88	4,99	37,86	9,58

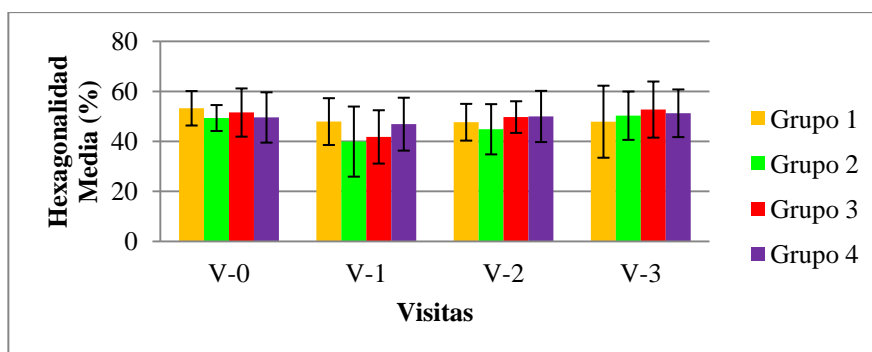
**FIGURA 24.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Inferior (Grupos  
de Estudio), DCE.



**TABLA 51.**  
Microscopio  
Especular Área  
Inferior (Grupos  
de Estudio), DCE.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
DENSIDAD I V-0	2.665,68	365,58	2.601,81	276,91	2.511,50	309,60	2.637,36	489,89
DENSIDAD I V-1	1.935,37	505,54	2.048,69	456,90	1.831,31	608,40	2.181,45	544,22
DENSIDAD I V-2	1.958,05	505,39	2.066,56	392,04	1.840,44	572,96	2.097,27	563,56
DENSIDAD I V-3	1.948,84	502,26	2.038,25	426,69	1.854,94	541,63	2.044,91	523,33

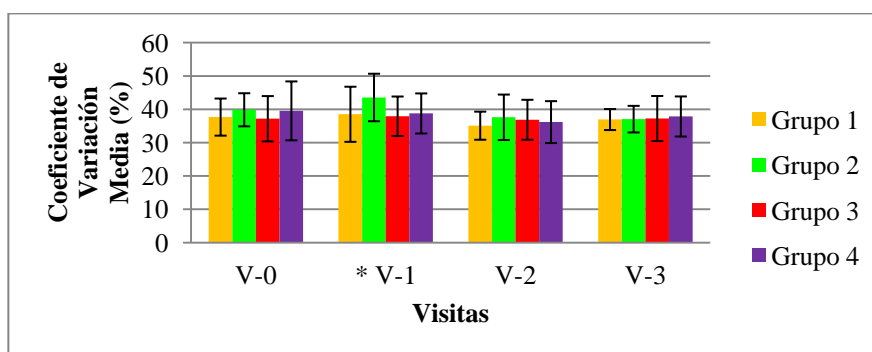
**FIGURA 25.**  
Microscopio  
Especular Área  
Inferior (Grupos de  
Estudio), PH.



**TABLA 52.**  
Microscopio  
Especular Área  
Inferior (Grupos  
de Estudio), PH.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
HEXAGONAL I V-0	53,26	6,89	51,56	9,65	49,38	5,19	49,59	10,07
HEXAGONAL I V-1	47,95	9,36	41,81	10,67	39,94	14,03	46,91	10,58
HEXAGONAL I V-2	47,68	7,35	49,75	6,33	44,88	10,05	50,00	10,24
HEXAGONAL I V-3	47,89	14,42	52,75	11,23	50,31	9,68	51,27	9,53

**FIGURA 26.**  
Microscopio  
Especular Área  
Nasal (Grupos de  
Estudio), CV.



\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los Grupos

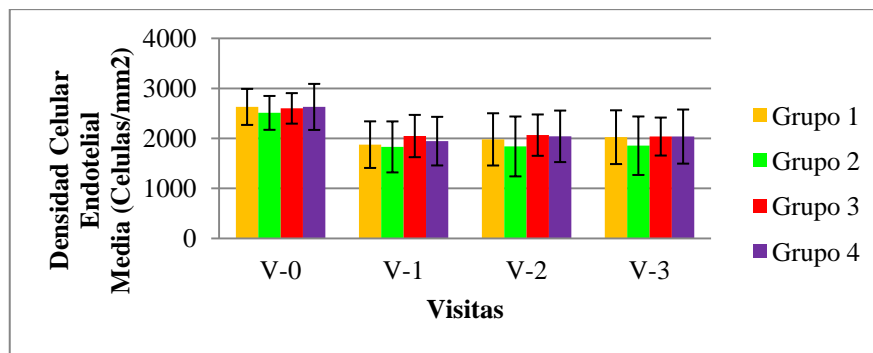
**TABLA 53.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Nasal (Grupos de  
Estudio), CV.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CV TAMAÑO N V-0	37,68	5,57	37,19	6,79	39,88	4,96	39,23	8,84
CV TAMAÑO N V-1*	38,53	8,27	37,94	5,92	43,56	7,13	36,82	6,01
CV TAMAÑO N V-2	35,11	4,21	36,88	6,00	37,63	6,82	37,45	6,28
CV TAMAÑO N V-3	36,94	3,15	37,25	6,77	37,06	3,99	37,23	6,02

\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los Grupos

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los datos de CV Tamaño del área nasal en la diferencia entre V-1 y V-0 entre los siguientes grupos: Entre el grupo 2 con el grupo 1, con el 3 y con el 4.

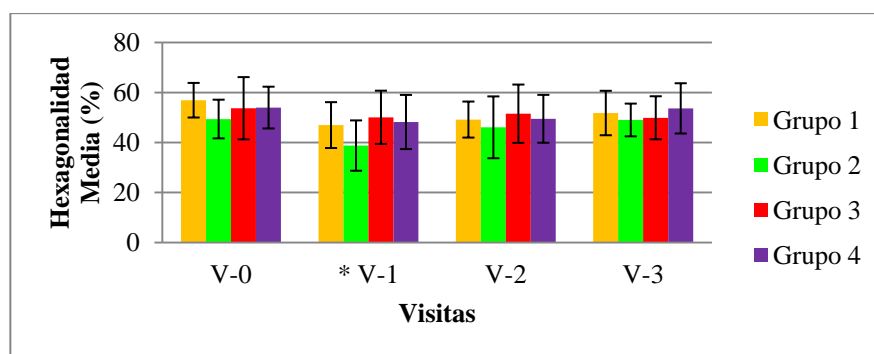
**FIGURA 27.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Nasal (Grupos de  
Estudio), DCE.



**TABLA 54.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Nasal (Grupos de  
Estudio), DCE.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
DENSIDAD N V-0	2.631,26	360,58	2.550,75	305,51	2.521,69	338,88	2.631,14	460,38
DENSIDAD N V-1	1.876,26	466,18	2.050,69	422,97	1.844,19	510,14	1.946,68	486,20
DENSIDAD N V-2	1.981,79	522,33	2.024,31	413,81	1.826,56	598,93	2.042,73	515,08
DENSIDAD N V-3	2.025,72	537,88	1.994,75	379,76	1.880,00	585,30	2.037,77	541,07

**FIGURA 28.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Nasal (Grupos de  
Estudio), PH.



\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los Grupos

**TABLA 55.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Nasal (Grupos de  
Estudio), PH.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
HEXAGONAL N V-0	56,89	6,92	53,69	12,46	49,38	7,74	53,95	8,36
HEXAGONAL N V-1*	46,95	9,17	50,06	10,66	38,75	10,07	48,18	10,83
HEXAGONAL N V-2	49,16	7,21	51,50	11,67	46,06	12,36	49,45	9,58
HEXAGONAL N V-3	51,78	8,89	49,88	8,61	49,00	6,54	53,64	10,05

\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los Grupos

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los datos de hexagonalidad del área nasal en la diferencia entre V-1 y V-0 entre los siguientes grupos: Entre el grupo 2 con el grupo 1, con el 3 y con el 4.

#### 4.B.4. Análisis lineal de los datos

Con los datos de los grupos de estudio, se realizó un análisis lineal en el tiempo para comprobar si existían diferencias estadísticamente significativas, dentro de cada grupo, entre los datos de la visita inicial y las sucesivas visitas posteriores, al mes, 3 meses y 6 meses de la cirugía.

Las variables estudiadas fueron únicamente la paquimetría ultrasónica central, y los valores de determinación en área central con MENC de paquimetría, DCE, CV y PH.

A continuación, se exponen las gráficas y las tablas de cada una de las variables estudiadas y su variación durante el seguimiento.

Mediante columnas se representan las medias que cada una de las variables presentaban en cada una de las visitas, con

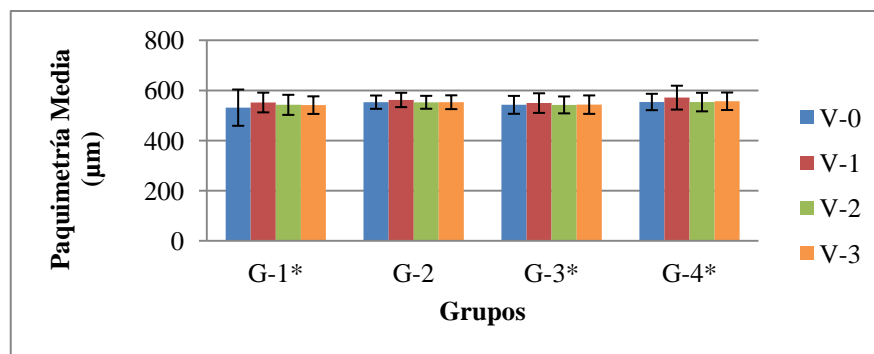
sus respectivas desviaciones. Los símbolos utilizados son los mismos en todas las gráficas, y el color depende de cada grupo. Las graficas están divididas según las cuatro visitas que se realizaron durante el estudio, los colores son:

- Azul para la Visita 0 (Valores que presentaba cada grupo en V-0).
- Granate para la Visita 1 (Valores que presentaba cada grupo en V-1).
- Verde para la Visita 2 (Valores que presentaba cada grupo en V-2).
- Marrón para la Visita 3 (Valores que presentaba cada grupo en V-3).

En el eje de ordenadas, figura la variable estudiada y la unidad correspondiente. En el eje de abscisas aparecen los cuatro grupos de estudio en los que se dividió la población. Los grupos reflejados en las gráficas son:

- Grupo 1 (G-1) (pacientes no diabéticos y pretratados con suero fisiológico).
- Grupo 2 (G-2) (pacientes diabéticos y pretratados con suero fisiológico).
- Grupo 3 (G-3) (pacientes no diabéticos y pretratados con dexametasona).
- Grupo 4 (G-4) (pacientes diabéticos y pretratados con dexametasona).

**FIGURA 29.**  
Paquimetría  
Corneal Central U,  
(Visitas).



\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las Visitas

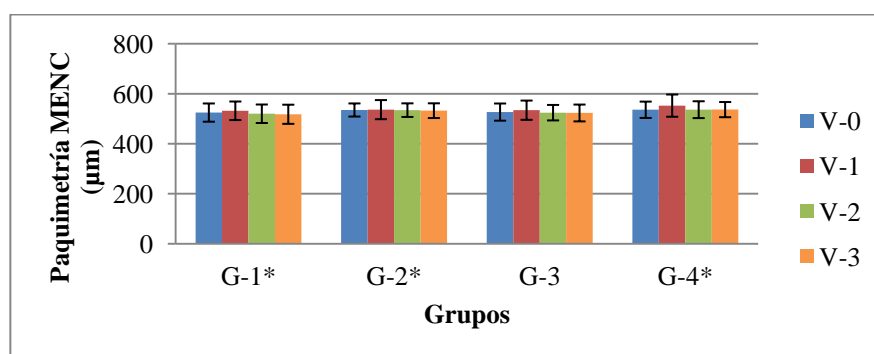
**TABLA 56.**  
Paquimetría  
Corneal Central U,  
(Visitas).

Paquimetría a corneal U	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)*		Sí (G-3)*		No (G-2)		Sí (G-4)*	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
V-0	531,37	72,41	553,25	26,54	542,56	35,69	554,00	32,66
V-1	551,89	39,43	562,13	28,62	549,63	39,09	571,32	47,59
V-2	542,58	40,11	552,75	25,76	542,31	33,75	553,64	37,01
V-3	541,47	35,13	553,06	27,60	543,38	36,86	556,91	34,88

\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las Visitas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la paquimetría corneal central U en el grupo 1 entre la visita 0 y la visita 1 (p=0,008) entre la visita 1 y la visita 2 (0,011), y entre la visita 1 y la visita 3 (p=0,004). En el grupo 3 entre la visita 1 y la visita 2 (p=0.018) y entre la visita 1 y la visita 3 (p=0,021). En el grupo 4 entre la visita 0 y la visita 1 (p=0,016), entre la visita 1 y la visita 2 (p<0,001), entre la visita 1 y la visita 3 (p<0,001).

**FIGURA 30.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Central, (Visitas),  
Paquimetría  
MENC.



\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las Visitas

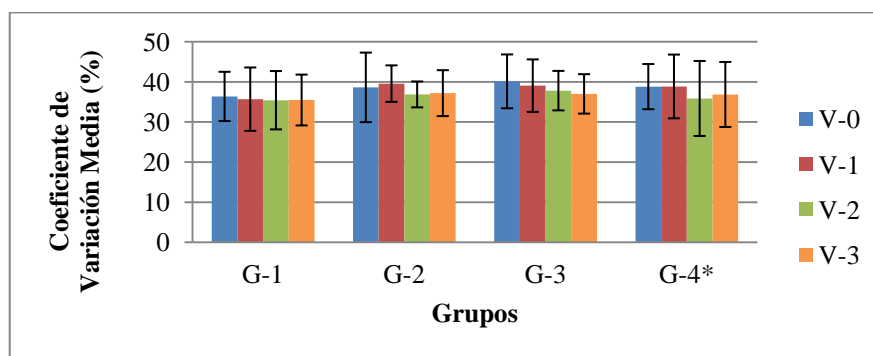
**TABLA 57.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Central,  
(Visitas),  
Paquimetría  
MENC.

Paquime tría MENC	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)*		Sí (G-3)		No (G-2)*		Sí (G-4)*	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
V-0	524,89	36,47	535,25	26,21	526,88	34,36	536,14	32,68
V-1	532,11	37,10	536,63	38,20	534,38	38,54	552,67	44,49
V-2	520,16	36,97	534,63	27,26	524,50	30,99	536,48	33,65
V-3	518,11	38,31	532,50	29,49	523,25	33,70	536,71	30,35

\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las Visitas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la paquimetría del MENC en el área central en el grupo 1 entre la visita 0 y la visita 3 ( $p=0,025$ ), entre la visita 1 y la visita 2 ( $p=0,018$ ), y entre la visita 1 y la visita 3 ( $p=0,004$ ). En el grupo 2 entre la visita 1 y la visita 3 ( $p=0,035$ ). En el grupo 4 entre la visita 0 y la visita 1 ( $p=0,002$ ), entre la visita 1 y la visita 2 ( $p=0,001$ ) y entre la visita 1 y la visita 3 ( $p=0,001$ ).

**FIGURA 31.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Central, (Visitas),  
CV.



\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p<0,05$ ) entre las Visitas

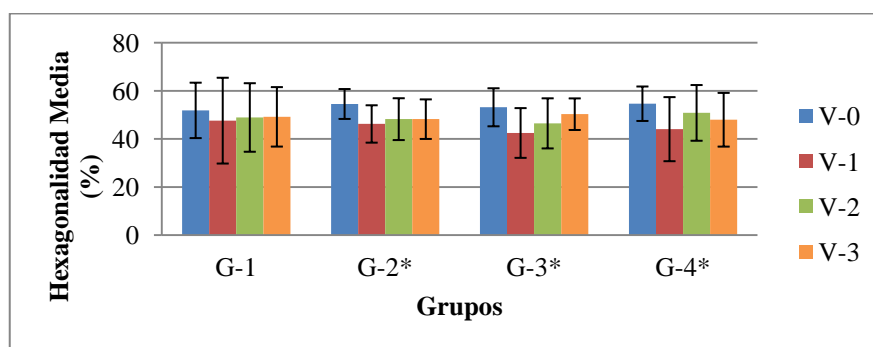
**TABLA 58.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Central, (Visitas),  
CV.

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)*	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
V-0	36,37	6,14	40,13	8,67	38,63	6,71	38,81	5,64
V-1	35,68	7,90	39,06	4,55	39,56	6,54	38,86	7,95
V-2	35,42	7,27	37,81	3,23	36,88	4,92	35,86	9,36
V-3	35,47	6,34	37,00	5,73	37,19	4,92	36,86	8,11

\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p<0,05$ ) entre las Visitas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el ME área central CV en el grupo 4 entre la visita 1 y la visita 3 ( $p=0,045$ ).

**FIGURA 32.**  
Microscopio  
Espeular Área  
Central,  
(Visitas), PH.





\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las Visitas

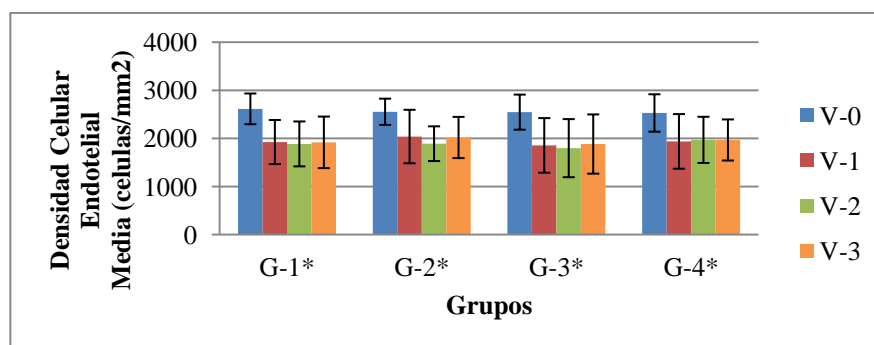
**TABLA 59.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Central,  
(Visitas), PH.

Hexagonal idad	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)*		No (G-2)*		Sí (G-4)*	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
V-0	51,89	11,52	54,56	6,22	53,19	7,91	54,67	7,16
V-1	47,63	17,84	46,25	7,77	42,50	10,35	44,10	13,32
V-2	48,95	14,25	48,25	8,70	46,50	10,42	50,86	11,59
V-3	49,21	12,37	48,25	8,23	50,31	6,57	48,00	11,16

\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las Visitas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el ME área central en el PH en el grupo 2 entre la visita 0 y la visita 1 (p=0,003), entre la visita 0 y la visita 2 (p=0,040), y entre la visita 1 y la visita 3 (p=0,033). En el grupo 3 entre la visita 0 y la visita 1 (p=0,021) y la visita 0 y la 3 (p=0,036). En el grupo 4 entre la visita 0 y la visita 1 (p=0,001), entre la visita 0 y la visita 3 (p=0,012), y entre la visita 1 y la visita 2 (p=0,017).

**FIGURA 33.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Central, (Visitas),  
DCE.



\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las Visitas

**TABLA 60.**  
Microscopio  
Especcular Área  
Central,  
(Visitas), DCE.

Densidad celular	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)*		Sí (G-3)*		No (G-2)*		Sí (G-4)*	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
V-0	2614,42	319,46	2553,81	272,59	2546,56	364,62	2528,57	389,16
V-1	1924,37	458,23	2039,06	556,09	1854,88	567,62	1938,24	567,59
V-2	1885,42	467,03	1890,38	360,70	1797,25	603,99	1969,90	479,68
V-3	1918,37	535,69	2019,19	428,36	1883,00	615,98	1967,48	427,55

\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las Visitas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas el ME área central en la DCE en el grupo 1 entre la visita 0 y la visita 1 ( $p < 0.001$ ), entre la visita 0 y la visita 3 ( $p < 0,01$ ) y entre la visita 0 y la visita 3 ( $p < 0,001$ ). En el grupo 2 entre la visita 0 y la visita 1 ( $p < 0,001$ ), entre la visita 0 y la visita 2 ( $p < 0,001$ ), entre la visita 0 y la visita 3 ( $p < 0,001$ ) y entre la visita 2 y la visita 3 ( $p = 0,050$ ). En el grupo 3 entre la visita 0 y la visita 1 ( $p < 0,001$ ), entre la visita 0 y la visita 2 ( $p < 0,001$ ), entre la visita 0 y la visita 3 ( $p < 0,001$ ) y entre la visita 2 y la visita 3 ( $p = 0,004$ ). En el grupo 4 entre la visita 0 y la visita 1 ( $p < 0,001$ ), entre la visita 0 y la visita 2 ( $p = 0,001$ ), y entre la visita 0 y la visita 3 ( $p < 0,001$ ).

### 4.B.5. Humor acuoso

En el HA extraído durante la cirugía se calculó la CTA o el poder antioxidante total del HA y se determinaron los niveles de moléculas proinflamatorias en el HA.

Las muestras de HA se utilizaron primero para determinar los niveles de citocinas y con el volumen sobrante se calculó la CTA.

Las determinaciones se realizaron en todos los pacientes, sin consideración de la energía, ya que todavía no se había realizado la facoemulsificación.

#### 4.B.5.A. Determinación de los niveles de moléculas proinflamatorias en humor acuoso

En el HA extraído durante la cirugía se analizaron un total de 27 analitos: IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxina, FGF básico, G-CSF, GM-CSF(CSF 2), IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1/MCAF, MIP-1 $\alpha$ (CCL3), PDGF-BB, MIP-1 $\beta$ (CCL4), RANTES(CCL5), TNF- $\alpha$ , VEGF.

Las concentraciones mínimas detectables mediante la tecnología xMAP Luminex queda reflejada en la tabla 61 para cada uno de los analitos y el porcentaje de muestras de cada molécula en la que se detectó al menos la concentración mínima.

Dieciocho analitos fueron detectados por encima del valor mínimo en el 50% de las muestras. No se realizó el estudio estadístico de las muestras por debajo de esos valores.

En seis pacientes no se pudieron determinar los valores por problemas técnicos tal y como figura en la tabla 62.

**TABLA 61.**

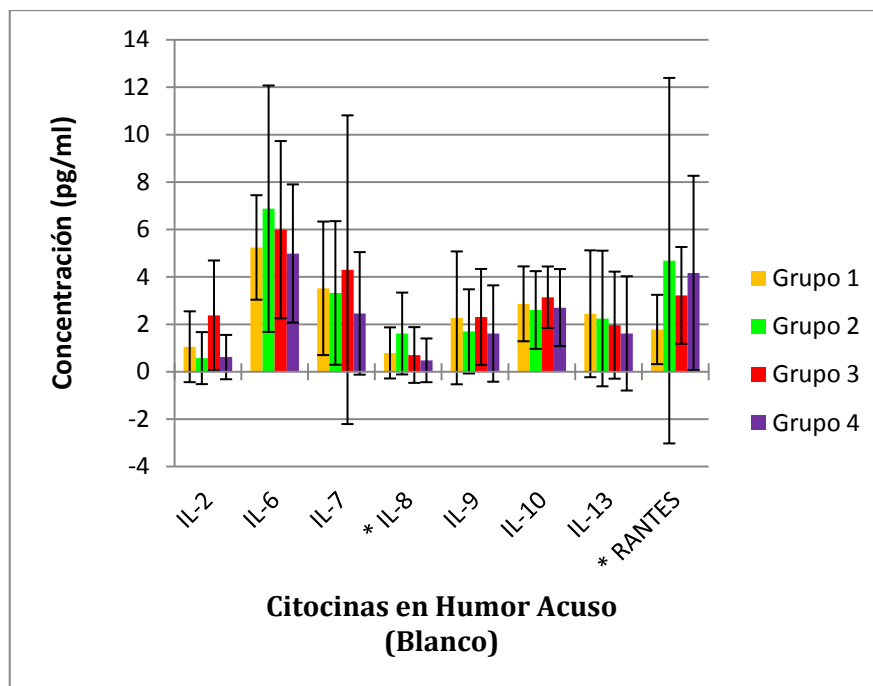
Concentración  
mínima de  
analitos y  
porcentaje de  
muestras  
detectadas.

Analito	Concentración mínima detectable en pg/ml	Porcentaje de muestras con valor mínimo de concentración
IL-1ra	4,46	75%
IL-1b	1,99	0%
IL-2	0,62	54%
IL-4	0,24	0%
IL-5	2,41	0%
IL-6	1,66	100%
IL-7	2,09	73%
IL-8	1,61	51%
IL-9	0,63	83%
IL-10	1,6	89%
IL-12 (p70)	2,95	100%
IL-13	1,91	52%
IL-15	1,24	93%
IL-17	1,53	95%
FGF basic	1,37	78%
Eotaxina	1,98	3%
G-CSF	2,03	0%
GM-CSF	0,65	100%
IP-10	2,07	100%
IFN g	1,73	0%
MIP-1a	1,04	0%
MCP-1 (MCAF)	1,53	100%
MIP-1 $\beta$	1,14	100%
RANTES	1,74	86%
TNF a	5,53	0%
PDGF bb	1,48	19%
VEGF	2,24	100%

En las tablas quedan reflejados todos los datos obtenidos tras el análisis de las muestras de HA.

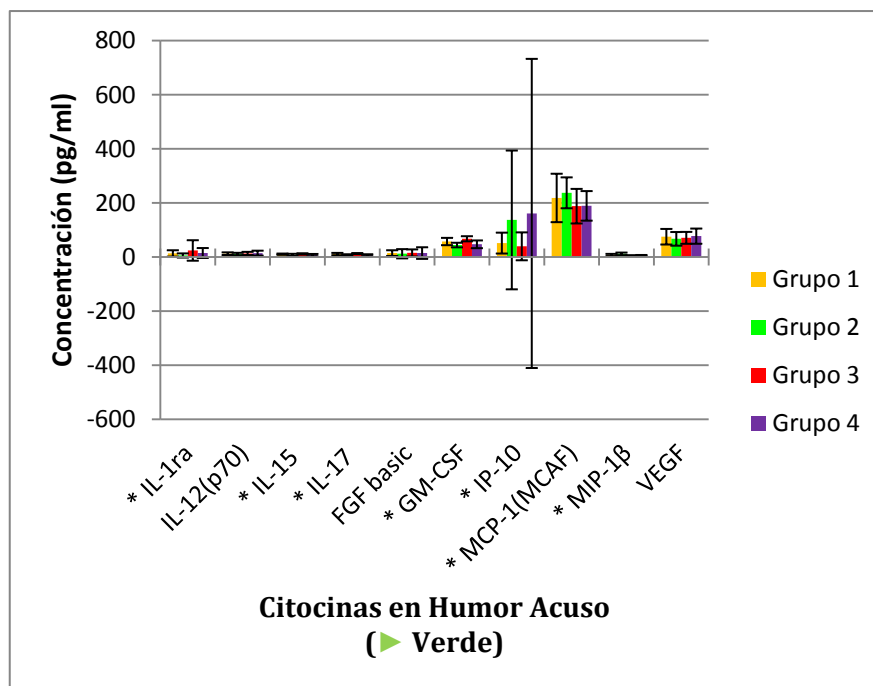
En el eje de ordenadas, figura la variable estudiada y la unidad correspondiente. En el eje de abscisas aparecen las citocinas cuyas concentraciones pudieron ser analizadas.

**FIGURA 34.**  
Concentraciones de los distintos analitos en HA (pg/ml) (Grupos de Estudio).



\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre alguno de los grupos

**FIGURA 35.**  
Concentraciones de los distintos analitos en HA (pg/ml) (Grupos de Estudio).



\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre alguno de los grupos

**TABLA 62.**  
Concentraciones de los distintos analitos en HA (Grupos de Estudio).

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	NO. n=19		SI. n=18		NO. n=19		SI. n=18	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
* IL-1ra	13,54	11,73	24,48	37,86	5,91	7,67	15,12	18,33
IL-2	1,05	1,49	2,37	2,32	0,57	1,10	0,62	0,93
IL-6	5,24	2,20	5,99	3,74	6,88	5,20	4,98	2,92
IL-7	3,52	2,82	4,30	6,51	3,32	3,03	2,46	2,58
* IL-8	0,79	1,08	0,70	1,17	1,61	1,73	0,48	0,92
IL-9	2,27	2,80	2,31	2,02	1,70	1,78	1,61	2,03
IL-10	2,86	1,58	3,14	1,30	2,60	1,64	2,70	1,63
IL-12 (p70)	12,58	4,92	13,38	5,98	11,30	4,50	14,53	9,12
IL-13	2,44	2,68	1,96	2,26	2,24	2,86	1,62	2,41
*IL-15	10,69	2,33	11,80	2,30	8,05	4,12	7,30	4,27
*IL-17	11,14	4,31	12,91	2,02	6,95	3,50	6,58	3,91
FGF basic	14,75	10,47	15,26	13,16	12,30	17,09	14,76	21,49
* GM-CSF	57,48	13,50	67,65	9,47	44,48	8,49	47,22	14,27
*IP-10	51,68	38,60	39,77	51,59	137,33	256,55	161,33	571,38
* MCP-1 (MCAF)	218,61	89,49	188,18	63,90	237,53	57,12	189,28	54,65
* MIP-1 $\beta$	7,82	4,06	4,94	2,16	11,89	4,74	5,22	2,61
* RANTES	1,78	1,46	3,22	2,04	4,68	7,71	4,17	4,10
VEGF	75,26	28,80	71,10	22,04	67,36	25,22	77,33	28,10

\* Diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) entre alguno de los grupos

La IL-1ra presentó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos 1 y 2 (p=0,018).

La IL-8 presentó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos 2 y 4 (p=0,017)

La IL-15 presentó diferencias estadísticamente significativas en los siguientes grupos: Entre los grupos 1 y 2 (p=0,029), entre el Grupo 3 y el 4 (p<0,001).

La IL-17 presentó diferencias estadísticamente significativas entre los siguientes grupos: Entre los grupos 1 y 2 (p=0,006), y entre el Grupo 3 y el 4 (p<0,001).

La GM-CSF presentó diferencias estadísticamente significativas entre los siguientes grupos: Entre los grupos 1 y 3 ( $p=0,019$ ), entre los grupos 1 y 2 ( $p=0,004$ ), y entre el Grupo 3 y el 4 ( $p<0,001$ ).

La IP-10 presentó diferencias estadísticamente significativas entre el Grupo 2 y el 4 ( $p=0,008$ ).

La MCP-1/MACF presentó diferencias estadísticamente significativas entre el Grupo 2 y el 4 ( $p=0,028$ ).

La MIP-1 $\beta$  presentó diferencias estadísticamente significativas entre los siguientes grupos: Entre los grupos 1 y 3 ( $p=0,019$ ), entre los grupos 2 y 4 ( $p<0,001$ ), y entre el Grupo 1 y el 2 ( $p<0,011$ ).

El RANTES presentó diferencias estadísticamente significativas entre el Grupo 1 y 3 ( $p=0,010$ ).

**4.B.5.B. Capacidad total antioxidante**

Al calcular la CTA, en algunas de las muestras, de algunos pacientes, no pudimos por no existir suficiente muestra de HA sobrante. En el grupo 1 hubo cinco pacientes que no pudieron ser analizados, los mismo ocurrió con cuatro muestras del grupo 2, cuatro muestras del grupo 3 y con cinco muestras del grupo 4.

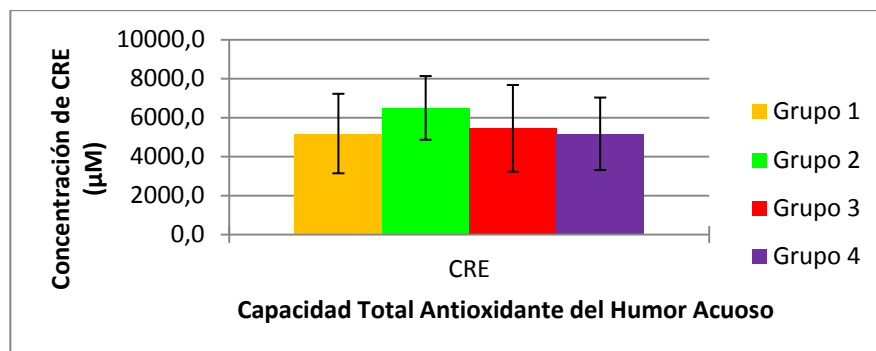
En las tablas queda reflejado el poder antioxidante del HA medido como CRE en  $\mu\text{M}$ .

En el eje de ordenadas de los gráficos está reflejada la concentración de CRE y la unidad en la que se midió dicha concentración.

**TABLA 63.**  
Características de la población de estudio para la CTA del HA (Grupos de Estudio).

Capacidad Total Antioxidante del Humor Acuoso					
Variables	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Total
NO DM	15	0	16	0	31
DM	0	16	0	15	31
Pretratados con Dexametasona	0	0	16	15	31
Pretratados con suero fisiológico	15	16	0	0	31
Ojo Derecho	13	7	7	7	34
Ojo Izquierdo	2	9	9	9	29

**FIGURA 36.**  
CTA del HA  
(Grupos de  
Estudio).



**TABLA 64.**  
CTA del HA  
(Grupos de  
Estudio).

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1)		Sí (G-3)		No (G-2)		Sí (G-4)	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CRE (µM)	5186,4	2040,1	5452,4	2225,9	6501,3	1634,5	5173,1	1860,4

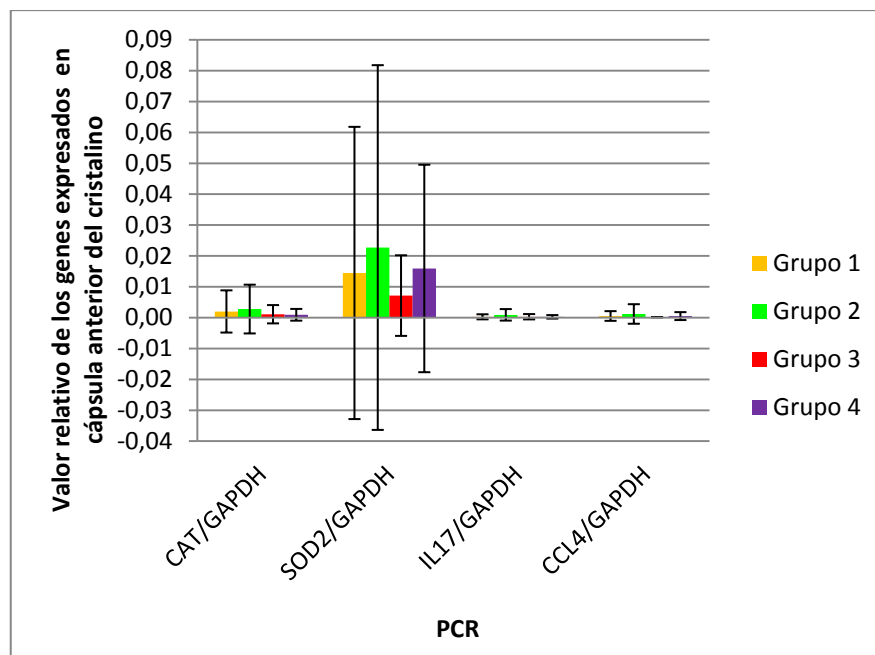
#### 4.B.6. Cápsula anterior del cristalino

La determinación mediante PCR a tiempo real se hizo en todas las cápsula anteriores de cristalino obtenidas de la capsulorexis circular continua. Los genes seleccionados fueron los de la CAT, la SOD2, la IL-17, el MIP-1 $\beta$  o CCL4, la IL-2 y el CSF-2 o CSF-GM. Los genes empleados para la cuantificación relativa como genes de referencia fueron la ACTB y la GADPH, siendo finalmente este último el empleado debido a la obtención de una mejor curva.

No se obtuvo amplificación de la IL-2, ni de el CSF-2 o CSF-GM.

En las tablas quedan reflejados todos los datos obtenidos. En el eje de ordenadas, figura la variable estudiada y la unidad correspondiente. En el eje de abscisas aparecen los genes que fueron estudiados.

**FIGURA 37.**  
Expresión relativa de genes estudiados en cápsula anterior del cristalino (Grupos de Estudio).



PCR: Polymerase Chain Reaction

**TABLA 65.**  
Expresión relativa de genes estudiados en cápsula anterior del cristalino (Grupos de Estudio).

	DIABETES MELLITUS							
	NO				SI			
	DEXAMETASONA PREVIA				DEXAMETASONA PREVIA			
	No (G-1) n=20		Sí (G-3) n=20		No (G-2) n=20		Sí (G-4) n=20	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CAT/GAPDH	0,0020	0,0068	0,0011	0,0030	0,0028	0,0079	0,0009	0,0019
SOD2/GAPDH	0,0145	0,0473	0,0071	0,0131	0,0227	0,0591	0,0159	0,0336
IL17/GAPDH	0,0003	0,0008	0,0003	0,0009	0,0009	0,0019	0,0002	0,0006
CCL4/GAPDH	0,0005	0,0016	0,0001	0,0001	0,0012	0,0032	0,0005	0,0013

IL-2: No se pudo amplificar

CSF2: No se pudo amplificar

**4.B.7. Coeficientes de correlación**

Debido al amplio número de variables en distintos tiempos, se seleccionó la variable de la DCE central en la visita 0, como la de referencia y más destacable, para poder establecer medidas de la relación lineal con las siguientes variables clínicas: la paquimetría corneal determinada con US y MENC, el CV y el PH, todas ellas de localización central y en la visita 0. Además, la DCE central en V-0 también se correlacionó con los analitos

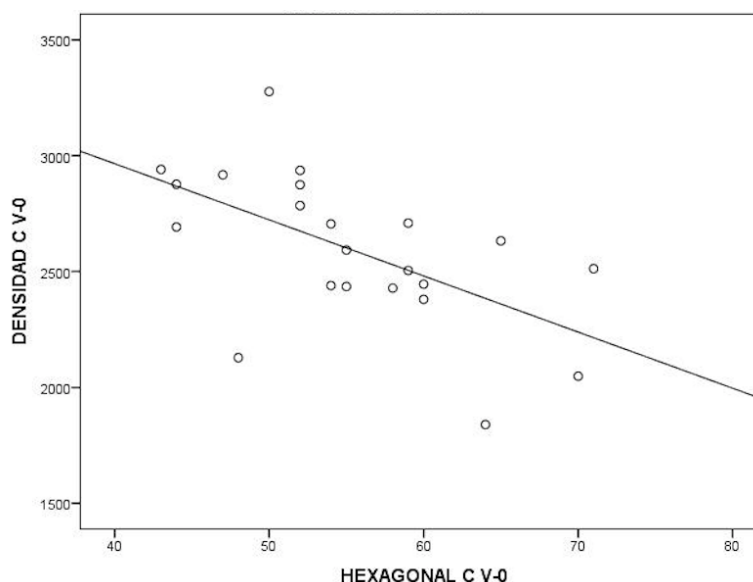


determinados mediante xMAP Luminex que presentaban concentraciones mínimas en al menos el 80% de las muestras, es decir, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, GM-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 $\beta$ , RANTES y VEGF. Finalmente, también se buscaron las correlaciones entre la DCE central en V-0 con la CTA del HA, y con las expresiones relativas de los genes que se lograron amplificar.

Los cálculos se realizaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson en los cuatro grupos para las variables anteriormente mencionadas.

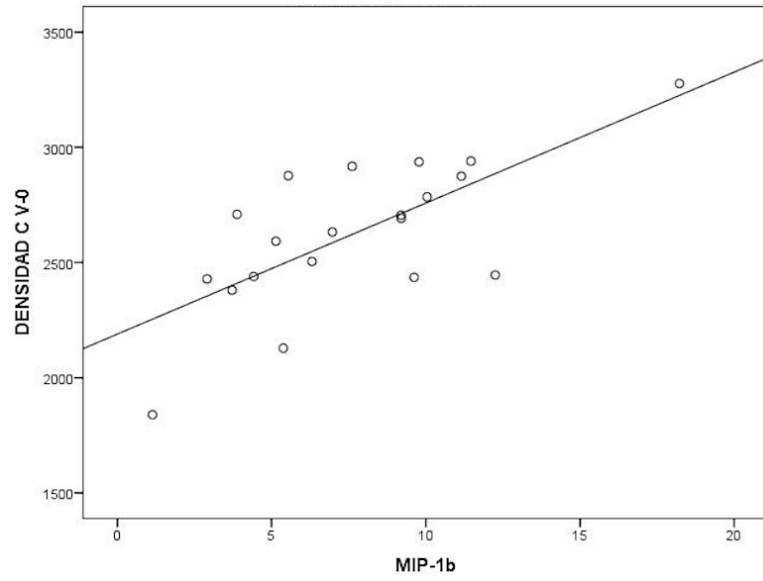
De todas las relaciones estudiadas, únicamente se encontraron relaciones estadísticamente significativas en el grupo 1 (No DM-No DEXA) entre la densidad central en V-0 con la hexagonalidad central en V-0 y con MIP-1 $\beta$ .

**FIGURA 38.**  
Correlación entre  
Densidad y PH en  
V-0 (Grupo 1)



Existe una correlación lineal negativa ( $r=-0.579$ ) estadísticamente significativa ( $p=0,005$ ) de la densidad central en V-0 con la hexagonalidad central en V-0.

**FIGURA 39.**  
Correlación entre  
Densidad en V-0 y  
MIP-1 $\beta$  (Grupo 1)



Existe una correlación lineal positiva ( $r=0.706$ ) estadísticamente significativa ( $p=0,001$ ) de la densidad central en V-0 con la concentración de MIP-1 $\beta$ .



## *5. DISCUSIÓN*



## 5. DISCUSIÓN

### 5.A. GRUPOS MUESTRALES. DIABETES Y DEXAMETASONA.

La población diana del estudio fueron los pacientes que acudieron al servicio de oftalmología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid para ser operados de cataratas.

A pesar de la amplia población disponible, no fue sencilla la captación de los grupos muestrales, de hecho el reclutamiento voluntario y seguimiento de los pacientes se extendió a tres años.

La selección de pacientes sin ninguna patología ocular, salvo la catarata, nos permitió disponer de córneas con contajes endoteliales normales, en las que el único factor que se iba a introducir era la cirugía de catarata mediante facoemulsificación, la presencia, o no, de diabetes y la utilización, o no, en el preoperatorio de dexametasona. Por ello, los cambios que aparecieran a lo largo del seguimiento en el contaje endotelial, se podrían atribuir, presumiblemente, a estos factores.

La córnea del paciente diabético sufre las condiciones metabólicas de la enfermedad y, como consecuencia de ello, pueden aparecer cambios en todas las capas de la córnea. Son múltiples las anormalidades que puede aparecer, como el daño endotelial con cambios en el polimegetismo y el polimorfismo, incremento del espesor, incremento de la autofluorescencia corneal, incremento de la permeabilidad a la fluoresceína del endotelio tras la cirugía, erosiones corneales recidivantes, queratopatía punteada superficial, defectos epiteliales persistentes, alteraciones en la sensibilidad corneal, úlceras, enlentecimientos en la reepitelización o queratitis superficiales<sup>18,56,75,175-182</sup>. El conjunto de los cambios originados por la enfermedad es lo que se conoce como queratopatía diabética<sup>183</sup>.

Todos estos cambios corneales hacen que la córnea diabética sea más sensible a cualquier agresión quirúrgica. El conocimiento de lo que ocurre en el microambiente en el que se realiza la cirugía tanto en las moléculas proinflamatorias, como en los antioxidantes es una respuesta que valía la pena conocer.

El subgrupo de pacientes diabéticos elegidos es el más cercano a la normalidad, ya que son todos pacientes con DM tipo 2 sin retinopatía diabética. Es probable que se encontrasen más diferencias con la aplicación de los corticoides en pacientes con la enfermedad más evolucionada, en los que el componente

inflamatorio es más importante, pero se consideró que por criterios de seguridad era mejor elegir como población diana de este primer estudio a estos pacientes.

Uno de los fármacos más ampliamente empleados en la modulación de la expresión génica son los corticoides, especialmente de las moléculas proinflamatorias y de los antioxidantes en múltiples localizaciones del organismo <sup>184-193</sup>. Entre los corticoides más empleados con esa función moduladora destaca la dexametasona <sup>186-188,191-193</sup>.

La dexametasona es un corticoide con el que se tiene una amplia experiencia en su uso oftalmológico, tanto de manera tópica como subconjuntival, intracameral o intravítrea <sup>194-198</sup>.

La dexametasona es ampliamente utilizada de manera tópica para cualquier patología inflamatoria tanto de superficie ocular como en casos de inflamación intraocular, tanto endógena, como inducida de manera externa, como los casos quirúrgicos.

Estas condiciones mencionadas fueron las razones de la elección de la dexametasona como fármaco que se quería evaluar en sus posibles efectos en endotelio corneal.

Además, la posibilidad de disponer de una dexametasona en monodosis permite eliminar todos los efectos nocivos que pueden originar los conservantes en el polo anterior <sup>199</sup> y, con ello, eliminar un factor que pudiese alterar los resultados.

Los corticoides suelen tener suficiente con 48 horas para ser capaces de modificar la expresión génica <sup>200,201</sup>. La potencia y capacidad que tiene la dexametasona de penetrar a través de la córnea permitía que la dosis de una gota cada dos horas, mientras estuviese despierto el paciente, fuese aparentemente suficiente.

### 5.B. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

No fue seleccionado ni el sexo ni la edad de los sujetos incluidos en el momento del estudio, ya que no parecen influir en que se produzca una mayor o menor pérdida de células endoteliales durante la cirugía de la catarata <sup>202</sup>.

Se consideraron criterios de exclusión el haber sido sometido a cirugías previas oculares, lo que hubiese podido condicionar una disminución del conteo de CEC, o el padecer alguna enfermedad que afecte al endotelio corneal <sup>11,45</sup>. Igualmente, se descartaron todos aquellos sujetos con

enfermedades inflamatorias intraoculares con ruptura de BHA asociada. Este factor favorece la presencia de células inflamatorias en CA, y con ellas, múltiples moléculas proinflamatorias y prooxidantes <sup>16</sup>.

Las complicaciones intraoperatorias también se consideraron como un criterio de exclusión, ya que condicionan una mayor respuesta inflamatoria intraocular. Además, generalmente, van asociadas a un mayor tiempo quirúrgico y a un uso de más energía ultrasónica en la cirugía. Todos estos factores condicionan una mayor pérdida endotelial <sup>3-5,9,10</sup>.

## **5.C. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS**

La realización de las pruebas diagnósticas se realizó siempre en el mismo orden, para que cada una de ellas modificase lo menos posible a la siguiente.

### **5.C.1. Valoración de la biomicroscopía de polo anterior**

La realización de la biomicroscopía de polo anterior previa a la cirugía permitió la selección de los pacientes con un grado similar en el estadio de la catarata según la escala LOCS. Los pacientes con cataratas avanzadas no fueron seleccionados, ya que este factor podría condicionar la necesidad de emplear más energía durante la cirugía y, con ello, originar una mayor pérdida endotelial <sup>202</sup>.

La eliminación de este factor, supuestamente, permitiría que la influencia de la diabetes y la aplicación de la dexametasona previa a la cirugía, tuviese una mayor relevancia en la supervivencia endotelial. Sin embargo, como se comentará más adelante, los resultados obtenidos mediante el estudio multivariante, no hicieron otra cosa que confirmar el enorme peso de la energía en la supervivencia endotelial.

La valoración mediante biomicroscopía de polo anterior fue el método empleado para descartar todos aquellos pacientes que presentaran cualquiera de las enfermedades descritas en los criterios de exclusión que pudiesen ir acompañadas de una pérdida de células endoteliales <sup>11,45</sup>.

### 5.C.2. Facoemulsificación torsional de la catarata

Se decidió que todas las cirugías fueran realizadas por el mismo cirujano experimentado para evitar, entre otras, un mayor índice de complicaciones intraoperatorias o mayores tiempos quirúrgicos, que condicionan mayores pérdidas de CEC. Igualmente, el tipo de incisión, siempre con localización superior, permitió que las distancias a los lugares de medición mediante MENC fuesen similares e independientes a la lateralidad. El control de estos factores reduce mucho las variaciones de las pérdidas de CEC <sup>202</sup>.

El tipo de energía elegida para llevar a cabo la cirugía de la catarata fue la torsional, siempre sin componente longitudinal, ya que parece inducir una menor pérdida de células endoteliales <sup>3,5,9,10</sup>. El tamaño de la incisión normal, y no con una microincisión, también parece que puede condicionar una menor pérdida endotelial<sup>203</sup>. No parece tampoco haber diferencias entre las pérdidas endoteliales de las técnicas elegidas para la realización de la cirugía con técnicas convencionales como el "divide y vencerás"<sup>204</sup>.

No obstante, las notables pérdidas endoteliales inducidas por la cirugía se deban, probablemente, a que en el momento de la toma de muestra del HA por la incisión principal en muchos casos ocurrió un colapso de la CA. La razón de esa maniobra fue que se intentó tomar la mayor muestra de acuoso posible, para poder realizar la medición de la CTA y la determinación de citocinas mediante Luminex.

### 5.C.3. Microscopía endotelial corneal de no contacto

La evaluación del estado del endotelio corneal antes y después de la cirugía de facoemulsificación se realizó teniendo en cuenta no solamente la DCE, sino también el CV, y el PH, como indicadores del polimegetismo y del polimorfismo, respectivamente.

Las mediciones se realizaron con un MENC, que presenta varias ventajas sobre los MEC. Los MENC son aparatos de medida no invasivos, ya que no entran en contacto con la superficie ocular y la toma de medidas es más sencilla y más reproducible. Igualmente, el MEC es incómodo para el paciente y puede producir lesiones en el epitelio corneal e infecciones, que potencialmente podrían condicionar el postoperatorio <sup>44,91,205,206</sup>.



Las medidas fueron realizadas todas por el mismo investigador para evitar variaciones, aunque existe normalmente una menor varibilidad interoperator en los MENC que en los MEC<sup>91</sup>, factor que es una ventaja en la clínica diaria para poder comparar mediciones realizadas por distintos técnicos. Sin embargo, es imprescindible recordar que las mediciones realizadas con un MENC y un MEC no son comparables entre sí, no pudiendo intercambiar en la clínica diaria mediciones realizadas con MEC y MENC.

#### 5.C.4. Paquimetría corneal ultrasónica

La paquimetría corneal central es el indicador indirecto de la función endotelial más ampliamente utilizado. Sin embargo, generalmente es un valor que permanece estable mientras existe reserva funcional suficiente. El daño endotelial tiene que afectar a un número suficiente de las células para que el espesor corneal se vea afectado al aumentar la hidratación del estroma<sup>40,45</sup>.

La medición de la paquimetría corneal central se realizó con un paquímetro ultrasónico de contacto, que sigue siendo la prueba de referencia para la determinación del espesor corneal central<sup>207</sup>. Sus valores, como los de las otras técnicas, empeoran y son menos fiables al acercarse a la periferia, ya que la sonda se aplica manualmente y la localización del mismo punto es muy difícil, con lo que es menos repetible. Su principal inconveniente es que, aunque levemente, es una prueba invasiva, ya que se tiene que instilar una gota de anestésico para su determinación y contactar con la córnea. La indentación que se puede producir en la córnea durante la medición, en teoría, no modifica sus valores<sup>208</sup>. La realización de 7 medidas, con la eliminación de las medidas extremas, reduce la variabilidad de la prueba.

Las nuevas tecnologías de medición, como los topógrafos de elevación, el microscopio especular o el OCT, la utilizan como referencia para la validación y comparación de sus valores<sup>209,210</sup>.

### 5.C.5. Determinación de los niveles de citocinas inflamatorias en humor acuoso

Los niveles de citocinas se determinaron en las muestras de HA usando la tecnología de FIA Luminex, mediante el uso de kits comerciales de analitos inflamatorios y con un Luminex IS-100 (Luminex Corporation, Holanda).

El análisis de perfiles de múltiples analitos es una técnica ampliamente desarrollada y validada para la detección de marcadores de cáncer, enfermedades infecciosas, autoinmunes, riesgo cardiovascular, así como para determinar niveles de hormonas y citocinas <sup>119</sup>, reactantes de fase aguda y proteínas plasmáticas <sup>211</sup>. La técnica para estudiar múltiples analitos mediante la utilización de placas de múltiples pocillos ha sido ampliamente utilizada en otras ocasiones para la detección de pequeñas <sup>106</sup> y grandes <sup>94,100-102</sup> cantidades de analitos en HA demostrando su fiabilidad y su utilidad al disponer de pequeñas cantidades de muestra con las que trabajar.

La tecnología de xMAP Luminex ha sido comparada con otras técnicas como la de ELISA, FlowPRA y el CDC para la detección de anticuerpos en otros tejidos demostrando ser más sensible que todas estas <sup>212</sup>. Además, la tecnología de análisis de muestras mediante múltiples pocillos ha sido comparada con el gold-estándar, que es la prueba de ELISA, para la determinación de proteínas proinflamatorias en HA demostrando una mayor sensibilidad <sup>213</sup>.

La tecnología del xMAP Luminex permite analizar perfiles de múltiples analitos en muy pequeñas cantidades de muestra <sup>94,100</sup>, como suele ocurrir con las muestras oculares, como el HA, la lágrima o el vítreo. La cantidad de HA disponible para su análisis oscila entre 50-150 µl, lo que no suele ser suficiente para determinaciones mediante otras técnicas como el ELISA<sup>94</sup>

Todas estas características hicieron que la determinación de analitos en el HA fuese la técnica prioritaria. La muestra de HA se tomó siempre para el xMAP Luminex, mientras que el resto fue empleado para la determinación de la CTA. Esa es la razón por la que con esa técnica el número de muestras es menor, ya que no en todos los pacientes existía suficiente volumen de acuoso.

En el mercado existen múltiples kits preparados para analizar diferentes tipos de analitos dependiendo de los intereses del investigador. Existe también la posibilidad de diseñar un kit

personalizado para analizar proteínas específicas según el tipo de investigación llevado a cabo, pero esto multiplica de manera notable el precio. En este estudio se seleccionó un kit ya preparado para analizar citocinas relacionadas con procesos inflamatorios.

Los pacientes diabéticos acumulan productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs) (*Advanced Glycation End products*) que son el resultado final de modificaciones definitivas irreversibles en proteínas debido a la oxidación y al exceso de azúcares<sup>214</sup>. El acúmulo de estas proteínas son uno de los mecanismos de las complicaciones en los pacientes diabéticos<sup>215</sup>. Los efectos tóxicos de estos productos son resultado de la interacción con sus receptores, lo que origina un incremento de las ROS<sup>216</sup>, y consecuentemente un incremento en la liberación de citocinas inflamatorias<sup>217</sup>. Muchas de estas moléculas tienen sus concentraciones incrementadas en pacientes con complicaciones asociadas a la diabetes, como la retinopatía o el edema macular, lo que confirma el importante peso de la cascada inflamatoria en los pacientes diabéticos<sup>101,102</sup>.

La selección del kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay #M500KCAF0Y, permitía disponer de un amplio abanico de las citocinas implicadas en las cascadas anteriormente descritas. La influencia de la DM, en combinación con la dexametasona, es hasta ahora desconocida en estas moléculas, y podría hacer comprender mejor los cambios ocurridos en estos pacientes en el endotelio tras la cirugía de la catarata.

#### 5.C.6. Determinación de la capacidad antioxidante del humor acuoso

El HA tiene una importante función que es la poder contrarrestar el EO al que se ven sometidas las células del endotelio corneal tanto por los procesos primarios, por ejemplo la radiación UV, como por los secundarios, especialmente las cirugías, que pueden ocurrir en el ojo<sup>20,105,218</sup>.

El HA contiene diversos antioxidantes. El ascorbato tiene una composición relativa respecto a la del suero veinte veces mayor, y lo convierte en uno de los más activos. Además, existen una serie de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos que también intentar compensar la acción de las ROS<sup>104</sup>.

Situaciones como la facoemulsificación alteran esta capacidad antioxidante del HA al sustituirlo por las soluciones salinas balanceadas que se utilizan durante la cirugía. Por ello,

desaparecen todas las moléculas antioxidantes nada más acabar la operación. Además, debido a la rotura de la BHA, el suero penetra fácilmente en la CA, y es más difícil mantener los niveles elevados de ascorbato. La pérdida de la BHA origina también que aparezcan células inflamatorias en CA, y con ellas, múltiples moléculas proinflamatorias y pro-oxidantes, que provocan un mayor estrés oxidativo <sup>16</sup>.

Todo lo anteriormente mencionado es lo que condiciona que el endotelio corneal se encuentre en un ambiente muy hostil nada más finalizar la cirugía de la catarata, y eso es lo que probablemente condicione la muerte celular en un porcentaje importante.

Debido a la importancia del HA en la protección del endotelio corneal frente al EO, decidimos cuantificar la CTA del HA, y ver si este se veía modificado por la aplicación, o no, de dexametasona tópica, y por la presencia de la DM.

Existen múltiples métodos para determinar la capacidad antioxidante de muestras biológicas <sup>16,104,219-221</sup>. Dentro de esa amplia variedad de pruebas <sup>134</sup>, existe un grupo que se basa en los mecanismos de transferencia de electrones, y dentro de este grupo existen dos mecanismos, los basados en la reducción de hierro <sup>222</sup> y los basados en la reducción del cobre <sup>219,221</sup>.

En esta tesis se utilizó un método basado en la reducción del cobre mediante la transferencia de electrones. Estos métodos han demostrado ser más efectivos, más rápidos, así como más fiables que otros, como pueden ser los basados en la reducción de hierro <sup>219,220</sup>.

La determinación de la capacidad antioxidante no pudo ser realizada en todos los pacientes incluidos en el estudio, ya que en algunos no existían suficiente volumen de HA para cuantificarla tras la determinación de las moléculas proinflamatorias con el xMAP Luminex.

### **5.C.7. Determinación cuantitativa de expresión de genes de enzimas antioxidantes en cápsula anterior del cristalino**

La cápsula anterior del cristalino fue tomada para determinar los posibles cambios inducidos en la expresión de las EAO y citocinas debidas a la DM o a la aplicación de dexametasona. La razón es la imposibilidad de tomar muestras del endotelio corneal o del cuerpo ciliar durante la cirugía. Aunque es un dato indirecto, y supone una importante limitación, se asumió

que la dexametasona podría actuar de manera similar sobre las CEC o sobre el epitelio productor del HA, aunque esta asunción es una de las principales limitaciones de este estudio.

La dexametasona ya ha demostrado su capacidad para poder modificar la expresión de ciertas proteínas, como las mucinas en las células epiteliales corneales<sup>223</sup>.

Las EAO fueron elegidas basándose en la experiencia que existe en la superficie ocular entre aquellas que actúan como primera defensa ante el EO<sup>23,144</sup>. La SOD2 y la CAT se ha visto que tienen una importante función en la defensa frente al EO y, además, sus niveles se ven modificados en ciertas patologías oculares<sup>104,105,133</sup>.

Se han descrito tres niveles en el sistema de defensa antioxidante<sup>224,225</sup>. La primera línea de actuación actúa en la prevención de la formación de radicales libres y en ella están enzimas como la CAT, la glutatión peroxidasa o la familia de la SOD. La segunda línea de defensa contribuye a parar la iniciación o rompiendo la cadena de propagación, y engloba los antioxidantes de bajo peso molecular como las vitaminas o la aldehído deshidrogenasa 1. Finalmente, la tercera línea estaría formada por las enzimas reparadoras como la glutatión peroxidasa y la glutatión S-transferasa 1 microsomal<sup>224,225</sup>.

Las enzimas elegidas en este estudio forman parte de la primera línea de defensa ante el EO, probablemente, la más interesante de ser regulada farmacológicamente para evitar la formación de ROS. Además, al estar trabajando con pacientes diabéticos tipo 2 sin retinopatía, los niveles de EAO pueden estar más próximos a los normales, con lo que la detección de enzimas del primer nivel son las que son más interesantes de cuantificar.

Conocer los cambios en la expresión de estas enzimas en la cápsula anterior del cristalino, nos puede permitir un intento de extrapolación de la expresión de estas enzimas en el endotelio corneal, y poder comprobar si se ve modificada con la aplicación de corticoides tópicos. El que su síntesis se viera aumentada sería muy interesante en una situación, como es la facoemulsificación, en la que se elimina el HA junto con sus antioxidantes naturales y en la que se ve aumentado el EO. Si la expresión de EAO estuviera aumentada por la aplicación de corticoides tópicos, podría favorecer una más rápida recuperación del poder antioxidante del endotelio y del HA, y, por lo tanto, mejorar la supervivencia del endotelio corneal tras la cirugía.

En cuanto a las citocinas que se analizaron, se eligieron entre las que, al menos, estaban presentes en el 50% de las muestras con valores superiores a los mínimos detectables mediante xMAP Luminex. Las elegidas fueron la IL-17, la CCL4/MIP-1 $\beta$ , el CSF-2/GM-CSF y la IL-2, por su relevancia clínica, por su principal actividad proinflamatoria <sup>119</sup> y por los resultados obtenidos con el Luminex, tal y como se comentará más adelante. Conocer si su expresión génica se ve modificada por la dexametasona, como ocurre con otras proteínas de la superficie ocular <sup>223</sup>, parece muy interesante.

## 5.D. RESULTADOS

### 5.D.1. Agudeza visual y presión intraocular

La AV con corrección mostró una mejoría estadísticamente significativa en todos los grupos respecto a la visita inicial, lo que confirmó la seguridad del procedimiento. El incremento de la AV se mantuvo sin cambios a partir de la V-1 en todos los grupos, y sin encontrarse diferencias entre las ganancias de AV experimentada en cada uno de los grupos respecto a la V-0.

No se evidenció en ningún paciente la presencia clínica u oftalmoscópica de edema macular postquirúrgico del pseudofáquico en ningún momento del seguimiento. No obstante, no estaba protocolizado la realización de una tomografía óptica de coherencia que pudiese detectar edemas subclínicos.

En el momento del inicio del estudio, no estaba protocolizado en el servicio de oftalmología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid la utilización en el pre y postoperatorio de nepafenaco en los pacientes diabéticos <sup>226,227</sup>. A lo largo del desarrollo del proyecto se procedió a su protocolización, pero ninguno de los pacientes de este estudio recibió ese tratamiento.

Los resultados de este estudio no encontraron diferencias estadísticamente significativas en las determinaciones de la PIO entre ninguno de los grupos en la visita inicial, ni en las diferencias entre las visitas en ninguno de los grupos. El porcentaje de pacientes respondedores a corticoides en la población es de aproximadamente un 20% <sup>228</sup>.

La dexametasona es precisamente uno de los corticoides que tiene un mayor poder hipertensivo<sup>228</sup>. El número pequeño de pacientes por grupo, probablemente, ha condicionado los resultados. No obstante, no se observó ningún incremento superior a 10 mmHg en ninguno de los pacientes.

### 5.D.2. Parámetros funcionales indirectos del endotelio corneal

En el presente estudio, al comparar la paquimetría ultrasónica corneal central entre los pacientes diabéticos y los no diabéticos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. Después de la cirugía de la catarata, tanto al mes como a los tres y seis meses posteriores, el cambio de los espesores corneales inducido tras la cirugía era similar en los cuatro grupos.

Sin embargo, los valores de paquimetría determinados mediante el MENC mostraron diferencias entre los pacientes diabéticos y los no diabéticos en la visita inicial, siendo mayor en el grupo de pacientes diabéticos. EL resto de parámetros morfológicos de la MENC eran similares entre los dos grupos. La disparidad con las mediciones realizadas con la tecnología ultrasónica puede ser debida a la mayor dificultad en la repetición del lugar en el que se realiza la toma, siendo aparentemente más repetible con el MENC. Probablemente, sea una señal de la alteración funcional de la bomba endotelial, que no tiene reflejo en parámetros morfológicos.

Los cambios originados en la paquimetría por la cirugía también fueron mayores en el grupo de los pacientes diabéticos, fuesen tratados, o no, con dexametasona cuando se comparaban al mes con el grupo de pacientes no diabéticos que no recibieron dexametasona. Parece que simplemente el hecho de padecer diabetes induce una recuperación más lenta, pero temporal, de los espesores corneales. Esas diferencias desaparecieron en las vistas 2 y 3.

Los valores de la paquimetría corneal obtenida mediante MENC son habitualmente menores que los determinados mediante ultrasonidos <sup>73,229-231</sup>. Este dato puede que influya en los resultados, ya que la diferencia en el valor de la medición, puede hacer que un valor límite en el caso de la determinación mediante ultrasonidos, se convierta en estadísticamente significativo en la visita inicial.

La teoría osmótica de los polioles intenta explicar porque el espesor corneal central es mayor en pacientes diabéticos que en no diabéticos <sup>232</sup>. La alteración de la vía de la aldosa reductasa en la diabetes provoca la acumulación de polioles en el estroma, que actúa como agente osmótico. Esto, unido a la disminución de la actividad de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, podría explicar la disfunción del endotelio corneal y la consecuente existencia de un mayor espesor corneal en los pacientes diabéticos <sup>77,170</sup>.

Los datos presentes en la literatura confirman en la mayor parte de los casos que la paquimetría corneal es mayor en los pacientes diabéticos <sup>18,72,180,233-239</sup>, siendo pocos los estudios que no encuentran diferencias <sup>176,182</sup>

El incremento del espesor corneal parece ser independiente del grado de retinopatía presente en los pacientes tanto con diabetes mellitus tipo 1 <sup>233</sup> como de tipo 2 <sup>236,239</sup>. Sin embargo, la duración de la enfermedad si que parece estar relacionada con el aumento de la paquimetría <sup>234,235</sup>.

El incremento en el espesor de la córnea de los pacientes diabéticos también va acompañada de cambios en la biomecánica corneal, haciéndolas, en general, más rígidas respecto a los pacientes no diabéticos <sup>240-242</sup>, siendo estos cambios especialmente notables en los casos en los que existe un peor control metabólico <sup>71</sup>.

Igualmente a lo recogido en este estudio, se ha comprobado que el tiempo de recuperación de los espesores corneales tras la cirugía de la catarata de los pacientes diabéticos es mayor <sup>243</sup>, pero suele volver a los valores preoperatorios <sup>177,244</sup>.

Aunque no existieron cambios estadísticamente significativos entre los pacientes que fueron pre-tratados con dexametasona frente a los no tratados, hay que recordar que este fármaco tiene la capacidad de mejorar la función de la bomba endotelial mediante el incremento de la síntesis de subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  de la bomba <sup>170</sup>. Esta característica podría ser un arma en pacientes en los que la reserva funcional esté más limitada. Hay que recordar que los pacientes de este estudio tienen todos una población endotelial normal y una amplia reserva funcional.

### 5.D.3. Parametros morfológicos y métricos del endotelio corneal

En el presente estudio, no se encontraron diferencias morfológicas ni métricas del endotelio corneal entre pacientes



diabéticos y no diabéticos antes de someterlos a la cirugía de catarata, aunque es cierto que todos los pacientes son diabéticos de tipo 2 sin retinopatía, es decir, con una enfermedad en estadios iniciales. Estos datos concuerdan con ciertos estudios en los que se evidenciaron los mismo hallazgos<sup>56,245</sup>.

Los pacientes diabéticos pueden presentar una disminución del conteo endotelial, del PH y del CV, estando este último relacionado con la duración de la enfermedad al igual que ocurre con la paquimetría<sup>235</sup>, o bien, con un mal control metabólico<sup>56</sup> o a la presencia de retinopatía<sup>76</sup>.

Sin embargo, otros autores hablan de datos similares entre ambas poblaciones<sup>18,182</sup>, aunque tanto el PH como el CV suelen empeorar con la evolución de la enfermedad<sup>155</sup>.

Si que se observó una menor DCE tanto en pacientes diabéticos como en no diabéticos después de someterles a cirugía de facoemulsificación, hecho completamente esperable debido al empleo de la energía ultrasónica para la extracción del cristalino<sup>3,5</sup>. Sin embargo, las diferencias entre pacientes diabéticos y no diabéticos en cuanto a la disminución de la DCE, el CV y el PH no fueron estadísticamente significativas, ni en tiempos precoces, ni a los seis meses de la cirugía.

No obstante, la pérdida endotelial en la cirugía de la catarata en los pacientes diabéticos suele ser mayor que en los que no la tienen. En este grupo de pacientes se dan una serie de factores que pueden condicionar esa mayor pérdida, como el partir de un endotelio que está presente en una córnea diabética. Las características previamente mencionadas, los conteos más bajos, incrementos en el CV, alteraciones de los nervios o disminuciones de la actividad de la bomba endotelial, las convierten en córneas más susceptibles<sup>19</sup>. Además de estas condiciones basales, la cirugía en los pacientes diabéticos puede llevar más tiempo por una serie de limitaciones como la mala dilatación pupilar, lo que condiciona un peor campo de visualización quirúrgica, más energía empleada, y un mayor empleo de fluido<sup>246-248</sup>. El porcentaje de pérdida endotelial en los diabéticos oscila entre un 6-15%<sup>19,177,249</sup>, datos que en este estudio son un poco mayores, pero en el que hay un factor que puede justificar esa mayor pérdida. En la recolección del HA, en el momento inicial de cada cirugía, se tomaba el máximo de muestra posible para disponer de una cantidad suficiente para las determinaciones de la CTA y del xMAP Luminex, lo que en la mayor parte de los casos acababa colapsando la CA.

Probablemente, se ha inducido una mayor pérdida endotelial con esa maniobra que, afortunadamente, no ha comprometido su función. De todos los pacientes que siguen acudiendo a la consulta ninguno ha presentado problemas endoteliales. Debido a estos datos, se inició un estudio de la pérdida endotelial en pacientes del hospital para comprobar los porcentajes de pérdida endotelial, y se han hallado datos similares a la bibliografía mencionada, lo que apoya la hipótesis del colapso.

Los valores de las pérdidas de células endoteliales al comparar los pacientes con o sin diabetes según hayan recibido, o no, dexametasona en el preoperatorio son interesantes a pesar de no ser estadísticamente significativos. La reducción de la pérdida de células endoteliales lograda por la dexametasona, en el momento que las energías empleadas en la cirugía se igualaron, es mencionable. La dexametasona consigue una reducción del 5,71% de la pérdida endotelial en el grupo de pacientes sin diabetes y del 3,94% entre los diabéticos. La reserva endotelial en estos pacientes es tan grande, que clínicamente no tiene una consecuencia directa en la funcionalidad endotelial, y estadísticamente, tampoco es significativa. Sin embargo, sería interesante comprobar que ocurre con pacientes en los que la enfermedad está más avanzada y el componente inflamatorio tiene una mayor importancia.

Al comparar los grupos en los que se utilizó la dexametasona según la presencia de diabetes, los cambios en los porcentajes de pérdidas fueron despreciables.

Al comparar el CV y el PH en los cuatro grupos de estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos antes de la cirugía de la catarata. Igualmente, cuando comparamos las diferencias en estos índices entre las visitas postoperatorias (V-1, V-2 y V-3), tampoco se encontraron apenas diferencias estadísticamente significativas.

La influencia de la diabetes y de la dexametasona en la supervivencia endotelial es mucho menor que la energía, tal y como se comprobó en el estudio multivariante. La elección de la DCE central para comprobar la influencia de la energía, la diabetes y la dexametasona fue debido a que es el parámetro más comúnmente vigilado después de la cirugía.

#### 5.D.4. Determinación de citoquinas y factores de crecimiento

De las 27 citocinas analizadas mediante el kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay se eliminaron para el análisis estadístico las que se detectaron en menos del 50% de las muestras por estar fuera de rango mínimo de detección. Las moléculas que fueron analizadas fueron IL-1ra, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF basic, GM-CSF, IP-10, MCP-1(MCAF), MIP-1 $\beta$ , RANTES y VEGF. No obstante, la mayor parte de ellas, tal y como se ve en los resultados, tienen detecciones por encima del rango mínimo en más del 80% de los casos. Entre ellas destacan la IL-6, la IL-12, el GM-CSF, el IP-10, el MCP-1, el MIP-1 $\beta$  y el VEGF que fueron detectadas por encima de los valores mínimos en la totalidad de las muestras.

Las moléculas no analizadas fueron la IL-1 $\beta$ , la IL-4, la IL-5, la eotaxina, el G-CSF, el IFN $\gamma$ , el MIP-1 $\alpha$ , el PDGFbb y el TNF $\alpha$ . De entre ellas, el TNF $\alpha$ , el IFN $\gamma$ , el G-CSF y el MIP-1 $\alpha$ , tampoco han sido posible detectarlas en HA en varios estudios previos<sup>94,101,250,251</sup>. Sin embargo, tanto el TNF $\alpha$ ,<sup>252</sup> o el IFN $\gamma$ , o la IL-1 $\beta$  han sido detectados en acuosos de pacientes con enfermedades con importante componentes inflamatorios como rechazos de queratoplastia<sup>252</sup> y las uveítis<sup>253-256</sup>, en donde, probablemente, juegan un papel importante en su fisiopatología.

Es curioso también que la IL-17 no haya sido detectada en unos valores suficientemente buenos como para su análisis en varios estudios<sup>101,102,250,251,257</sup>, y en cambio, se haya podido detectar en más del 95% de las muestras de este trabajo.

La experiencia en la determinación de analitos inflamatorios es mucho mayor en las enfermedades intraoculares, o de superficie ocular, que las realizadas en pacientes diabéticos. Son pocos los trabajos que recogen datos de citocinas determinadas mediante xMAP Luminex en HA. Los pacientes diabéticos sin retinopatía, como los de este estudio, no suelen presentar cambios en el perfil de citocinas del HA<sup>258</sup>. Los casos en los que comienza una retinopatía no proliferante leve, ya evidencian ciertos cambios en concentraciones en HA de moléculas como el TGFb1, TGFb2 y PLGF<sup>259</sup>. Conforme la retinopatía evoluciona, los cambios en las concentraciones incrementan en moléculas como la IL-1 $\beta$ , la IL-2, la IL-4, la IL-5, la IL-6, la IL-10, el IFN $\gamma$ , el TNF $\alpha$  y el VEGF. Estos aumentos en la concentración se hacen más marcados en analitos como la IL-2, la

IL-5 y el VEGF en el momento en el que está presente una retinopatía proliferante<sup>258</sup>.

La presencia del edema macular en el paciente diabético también cursa con concentraciones distintas de las moléculas proinflamatorias en el momento que los comparamos con sujetos sanos, y se han detectado valores más elevados en el EGF, el HGF, el ICAM-1, la IL-3, la IL-6, la IL-8P, el IP10, el MCP-1, el MIG, la MMP-9, la PAI1, el PIGF, el TGF- $\beta$ , el VCAM, y el VEGF <sup>100</sup>. Estos datos coinciden con los previamente publicados en los que tanto la IL-6 como el VEGF, demostraban su importancia en la patogénesis del edema macular del diabético <sup>260</sup>.

Los pacientes diabéticos tipo 2 tienen concentraciones más elevadas, que los sujetos sanos, en HA de una serie de moléculas proinflamatorias como la IL-1 $\beta$ , la IL-6, IL-8, MCP-1, IP-10 y el VEGF <sup>101,102</sup>. Sin embargo, las concentraciones de la IL-10 y la IL-12 en los sujetos diabéticos son menores. Las concentraciones de la IL-1 $\beta$ , la IL-6, IL-8, MCP-1 y IP-10 aumentaban y las de IL-10 y las de IL-12 disminuían al aumentar la severidad de la retinopatía diabética <sup>101</sup> y el edema macular <sup>102</sup>.

De manera un poco contradictoria a lo anteriormente mencionado, la IL-12 se comprobó que podía ser una de las citocinas que influyen en la aparición de un edema macular en los pacientes diabéticos después de la cirugía de la catarata. Esta citocina podría ser aparentemente disminuida con el tratamiento preoperatorio con diclofenaco y con ello disminuir el edema macular postoperatorio <sup>261</sup>. Sin embargo, estos cambios no fueron evidenciados con el tratamiento con dexametasona. El efecto puede ser específico del diclofenaco, o bien que la dosis de la dexametasona no fuese suficiente, ya que el tratamiento en el mencionado estudio fue durante siete días.

No solamente la IL-12, si no también otras, han sido empleadas como predictores de la aparición del edema macular tras la cirugía de la catarata, tanto en pacientes con o sin DM. Los valores elevados de IL-1 $\beta$ , la IL-6, el MCP-1 y el VEGF, y disminuidos de IL-10 en los pacientes sin DM están correlacionados con una mayor incidencia de edema macular y con un mayor espesor central<sup>250</sup>. De la misma manera ocurre en los pacientes diabéticos, en donde las moléculas afectadas son muy similares, siendo en este caso el aumento de IL-1 $\beta$ , la IL-6, IL-8, el IP-10, el MCP-1 y el VEGF y el descenso de la IL-10 y de la IL-12, los que están relacionados con la incidencia y espesor del edema macular<sup>251</sup>.

En el proceso de envejecimiento o senescencia de los tejidos, las células pueden propagar el inicio de ese proceso a las vecinas mediante una serie de mediadores conocidos como SASP (*senescence-associated secretory phenotype*). Dentro de estos mediadores existen moléculas proinflamatorias como la IL-6, la IL-8 y el MCP-1 que han demostrado su efecto en cultivos celulares endoteliales corneales <sup>262</sup>. La regulación de los fenómenos de senescencia a través de los mediadores inflamatorios, como los anteriormente mencionados, puede ser un camino prometedor para las enfermedades degenerativas<sup>263</sup>.

El efecto proapoptótico de las citocinas proinflamatorias en el endotelio corneal ya ha sido demostrado en modelos experimentales. El incremento de mediadores como la IL-1 $\beta$ , el TNF $\alpha$ , el TGF $\beta$  y el IFN $\gamma$  tras la aplicación de laser argón para la realización de un iridotomía, condiciona una mayor apoptosis de células endoteliales corneales en el ratón. Sin embargo, el tratamiento previo con dexametasona inhibía el incremento de citocinas proinflamatorias y disminuía la apoptosis<sup>264</sup>.

Ese mismo efecto de incremento de citoquinas proinflamatorias también ocurre ante procesos mínimamente invasivos como es la realización de los primeros pasos de la cirugía de la catarata con láser de femtosegundo. En estos pacientes se detectaron niveles más elevados de citoquinas como el FGF-2, el TNF $\alpha$ , el IL-1ra o la IL-18 y descendidos de otras como la IL-9, el PDGF-BB, la eotaxina o el TNF $\beta$ /LTA<sup>103</sup>.

Las citocinas no se comparten de manera similar en todas capas de la cornea. Por ejemplo, la IL-1 puede tener un efecto proapoptótico en el estroma corneal tras ser secretada por el epitelio, a diferencia del endotelio en donde tiene un efecto estimulador de la migración tanto indirecta como directamente<sup>265</sup>. Esa migración y extensión endotelial, tan importante en los procesos de reparación, está estimulada también por una serie de factores de crecimiento como el EGF, el FGF-2, el PDGF-BB, el TGF $\beta$ 2 y el VEGF<sup>265</sup>.

El incremento de citocinas proinflamatoria puede estar también condicionado por otra serie de factores como el tamaño de la incisión. La facoemulsificación a través de microincisión de 2,2 mm parece inducir un mayor incremento de moléculas como la IL-1 $\beta$ , IL-6, el VEGF y el PGE2 que la cirugía por pequeña incisión de 2,75 mm <sup>266</sup>. Ese incremento de mediadores inflamatorios también condiciona un incremento del espesor

macular tras la cirugía, pero sin embargo, no parece afectar al contaje y la función endotelial. La reserva endotelial suele ser suficiente y no reflejar de una manera funcional estos cambios. El OCT si que puede evidenciar cambios mínimos en la mácula, que al igual que ocurre con el endotelio, no se manifiestan en la función y no se evidencian diferencias en la AV. El desarrollo de tecnología que pueda evidenciar mínimos cambios endoteliales podrá, quizás, en un futuro resolver estas dudas.

El endotelio corneal podría modular, además, parte del privilegio inmune corneal. En modelos experimentales de cultivos celulares endoteliales, se ha comprobado la capacidad de su efecto inhibitorio sobre la población de linfocitos TH17 mediada a través de la IL-17<sup>267</sup>. Este mecanismo de acción, abre nuevas posibilidades terapéuticas y confirma la importancia de la cascada inflamatoria en todo el proceso de supervivencia endotelial.

La detección de los niveles de las citocinas en HA se realiza normalmente en el momento que se inicia la cirugía, por lo que normalmente, las diferencias de las concentraciones de las mismas se hacen sobre distintas poblaciones con una característica preoperatoria. Logicamente, al finalizar la cirugía, con la inflamación desencadenada y la ruptura de la BHA, la concentración de citocinas inflamatorias será mucho mayor, y seguro que moléculas, como el TNF $\alpha$  o la IL-1, que apenas son detectadas en muchos estudios en HA, multiplican sus valores. Son precisamente estas moléculas las que han demostrado en el laboratorio que incrementan de manera muy notable la expresión en células endoteliales corneales de muchas IL y quimiocinas, entre las que destacan el MCP-1, la IL-6 y la IL-8<sup>268</sup>. Ese incremento en la expresión puede iniciar procesos que desencadenen apoptosis de dichas células.

Las concentraciones de los mediadores proinflamatorios están intimamente ligados a la capacidad antioxidante del HA. En pacientes diabéticos con retinopatía, la capacidad antioxidante del HA es mayor que la de los pacientes sin retinopatía o sin diabetes. Este incremento está correlacionado con un aumento en los pacientes con retinopatía de citocinas como el VEGF o la IL-6<sup>269</sup>. Esa capacidad de compensación es probable que se pierda en estadios más evolucionados de la enfermedad como se comentará en el siguiente apartado.

En los resultados obtenidos en este estudio llaman especialmente la atención los resultados de varias citocinas: la IL-15, la IL-17, el GM-CSF/CSF2 y el MIP-1 $\beta$ .

La IL-15, la IL-17 y el GM-CSF/CSF2 presentaban valores más altos en HA en pacientes no diabéticos independientemente de que se les aplicase o no dexametasona en el preoperatorio. Estas 3 citocinas se han descrito recientemente como citocinas con cierta capacidad antiinflamatoria ya que pueden regular negativamente otras citocinas de componente claramente inflamatorio como el  $\text{TNF}\alpha$  <sup>270-272</sup>. Sin duda, es una vía muy atractiva de investigación en búsqueda de una mejor supervivencia endotelial.

Sin embargo, el MIP-1 $\beta$  sufrió cambios en sus concentraciones tanto en pacientes diabéticos como no, por la aplicación de dexametasona, lo que consiguió una reducción de sus concentraciones en ambos grupos. El MIP-1 $\beta$  es una potente quimiocina para eosinófilos, monocitos, células B y células dendríticas inmaduras, al igual que contribuye a la activación de los macrófagos. La reducción de sus valores por parte de la dexametasona puede ser uno de los mecanismos de acción de este fármaco al reducir la inflamación, cuando está presente, del polo anterior.

#### **5.D.5. Determinación de capacidad total antioxidante del humor acuoso**

En nuestro estudio al analizar la CTA del HA no encontramos diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las comparaciones entre cualquiera de los grupos estudiados.

El EO es consecuencia de un exceso de formación de ROS, o bien, una disminución en la capacidad de eliminación. El nivel adecuado de antioxidantes es esencial para mantener el equilibrio oxidativo.

Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que el EO está implicado en la patogénesis de las complicaciones de la diabetes. El incremento de los niveles de superóxido producen peroxidación lipídica y daño del DNA, que son consecuencia del daño inducido por las ROS. Ese EO que se origina por un mal control metabólico se mantiene en el tiempo a pesar de que los niveles de glucemia vuelvan a los valores normales. Este fenómeno, conocido como memoria metabólica, se debe al acúmulo de moléculas dañadas y a ROS, que no son fácilmente

eliminadas una vez que la cascada comienza, a pesar de que se restaure una normoglucemia<sup>273</sup>.

El poder antioxidante del HA está disminuido en el HA de los pacientes diabéticos con una retinopatía diabética proliferante. Sin embargo, la CTA del HA de los pacientes con retinopatía diabética no proliferante es similar a la de los sujetos normales<sup>274</sup>. Esos datos concuerdan con los resultados de este estudio. Es probable que la reserva funcional antioxidante en los estadios precoces de la enfermedad pueda mantener el EO controlado.

La capacidad antioxidante no solamente puede estar disminuida en los pacientes diabéticos, si no también en otras patologías como el glaucoma<sup>104,146</sup> o, simplemente, con el proceso de maduración de la catarata<sup>96,140</sup>.

### **5.D.6. Determinación de expresión de proteínas en cápsula anterior del cristalino**

La amplificación mediante PCR a tiempo real de los genes de la IL-2 y del CSF-2/GM-CSF, no fue posible en las células de la cápsula anterior del cristalino en ninguno de los grupos de estudio. Debido a la técnica con la que se realizó el estudio, esta falta de amplificación puede que sea un falso negativo. Las muestras fueron tomadas en la fase inicial de la cirugía y rápidamente trasladadas a RNAlater y congeladas a -80°C hasta su análisis. Existen estudios que evidencian que los mRNA de ciertas interleucinas como la IL-8, puede que no se detecten en la cápsula anterior del cristalino inmediatamente después de la cirugía, pero si puedan ser detectadas tras cultivar dichas células en el laboratorio<sup>275</sup>. El comportamiento de la expresión de estas moléculas en el paciente puede que este condicionado a ciertas situaciones. Pudiera ser que tanto la IL-2 como el GM-CSF/CSF2 tuviesen un comportamiento similar, aunque es cierto que se ha comprobado que otras interleucinas, como la IL-4, no se expresan en las células de la cápsula anterior del cristalino ni siquiera cultivándolas en el laboratorio<sup>275</sup>.

La regulación, por parte de la dexametasona, de los niveles de IL-2 y especialmente como se ha mencionado, del CSF-2/GM-CSF presentes en el HA, puede que sean factibles en otras localizaciones del segmento anterior del ojo y no en las células de la cápsula anterior del cristalino. Estos datos obligan a la



prudencia a la hora de pretender extrapolar sus efectos sobre otras estirpes celulares presentes en el segmento anterior.

El resto de las moléculas estudiadas si que se expresaron en la cápsula anterior del cristalino. Al comparar los cuatro grupos de estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las cuatro analizadas. Por lo tanto, ni los corticoides, ni la diabetes, modificaron la expresión génica de las proteínas analizadas. No obstante, no se puede concluir que la expresión de las proteínas presentes en el HA se vean reguladas de igual manera en su origen a como lo hacen en la cápsula anterior del cristalino, siendo esta una de las principales limitaciones del estudio.

Los dos antioxidantes estudiados tienen una serie de características que pueden justificar que no existan diferencias entre los grupos. La CAT es una enzima tan efectiva, que no suele ser saturada por el  $H_2O_2$  por muy elevada que sea su concentración<sup>143</sup>, con lo que la disminución de su expresión todavía permitiría tener un margen de acción suficientemente amplio antes de desencadenar los fenómenos asociados al incremento del EO. Esta puede ser una razón de no haber encontrado cambios en esta molécula.

La regulación mediante un incremento de la expresión de la SOD2 responde a una respuesta adaptativa celular por el incremento de ROS. Este aumento puede estar inducido por mediadores del EO, incluyendo radiación UV, TNF o IL-1<sup>276</sup>. Sin embargo, el hecho de que la CTA no muestre diferencias entre los grupos, y que los pacientes probablemente tengan una reserva antioxidante suficiente, ha hecho que no se puedan evidenciar diferencias entre los grupos. Será interesante comprobar que ocurriría en casos en los que existiese una retinopatía diabética proliferante en donde la presencia de ROS es mayor.

Otro factor que es importante considerar es la posible influencia de la dexametasona sobre los genes de referencia. En cultivos de miotubulos se ha comprobado que la dexametasona puede incrementar la expresión de genes de referencia como la GAPDH, o disminuir la expresión de la ACTB <sup>277</sup>. Ambos fueron utilizados en este estudio, aunque se eligió la GAPDH por tener un mejor comportamiento.

La regulación farmacológica de los genes de referencia en células de la cápsula anterior del cristalino también ha sido descrita. El suplemento con antioxidantes via oral incrementa la expresión de la GAPDH, mientras que mantiene sin modificaciones

a la ACTB <sup>278</sup>. Aún a pesar de que este estudio si que se realizó sobre la misma estirpe celular que la de esta tesis, el comportamiento de la GAPDH fue aparentemente el mismo que con la dexametasona, pero no ocurrió así con la ACTB.

Aunque se sabe que la aplicación de dexametasona tópica tiene efectos beneficiosos sobre el endotelio corneal en determinadas patologías <sup>279</sup>, no se pueden extrapolar los datos obtenidos en este estudio con células de la cápsula anterior del cristalino a las CEC.

### 5.E. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La principal limitación de este trabajo es la imposibilidad de obtener datos reales del endotelio corneal.

Las imágenes obtenidas mediante el MENC nos permite una descripción de la morfología del endotelio corneal. Sin embargo, no se pueden extrapolar de una manera exacta a la función celular.

La manera indirecta más empleada para comprobar el normal funcionamiento de la capa más interna de la córnea es la paquimetría. No obstante, la reserva funcional es tan amplia, que el daño ha de ser muy severo para que se manifieste de manera permanente en un incremento del espesor corneal.

Existe una serie de estudios que sugieren que la secreción de determinadas citocinas, tales como IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  siguen un patrón circadiano <sup>280</sup>. Estos datos se confirman en trabajos en lágrima de sujetos sanos, en donde se comprobaron esas variaciones durante el día en la concentración de distintas citocinas en lágrima, especialmente para IL-10 e IL-1 $\beta$ , y la secreción de EGF, fractalquina, IP-10 y VEGF, que fue más alta por la tarde que por la mañana. Por el contrario, existió una buena reproducibilidad inter-sujeto para el caso de EGF, IP-10, IL-8 y VEGF <sup>281</sup>. Las muestras de este estudio fueron recogidas sin tener en cuenta la hora del día de la toma de muestra, tanto por la mañana como por la tarde, por lo que estas variaciones podrían estar jugando un papel en nuestros resultados.

Adicionalmente, todas las muestras de este estudio, debido a su diseño, fueron inmediatamente almacenadas a -80°C tras su obtención. Sin embargo, debido a que la recogida de muestras se realizó durante tres años, los tiempos de conservación fueron muy distintos. Después de 4 años, algunas moléculas, incluso almacenadas a -80°C, sufren un proceso de

degradación de alrededor del 75% con respecto a los valores basales, especialmente relevante para IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-15 e IL-8 <sup>282</sup>. Este factor no pudo ser omitido, y pudo influir en las determinaciones efectuadas.

La única posibilidad de tomar una muestra celular de la cámara anterior, sin ocasionar daño, es la cápsula anterior del cristalino. El comportamiento frente a la exposición a la dexametasona de esta extirpe celular no tiene porque ser la misma que la del endotelio corneal, por lo que no se puede asumir que los resultados serían los mismos.

Finalmente, mencionar que la creación de cuatro grupos disminuye notablemente la potencia del estudio. En varios de los análisis estadísticos, se han tenido que realizar pruebas no paramétricas, con las limitaciones que ello supone para las conclusiones. No obstante, la optimización ha sido máxima, ya que las determinaciones del Luminex se realizan con 96 pocillos, de los cuales 16 se suelen utilizar para los controles internos de la prueba, con lo que quedan los 80 que han sido empleados. El estudio fue diseñado teniendo consciencia de esta limitación debido al alto precio de esta prueba de biología molecular.

## 5.F. FUTUROS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Aunque los resultados de este trabajo no muestren el posible beneficio de la dexametasona en el preoperatorio de la cirugía de la catarata del paciente diabético, es cierto que presenta algunos datos interesantes por los que merece la pena mantener la línea de investigación abierta.

El mayor componente inflamatorio en los pacientes diabéticos con estadios más avanzados de la enfermedad, apuntan a que este grupo de pacientes, quizás, podría verse beneficiado de algún tipo de pre-tratamiento.

Los datos de esta tesis doctoral ha permitido comprobar que el tratamiento preoperatorio con dexametasona en la cirugía de la catarata es seguro, lo que es un paso importante para poder continuar la investigación.





## *6. CONCLUSIONES*



## **6. CONCLUSIONES**

A la vista de los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral, se plantean las siguientes conclusiones:

1. No es necesario el tratamiento preoperatorio con dexametasona tópica en la cirugía de la catarata de los pacientes sin y con diabetes mellitus tipo 2 y sin retinopatía diabética, con el fin de mejorar la viabilidad endotelial.

2. La capacidad antioxidante total del humor acuoso, como resultante de múltiples mecanismos para compensar los radicales libres de la cámara anterior, no precisa de la dexametasona tópica para incrementar su actividad en pacientes sin y con diabetes mellitus tipo 2 y sin retinopatía diabética.

3. Los cambios registrados en diversas moléculas inflamatorias, inducidas por la dexametasona en colirio en el preoperatorio de la cirugía de la catarata de los pacientes sin y con diabetes mellitus tipo 2 y sin retinopatía diabética, abren nuevos campos de investigación y plantean posibles mecanismos patogénicos de la labilidad endotelial.

4. La dexametasona en colirio aplicada en pacientes sin y con diabetes mellitus tipo 2 y sin retinopatía diabética no parece un medio adecuado para modificar la expresión de los genes determinados en este estudio en la cápsula anterior del cristalino.







## *7. BIBLIOGRAFÍA*



## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Klein BE, Klein R, Lee KE. Diabetes, cardiovascular disease, selected cardiovascular disease risk factors, and the 5-year incidence of age-related cataract and progression of lens opacities: the Beaver Dam Eye Study. *American journal of ophthalmology*. Dec 1998;126(6):782-790.
2. Shah AS, Chen SH. Cataract surgery and diabetes. *Current opinion in ophthalmology*. Jan 2010;21(1):4-9.
3. Bozkurt E, Bayraktar S, Yazgan S, et al. Comparison of conventional and torsional mode (OZil) phacoemulsification: randomized prospective clinical study. *European journal of ophthalmology*. Nov-Dec 2009;19(6):984-989.
4. Shin YJ, Nishi Y, Engler C, et al. The effect of phacoemulsification energy on the redox state of cultured human corneal endothelial cells. *Archives of ophthalmology*. Apr 2009;127(4):435-441.
5. Vasavada AR, Raj SM, Patel U, Vasavada V, Vasavada V. Comparison of torsional and microburst longitudinal phacoemulsification: a prospective, randomized, masked clinical trial. *Ophthalmic surgery, lasers & imaging : the official journal of the International Society for Imaging in the Eye*. Jan-Feb 2010;41(1):109-114.
6. George R, Rupauliha P, Sripriya AV, Rajesh PS, Vahan PV, Praveen S. Comparison of endothelial cell loss and surgically induced astigmatism following conventional extracapsular cataract surgery, manual small-incision surgery and phacoemulsification. *Ophthalmic epidemiology*. Oct 2005;12(5):293-297.
7. Bourne RR, Minassian DC, Dart JK, Rosen P, Kaushal S, Wingate N. Effect of cataract surgery on the corneal endothelium: modern phacoemulsification compared with extracapsular cataract surgery. *Ophthalmology*. Apr 2004;111(4):679-685.
8. Reuschel A, Bogatsch H, Barth T, Wiedemann R. Comparison of endothelial changes and power settings between torsional and longitudinal phacoemulsification. *Journal of cataract and refractive surgery*. Nov 2010;36(11):1855-1861.
9. Kim DH, Wee WR, Lee JH, Kim MK. The comparison between torsional and conventional mode phacoemulsification in moderate and hard cataracts. *Korean journal of ophthalmology : KJO*. Dec 2010;24(6):336-340.
10. Liu Y, Zeng M, Liu X, et al. Torsional mode versus conventional ultrasound mode phacoemulsification: randomized comparative clinical study. *Journal of cataract and refractive surgery*. Feb 2007;33(2):287-292.
11. Linebarger EJ, Hardten DR, Shah GK, Lindstrom RL. Phacoemulsification and modern cataract surgery. *Survey of ophthalmology*. Sep-Oct 1999;44(2):123-147.
12. Kim YW, Kim MK, Wee WR. Long-term evaluation of endothelial cell changes in Fuchs corneal dystrophy: the influence of phacoemulsification and penetrating keratoplasty. *Korean journal of ophthalmology : KJO*. Dec 2013;27(6):409-415.
13. Takahashi H. Corneal Endothelium and Phacoemulsification. *Cornea*. Nov 2016;35 Suppl 1:S3-S7.
14. Suzuki H, Igarashi T, Shiwa T, Takahashi H. Efficacy of Ophthalmic Viscosurgical Devices in Preventing Temperature Rise at the Corneal Endothelium during Phacoemulsification. *Current eye research*. Dec 2016;41(12):1548-1552.
15. Holst A, Rolfsen W, Svensson B, Ollinger K, Lundgren B. Formation of free radicals during phacoemulsification. *Current eye research*. Apr 1993;12(4):359-365.
16. Augustin AJ, Dick HB. Oxidative tissue damage after phacoemulsification: influence of ophthalmic viscosurgical devices. *Journal of cataract and refractive surgery*. Feb 2004;30(2):424-427.

17. Alpar JJ. Endothelial cell loss in different non-automated extracapsular nuclear evacuation techniques and the role of sodium hyaluronate. *Ophthalmic surgery*. Nov 1986;17(11):719-723.
18. Schultz RO, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF, Schultz KJ. Corneal endothelial changes in type I and type II diabetes mellitus. *American journal of ophthalmology*. Oct 15 1984;98(4):401-410.
19. He X, Diakonis VF, Alavi Y, Yesilirmak N, Waren D, Donaldson K. Endothelial Cell Loss in Diabetic and Nondiabetic Eyes After Cataract Surgery. *Cornea*. Aug 2017;36(8):948-951.
20. Zoric L. [Parameters of oxidative stress in the lens, aqueous humor and blood in patients with diabetes and senile cataracts]. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*. Mar-Apr 2003;131(3-4):137-142.
21. Ljubimov AV. Diabetic complications in the cornea. *Vision Res*. Apr 28 2017.
22. IR MP, G PV, T BL, et al. Effects of intracameral ascorbic acid on the corneal endothelium of dogs undergoing phacoemulsification. *Veterinary ophthalmology*. Jul 17 2017.
23. Spector A. Review: Oxidative stress and disease. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*. Apr 2000;16(2):193-201.
24. Chen QM, Alexander D, Sun H, et al. Corticosteroids inhibit cell death induced by doxorubicin in cardiomyocytes: induction of antiapoptosis, antioxidant, and detoxification genes. *Molecular pharmacology*. Jun 2005;67(6):1861-1873.
25. Green K. Free radicals and aging of anterior segment tissues of the eye: a hypothesis. *Ophthalmic research*. 1995;27 Suppl 1:143-149.
26. Chen WL, Lin CT, Yao CC, et al. In-vitro effects of dexamethasone on cellular proliferation, apoptosis, and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity of bovine corneal endothelial cells. *Ocular immunology and inflammation*. Aug 2006;14(4):215-223.
27. Beuerman RW, Pedroza L. Ultrastructure of the human cornea. *Microscopy research and technique*. Mar 1 1996;33(4):320-335.
28. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea*. 3rd ed ed. St. Louis, Mo ; London: Elsevier Mosby; 2011.
29. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Progress in molecular biology and translational science*. 2015;134:7-23.
30. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology*. Sep 2013;120(9):1778-1785.
31. Dua HS, Faraj LA, Branch MJ, et al. The collagen matrix of the human trabecular meshwork is an extension of the novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *The British journal of ophthalmology*. May 2014;98(5):691-697.
32. Rozsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain*. Oct 1982;14(2):105-120.
33. Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Experimental eye research*. May 2003;76(5):521-542.
34. Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE. *Histology of the human eye : an atlas and textbook*. Philadelphia, Pa: W.B. Saunders; 1971.
35. Sack RA, Nunes I, Beaton A, Morris C. Host-defense mechanism of the ocular surfaces. *Bioscience reports*. Aug 2001;21(4):463-480.

36. Thoft RA, Friend J, Kenyon KR. Ocular surface response to trauma. *International ophthalmology clinics*. Summer 1979;19(2):111-131.
37. American Academy of Ophthalmology, Sociedad Española de Oftalmología. *Curso de ciencias básicas y clínicas. Sección 2, Fundamentos y principios de oftalmología, 2007-2008*. Ult. rev. gen. 2005-2006 ed. Madrid etc: Elsevier; 2008.
38. Muller LJ, Pels E, Vrensen GF. The specific architecture of the anterior stroma accounts for maintenance of corneal curvature. *The British journal of ophthalmology*. Apr 2001;85(4):437-443.
39. Hassell JR, Birk DE. The molecular basis of corneal transparency. *Experimental eye research*. Sep 2010;91(3):326-335.
40. Bonanno JA. Molecular mechanisms underlying the corneal endothelial pump. *Experimental eye research*. Feb 2012;95(1):2-7.
41. Maurice DM: The cornea and sclera. In: Davson H, ed. *The Eye*. Orlando: Academic Press; 1984.
42. Bron AJ. The architecture of the corneal stroma. *The British journal of ophthalmology*. Apr 2001;85(4):379-381.
43. Johnson DH, Bourne WM, Campbell RJ. The ultrastructure of Descemet's membrane. I. Changes with age in normal corneas. *Archives of ophthalmology*. Dec 1982;100(12):1942-1947.
44. Tuft SJ, Coster DJ. The corneal endothelium. *Eye*. 1990;4 ( Pt 3):389-424.
45. Joyce NC. Proliferative capacity of the corneal endothelium. *Progress in retinal and eye research*. May 2003;22(3):359-389.
46. Joyce NC. Proliferative capacity of corneal endothelial cells. *Experimental eye research*. Feb 2012;95(1):16-23.
47. Mimura T, Yamagami S, Amano S. Corneal endothelial regeneration and tissue engineering. *Progress in retinal and eye research*. Jul 2013;35:1-17.
48. McCarey BE, Edelhauser HF, Lynn MJ. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices, and new intraocular drugs and solutions. *Cornea*. Jan 2008;27(1):1-16.
49. Stefansson A, Muller O, Sundmacher R. Non-contact specular microscopy of the normal corneal endothelium. A statistical evaluation of morphometric parameters. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. 1982;218(4):200-205.
50. Doughty MJ. Toward a quantitative analysis of corneal endothelial cell morphology: a review of techniques and their application. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry*. Sep 1989;66(9):626-642.
51. Garza-Leon M. Corneal endothelial cell analysis using two non-contact specular microscopes in healthy subjects. *International ophthalmology*. Aug 2016;36(4):453-461.
52. Sheng H, Bullimore MA. Factors affecting corneal endothelial morphology. *Cornea*. Jun 2007;26(5):520-525.
53. Fischbarg J, Maurice DM. An update on corneal hydration control. *Experimental eye research*. Mar 2004;78(3):537-541.
54. Bonanno JA. Identity and regulation of ion transport mechanisms in the corneal endothelium. *Progress in retinal and eye research*. Jan 2003;22(1):69-94.
55. Laule A, Cable MK, Hoffman CE, Hanna C. Endothelial cell population changes of human cornea during life. *Archives of ophthalmology*. Nov 1978;96(11):2031-2035.
56. El-Agamy A, Alsubaie S. Corneal endothelium and central corneal thickness changes in type 2 diabetes mellitus. *Clinical ophthalmology*. 2017;11:481-486.

57. Calvo-Maroto AM, Cervino A, Perez-Cambrodi RJ, Garcia-Lazaro S, Sanchis-Gimeno JA. Quantitative corneal anatomy: evaluation of the effect of diabetes duration on the endothelial cell density and corneal thickness. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians*. May 2015;35(3):293-298.
58. Singh JS, Haroldson TA, Patel SP. Characteristics of the low density corneal endothelial monolayer. *Experimental eye research*. Oct 2013;115:239-245.
59. Ben Osman N, Jeddi A, Sebai L, et al. [The cornea of diabetics]. *J Fr Ophtalmol*. 1995;18(2):120-123.
60. Gekka M, Miyata K, Nagai Y, et al. Corneal epithelial barrier function in diabetic patients. *Cornea*. Jan 2004;23(1):35-37.
61. Inoue K, Kato S, Ohara C, Numaga J, Amano S, Oshika T. Ocular and systemic factors relevant to diabetic keratoepitheliopathy. *Cornea*. Nov 2001;20(8):798-801.
62. Quadrado MJ, Popper M, Morgado AM, Murta JN, Van Best JA. Diabetes and corneal cell densities in humans by in vivo confocal microscopy. *Cornea*. Aug 2006;25(7):761-768.
63. Saini JS, Khandalavla B. Corneal epithelial fragility in diabetes mellitus. *Can J Ophthalmol*. Apr 1995;30(3):142-146.
64. Nielsen NV. Corneal sensitivity and vibratory perception in diabetes mellitus. *Acta ophthalmologica*. Jun 1978;56(3):406-411.
65. Papanas N, Ziegler D. Corneal confocal microscopy: a new technique for early detection of diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep*. Aug 2013;13(4):488-499.
66. De Cilla S, Ranno S, Carini E, et al. Corneal subbasal nerves changes in patients with diabetic retinopathy: an in vivo confocal study. *Investigative ophthalmology & visual science*. Nov 2009;50(11):5155-5158.
67. Jiang MS, Yuan Y, Gu ZX, Zhuang SL. Corneal confocal microscopy for assessment of diabetic peripheral neuropathy: a meta-analysis. *The British journal of ophthalmology*. Jan 2016;100(1):9-14.
68. Rehany U, Ishii Y, Lahav M, Rumelt S. Ultrastructural changes in corneas of diabetic patients: an electron-microscopy study. *Cornea*. Jul 2000;19(4):534-538.
69. Sady C, Khosrof S, Nagaraj R. Advanced Maillard reaction and crosslinking of corneal collagen in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. Sep 25 1995;214(3):793-797.
70. Kotecha A, Oddone F, Sinapis C, et al. Corneal biomechanical characteristics in patients with diabetes mellitus. *Journal of cataract and refractive surgery*. Nov 2010;36(11):1822-1828.
71. Scheler A, Spoerl E, Boehm AG. Effect of diabetes mellitus on corneal biomechanics and measurement of intraocular pressure. *Acta Ophthalmol*. Sep 2012;90(6):e447-451.
72. Larsson LI, Bourne WM, Pach JM, Brubaker RF. Structure and function of the corneal endothelium in diabetes mellitus type I and type II. *Archives of ophthalmology*. Jan 1996;114(1):9-14.
73. Modis L, Jr., Langenbucher A, Seitz B. Corneal thickness measurements with contact and noncontact specular microscopic and ultrasonic pachymetry. *American journal of ophthalmology*. Oct 2001;132(4):517-521.
74. Modis L, Jr., Langenbucher A, Seitz B. Corneal endothelial cell density and pachymetry measured by contact and noncontact specular microscopy. *Journal of cataract and refractive surgery*. Oct 2002;28(10):1763-1769.

75. Modis L, Jr., Szalai E, Kertesz K, Kemeny-Beke A, Kettesy B, Berta A. Evaluation of the corneal endothelium in patients with diabetes mellitus type I and II. *Histology and histopathology*. Dec 2010;25(12):1531-1537.
76. Shenoy R, Khandekar R, Bialasiewicz A, Al Muniri A. Corneal endothelium in patients with diabetes mellitus: a historical cohort study. *European journal of ophthalmology*. May-Jun 2009;19(3):369-375.
77. Weston BC, Bourne WM, Polse KA, Hodge DO. Corneal hydration control in diabetes mellitus. *Investigative ophthalmology & visual science*. Mar 1995;36(3):586-595.
78. Yang R, Sha X, Zeng M, Tan Y, Zheng Y, Fan F. The influence of phacoemulsification on corneal endothelial cells at varying blood glucose levels. *Eye Sci*. Jun 2011;26(2):91-95.
79. Olsen T. Optical principles for estimation of endothelial cell density with the non-contact specular microscope. *Acta ophthalmologica*. Oct 1979;57(5):860-867.
80. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. Clinical specular microscopy. I. Optical principles. *Archives of ophthalmology*. Sep 1979;97(9):1714-1719.
81. Bourne WM, Enoch JM. Some optical principles of the clinical specular microscope. *Investigative ophthalmology*. Jan 1976;15(1):29-32.
82. Brooks AM, Grant G, Gillies WE. The use of specular microscopy to investigate unusual findings in the corneal endothelium and its adjacent structures. *Australian and New Zealand journal of ophthalmology*. Aug 1988;16(3):235-243.
83. Price MO, Fairchild KM, Price FW, Jr. Comparison of manual and automated endothelial cell density analysis in normal eyes and DSEK eyes. *Cornea*. May 2013;32(5):567-573.
84. Vecchi M, Braccio L, Orsoni JG. The Topcon SP 1000 and Image-NET systems. A comparison of four methods for evaluating corneal endothelial cell density. *Cornea*. May 1996;15(3):271-277.
85. Modis L, Jr., Szalai E, Nemeth G, Berta A. Evaluation of a recently developed noncontact specular microscope in comparison with conventional pachymetry devices. *European journal of ophthalmology*. Sep-Oct 2010;20(5):831-838.
86. De Bernardo M, Rosa N. Comparison of specular microscopy and ultrasound pachymetry before and after cataract surgery. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. Apr 2017;255(4):837-838.
87. Thuret G, Deb-Joardar N, Zhao M, Gain P, Gavet Y, Nguyen F. Agreement between two non-contact specular microscopes: Topcon SP2000P versus Rhine-Tec. *The British journal of ophthalmology*. Jul 2007;91(7):979-980.
88. Klais CM, Buhren J, Kohnen T. Comparison of endothelial cell count using confocal and contact specular microscopy. *Ophthalmologica. Journal internationale d'ophtalmologie. International journal of ophthalmology. Zeitschrift fur Augenheilkunde*. Mar-Apr 2003;217(2):99-103.
89. Goldich Y, Marcovich AL, Barkana Y, et al. Comparison of corneal endothelial cell density estimated with 2 noncontact specular microscopes. *European journal of ophthalmology*. Sep-Oct 2010;20(5):825-830.
90. Huang J, Maram J, Tepelus TC, Sadda SR, Chopra V, Lee OL. Comparison of Noncontact Specular and Confocal Microscopy for Evaluation of Corneal Endothelium. *Eye & contact lens*. Mar 24 2017.
91. Szalai E, Nemeth G, Berta A, Modis L, Jr. Evaluation of the corneal endothelium using noncontact and contact specular microscopy. *Cornea*. May 2011;30(5):567-570.

92. Kitzmann AS, Winter EJ, Nau CB, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Comparison of corneal endothelial cell images from a noncontact specular microscope and a scanning confocal microscope. *Cornea*. Nov 2005;24(8):980-984.
93. Isager P, Hjortdal JO, Guo S, Ehlers N. Comparison of endothelial cell density estimated by contact and non-contact specular microscopy. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. Feb 2000;78(1):42-44.
94. Sharma RK, Rogojina AT, Chalam KV. Multiplex immunoassay analysis of biomarkers in clinically accessible quantities of human aqueous humor. *Molecular vision*. 2009;15:60-69.
95. Garland DL. Ascorbic acid and the eye. *Am J Clin Nutr*. Dec 1991;54(6 Suppl):1198S-1202S.
96. Wang X, Sun J, Dang GF, Gao Y, Duan L, Wu XY. Antioxidant content and cytological examination of aqueous fluid from patients with age-related cataracts at different stages. *Genetics and molecular research : GMR*. Jun 11 2015;14(2):6251-6255.
97. Ladas JG, Wheeler NC, Morhun PJ, Rimmer SO, Holland GN. Laser flare-cell photometry: methodology and clinical applications. *Survey of ophthalmology*. Jan-Feb 2005;50(1):27-47.
98. Welge-Lussen U, May CA, Neubauer AS, Priglinger S. Role of tissue growth factors in aqueous humor homeostasis. *Current opinion in ophthalmology*. Apr 2001;12(2):94-99.
99. Gu R, Zhou M, Jiang C, Yu J, Xu G. Elevated concentration of cytokines in aqueous in post-vitrectomy eyes. *Clinical & experimental ophthalmology*. Mar 2016;44(2):128-134.
100. Jonas JB, Jonas RA, Neumaier M, Findeisen P. Cytokine concentration in aqueous humor of eyes with diabetic macular edema. *Retina*. Nov-Dec 2012;32(10):2150-2157.
101. Dong N, Xu B, Wang B, Chu L. Study of 27 aqueous humor cytokines in patients with type 2 diabetes with or without retinopathy. *Molecular vision*. 2013;19:1734-1746.
102. Dong N, Xu B, Chu L, Tang X. Study of 27 Aqueous Humor Cytokines in Type 2 Diabetic Patients with or without Macular Edema. *PloS one*. 2015;10(4):e0125329.
103. Chen H, Lin H, Zheng D, Liu Y, Chen W, Liu Y. Expression of Cytokines, Chemokines and Growth Factors in Patients Undergoing Cataract Surgery with Femtosecond Laser Pretreatment. *PloS one*. 2015;10(9):e0137227.
104. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. *American journal of ophthalmology*. Jan 2004;137(1):62-69.
105. Sawada H, Fukuchi T, Abe H. Oxidative stress markers in aqueous humor of patients with senile cataracts. *Current eye research*. Jan 2009;34(1):36-41.
106. Ooi KG, Galatowicz G, Calder VL, Lightman SL. Cytokines and chemokines in uveitis: is there a correlation with clinical phenotype? *Clinical medicine & research*. Dec 2006;4(4):294-309.
107. Hooshmand J, Vote BJ. Femtosecond laser-assisted cataract surgery, technology, outcome, future directions and modern applications. *Asia-Pacific journal of ophthalmology*. Jul-Aug 2017;6(4):393-400.
108. Sachdev MS. Learning curve in femtosecond laser-assisted cataract surgery. *Indian journal of ophthalmology*. Aug 2017;65(8):651-653.



109. Christy JS, Nath M, Mouttapa F, Venkatesh R. Learning curve of femtosecond laser-assisted cataract surgery: Experience of surgeons new to femtosecond laser platform. *Indian journal of ophthalmology*. Aug 2017;65(8):683-689.
110. Yanoff M, Duker JS. *Ophthalmology*. 3rd ed ed. S.l.: Mosby; 2009.
111. El-Moatassef Kotb AM, Gamil MM. Torsional mode phacoemulsification: effective, safe cataract surgery technique of the future. *Middle East African journal of ophthalmology*. Jan 2010;17(1):69-73.
112. Atas M, Demircan S, Karatepe Hashas AS, Gulhan A, Zararsiz G. Comparison of corneal endothelial changes following phacoemulsification with transversal and torsional phacoemulsification machines. *International journal of ophthalmology*. 2014;7(5):822-827.
113. Helvacioğlu F, Yeter C, Sencan S, Tunc Z, Uyar OM. Comparison of two different ultrasound methods of phacoemulsification. *American journal of ophthalmology*. Aug 2014;158(2):221-226 e221.
114. Maalej A, Khallouli A, Wathek C, Rannen R. Ozil(R) versus conventional ultrasound phacoemulsification: a randomized comparative study. *International ophthalmology*. Aug 2015;35(4):565-568.
115. Chen X, Ji Y, Lu Y. Comparison of clear corneal incision injuries between torsional and conventional phacoemulsification. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. Sep 2013;251(9):2147-2154.
116. Aust SD, Hebdon T, Humbert J, Dimalanta R. Hydroxyl free radical production during torsional phacoemulsification. *Journal of cataract and refractive surgery*. Dec 2010;36(12):2146-2149.
117. Gardner JM, Aust SD. Quantification of hydroxyl radical produced during phacoemulsification. *Journal of cataract and refractive surgery*. Dec 2009;35(12):2149-2153.
118. Taravati P, Lam DL, Leveque T, Van Gelder RN. Postcataract surgical inflammation. *Current opinion in ophthalmology*. Jan 2012;23(1):12-18.
119. Enriquez-de-Salamanca A, Calonge M. Cytokines and chemokines in immune-based ocular surface inflammation. *Expert review of clinical immunology*. Jul 2008;4(4):457-467.
120. Nussenblatt RB, Whitcup SM. *Uveitis : fundamentals and clinical practice*. 4th ed ed. Philadelphia, Pa.: Mosby; 2010.
121. Benoist d'Azy C, Pereira B, Chiambaretta F, Dutheil F. Oxidative and Anti-Oxidative Stress Markers in Chronic Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS one*. 2016;11(12):e0166915.
122. Curnow SJ, Murray PI. Inflammatory mediators of uveitis: cytokines and chemokines. *Current opinion in ophthalmology*. Dec 2006;17(6):532-537.
123. Tokarz A, Szuscik I, Kusnierz-Cabala B, et al. Extracellular vesicles participate in the transport of cytokines and angiogenic factors in diabetic patients with ocular complications. *Folia medica Cracoviensia*. 2015;55(4):35-48.
124. Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *European journal of immunology*. Nov 2007;37 Suppl 1:S34-45.
125. Leonardi A, Fregona IA, Plebani M, Secchi AG, Calder VL. Th1- and Th2-type cytokines in chronic ocular allergy. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. Oct 2006;244(10):1240-1245.
126. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunology today*. Jun 1997;18(6):263-266.

127. Nicola N. *Guidebook to cytokines and their receptors*. Oxford: Sambrook & Toozee Publication at Oxford University Press; 1994.
128. Song J, Huang YF, Zhang WJ, Chen XF, Guo YM. Ocular diseases: immunological and molecular mechanisms. *International journal of ophthalmology*. 2016;9(5):780-788.
129. Filella X, Molina R, Ballesta AM. Estructura y función de las citocinas. *Medicina Integral*. 2002;39(2):63-71.
130. D'Ambrosio D, Panina-Bordignon P, Sinigaglia F. Chemokine receptors in inflammation: an overview. *Journal of immunological methods*. Feb 2003;273(1-2):3-13.
131. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annual review of immunology*. 2000;18:217-242.
132. Menissier F, Institut National de la Recherche Agronomique, Centre National des Recherches Zootechniques. Departement de Génétique Animal. *Intérêt du caractère culard ou hypertrophie musculaire d'origine génétique pour l'amélioration de la production de viande bovine*. Versailles: Institut National de la Recherche Agronomique; 1982.
133. Ozmen B, Ozmen D, Erkin E, Guner I, Habif S, Bayindir O. Lens superoxide dismutase and catalase activities in diabetic cataract. *Clinical biochemistry*. Feb 2002;35(1):69-72.
134. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical chemistry*. Jun 1998;44(6 Pt 1):1309-1315.
135. Chen Y, Mehta G, Vasiliou V. Antioxidant defenses in the ocular surface. *The ocular surface*. Oct 2009;7(4):176-185.
136. Behndig A, Karlsson K, Johansson BO, Brannstrom T, Marklund SL. Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea. *Investigative ophthalmology & visual science*. Sep 2001;42(10):2293-2296.
137. Mayer U. Comparative investigations of catalase activity in different ocular tissues of cattle and man. *Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie. Albrecht von Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*. 1980;213(4):261-265.
138. Pirie A. Glutathione Peroxidase in Lens and a Source of Hydrogen Peroxide in Aqueous Humour. *The Biochemical journal*. Jul 1965;96:244-253.
139. Costarides AP, Riley MV, Green K. Roles of catalase and the glutathione redox cycle in the regulation of anterior-chamber hydrogen peroxide. *Ophthalmic research*. 1991;23(5):284-294.
140. Miric DJ, Kusic BM, Zoric LD, Miric BM, Mirkovic M, Mitic R. Influence of cataract maturity on aqueous humor lipid peroxidation markers and antioxidant enzymes. *Eye*. Jan 2014;28(1):72-77.
141. McKenna KC, Beatty KM, Scherder RC, et al. Ascorbate in aqueous humor augments nitric oxide production by macrophages. *Journal of immunology*. Jan 15 2013;190(2):556-564.
142. Cejkova J, Cejka C. The role of oxidative stress in corneal diseases and injuries. *Histology and histopathology*. Aug 2015;30(8):893-900.
143. Mates JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*. Nov 16 2000;153(1-3):83-104.

144. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *The Journal of laboratory and clinical medicine*. Jun 1992;119(6):598-620.
145. Zanon-Moreno V, Garcia-Medina JJ, Gallego-Pinazo R, Vinuesa-Silva I, Moreno-Nadal MA, Pinazo-Duran MD. Antioxidant status modifications by topical administration of dorzolamide in primary open-angle glaucoma. *European journal of ophthalmology*. Jul-Aug 2009;19(4):565-571.
146. Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Javadzadeh A, Rashtchizadeh N, Moharrery M. Oxidative DNA damage and total antioxidant status in glaucoma patients. *Molecular vision*. 2011;17:41-46.
147. Ergan E, Ozturk F, Beyazyildiz E, et al. Oxidant/antioxidant balance in the aqueous humor of patients with glaucoma. *International journal of ophthalmology*. 2016;9(2):249-252.
148. Beyazyildiz E, Cankaya AB, Beyazyildiz O, et al. Disturbed oxidant/antioxidant balance in aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Japanese journal of ophthalmology*. Jul 2014;58(4):353-358.
149. Li WC, Spector A. Lens epithelial cell apoptosis is an early event in the development of UVB-induced cataract. *Free radical biology & medicine*. 1996;20(3):301-311.
150. Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. Sep 1995;9(12):1173-1182.
151. Chandra P, Hegde KR, Varma SD. Possibility of topical antioxidant treatment of cataracts: corneal penetration of pyruvate in humans. *Ophthalmologica. Journal internationale d'ophtalmologie. International journal of ophthalmology. Zeitschrift fur Augenheilkunde*. 2009;223(2):136-138.
152. Riesz P, Kondo T. Free radical formation induced by ultrasound and its biological implications. *Free radical biology & medicine*. Sep 1992;13(3):247-270.
153. Bourne WM, McLaren JW. Clinical responses of the corneal endothelium. *Experimental eye research*. Mar 2004;78(3):561-572.
154. Palko JR, Qi O, Sheybani A. Corneal Alterations Associated with Pseudoexfoliation Syndrome and Glaucoma: A Literature Review. *Journal of ophthalmic & vision research*. Jul-Sep 2017;12(3):312-324.
155. Leelawongtawun W, Suphachearaphan W, Kampitak K, Leelawongtawun R. A comparative study of corneal endothelial structure between diabetes and non-diabetes. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*. May 2015;98(5):484-488.
156. Jurkunas UV, Bitar MS, Funaki T, Azizi B. Evidence of oxidative stress in the pathogenesis of fuchs endothelial corneal dystrophy. *The American journal of pathology*. Nov 2010;177(5):2278-2289.
157. Weiss JS, Moller HU, Lisch W, et al. The IC3D classification of the corneal dystrophies. *Cornea*. Dec 2008;27 Suppl 2:S1-83.
158. Hwang HB, Lyu B, Yim HB, Lee NY. Endothelial Cell Loss after Phacoemulsification according to Different Anterior Chamber Depths. *Journal of ophthalmology*. 2015;2015:210716.
159. Schumacher M, Langenbucher A, Seitz B. [Development of Endothelial Cell Density after Penetrating Keratoplasty in Patients with Fuchs Dystrophy or Keratoconus - Comparison of Excimer Laser and Mechanical Trephination]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. May 2017;234(5):697-705.

160. Murano N, Ishizaki M, Sato S, Fukuda Y, Takahashi H. Corneal endothelial cell damage by free radicals associated with ultrasound oscillation. *Archives of ophthalmology*. Jun 2008;126(6):816-821.
161. Buddi R, Lin B, Atilano SR, Zorapapel NC, Kenney MC, Brown DJ. Evidence of oxidative stress in human corneal diseases. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. Mar 2002;50(3):341-351.
162. Adcock IM. Glucocorticoid-regulated transcription factors. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2001;14(3):211-219.
163. Saraiya NV, Goldstein DA. Dexamethasone for ocular inflammation. *Expert opinion on pharmacotherapy*. May 2011;12(7):1127-1131.
164. Nounou HA, Deif MM, Arafah M. The influence of dexamethasone and the role of some antioxidant vitamins in the pathogenesis of experimental bronchial asthma. *Journal of experimental pharmacology*. 2010;2:93-103.
165. Sigurdsson HH, Konraethsdottir F, Loftsson T, Stefansson E. Topical and systemic absorption in delivery of dexamethasone to the anterior and posterior segments of the eye. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. Sep 2007;85(6):598-602.
166. Kiku Y, Matsuzawa H, Ohtsuka H, et al. Effects of chlorpromazine, pentoxifylline and dexamethasone on mRNA expression of lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokines in bovine peripheral blood mononuclear cells. *The Journal of veterinary medical science*. Aug 2002;64(8):723-726.
167. Yamamoto T, Terada N, Nishizawa Y, Petrow V. Angiostatic activities of medroxyprogesterone acetate and its analogues. *International journal of cancer*. Feb 01 1994;56(3):393-399.
168. Biagiotti S, Menotta M, Orazi S, et al. Dexamethasone improves redox state in ataxia telangiectasia cells by promoting an NRF2-mediated antioxidant response. *The FEBS journal*. Nov 2016;283(21):3962-3978.
169. Korhonen R, Lahti A, Hamalainen M, Kankaanranta H, Moilanen E. Dexamethasone inhibits inducible nitric-oxide synthase expression and nitric oxide production by destabilizing mRNA in lipopolysaccharide-treated macrophages. *Molecular pharmacology*. Sep 2002;62(3):698-704.
170. Hatou S. Hormonal regulation of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-dependent ATPase activity and pump function in corneal endothelial cells. *Cornea*. Oct 2011;30 Suppl 1:S60-66.
171. Hatou S, Yamada M, Mochizuki H, Shiraishi A, Joko T, Nishida T. The effects of dexamethasone on the Na,K-ATPase activity and pump function of corneal endothelial cells. *Current eye research*. May 2009;34(5):347-354.
172. Sanchez J, Polack FM. Effect of topical steroids on the healing of corneal endothelium. *Investigative ophthalmology*. Jan 1974;13(1):17-22.
173. Chung JH, Paek SM, Choi JJ, Park YK, Lee JS, Kim WK. Effect of topically applied 0.1% dexamethasone on endothelial healing and aqueous composition during the repair process of rabbit corneal alkali wounds. *Current eye research*. Feb 1999;18(2):110-116.
174. Davison JA, Chylack LT. Clinical application of the lens opacities classification system III in the performance of phacoemulsification. *Journal of cataract and refractive surgery*. Jan 2003;29(1):138-145.
175. Bikbova G, Oshitari T, Tawada A, Yamamoto S. Corneal changes in diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev*. Jul 01 2012;8(4):294-302.

176. Choo M, Prakash K, Samsudin A, Soong T, Ramli N, Kadir A. Corneal changes in type II diabetes mellitus in Malaysia. *International journal of ophthalmology*. 2010;3(3):234-236.
177. Hugod M, Storr-Paulsen A, Norregaard JC, Nicolini J, Larsen AB, Thulesen J. Corneal endothelial cell changes associated with cataract surgery in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cornea*. Jul 2011;30(7):749-753.
178. Misra SL, Goh YW, Patel DV, Riley AF, McGhee CN. Corneal microstructural changes in nerve fiber, endothelial and epithelial density after cataract surgery in patients with diabetes mellitus. *Cornea*. Feb 2015;34(2):177-181.
179. Ohguro N, Matsuda M, Ohashi Y, Fukuda M. Topical aldose reductase inhibitor for correcting corneal endothelial changes in diabetic patients. *The British journal of ophthalmology*. Dec 1995;79(12):1074-1077.
180. Sanchez-Thorin JC. The cornea in diabetes mellitus. *International ophthalmology clinics*. Spring 1998;38(2):19-36.
181. Siribunkum J, Kosrirukvongs P, Singalavanija A. Corneal abnormalities in diabetes. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*. Aug 2001;84(8):1075-1083.
182. Sudhir RR, Raman R, Sharma T. Changes in the corneal endothelial cell density and morphology in patients with type 2 diabetes mellitus: a population-based study, Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy and Molecular Genetics Study (SN-DREAMS, Report 23). *Cornea*. Oct 2012;31(10):1119-1122.
183. Luty GA. Effects of diabetes on the eye. *Investigative ophthalmology & visual science*. Dec 13 2013;54(14):ORSF81-87.
184. Backman S, Kollara A, Haw R, Stein L, Brown TJ. Glucocorticoid-induced reversal of interleukin-1beta-stimulated inflammatory gene expression in human oviductal cells. *PloS one*. 2014;9(5):e97997.
185. Mutsaers HA, Tofighi R. Dexamethasone enhances oxidative stress-induced cell death in murine neural stem cells. *Neurotox Res*. Aug 2012;22(2):127-137.
186. Pereira MJ, Palming J, Svensson MK, et al. FKBP5 expression in human adipose tissue increases following dexamethasone exposure and is associated with insulin resistance. *Metabolism*. Sep 2014;63(9):1198-1208.
187. Fonseca L, Alcorn JL, Ramin SM, Vidaeff AC. Comparison of the effects of betamethasone and dexamethasone on surfactant protein A mRNA expression in human lung cells. *J Matern Fetal Neonatal Med*. Aug 27 2014:1-5.
188. Assaf N, Shalby AB, Khalil WK, Ahmed HH. Biochemical and genetic alterations of oxidant/antioxidant status of the brain in rats treated with dexamethasone: protective roles of melatonin and acetyl-L-carnitine. *J Physiol Biochem*. Mar 2012;68(1):77-90.
189. Briehl MM, Baker AF, Siemankowski LM, Morreale J. Modulation of antioxidant defenses during apoptosis. *Oncol Res*. 1997;9(6-7):281-285.
190. Higuchi M, Dusting GJ, Peshavariya H, et al. Differentiation of human adipose-derived stem cells into fat involves reactive oxygen species and Forkhead box O1 mediated upregulation of antioxidant enzymes. *Stem Cells Dev*. Mar 15 2013;22(6):878-888.
191. Jaramillo MC, Frye JB, Crapo JD, Briehl MM, Tome ME. Increased manganese superoxide dismutase expression or treatment with manganese porphyrin potentiates dexamethasone-induced apoptosis in lymphoma cells. *Cancer Res*. Jul 01 2009;69(13):5450-5457.

192. Roma LP, Bosqueiro JR, Cunha DA, et al. Protection of insulin-producing cells against toxicity of dexamethasone by catalase overexpression. *Free radical biology & medicine*. Nov 15 2009;47(10):1386-1393.
193. Tome ME, Lutz NW, Briehl MM. Overexpression of catalase or Bcl-2 alters glucose and energy metabolism concomitant with dexamethasone resistance. *Biochim Biophys Acta*. Jul 23 2004;1693(1):57-72.
194. Abadia B, Calvo P, Ferreras A, Bartol F, Verdes G, Pablo L. Clinical Applications of Dexamethasone for Aged Eyes. *Drugs Aging*. Sep 2016;33(9):639-646.
195. Jonisch J, Steiner A, Udell IJ. Preservative-free low-dose dexamethasone for the treatment of chronic ocular surface disease refractory to standard therapy. *Cornea*. Jul 2010;29(7):723-726.
196. Pianini V, Passani A, Rossi GC, Passani F. Efficacy and safety of netilmicin/dexamethasone preservative-free and tobramycin/dexamethasone-preserved fixed combination in patients after cataract surgery. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*. Dec 2010;26(6):617-621.
197. Saari KM, Nelimarkka L, Ahola V, Loftsson T, Stefansson E. Comparison of topical 0.7% dexamethasone-cyclodextrin with 0.1% dexamethasone sodium phosphate for postcataract inflammation. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. May 2006;244(5):620-626.
198. Tan DT, Chee SP, Lim L, Lim AS. Randomized clinical trial of a new dexamethasone delivery system (Surodex) for treatment of post-cataract surgery inflammation. *Ophthalmology*. Feb 1999;106(2):223-231.
199. Gomes JAP, Azar DT, Baudouin C, et al. TFOS DEWS II iatrogenic report. *The ocular surface*. Jul 2017;15(3):511-538.
200. Lu L, Li T, Williams G, Petit E, Borowsky M, Walker WA. Hydrocortisone induces changes in gene expression and differentiation in immature human enterocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. Mar 2011;300(3):G425-432.
201. Rautava S, Walker WA, Lu L. Hydrocortisone-induced anti-inflammatory effects in immature human enterocytes depend on the timing of exposure. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. Jun 01 2016;310(11):G920-929.
202. Orski M, Synder A, Palenga-Pydyn D, Omulecki W, Wilczynski M. The effect of the selected factors on corneal endothelial cell loss following phacoemulsification. *Klinika oczna*. 2014;116(2):94-99.
203. Shentu X, Zhang X, Tang X, Yu X. Coaxial Microincision Cataract Surgery versus Standard Coaxial Small-Incision Cataract Surgery: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PloS one*. 2016;11(1):e0146676.
204. Storr-Paulsen A, Norregaard JC, Ahmed S, Storr-Paulsen T, Pedersen TH. Endothelial cell damage after cataract surgery: divide-and-conquer versus phaco-chop technique. *Journal of cataract and refractive surgery*. Jun 2008;34(6):996-1000.
205. Cavanagh HD, El-Agha MS, Petroll WM, Jester JV. Specular microscopy, confocal microscopy, and ultrasound biomicroscopy: diagnostic tools of the past quarter century. *Cornea*. Sep 2000;19(5):712-722.
206. Rio-Cristobal A, Martin R. Corneal assessment technologies: current status. *Survey of ophthalmology*. Nov-Dec 2014;59(6):599-614.
207. Al-Farhan HM, Al-Otaibi WM. Comparison of central corneal thickness measurements using ultrasound pachymetry, ultrasound biomicroscopy, and the Artemis-2 VHF scanner in normal eyes. *Clinical ophthalmology*. 2012;6:1037-1043.

208. Solomon OD. Corneal indentation during ultrasonic pachometry. *Cornea*. Mar 1999;18(2):214-215.
209. Khaja WA, Grover S, Kelmenson AT, Ferguson LR, Sambhav K, Chalam KV. Comparison of central corneal thickness: ultrasound pachymetry versus slit-lamp optical coherence tomography, specular microscopy, and Orbscan. *Clinical ophthalmology*. 2015;9:1065-1070.
210. Sadoughi MM, Einollahi B, Einollahi N, Rezaei J, Roshandel D, Feizi S. Measurement of Central Corneal Thickness Using Ultrasound Pachymetry and Orbscan II in Normal Eyes. *Journal of ophthalmic & vision research*. Jan-Mar 2015;10(1):4-9.
211. Gurbel PA, Kreutz RP, Bliden KP, DiChiara J, Tantry US. Biomarker analysis by fluorokine multianalyte profiling distinguishes patients requiring intervention from patients with long-term quiescent coronary artery disease: a potential approach to identify atherosclerotic disease progression. *American heart journal*. Jan 2008;155(1):56-61.
212. Muro M, Llorente S, Marin L, et al. Acute vascular rejection mediated by HLA antibodies in a cadaveric kidney recipient: discrepancies between FlowPRA, ELISA and CDC vs luminex screening. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. Jan 2005;20(1):223-226.
213. Ooi KG, Galatowicz G, Towler HM, Lightman SL, Calder VL. Multiplex cytokine detection versus ELISA for aqueous humor: IL-5, IL-10, and IFN $\gamma$  profiles in uveitis. *Investigative ophthalmology & visual science*. Jan 2006;47(1):272-277.
214. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. Dec 13 2001;414(6865):813-820.
215. King GL, Brownlee M. The cellular and molecular mechanisms of diabetic complications. *Endocrinol Metab Clin North Am*. Jun 1996;25(2):255-270.
216. Kim J, Kim CS, Kim H, Jeong IH, Sohn E, Kim JS. Protection against advanced glycation end products and oxidative stress during the development of diabetic keratopathy by KIOM-79. *J Pharm Pharmacol*. Apr 2011;63(4):524-530.
217. Yao D, Brownlee M. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) and RAGE ligands. *Diabetes*. Jan 2010;59(1):249-255.
218. Obara Y. [The oxidative stress in the cataract formation]. *Nippon Ganka Gakkai zasshi*. Dec 1995;99(12):1303-1341.
219. Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Karademir SE, Altun M. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper(II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free radical research*. Sep 2005;39(9):949-961.
220. Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Bektasoglu B, Bener M. Cupric ion reducing antioxidant capacity assay for antioxidants in human serum and for hydroxyl radical scavengers. *Methods in molecular biology*. 2010;594:215-239.
221. Marques SS, Magalhaes LM, Toth IV, Segundo MA. Insights on antioxidant assays for biological samples based on the reduction of copper complexes-the importance of analytical conditions. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(7):11387-11402.
222. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. Jul 15 1996;239(1):70-76.

223. Seo KY, Chung SH, Lee JH, Park MY, Kim EK. Regulation of membrane-associated mucins in the human corneal epithelial cells by dexamethasone. *Cornea*. Jul 2007;26(6):709-714.
224. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. Jul 2010;4(8):118-126.
225. Sies H. Total antioxidant capacity: appraisal of a concept. *J Nutr*. Jun 2007;137(6):1493-1495.
226. Singh R, Alpern L, Jaffe GJ, et al. Evaluation of nepafenac in prevention of macular edema following cataract surgery in patients with diabetic retinopathy. *Clinical ophthalmology*. 2012;6:1259-1269.
227. Singh RP, Staurenghi G, Pollack A, et al. Efficacy of nepafenac ophthalmic suspension 0.1% in improving clinical outcomes following cataract surgery in patients with diabetes: an analysis of two randomized studies. *Clinical ophthalmology*. 2017;11:1021-1029.
228. Pleyer U, Ursell PG, Rama P. Intraocular pressure effects of common topical steroids for post-cataract inflammation: are they all the same? *Ophthalmology and therapy*. Dec 2013;2(2):55-72.
229. Calvo-Sanz JA, Ruiz-Alcocer J, Sanchez-Tena MA. Accuracy of Cirrus HD-OCT and Topcon SP-3000P for measuring central corneal thickness. *J Optom*. Feb 18 2017.
230. Cevik SG, Duman R, Cevik MT, et al. Comparison of central corneal thickness estimated by an ultrasonic pachymeter and non-contact specular microscopy. *Arq Bras Oftalmol*. Sep-Oct 2016;79(5):312-314.
231. Suzuki S, Oshika T, Oki K, et al. Corneal thickness measurements: scanning-slit corneal topography and noncontact specular microscopy versus ultrasonic pachymetry. *Journal of cataract and refractive surgery*. Jul 2003;29(7):1313-1318.
232. Morikubo S, Takamura Y, Kubo E, Tsuzuki S, Akagi Y. Corneal changes after small-incision cataract surgery in patients with diabetes mellitus. *Archives of ophthalmology*. Jul 2004;122(7):966-969.
233. Busted N, Olsen T, Schmitz O. Clinical observations on the corneal thickness and the corneal endothelium in diabetes mellitus. *The British journal of ophthalmology*. Oct 1981;65(10):687-690.
234. Gao F, Lin T, Pan Y. Effects of diabetic keratopathy on corneal optical density, central corneal thickness, and corneal endothelial cell counts. *Exp Ther Med*. Sep 2016;12(3):1705-1710.
235. Lee JS, Oum BS, Choi HY, Lee JE, Cho BM. Differences in corneal thickness and corneal endothelium related to duration in diabetes. *Eye*. Mar 2006;20(3):315-318.
236. Ozdamar Y, Cankaya B, Ozalp S, Acaroglu G, Karakaya J, Ozkan SS. Is there a correlation between diabetes mellitus and central corneal thickness? *Journal of glaucoma*. Dec 2010;19(9):613-616.
237. Storr-Paulsen A, Singh A, Jeppesen H, Norregaard JC, Thulesen J. Corneal endothelial morphology and central thickness in patients with type II diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol*. Mar 2014;92(2):158-160.
238. Su DH, Wong TY, Wong WL, et al. Diabetes, hyperglycemia, and central corneal thickness: the Singapore Malay Eye Study. *Ophthalmology*. Jun 2008;115(6):964-968 e961.
239. Toygar O, Sizmaz S, Pelit A, Toygar B, Yabas Kiziloglu O, Akova Y. Central corneal thickness in type II diabetes mellitus: is it related to the severity of diabetic retinopathy? *Turkish journal of medical sciences*. 2015;45(3):651-654.



240. Perez-Rico C, Gutierrez-Ortiz C, Gonzalez-Mesa A, Zanduetta AM, Moreno-Salgueiro A, Germain F. Effect of diabetes mellitus on Corvis ST measurement process. *Acta Ophthalmol.* May 2015;93(3):e193-198.
241. Yazgan S, Celik U, Kaldirim H, et al. Evaluation of the relationship between corneal biomechanics and HbA1C levels in type 2 diabetes patients. *Clinical ophthalmology.* 2014;8:1549-1553.
242. Goldich Y, Barkana Y, Gerber Y, et al. Effect of diabetes mellitus on biomechanical parameters of the cornea. *Journal of cataract and refractive surgery.* Apr 2009;35(4):715-719.
243. Dhasmana R, Singh IP, Nagpal RC. Corneal changes in diabetic patients after manual small incision cataract surgery. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR.* Apr 2014;8(4):VC03-VC06.
244. Mathew PT, David S, Thomas N. Endothelial cell loss and central corneal thickness in patients with and without diabetes after manual small incision cataract surgery. *Cornea.* Apr 2011;30(4):424-428.
245. Altay Y, Balta O, Demirok G, Burcu A, Balta OB, Ornek F. Agreement between Corneal Thickness Measurements Using Pentacam Scheimpflug Camera, Noncontact Specular Microscopy, and Ultrasonographic Pachymetry in Diabetic Patients. *Current eye research.* Feb 2017;42(2):187-194.
246. Hayashi K, Hayashi H. Pupil size before and after phacoemulsification in nondiabetic and diabetic patients. *Journal of cataract and refractive surgery.* Dec 2004;30(12):2543-2550.
247. Mirza SA, Alexandridou A, Marshall T, Stavrou P. Surgically induced miosis during phacoemulsification in patients with diabetes mellitus. *Eye.* Mar 2003;17(2):194-199.
248. Zaczek A, Zetterstrom C. Cataract surgery and pupil size in patients with diabetes mellitus. *Acta ophthalmologica Scandinavica.* Aug 1997;75(4):429-432.
249. Langwinska-Wosko E, Chociszewska-Nitka A, Zielinska E, Hapunik A. [Evaluation of corneal endothelium following cataract surgery in diabetic patients]. *Klinika oczna.* 2004;106(1-2):28-30.
250. Chu L, Wang B, Xu B, Dong N. Aqueous cytokines as predictors of macular edema in non-diabetic patients following uncomplicated phacoemulsification cataract surgery. *Molecular vision.* 2013;19:2418-2425.
251. Dong N, Xu B, Wang B, Chu L, Tang X. Aqueous cytokines as predictors of macular edema in patients with diabetes following uncomplicated phacoemulsification cataract surgery. *BioMed research international.* 2015;2015:126984.
252. Funding M, Hansen TK, Gjedsted J, Ehlers N. Simultaneous quantification of 17 immune mediators in aqueous humour from patients with corneal rejection. *Acta ophthalmologica Scandinavica.* Dec 2006;84(6):759-765.
253. Ahn JK, Yu HG, Chung H, Park YG. Intraocular cytokine environment in active Behcet uveitis. *American journal of ophthalmology.* Sep 2006;142(3):429-434.
254. Kuiper JJ, Mutis T, de Jager W, de Groot-Mijnes JD, Rothova A. Intraocular interleukin-17 and proinflammatory cytokines in HLA-A29-associated birdshot chorioretinopathy. *American journal of ophthalmology.* Aug 2011;152(2):177-182 e171.
255. Lahmar I, Abou-Bacar A, Abdelrahman T, et al. Cytokine profiles in toxoplasmic and viral uveitis. *J Infect Dis.* Apr 15 2009;199(8):1239-1249.
256. Valentincic NV, de Groot-Mijnes JD, Kraut A, Korosec P, Hawlina M, Rothova A. Intraocular and serum cytokine profiles in patients with intermediate uveitis. *Molecular vision.* 2011;17:2003-2010.

257. Hillier RJ, Ojaimi E, Wong DT, et al. Aqueous Humor Cytokine Levels as Biomarkers of Disease Severity in Diabetic Macular Edema. *Retina*. Apr 2017;37(4):761-769.
258. Wu H, Hwang DK, Song X, Tao Y. Association between Aqueous Cytokines and Diabetic Retinopathy Stage. *Journal of ophthalmology*. 2017;2017:9402198.
259. Khuu LA, Tayyari F, Sivak JM, et al. Aqueous humour concentrations of TGF-beta, PLGF and FGF-1 and total retinal blood flow in patients with early non-proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. May 2017;95(3):e206-e211.
260. Funatsu H, Yamashita H, Noma H, Mimura T, Yamashita T, Hori S. Increased levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *American journal of ophthalmology*. Jan 2002;133(1):70-77.
261. Medic A, Jukic T, Matas A, Vukojevic K, Sapunar A, Znaor L. Effect of preoperative topical diclofenac on intraocular interleukin-12 concentration and macular edema after cataract surgery in patients with diabetic retinopathy: a randomized controlled trial. *Croat Med J*. Feb 28 2017;58(1):49-55.
262. Ueno M, Asada K, Toda M, et al. Gene Signature-Based Development of ELISA Assays for Reproducible Qualification of Cultured Human Corneal Endothelial Cells. *Investigative ophthalmology & visual science*. Aug 01 2016;57(10):4295-4305.
263. Lasry A, Ben-Neriah Y. Senescence-associated inflammatory responses: aging and cancer perspectives. *Trends Immunol*. Apr 2015;36(4):217-228.
264. Eom Y, Kwon J, Heo JH, et al. The effects of proinflammatory cytokines on the apoptosis of corneal endothelial cells following argon laser iridotomy. *Experimental eye research*. Apr 2016;145:140-147.
265. Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Progress in retinal and eye research*. Nov 2015;49:17-45.
266. Hwang HS, Ahn YJ, Lee HJ, Kim MS, Kim EC. Comparison of macular thickness and inflammatory cytokine levels after microincision versus small incision coaxial cataract surgery. *Acta Ophthalmol*. May 2016;94(3):e189-194.
267. Sugita S, Kawazoe Y, Yamada Y, et al. Inhibitory effect of corneal endothelial cells on IL-17-producing Th17 cells. *The British journal of ophthalmology*. Feb 2012;96(2):293-299.
268. Yamagami H, Yamagami S, Inoki T, Amano S, Miyata K. The effects of proinflammatory cytokines on cytokine-chemokine gene expression profiles in the human corneal endothelium. *Investigative ophthalmology & visual science*. Feb 2003;44(2):514-520.
269. Fulgencio Cunha AA, Bosco AA, Veloso CA, Volpe CM, Chaves MM, Nogueira-Machado JA. Suppressive effect of aqueous humor from person with type 2 diabetes with or without retinopathy on reactive oxygen species generation. *Diabetes research and clinical practice*. Apr 2013;100(1):69-73.
270. Hong IS. Stimulatory versus suppressive effects of GM-CSF on tumor progression in multiple cancer types. *Exp Mol Med*. Jul 01 2016;48(7):e242.
271. Sanchez-Jimenez R, Alvarado-Vasquez N. IL-15 that a regulator of TNF-alpha in patients with diabetes mellitus type 2. *Med Hypotheses*. Jun 2013;80(6):776-777.
272. Ye J. Beneficial metabolic activities of inflammatory cytokine interleukin 15 in obesity and type 2 diabetes. *Front Med*. Jun 2015;9(2):139-145.
273. Kowluru RA. Effect of reinstatement of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrate stress in diabetic rats. *Diabetes*. Mar 2003;52(3):818-823.

274. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, et al. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *Molecular vision*. 2011;17:1298-1304.
275. Nishi O, Nishi K, Wada K, Ohmoto Y. Expression of transforming growth factor (TGF)-alpha, TGF-beta(2) and interleukin 8 messenger RNA in postsurgical and cultured lens epithelial cells obtained from patients with senile cataracts. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. Oct 1999;237(10):806-811.
276. Strzalka-Mrozik B, Prudlo L, Kimsa MW, et al. Quantitative analysis of SOD2, ALDH1A1 and MGST1 messenger ribonucleic acid in anterior lens epithelium of patients with pseudoexfoliation syndrome. *Molecular vision*. 2013;19:1341-1349.
277. Nishimura M, Nikawa T, Kawano Y, Nakayama M, Ikeda M. Effects of dimethyl sulfoxide and dexamethasone on mRNA expression of housekeeping genes in cultures of C2C12 myotubes. *Biochem Biophys Res Commun*. Mar 14 2008;367(3):603-608.
278. Hayashi R, Hayashi S, Arai K, Chikuda M, Obara Y. Effects of antioxidant supplementation on mRNA expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase, beta-actin and 18S rRNA in the anterior capsule of the lens in cataract patients. *Experimental eye research*. Mar 2012;96(1):48-54.
279. Wilson SE, Bourne WM, Brubaker RF. Effect of dexamethasone on corneal endothelial function in Fuchs' dystrophy. *Investigative ophthalmology & visual science*. Mar 1988;29(3):357-361.
280. Lissoni P, Rovelli F, Brivio F, Brivio O, Fumagalli L. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans. *Nat Immun*. 1998;16(1):1-5.
281. Benito MJ, Gonzalez-Garcia MJ, Teson M, et al. Intra- and inter-day variation of cytokines and chemokines in tears of healthy subjects. *Experimental eye research*. Mar 2014;120:43-49.
282. de Jager W, Bourcier K, Rijkers GT, Prakken BJ, Seyfert-Margolis V. Prerequisites for cytokine measurements in clinical trials with multiplex immunoassays. *BMC Immunol*. Sep 28 2009;10:52.





## *8. ANEXOS*



## 8. ANEXOS

Todos los pacientes antes de ser incluidos en el estudio firmaron los anexos 1 y 2, en donde se les informó del estudio y de la cirugía de la catarata.

Ambos anexos fueron aprobados mediante informe favorable por el Comité ético de investigación clínica del área de salud de Valladolid este (CEIC-VA-ESTE-HCUV).

### 8.A. ANEXO 1

#### SERVICIO DE OFTALMOLOGÍA

##### ANEXO I

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO SOBRE EL ESTUDIO PARA VALORAR LA INFLUENCIA DE LA DEXAMETASONA TÓPICA EN LOS NIVELES DE ANTIOXIDANTES Y CITOCINAS EN CÁMARA ANTERIOR APLICADA EN EL PREOPERATORIO DE LA CIRUGÍA DE CATARATA

Nombre del médico que le informa:

Fecha:

#### OBJETO DEL ESTUDIO

La dexametasona es un potente corticoide que se utiliza normalmente para disminuir la inflamación. Entre las acciones de la dexametasona existen otras que pueden ser interesantes para su uso en oftalmología. La dexametasona modifica la expresión de muchas de las proteínas que se sintetizan en la célula, entre otras, incrementa la expresión de antioxidantes proteicos.

La cirugía de la catarata representa un estímulo inflamatorio importante para el endotelio corneal, que representa la pared anterior de la cámara en donde se realiza la cirugía. La dexametasona se emplea normalmente en el postoperatorio de la catarata para reducir la inflamación desencadenada por el estímulo quirúrgico. En ciertas ocasiones es obligatorio la utilización de la dexametasona en el preoperatorio de la cirugía, por circunstancias que nos hagan prever que ese paciente se va a inflamar en exceso en el postoperatorio como, por ejemplo, en las enfermedades autoinmunes sistémicas, las uveítis u otras enfermedades inflamatorias. Su uso en el resto de los casos es opcional.

Los antioxidantes ayudan a resistir mejor la agresión de los radicales libres generados en la cirugía de la catarata. El incremento de la expresión de los antioxidantes proteicos mediante la aplicación de la dexametasona preoperatoriamente podría acelerar unas horas la síntesis proteica de esas moléculas, y con ello mejorar la

supervivencia de las células endoteliales de la córnea, que son esenciales para preservar la correcta función visual.

Además, algunas enfermedades, como la diabetes, disminuyen la capacidad antioxidante del organismo. En estos pacientes, parece que puede ser esencial mejorar la capacidad antioxidante de la cámara anterior ocular para conseguir probablemente una mejor supervivencia endotelial tras la cirugía de la catarata.

El objeto de este estudio es comprobar si la aplicación tópica de dexametasona en el preoperatorio de la cirugía de la catarata incrementa la expresión de antioxidantes y con ello mejora la supervivencia endotelial y el pronóstico funcional del paciente.

### CONSIDERACIONES SOBRE SU PARTICIPACIÓN

Debido a su condición de donante de muestras biológicas es importante que conozca varios aspectos:

- *Su participación en este estudio es completamente voluntaria y puede revocar el permiso cuando usted lo desee sin tener que justificar su decisión, y sin que afecte la calidad de su atención.*
- *Se solicita su autorización para la toma y uso del humor acuoso y de la capsula anterior del cristalino, que de manera habitual se desechan en la cirugía de la catarata para analizar los niveles y expresión de antioxidantes. Los investigadores podrán determinar otras moléculas durante el estudio si lo ven necesario y es posible en la muestra residual.*
- *Se tomará un volumen mínimo de humor acuoso en el momento inicial de la cirugía y la cápsula anterior del cristalino obtenida de la capsulorrexis, que no se realizarán si durante la cirugía ocurre cualquier complicación que condicione su pronóstico.*
- *No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por las muestras donadas.*
- *Los datos personales asociados a las muestras serán tratados según lo dispuesto en la legislación vigente sobre protección de datos.*
- *La información obtenida podrá ser utilizada para la publicación de trabajos científicos manteniendo siempre su anonimato.*
- *Puede preguntar las dudas que considere oportunas sobre este estudio*

### APLICACIÓN PREOPERATORIA DE MEDICACIÓN

De manera aleatoria recibirá un tratamiento tópico preoperatorio de dexametasona o suero fisiológico con la pauta de 1 gota cada 2 horas mientras esté despierto desde 48 horas antes de la cirugía de la catarata. Ambos colirios tienen su registro CE y su indicación para uso oftalmológico. Aleatoriamente podrá recibir suero





## 8.B. ANEXO 2

### SERVICIO DE OFTALMOLOGÍA

#### ANEXO II CONSENTIMIENTO PARA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA CATARATA

D: \_\_\_\_\_, mayor de edad, con DNI \_\_\_\_\_, y domiciliado en \_\_\_\_\_ calle \_\_\_\_\_ libre y voluntariamente,

(i) **MANIFIESTA**

Que ha sido diagnosticado de \_\_\_\_\_, motivo por el cual se le propone, como tratamiento más adecuado, la intervención quirúrgica de \_\_\_\_\_, a cuyo efecto y con carácter previo a la formación de su voluntad, recibe del Dr. \_\_\_\_\_ perteneciente al Servicio de **OFTALMOLOGÍA** Hospital Clínico Universitario de Valladolid la siguiente información:

- *La catarata es la pérdida de transparencia del cristalino que lleva a la disminución progresiva de la visión. Su tratamiento es quirúrgico y consiste en la extracción del cristalino opacificado y sustitución o no por una lente intraocular.*
- *La intervención puede realizarse bajo anestesia local o general. En la anestesia local, el anestésico se puede administrar de forma tópica e intraocular (con posible, aunque raro, daño para el endotelio corneal) o se inyecta en las estructuras perioculares. Puede haber complicaciones en el momento de la inyección como son: hemorragia retrobulbar, oclusión de la arteria central de la retina, lesión del nervio óptico, perforación ocular, depresión cardiorrespiratoria y reacción tóxico-alérgica. También puede desarrollar una diplopia como complicación tardía.*
- *La cirugía de cataratas es un procedimiento quirúrgico en el que pueden existir complicaciones durante la misma como son: hemorragia expulsiva (0,20%), rotura de la cápsula posterior con pérdida de vítreo y luxación de fragmentos al espacio vítreo (3%), circunstancias que obligan a modificar el curso normal de la cirugía. Otras complicaciones que pueden aparecer en el postoperatorio son: desprendimiento de retina (1%), edema de mácula (1,9%), endoftalmitis (0,4%), dehiscencias de sutura, pérdida de transparencia de la córnea, ptosis, descentramiento de la lente intraocular (1,2%) y opacificación de la cápsula posterior, la mayoría de las cuales precisan de otro procedimiento quirúrgico para su resolución.*
- *En la mayoría de los casos es necesario utilizar gafas de cerca y/o lejos tras la cirugía. En ocasiones, la falta de transparencia impide ver el estado de la retina y*









Universidad de Valladolid

