



AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

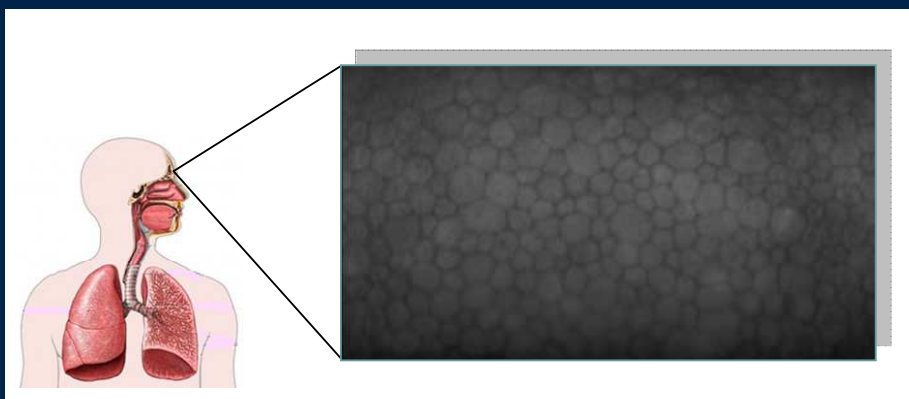
ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

TESI DOCTORAL

2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

Afectació de l'endoteli corneal en pacients amb malaltia pulmonar obstructiva crònica

Núria Soler Lluís

Departament de Medicina i Cirurgia
Universitat Rovira i Virgili

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

Núria Soler Lluís

**AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN
PACIENTS AMB MALATIA PULMONAR
OBSTRUCTIVA CRÒNICA**

TESI DOCTORAL

dirigida pel Dr. Pere Romero Aroca i pel Dr. Òscar Gris Castellón

Departament de Medicina i Cirurgia
Unitat d'Oftalmologia



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Reus, 2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012



Autorització dels codirectors de la tesi doctoral

DADES IDENTIFICATIVES DE LA TESI DOCTORAL	
Títol de la tesi doctoral: Afectació de l'endoteli corneal en pacients amb malaltia pulmonar obstructiva crònica	
Doctorand/a NÚRIA SOLER LLUÍS	
Programa de Doctorat / Programa Oficial de Postgrau BIOMEDICINA	
Departament MEDICINA I CIRURGIA	Grup de recerca OFTALMOLOGIA
Director/a Dr. PERE ROMERO AROCA	Correu electrònic del Director/a romeropere@gmail.com
Codirector/a Dr. OSCAR GRIS CASTELLON	Correu electrònic del Codirector/a gris@imo.es

INFORME DEL DIRECTOR DE TESI		
Els (co)director/s sotasignats emeten l'informe de la tesi doctoral presentada a tràmit de dipòsit, en base a la revisió dels següents elements de qualitat:		
	SI	NO
La tesi consisteix en un treball original de recerca	x	
El títol reflecteix acuradament el contingut de la tesi	x	
Les hipòtesis i/o els objectius de la tesi estan clarament formulats	x	
La metodologia està descrita	x	
Hi consta el procediment	x	
Hi consten els resultats i la discussió dels mateixos	x	
Les conclusions de la tesi corresponen a les hipòtesis i/o objectius formulats	x	
La bibliografia està ben reflectida	x	
D'aquesta tesi es deriven les següents aportacions científiques:		
Altres comentaris sobre la qualitat de la tesi:		

I en conclusió, s'emet l'informe FAVORABLE pel tràmit de dipòsit de la tesi doctoral i posterior defensa pública.

Reus, 2 de novembre de 2011

Nom i cognoms: PERE ROMERO AROCA
Director/a de la tesi

Nom i cognoms: OSCAR GRIS CASTELLON
Codirector/a

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

AGRAÏMENTS

En primer lloc vull agrair als meus dos codirectors el seu suport en la realització d'aquesta tesi: al Dr. Pere Romero per haver cregut en aquest projecte des del principi, que ja duia de cap quan vaig arribar aquí a Reus, i per haver-me recolzat sempre per poder-lo tirar endavant, i al Dr. Òscar Gris per la passió per la còrnia transmesa, per ser un gran defensor de la feina metòdica i pel privilegi de poder estar sempre al seu costat en la meva formació.

Hi ha dues persones crucials en aquest projecte de les que estic molt agraïda per la seva col·laboració i per tot el que m'han ensenyat: el Dr. Jordi Camps i el Dr. Joan Fernández. Jordi, gràcies per la teva implicació, per haver-me fet descobrir el món de l'estrès oxidatiu, per haver-me potenciat la passió per la recerca, que com dius, això enganxa!. Joan, gràcies pel munt d'hores que m'has dedicat, per ajudar-me a anar desgranant tota la informació (cua de ratolí, cap de mamut!), per facilitar-me la comprensió del munt d'anàlisis estadístiques que hem fet i per aportar idees noves. Gràcies a tots dos per haver-me animat, valorat i per l'entusiasme que sempre m'heu transmès.

Gràcies també al Dr. Ricardo Casaroli per haver contribuït a prendre consciència de la importància de veure més enllà i d'arribar a l'essència de les coses.

També he d'agrair a tots els companys del Servei d'Oftalmologia per haver ajudat a reclutar pacients, tasca gens fàcil!, a la Mònica Llagostera per les topografies, i al Servei de Pneumologia, en especial a la Dra. Tomàs i la Dra. Texidó, per la seva col·laboració logística i conceptual.

Gràcies a la família de Reus per ser-hi sempre i per haver-me ajudat a sobreviure en els moments crítics que vaig haver de viure fa un temps (Laia, Àngel, Sita, Gemma, Juli, Carmen...). Gràcies a les incondicionals Nuria Aguilera, per acompanyar-nos en les "vides paral·leles" i per ser sherpa de mostres!, a l'Alicia per l'enorme afinitat laboral i extralaboral que sempre hem tingut, i a la Marrrrria per l'estimació fins a l'infinit!.

I per últim, al millor que tinc: la família. Gràcies A TOTS per la pinya i per totes les vivències que hem tingut junts. Gràcies Tister per l'ajuda en la maquetació i Taiet per la correcció ortogràfica. Gràcies mama i papa per fer d'avis!, per l'amor i els valors transmesos, per ensenyar-me a valorar les petites coses, per ensenyar-me a lluitar davant les adversitats, i per no oblidar mai el sentit de l'humor!. Gràcies "tetes", estant al mig he après molt de vosaltres i m'he divertit un munt!. I gràcies laia Llúcia per la teva alegria i pel teu enfoc davant les situacions de la vida.

I a tú, Gerard, petitó, gràcies per ensenyar-me a redescobrir el món, i ajudar-me a créixer.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

*"No entens una cosa en profunditat fins que no ets
capaç d'explicar-la a la teva àvia"*

Albert Einstein

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

ÍNDEX

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

ABREVIATURES.....25

PRESENTACIÓ I JUSTIFICACIÓ.....29

INTRODUCCIÓ33

1. SEGMENT ANTERIOR OCULAR	33
1.1. La còrnia	33
1.2. L'humor aquós	35
1.2.1. Formació de l'humor aquós.....	35
1.2.2. Composició de l'humor aquós.....	36
1.2.3. Requeriment metabòlic de la còrnia.....	36
2. L'ENDOTELI CORNEAL.....	38
2.1. Cèl·lules de l'endoteli corneal.....	38
2.2. Funció de l'endoteli corneal.....	40
2.3. Capacitat mitòtica	41
2.4. Avaluació de l'endoteli corneal	42
2.4.1. Biomicroscòpia	42
2.4.2. Paquimetria	42
2.4.3. Reserva funcional endotelial	44
2.5. Paràmetres morfològics de l'endoteli corneal	44
2.5.1. Microscopi especular.....	44
2.5.2. Densitat cel·lular endotelial	46
2.5.3. Coeficient de variació de l'àrea cel·lular	47
2.5.4. Hexagonalitat	48
3. SITUACIONS AMB ALTERACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL	49
3.1. Alteració endotelial corneal amb la cirurgia de cataracta.....	50
3.1.1. Alteracions dels paràmetres morfològics endotelials amb la cirurgia....	51
3.1.2. Fisiopatologia de la lesió endotelial per ultrasons	51
3.1.3. Factors influents en la lesió endotelial per ultrasons	53
3.2. Alteració endotelial corneal en malalties sistèmiques	54
3.2.1. Alteració endotelial corneal en la Diabetis mellitus.....	54

3.2.2.	Alteració endotelial corneal en la Insuficiència renal crònica	56
4.	MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA	56
4.1.	Definició de la MPOC	56
4.2.	Fisiopatologia de la lesió pulmonar en la MPOC	58
4.3.	Afectació sistèmica en la MPOC	59
4.3.1.	Influència de la inflamació en l'afectació sistèmica de la MPOC	61
4.3.2.	Influència de l'estrès oxidatiu en l'afectació sistèmica de la MPOC	62
4.3.3.	Influència de la hipòxia en l'afectació sistèmica de la MPOC	63
4.3.4.	Influència dels corticoides en l'afectació sistèmica de la MPOC	64
4.4.	Afectació ocular en la MPOC	65
4.4.1.	Cataracta esteroidea	65
4.4.2.	Hipertensió ocular i glaucoma	67
4.4.3.	Alteració de l'endoteli corneal en la MPOC	68
5.	ESTRÈS OXIDATIU I PARAOXONASA-1	69
5.1.	Estrès oxidatiu	69
5.2.	Bioquímica de la paraoxonasa-1	69
5.3.	Paper de la paraoxonasa-1 en les malalties sistèmiques	71
5.3.1.	Paper de la paraoxonasa-1 en la MPOC	72
5.4.	La paraoxonasa a nivell ocular	73
5.4.1.	Presència de paraoxonasa al teixit ocular	73
5.4.2.	Paraoxonasa i la cataracta	74
5.4.3.	Paraoxonasa i el glaucoma	74
5.4.4.	Paraoxonasa i la DMAE	74
5.4.5.	Paraoxonasa i la retinopatia diabètica	75
HIPÒTESI I OBJECTIUS		79
HIPÒTESI		79
OBJECTIUS		80

MATERIAL I MÈTODES	85
1. VISIÓ GLOBAL CONCEPTUAL I METODOLÒGICA	85
2. DISSENY DE L'ESTUDI.....	86
3. CRITERIS DE SELECCIÓ DELS PARTICIPANTS	88
3.1. Criteris d'inclusió.....	88
3.2. Criteris d'exclusió.....	89
4. MÈTODES I PROTOCOL	90
4.1. Consentiment informat i recollida de dades	90
4.2. Avaluació sistèmica	90
4.2.1. Anamnesi	90
4.2.2. Espirometria	91
4.2.3. Pulsioximetria	93
4.3. Exploració oftalmològica general.....	94
4.3.1. Agudesia visual	94
4.3.2. Biomicroscòpia	95
4.3.3. Presió intraocular	95
4.3.4. Fons d'ull	95
4.4. Avaluació de l'endoteli corneal	96
4.4.1. Microscopia especular	96
4.4.2. Biomicroscòpia	97
4.4.3. Paquimetria	97
4.5. Cirurgia de la cataracta	99
4.6. Anàlisis bioquímiques	101
4.6.1. En sang	101
4.6.2. En humor aquós	102
4.6.3. En cristal·lí.....	102
5. MÈTODES ESTADÍSTICS.....	102

RESULTATS	107
1. CARACTERÍSTIQUES GENERALS	107
2. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL BASAL EN LA MPOC	108
3. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL AMB EL TRAUMA QUIRÚRGIC	110
3.1. Estat endotelial postquirúrgic	110
3.2. Canvis endotelials amb la cirurgia.....	112
4. APROXIMACIÓ AL MECANISME FISIOPATOLÒGIC DE LA LESIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN LA MPOC	114
4.1. Estrès oxidatiu	114
4.1.1. Paraoxonasa -1 sistèmica segons els grups.....	115
4.1.2. Efecte de la concentració de paraoxonasa -1 sistèmica sobre l'endoteli corneal.....	116
4.1.3. Efecte de l'activitat lactonasa sistèmica sobre l'endoteli corneal.....	117
4.1.4. Efecte de la paraoxonasa -1 en humor aquós sobre l'endoteli corneal.....	117
4.1.5. Efecte de la paraoxonasa-1 en cristal·lí sobre l'endoteli corneal.....	118
4.2. Inflamació	119
4.2.1. TNF-alfa segons els grups d'estudi.....	119
4.2.2. Efecte del TNF-alfa sistèmic sobre l'endoteli corneal	119
4.3. Hipòxia.....	120
4.3.1. Efecte de la hipòxia sistèmica sobre l'endoteli corneal.....	120
4.3.2. Efecte de la pO_2 en humor aquós sobre l'endoteli corneal	121
4.3.3. Efecte de la saturació d' O_2 en humor aquós sobre l'endoteli corneal	122
4.4. Corticoides.....	122
4.4.1 Endoteli corneal segons l'antecedent de corticoides	122
4.4.2. Efecte de la dosi acumulativa de corticoides sobre l'endoteli corneal ...	124

DISCUSSIÓ	127
1. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL BASAL EN LA MPOC	128
2. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL AMB EL TRAUMA QUIRÚRGIC	132
3. APROXIMACIÓ AL MECANISME FISIOPATOLÒGIC DE LA LESIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN LA MPOC	135
3.1 Estrès oxidatiu	136
3.1.1. Efecte de la paraoxonasa-1 en sang sobre l'endoteli corneal	137
3.1.2. Efecte de la paraoxonasa-1 en humor aquós sobre l'endoteli corneal	142
3.1.3. Efecte de la paraoxonasa -1 en cristal·lí sobre l'endoteli corneal	143
3.2. Inflamació	144
3.3. Hipòxia	146
3.3.1. Efecte de la hipòxia en humor aquós sobre l'endoteli corneal	146
3.3.2. Efecte de la hipoxèmia sobre l'endoteli corneal	147
3.4. Corticoides	149
3.5. Vinculació de les noxes	152
CONCLUSIONS	157
REFERÈNCIES	163
ANNEX	179
ANNEX A1. ESTUDI PROPI	179
ANNEX A2. APROVACIÓ COMITÈ ÈTIC	189
ANNEX A3. FULL INFORMATIU PELS PARTICIPANTS	190
ANNEX A4. CONSENTIMENT INFORMAT	192
ANNEX A5. FITXES DE RECOLLIDA DE DADES	193

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

ABREVIATURES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

ADN	Àcid desoxiribonucleid
AV	Agudesa visual
BHA	Barrera hematoaquosa
CA	Cambra anterior
CV	Coeficient de variació de l'àrea cel·lular mitjana
DAC	Dosi acumulada de corticoides
DCE	Densitat cel·lular endotelial
DM	Diabetis mellitus
DMAE	Degeneració macular associada a l'edat
DME	Disfunció musculoesquelètica
DVO	Dispositius viscoquirúrgics oftàlmics
EO	Estrès oxidatiu
ERO	Espècie reactiva d'oxigen
FEV₁	Volum espiratori forçat en el primer segon
FVC	Capacitat vital forçada
G+MG	Grup MPOC greu + molt greu
g	Unitat de força centrífuga
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
HA	Humor Aquós
HDL	Lipoproteïnes d'alta densitat
HTO	Hipertensió ocular
IL-1β	Interleuquina 1- β
IL-6	Interleuquina 6
IL-8	Interleuquina 8
IRC	Insuficiència renal crònica
K⁺	Potassi
LC	Lent de contacte
LDL	Lipoproteïna de baixa densitat
LF	Làmpara de fenadura
LIO	Lent intraocular
LL+M	Grup MPOC lleu + moderat

MCP-1	Proteïna quimioattractant de monòcits-1
MDA	Malondialdeid
ME	Microscòpia Especular
Mg	Miligrams
MPOC	Malaltia Pulmonar Obstructiva Crònica
Na⁺	Sodi
Na⁺-K⁺ ATPasa	Bomba sodi-potassi adenosintrifosfatasa
NF-κB	Factor nuclear Kappa Beta
Nm	Nanòmetre
PME	Paràmetres morfològics endotelials corneals
PON	Paraoxonasa
PON-1	Paraoxonasa-1
O₂	Oxigen
PaO₂	Pressió parcial d'oxigen
PIO	Pressió intraocular
RD	Retinopatia diabètica
SaO₂	Saturació d'oxigen
TEF	Temps efectiu de facoemulsificació
TNF-alfa	Factor de necrosi tumoral alfa
μg	Micrograms
μm	Micres

PRESENTACIÓ I JUSTIFICACIÓ

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

L'endoteli té la funció d'impedir el pas i l'acumulació excessiva d'aigua des de l'humor aquós cap a l'estroma de la còrnia. Quan s'altera aquesta funció, la còrnia s'edematitza i es perd la transparència corneal fisiològica, la qual cosa es tradueix en una reducció de l'agudesia visual. Quan la descompensació de la còrnia és irreversible requereix de trasplantament de còrnia, ja sigui de gruix total com específicament endotelial.

Tenint en compte que la malaltia pulmonar obstructiva crònica (MPOC) es considera una malaltia sistèmica amb afectació multiorgànica on s'han involucrat diversos mecanismes fisiopatològics, fa plantejar si aquests mecanismes nocius puguin afectar també a les estructures oculars. Hi ha algun indici que la MPOC pugui ser un grup de risc de tenir alteracions de l'endoteli corneal, però el coneixement que se'n té és molt limitat, existint un sol article que no estudia la MPOC com a grup definit sinó que englobat dins de les malalties pulmonars cròniques, i on només s'avalua un dels paràmetres endotelials, la densitat cel·lular endotelial, que precisament no és el que té més relació amb la funció endotelial.

Considerant que la MPOC és molt freqüent a la població i que presenta un risc elevat de tenir cataractes, trobem habitualment pacients amb aquesta malaltia a la nostra pràctica diària que requereixen ser intervinguts de la cataracta. Els ultrasons emprats en aquesta cirurgia provoquen inevitablement lesió de les cèl·lules endotelials malgrat que cada vegada existeixin tècniques més curoses. Cal conèixer quines situacions presenten alteració de l'endoteli corneal de base amb reserves funcionals limitades, per tal de considerar el risc superior de descompensació corneal que els suposa sotmetre's a la intervenció quirúrgica. En aquests casos, a banda d'aconsellar un estudi de l'endoteli corneal preoperatori, és de gran importància aplicar tècniques quirúrgiques de protecció endotelial per minimitzar aquest risc de descompensació corneal postquirúrgic.

Per tant, considerant que la MPOC és molt freqüent a la població i que és factor de risc de tenir cataractes, és molt important tenir un coneixement més ampli de la seva afectació de l'endoteli corneal de base i de si existeix una major vulnerabilitat al trauma quirúrgic.

No hi ha cap estudi a la literatura que avaluï els índexs morfomètrics de l'endoteli corneal més predictius de la funcionalitat endotelial en la MPOC, que són el coeficient de variació i l'hexagonalitat. Tampoc no es coneix la seva susceptibilitat al trauma quirúrgic. Es desconeix també si els mecanismes patogènics de l'afectació sistèmica de la MPOC, que són principalment l'estrès oxidatiu, la inflamació, la hipòxia i els corticoides, poden afectar també l'endoteli corneal.

Amb tot, la finalitat d'aquest estudi és avaluar si la MPOC presenta alteracions basals de l'endoteli corneal, amb grups d'estudi ben definits i incloent els paràmetres endotelials més importants i conèixer la seva vulnerabilitat a la cirurgia de la cataracta. A més a més, analitzar si els mecanismes que s'han involucrat en l'afectació sistèmica de la MPOC també participen en les alteracions de l'endoteli corneal. Per estudiar la vinculació de l'estrès oxidatiu s'estudia la paraoxonasa-1 (PON-1) en sang, en humor aquós i en cristal·lí, antioxidant que s'està implicant en altres malalties on l'estrès oxidatiu i la inflamació hi estan involucrades, i que comença a apuntar-se la seva síntesi ubíqua en teixits com el cristal·lí. S'estudia també l'efecte que poden tenir la resta de mecanismes sobre l'endoteli corneal com el factor de necrosi tumoral alfa (TNF-alfa) en sang com a factor proinflamatori, la hipòxia en sang i en humor aquós, i l'efecte dels corticoides.

Tot això permetrà establir protocols en els pacients amb MPOC per tal de detectar la seva reserva funcional i poder emprar tècniques quirúrgiques específiques de protecció endotelial. A més a més, ajudarà a ampliar el coneixement de la fisiologia corneal i a obrir noves hipòtesis de possibles mecanismes fisiopatològics lesius en aquestes cèl·lules, així com apuntar cap a noves aplicacions terapèutiques.

INTRODUCCIÓ

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

1. SEGMENT ANTERIOR OCULAR

El segment anterior de l'ull està compartimentat en la cambra anterior (CA) i en la posterior, separades per l'iris. El medi líquid transparent que ocupa aquests espais és l'humor aquós (HA). La còrnia és la capa més anterior i externa, essent l'endoteli corneal la seva capa més interna i la que queda en contacte amb l'HA. El cristal·lí queda a la cambra posterior, i és el que en el seu procés d'opacificació forma la cataracta (**Figura 1**).

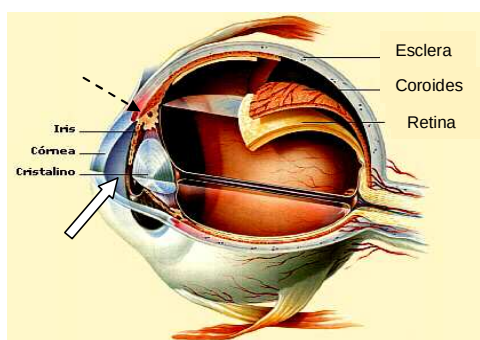


Figura 1. Anatomia Ocular. La Cambra anterior (*fletxa blanca*) és l'espai comprès entre la còrnia i l'iris. El cristal·lí està a la cambra posterior. L'HA es forma al cos ciliar (*fletxa discontinua*) (Adaptat d'imatge de l'Institut Alcon).

1.1. La còrnia

La còrnia és la capa més anterior del globus ocular (**Figura 1**). Té una funció òptica ja que contribueix al 74% de la potència diòptrica total d'un ull humà normal (43 diòptries). Mesura 11-12 mm en direcció horitzontal i 10-11 mm en direcció vertical. En condicions normals, ha de ser un teixit avascular i transparent per tal de preservar l'agudesia visual (AV). Està formada per diverses capes histològiques que presenten una configuració i estructures cel·lulars específiques per tal de mantenir la transparència corneal¹.

L'*epiteli* corneal està format per cèl·lules epitelials escamoses estratificades, normalment amb 5 estrats cel·lulars, i suposa el 5% del gruix total de la còrnia. Juntament amb la pel·lícula lacrimal formen una superfície òpticament llisa. Les unions estretes entre les cèl·lules epitelials superficials impedeixen la penetració del líquid de la llàgrima cap a l'estroma. Les cèl·lules epitelials basals segreguen

una membrana basal contínua, per sota de la qual hi ha la *membrana de Bowman* acel·lular, que delimita amb l'estroma subjacent (**Figura 2**).

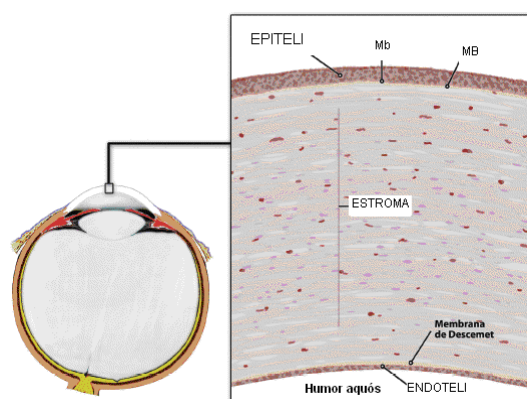


Figura 2. Imatge histològica de la còrnia normal (200x). Les tres capes principals són l'epiteli, l'estroma i l'endoteli que és la més interna i la que està en contacte amb l'HA. Mb: membrana basal. MB: membrana de Bowman (*imatge adaptada de A. Fernández et al. Anales Sis San Navarra 2008; 31:1*).

L'*estroma* suposa el 90% del gruix corneal i està constituït per fibres de colagen, queratocits de l'estroma i substància fonamental. La transparència corneal ve donada per la disposició regular de les fibres de colagen i pel manteniment del seu contingut normal d'aigua (78%). La substància fonamental presenta, entre d'altres, proteoglicans, que són els responsables del manteniment de la distància de separació regular de les fibrilles de colagen. La hidratació estromal està controlada principalment per les barreres epitelials i endotelials intactes i pel bon funcionament de la bomba endotelial. Quan existeix lesió a un d'aquests nivells, es produeix una sobrehidratació de l'estroma, edema corneal, i això fa que les fibres de colagen quedin distorcionades i es perdi la seva distribució uniforme i regular, perdent així la transparència corneal, cosa que es tradueix clínicament amb una pèrdua de l'AV^{2,3}.

L'*endoteli* és la capa més interna de la còrnia i està formada per una única capa de cèl·lules poligonals. Té la funció d'impedir el pas i l'acumulació d'HA en excés cap a l'estroma que conduiria a la sobrehidratació i edema de la resta de la còrnia. La seva membrana basal és la *membrana de Descemet* que delimita amb l'estroma i que està sintetitzada pel mateix endoteli.

1.2. L'humor aquós

1.2.1. Formació de l'humor aquós

L'HA és el líquid transparent que ocupa la CA i posterior del segment anterior de l'ull. L'equilibri entre la seva formació i drenatge permet el manteniment de la pressió intraocular (PIO). Se segrega a la part anterior del cos ciliar, als anomenats processos ciliars, on existeix una xarxa capil·lar densa que depèn del cercle arterial major format per branques anastomòtiques de les artèries ciliars posteriors llargues i les artèries ciliars anteriors, totes branques de l'artèria oftàlmica. La circulació de l'HA va en direcció cap a la cambra posterior, passa per la pupila cap a la CA i finalment es drena per l'angle iridocorneal. En aquest recorregut entra en contacte amb els teixits del segment anterior avasculars, com la còrnia i el cristal·lí als quals nodreix (**Figura 3**).

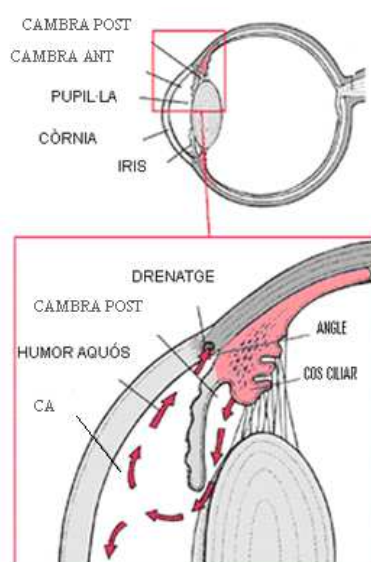


Figura 3. Flux de l'HA. Es forma al cos ciliar en direcció a la cambra posterior, passa per la pupila cap a la CA, on entra en contacte amb l'endoteli corneal, i es drena a l'angle iridocorneal (*drenatge*) (*adaptat d'imatge de Ocularis.es*).

L'HA es forma mitjançant quatre mecanismes fisiològics: Dos de passius, com la *difusió* (per gradient de concentració iònica) i la *ultrafiltració* (per pressió hidrostàtica), i dos d'actius, com l'activitat de l'*anhidrasa carbònica* i la *secreció activa* amb la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ adenosintrifosfatasa (ATPasa) depenent. Principalment, la formació d'HA ve donada en un 80-90% per la secreció activa a l'epiteli no pigmentat del cos ciliar⁴⁻⁷.

1.2.2. Composició de l'humor aquós

L'HA es tracta d'un medi òpticament clar que permet la transmissió de llum en l'eix visual. Aquesta transparència ve donada per la seva composició, que difereix del plasma sanguini quant a què està desproveïda de cèl·lules sanguínies i amb molt poc contingut de proteïnes (**Taula 1**). Això és possible gràcies a la barrera hematoaquosa (BHA) ocular de l'epiteli del cos ciliar mitjançant la presència d'unions intercel·lulars estretes que separen la sang de l'HA, i que prevenen del pas lliure de proteïnes i altres macromolècules. Només es deixa pas a les proteïnes de baix pes molecular com l'albumina. Alteracions d'aquesta BHA faran que hi hagi un HA plasmoide turbi perdent així la seva transparència i podent afectar estructures com l'endoteli corneal^{4, 5}.

La concentració d'àcid ascòrbic (vitamina C) en HA es troba molt elevada respecte a la del plasma fins a 25 vegades més i pot ser útil per la seva acció antioxidant per protegir les estructures oculars anteriors de la lesió oxidativa induïda per la llum ultravioleta. De fet, s'ha vist que la seva concentració diürna, quan hi ha més llum, és superior a la nocturna⁸⁻¹⁰ (**Taula 1**).

Taula 1. Quadre comparatiu de la composició del plasma sanguini i l'humor aquós.

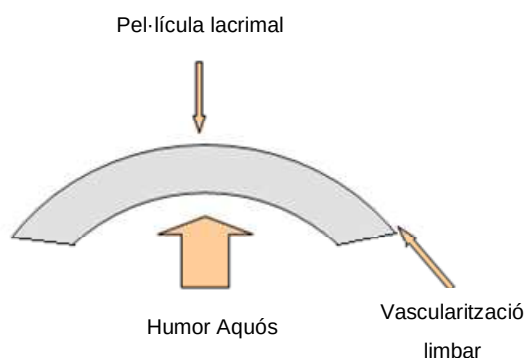
Component	Humor aquós	Plasma
Proteïnes (g/100mL)	0.02	7
Àcid Ascòrbic (mmol/Kg H ₂ O)	1.06	0.04

1.2.3. Requeriment metabòlic de la còrnia

Tenint en compte que la còrnia és un teixit avascular, els seus requeriments metabòlics com la glucosa, els aminoàcids, les vitamines, etc., provenen principalment de l'HA. En molta menor mesura provenen de la pel·lícula lacrimal i de la vascularització limbar per abastir la còrnia perifèrica³ (**Figura 4**).

Figura 4. Abastiment metabòlic

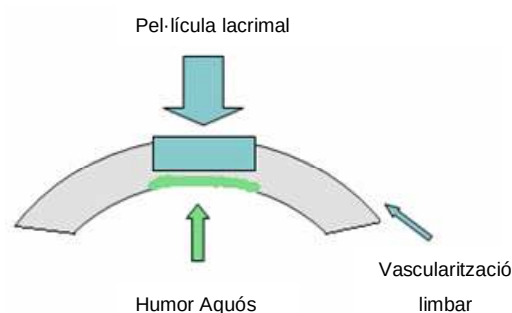
de la còrnia. La còrnia obté els nutrients majoritàriament de l'HA (*fletxa gruixuda*), en molta menor quantitat de la pel·lícula lacrimal i la vascularització limbar (*fletxes primes*).



En canvi els requeriments d'oxigen de la còrnia són diferents en funció de la capa corneal. L'epiteli i l'estroma, que representen el 95% del seu gruix, obtenen principalment l'oxigen de l'atmosfera a través de la pel·lícula lacrimal, i en menor mesura de l'HA i la vascularització limbar. En canvi, l'endoteli corneal obté l'oxigen a través del que li aporta l'HA, essent suficient per mantenir la funció endotelial normal, i podent ser sensible als canvis en la seva composició¹¹. Se sap que l'oxigen de l'HA prové únicament de l'aport sanguini del cos ciliar, i no pas de l'oxigen atmosfèric que pogués travessar la còrnia^{4, 12} (**Figura 5**).

Figura 5. Abastiment d'oxígen de

la còrnia. L'endoteli corneal obté l'oxigen de l'HA (*en verd*). La resta de la còrnia ho fa majoritàriament de l'oxigen atmosfèric (*fletxa blava gruixuda*) i en menor mesura de la vascularització limbar (*fletxa blava prima*).



2. L'ENDOTELI CORNEAL

L'endoteli corneal és la capa més interna de la còrnia. Queda directament en contacte amb l'HA de la CA de l'ull. Està format per una monocapa de cèl·lules planes poligonals, la majoria hexagonals, distribuïdes en patró de mosaic regular. Aquesta configuració es troba en moltes formes de la natura, per ser geomètrica i termodinàmicament estable (**Figura 1 i 2**).

Rep el nom d'endoteli pel fet que es tracta de la capa més interna de la còrnia, i perquè originàriament es pensava que era un teixit assimilable a l'endoteli vascular. De fet, l'origen embriològic, la funció i la morfologia són diferents^{1, 11}. L'endoteli i l'estroma corneals provenen de la migració de cèl·lules mesenquimals de la cresta neural de l'ectoderm (ectomesènquima), a la setena setmana de gestació, cap al mesoderm situat entre l'epiteli corneal i la vesícula del cristal·lí formats a partir de l'ectoderm superficial, a diferència de l'endoteli vascular que prové de la capa mesodèrmica esplàcnica de l'embrió^{13, 14}.

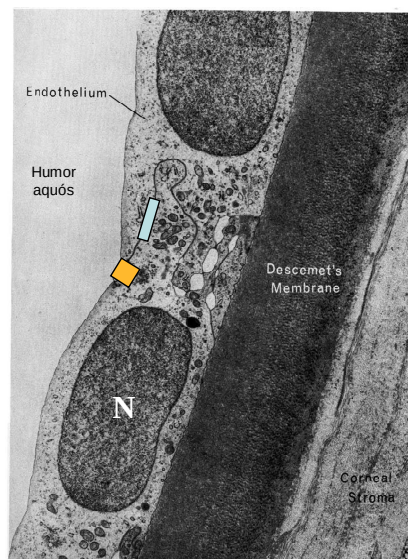
2.1. Cèl·lules de l'endoteli corneal

Les cèl·lules de l'endoteli corneal tenen un nucli gran i abundants organel·les citoplasmàtiques com mitocòndries, reticle endoplasmàtic, ribosomes i aparell de Golgi, cosa que indica que són cèl·lules metabòlicament actives quant a funcions de transport, síntesi i secreció. La superfície que està en contacte amb la CA presenta microvilli i abundants plects per tal d'augmentar la superfície de contacte amb l'HA, que és d'on prové la principal aportació nutritiva de la còrnia, que com s'ha dit és avascular¹⁵.

Aquestes cèl·lules estan interdigitades entre elles i interconnectades mitjançant unions hermètiques i unions comunicants. Els *complexos d'unió hermètics* focals apicals, adjacents a la superfície que està en contacte amb l'HA, són principalment del tipus *màcula occludens*, que tot i que impedeixen el flux lliure d'aigua i soluts, no constitueixen una barrera completa. Les *unions comunicants* permeten la comunicació intercel·lular i no tenen funció de barrera^{3, 16} (**Figura 6**). Per tant, la

monocapa cel·lular no confereix una barrera física completa, pel que es requereix de la bomba metabòlica per impedir la sobrehidratació estromal (explicat a l'[apartat 2.2.](#) de la Introducció).

Figura 6. Microscòpia electrònica de l'endoteli corneal. Les cèl·lules endotelials formen una monocapa. Tenen un nucli gran central (N) i abundants organel·les. Estan interdigitades entre sí, i presenten unions *màcula occludens* (en taronja), i unions comunicants (en blau). La membrana de Descemet és sintetitzada pel propi endoteli corneal i el delimita amb l'estroma de la còrnia (*modificat de cellimagelibrary.org*).



El citosquelet intracel·lular està constituït principalment per la *vimentina*, que és un filament intermedi, de 10 nm de diàmetre, que forma una xarxa complexa intracitoplasmàtica que envolta el nucli i s'estén cap a la perifèria radialment, ancorant-se als complexos d'unió apicals. Sembla que manté l'estabilitat de l'estructura cel·lular, mantenint el nucli central i els contactes intercel·lulars. Adjacents a la membrana cel·lular s'hi troben els microfilaments de *F-actina*, de 5-8 nm de diàmetre, que es creu que tenen un paper crucial en el manteniment de la forma cel·lular hexagonal típica i en la migració cel·lular (**Figura 7**).

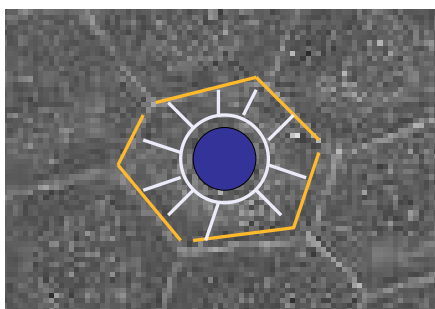


Figura 7. Representació del citosquelet intracel·lular de l'endoteli corneal. La *vimentina* (en blau clar) envolta el nucli (en blau fosc) i s'estén radialment. Els microfilaments d'*F-actina* (en taronja) estan adjacents a la membrana cel·lular. Mantenen l'estructura i funció cel·lulars normals.

La *F-actina* és un polímer no estàtic fet de la unió de *G-actines*, que es remodela en un procés dinàmic i és el que permet fer l'adaptació al medi. També intervenen en l'estabilitat dels complexos d'unió intercel·lular i per tant pel manteniment de la integritat del mosaic endotelial. Pel bon funcionament de la cèl·lula endotelial corneal és necessari mantenir aquesta estructura cel·lular. Quan s'altera aquesta configuració estructural es tradueix en una alteració funcional tant per la disfunció cel·lular individual, com per alteracions en les unions intercel·lulars que redueixen la integritat de la barrera endotelial¹⁶⁻¹⁸.

2.2. Funció de l'endoteli corneal

La funció de l'endoteli corneal és impedir que passi més aigua del que és fisiològicament normal des de l'HA cap a l'estroma de la còrnia i evitar-ne la seva acumulació. Quan s'altera aquesta funció endotelial la còrnia s'edematitza, es redueix la transparència corneal per la distorsió de les fibres de colagen de l'estroma, i com a conseqüència es disminueix l'AV. Quan aquesta situació és permanent i irreversible, l'edema corneal pot involucrar també l'epiteli de la còrnia formant butllofes que en trencar-se són molt doloroses (*queratopatia bullosa*). Per tant, el bon funcionament de l'endoteli corneal és de suma importància pel manteniment de la transparència corneal i per tant de l'AV.

Aquesta funció està permesa gràcies a la barrera física i a la bomba metabòlica de l'endoteli còrnia. La *barrera física* que suposa la monocapa de cèl·lules endotelials només fa aquesta funció en part, ja que tal i com s'ha esmentat, les unions intercel·lulars hermètiques que presenten no constitueixen una barrera completa. Per això, la *bomba metabòlica* hi té un paper clau. L'estroma corneal té tendència inherent a captar aigua de l'HA com a resultat de la càrrega dels proteoglicans que existeixen a la seva substància fonamental. Per tant, cal un procés de deshidratació activa gràcies a la bomba metabòlica de l'endoteli corneal. Està constituïda per un complex conjunt de sistemes de transport iònics, que inclou la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa dependent, que el que fa és crear un gradient osmòtic de sodi (Na^+) entre l'HA (143 mEq/l) i l'estroma (134 mEq/l), per tal de que hi hagi un desplaçament d'aigua des de l'estroma cap a l'HA, i així anar deshidratant l'estroma corneal^{3, 11, 19, 20}.

2.3. Capacitat mitòtica

Les cèl·lules endotelials corneals en humans *in vivo* no proliferen. Per això, hi ha una disminució de la densitat cel·lular endotelial (DCE) amb l'edat²¹⁻²³. Quan per algun motiu hi ha pèrdua cel·lular, tenen com a mecanisme de reparació la migració i l'elongació: les cèl·lules veïnes migren i cobreixen l'espai que ha quedat buit²⁰. Això fa que aquestes cèl·lules adoptin una mida més gran i perdin la seva forma hexagonal. Aquesta capacitat reparadora permet mantenir la funció endotelial sempre que s'estigui dins dels marges de reserva funcional²⁴, ja que aquest canvi de configuració cel·lular pot determinar canvis permanents del citosquelet intracel·lular que en determinin la disfunció^{17, 25}.

En canvi, s'ha vist que les cèl·lules de l'endoteli corneal humanes *ex vivo* en cultius cel·lulars sí que tenen capacitat mitòtica^{21, 22}. Es considera que *in vivo* tenen aquesta capacitat proliferativa "retinguda"²¹⁻²³. Sembla que aquestes cèl·lules queden en fase G1 (fase de creixement cel·lular), sense poder passar a la fase S (de síntesi i duplicació del ADN)²³. Tot i que encara no es coneix el mecanisme que no permet que aquestes cèl·lules proliferin, s'ha postulat que algun factor a nivell de l'HA pugui inhibir la proliferació cel·lular endotelial a partir del naixement^{26, 27}.

Existeix més DCE a la perifèria de la còrnia que a la regió central. Inicialment s'havia dit que les cèl·lules en cultiu obtingudes de la perifèria corneal de donants de còrnia tenien capacitat proliferativa, però en canvi, les cèl·lules procedents del centre de la còrnia, no tenien aquesta capacitat, i això podia explicar la diferència DCE entre les dues regions²¹. Estudis posteriors han evidenciat que en donants joves, tant les cèl·lules obtingudes de la perifèria com del centre de la còrnia, *ex vivo*, tenen capacitat mitòtica, tot i que en donants d'edat avançada aquesta capacitat proliferativa de la regió central es troba molt reduïda²². Una possible explicació a aquest fet, seria que les cèl·lules centrals estan més exposades a estrès oxidatiu (EO) per l'exposició a la llum ultravioleta i que per tant hi ha més mort cel·lular central, i la migració cel·lular de reparació aniria en moviment centrípet de la perifèria cap al centre^{22, 28}. De fet, al llim corneal posterior de teixit donant, a la zona de transició entre l'endoteli corneal més perifèric i la malla trabecular, s'ha localitzat una població de cèl·lules precursors amb activitat de

síntesi d'ADN prèvia a divisió, les cèl·lules transitòries d'amplificació, que poden diferenciar-se a cèl·lules endotelials, cosa que ha suggerit que hi pugui haver divisió cel·lular i migració cap al centre corneal com a resposta reparadora²⁹, però només davant de lesió i només en un 10% de les cèl·lules avaluades, per tant, tot i que s'han equiparat a les *stem cells* endotelials, tenen una capacitat proliferativa molt limitada²³. Per això, se segueix considerant la migració i l'elongació de les cèl·lules veïnes com a mecanisme de reparació de les cèl·lules endotelials corneals, possiblement amb moviment centrípete des de la perifèria cap al centre, i que possiblement es vagi proveint a les cèl·lules perifèriques des de les *stem cells* només en circumstàncies molt concretes.

2.4. Avaluació de l'endoteli corneal

2.4.1. Biomicroscòpia

La funcionalitat òptima de l'endoteli corneal es veu traduïda clínicament amb el manteniment de la transparència i gruix corneals. Això és possible de detectar mitjançant l'exploració amb la làmpara de fenadura (LF). Quan podem observar edema corneal vol dir que la funció de bomba metabòlica endotelial ha fallat ja sigui de manera reversible o irreversible. A més a més, hi ha situacions detectables amb LF en que, malgrat no hi ha edema corneal, hi ha indicis de possible reserva funcional limitada. Seria el cas de l'observació de *guttas* (còrnia *guttata*), corresponents a excrescències endotelials que en limitarien la funció.

2.4.2. Paquimetria

La tècnica més usada per mesurar el gruix corneal és la *paquimetria ultrasònica de contacte*, que ens dóna informació del gruix del punt de la còrnia on s'aplica el transductor. Malgrat que és la més usada, es considera una tècnica que presenta alta variabilitat^{30, 31} ja que les fonts d'error vénen determinades principalment per l'habilitat del tècnic que les realitza. Cal que la mesura sigui central, i hi pot haver descentrament i donar-nos un gruix d'una zona que no ens interessa. El transductor ha d'estar perpendicular a la còrnia. Si hi ha una incidència en sentit oblic ens donarà un valor de gruix més gran al real. El contacte del transductor

amb la còrnia ha de ser sense compressió, perquè si n'hi ha, el valor mesurat serà inferior al real. I per últim, la instil·lació de col·liri anestèsic necessari per aplicar el transductor pot fer un edema epitelial corneal que faci augmentar el gruix³¹.

Per tal d'obtenir mesures més precises, s'està tendint cada vegada més a utilitzar paquímetres de no contacte com la *topografia corneal* o *videoqueratografia*. Aquesta tècnica exploratòria captura mires d'anells concèntrics reflectits sobre la superfície de la còrnia, els anells de Plàcido, a la vegada que realitza un escombrat tangencial de la còrnia de forma simultània. L'aplicació conjunta d'aquests dos principis permet conèixer el poder refractiu corneal, obtenir mapes tridimensionals que mostren la deformació de les superfícies anterior i posterior de la còrnia sobre una escala micromètrica, i obtenir la mesura del gruix corneal amb la diferència de l'elevació de les superfícies anterior i posterior. El valor del gruix corneal pot estar sobreestimat perquè la mesura inclou la capa mucosa de la pel·lícula lacrimal (40µ) i per això cal aplicar un factor de correcció (0.92 X paquimetria amb topògraf)^{31, 32}. Es considera que la topografia corneal és una tècnica paquimètrica útil, amb elevada reproductivitat i de poca variabilitat³³⁻³⁶.

Tot i que existeix controvèrsia, com que el gruix corneal central té fluctuacions circadianes al llarg del dia^{33, 37-40}, també és important la franja horària en la qual es realitza la paquimetria. En despertar i durant la nit és quan hi ha un major gruix corneal^{37, 40}. Amb l'oclusió palpebral nocturna, hi ha una reducció de l'aportació d'oxigen atmosfèric epitelial i estromal, que activa el metabolisme anaeròbic que produeix àcid làctic. L'augment de la pressió osmòtica generada afavoreix la difusió d'aigua des de l'HA cap a l'estroma amb el conseqüent augment de gruix corneal^{41, 42}. Per aquest motiu, s'ha evidenciat un augment de variabilitat de gruix corneal a les set primeres hores després d'haver-se despertat^{33, 39}, per tant, la tarda es considera la millor franja horària per realitzar la paquimetria, tot i que hi ha estudis que diuen que la variabilitat és mínima i que per tant la preferència de franja horària és insignificant³⁸.

El rang de normalitat paquimètric és de 410 a 625 µm. Com que és un rang molt ampli, el que ens serà útil seran les variacions en un mateix individu o grups d'individus, per exemple després d'una intervenció quirúrgica.

2.4.3. Reserva funcional endotelial

Tant l'exploració amb LF com la paquimetria ens permeten conèixer la presència d'edema corneal, que és una traducció clínica de la disfunció endotelial, en què si hi ha edema vol dir que la funció biològica ha fracassat. Però no ens informen de la reserva funcional endotelial. Pot existir una còrnia macroscòpicament normal però que estigui al límit funcional, i que per tant, sigui molt susceptible a edematitzar-se davant el trauma quirúrgic. L'exploració amb microscopi especular (ME) permet fer un càlcul dels paràmetres morfomètrics endotelials corneals (PME), que sí ens informen d'aquesta reserva funcional.

2.5. Paràmetres morfomètrics de l'endoteli corneal

Mitjançant el ME es pot visualitzar el mosaic cel·lular de l'endoteli corneal i conèixer tant la seva morfologia com els PME que permeten quantificar l'estat de l'endoteli corneal i establir-ne una relació amb la seva reserva funcional.

2.5.1. Microscopi especular

El principi del ME es basa a captar la llum reflectida des de la interfase HA-endoteli corneal de manera especular, quan l'angle d'incidència i l'angle de reflexió són iguals, i captar-ne la imatge (**Figura 8**).

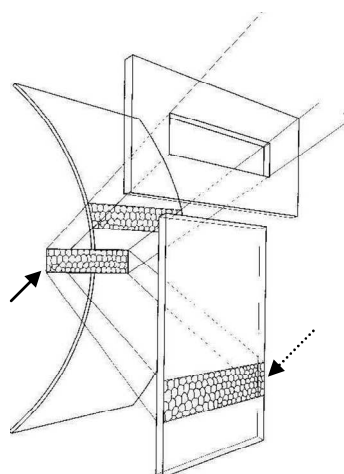


Figura 8. Principi del ME. Es capta la llum reflectida de la interfase entre l'HA i l'endoteli (*fletxa contínua*) podent captar la imatge (*fletxa discontinua*) de les cèl·lules endotelials (Cornea. *Fundamentals, diagnosis and management*. Krachmer. Second edition; 2005. Elsevier Mosby;262).

El ME de no contacte i de camp ampli permet visualitzar i fotografiar centenars de cèl·lules de l'endoteli corneal en un únic camp, i mitjançant programes informàtics aplicar un mètode d'anàlisi que calcula els PME (**Figura 9**). En els últims anys es disposa de ME de no contacte amb elevada reproductivitat i fiabilitat^{43, 44}.

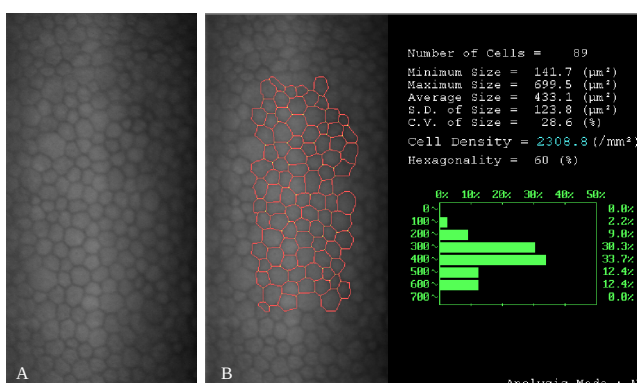


Figura 9. Imatge del mosaic endotelial captat amb ME.

A. Aspecte morfològic. B. Anàlisi automatitzat dels PME.

Els principals PME són la DCE, el coeficient de variació de la mida cel·lular (CV) i l'hexagonalitat. Els dos últims ens donen informació del grau de regularitat del mosaic cel·lular endotelial. Tal com s'ha comentat, quan existeix mort cel·lular, el *procés de reparació* de l'endoteli corneal consisteix en què les cèl·lules veïnes ocupen l'espai deixat, gràcies a la migració i elongació cel·lular permesa pel modelatge dinàmic del polímer de *F-actina* del citosquelet a partir de les *G-actines* que permet l'adaptació al medi¹⁷. Amb aquests canvis de configuració cel·lular es perd la seva forma hexagonal i s'augmenta la seva mida. Això es traduirà en una reducció de la DCE, un augment del CV i una menor hexagonalitat (**Figura 10**).

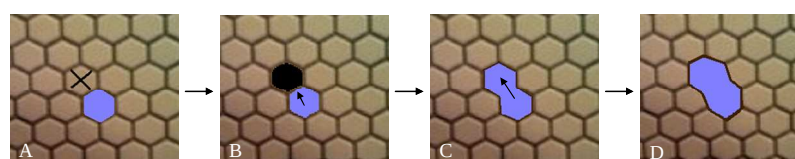


Figura 10. Reparació cel·lular del mosaic endotelial. A. Mort cel·lular (*creu*). B. Queda un espai buit (*negre*) que serà ocupat per les cèl·lules veïnes (*blau*). C. Elongació i migració de la cèl·lula veïna. D. La cèl·lula resultant perd la seva configuració hexagonal fisiològica, i es perd la uniformitat de mides cel·lulars del mosaic (augment del CV).

No només es pot perdre la regularitat del mosaic endotelial pel *procés de reparació* davant de mort cel·lular. També poden existir circumstàncies en què un canvi intracel·lular faci perdre la seva forma hexagonal i que s'augmenti la seva mida²⁵, com per exemple en la diabetis mellitus (DM) que per acúmul del sorbitol (explicat a l'apartat 3.2.1. de la Introducció) es produeix una tumefacció de la cèl·lula. Això també es traduirà en una pèrdua d'hexagonalitat i un augment de CV (**Figura 11**).

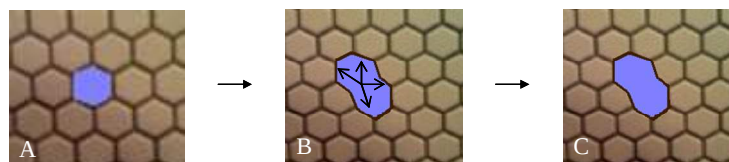


Figura 11. Canvi intracel·lular. A. Mosaic endotelial normal. B. Canvis intracel·lulars (*fletxes*) poden fer canviar la configuració cel·lular. C. La cèl·lula perd la seva forma hexagonal i augmenta la seva mida cel·lular.

2.5.2. Densitat cel·lular endotelial

La còrnia del recent nascut presenta una DCE de 3.500 a 5.000 cèl·lules/mm² i en l'adult oscil·la de 2500 a 3500 cèl·lules/mm². Amb l'edat existeix una pèrdua cel·lular fisiològica de la DCE⁴⁵⁻⁵⁰, tot i que es manté bastant estable entre els 20 i els 50 anys⁵¹ (**Figura 12**) .

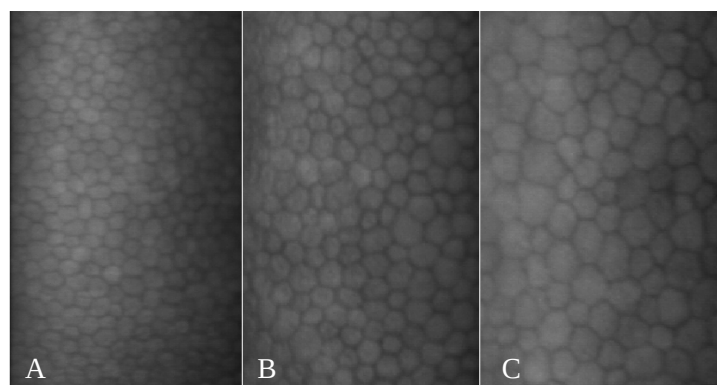


Figura 12. Disminució de la DCE amb l'edat. A. ME d'un nen de 4 anys (3.214 cèl·lules/mm²). B. ME d'una adulta de 35 anys (2.536 cèl·lules/mm²). C. ME d'una senyora de 74 anys (1.363 cèl·lules/mm²).

Existeix més DCE a la còrnia perifèrica que a la zona central, possiblement pel paper que puguin tenir les *stem cell-like* que s'han identificat entre el límit de l'endoteli corneal perifèric i la malla trabecular, tot i que s'ha vist que tenen una capacitat proliferativa molt limitada^{23, 29}. També es postula que aquesta pèrdua de DCE central sigui perquè és la zona més exposada a la llum ultravioleta on es genera més lesió per EO^{22, 28} (explicat a l'apartat 2.3. de la Introducció).

La mesura aïllada de la DCE no constitueix una determinació adequada de l'estabilitat i funcionalitat de l'endoteli corneal. Amb una DCE normal hi pot haver descompensació corneal per tenir els altres PME alterats, que són els que realment s'equiparen més amb la funcionalitat cel·lular. Sempre que s'estigui dins del rang fisiològic de DCE, no determinarà canvis en el gruix corneal⁵². Per tant, no té una relació clara amb la capacitat funcional de l'endoteli²⁴, tot i que si s'està per sota dels valors considerats crítics (300-700 cèl·lules/mm²) la còrnia es descompensarà i s'edematitzarà de manera irreversible (**Taula 2**).

Taula 2. Valors dels paràmetres morfomètrics endotelials en edat adulta.			
Concepte	DCE (cèl·lules/mm ²)	CV (%)	Hexagonalitat (%)
Valors normals	2500-3500	25	70-80
Alteració endotelial	Reducció	Augment (polimegatisme)	Reducció (pleomorfisme)
Valors crítics *	300-700	> 40	< 50

DCE: Densitat cel·lular endotelial. CV: Coeficient de variació. * Valors límits de reserva funcional, amb risc d'edema corneal.

2.5.3. Coeficient de variació de l'àrea cel·lular

El grau d'uniformitat de la mida cel·lular es pot determinar mitjançant el CV (*desviació estàndard/àrea cel·lular*), que s'expressa normalment en percentatge. Tant si és pel mecanisme de reparació davant de mort cel·lular com per canvis intracel·lulars (**Figures 10 i 11**), la mida cel·lular augmenta i s'altera la uniformitat respecte a les altres mides cel·lulars del mosaic endotelial, i això es tradueix en l'augment del CV, anomenat *polimegatisme*. És el paràmetre més sensible d'alteració de l'endoteli corneal, existint una *relació amb el grau de funció endotelial*⁵³⁻⁵⁵. Amb l'augment del mida cel·lular s'adopta una configuració

geomètrica i termodinàmicament inestables, amb alteracions en el citosquelet cel·lular que en determinen la disfunció^{17, 25}. Es relaciona amb la susceptibilitat al trauma quirúrgic traduïnt-se clínicament amb l'edema corneal^{56, 57}. L'endoteli d'un adult normal presenta un CV d'un 25% aproximadament. Amb l'edat existeix un augment i una major variabilitat quant al grau de polimegatisme^{46, 48, 50, 58} (**Figura 13**). Es considera valor crític de reserva funcional un CV superior al 40%, essent el límit de funcionalitat i per tant d'elevada vulnerabilitat al risc d'edema corneal, per exemple després d'una cirurgia de cataracta (**Taula 2**).

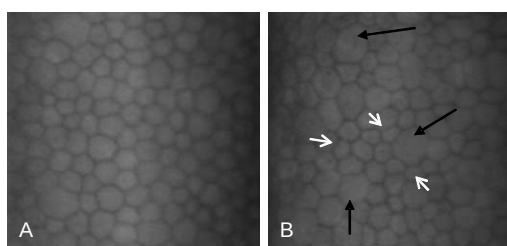


Figura 13. Diferents CV. A. CV normal, amb uniformitat de mides cel·lulars. B. CV augmentat (polimegatisme), on en el mateix mosaic endotelial coexisteixen cèl·lules de mides diferents (fletxes blanques, cèl·lules petites; fletxes negres, cèl·lules grans).

2.5.4. Hexagonalitat

L'hexagonalitat ens informa del percentatge de cèl·lules del mosaic endotelial que tenen la forma hexagonal. En un adult normal el 70-80 % de les cèl·lules de l'endoteli corneal són hexagonals. Quan el percentatge de cèl·lules hexagonals disminueix respecte als valors normals es parla de *pleomorfisme*. Amb l'edat hi ha una reducció i una major variabilitat en el percentatge de cèl·lules hexagonals^{48, 50, 58}. Una hexagonalitat crítica, amb risc de descompensació corneal, és la inferior al 50% (**Taula 2**).

Juntament amb el CV, el percentatge d'hexagonalitat també presenta *relació amb el grau de funció endotelial*, lligat amb el fet que si s'ha perdut la configuració cel·lular normal, amb alteració estructural del citosquelet, la cèl·lula esdevé disfuncional^{17, 25, 54-56}. També es considera un bon *índex de progressió de reparació endotelial*¹⁵. Després de la lesió endotelial, tant si és per mort cel·lular com per canvis intracel·lulars, queden els canvis morfomètrics cel·lulars explicats (**Figures 10 i 11**). Posteriorment, existeix una *fase de remodelació* en què les cèl·lules van adquirint de nou la configuració hexagonal, per tal d'adoptar la forma

que els és geomètrica i termodinàmicament més estable. Aquest procés de remodelatge està relacionat amb els canvis dinàmics del polímer *F-actina* subjacent a la membrana cel·lular a partir de *G-actines*¹⁷. La recuperació del CV, si és que s'acaba produint, és molt més tardana. Per tant, davant d'un cas amb un CV elevat, és a dir, amb variabilitat de les mides cel·lulars, però una bona hexagonalitat, ens indicarà que hi ha una elevada capacitat de recuperació o que la lesió fa temps que es va produir i que les cèl·lules ja han anat recobrant de nou la forma hexagonal (**Figura 14**).

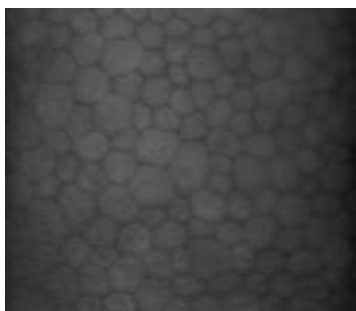


Figura 14. Fase de remodelació cel·lular.

Mosaic amb bona hexagonalitat (52%) i persistència del CV elevat (50%). La recuperació de les formes hexagonals fisiològiques, amb la persistència del CV elevat, indica que ja s'està en la fase de remodelació cel·lular.

Per tant, el CV i l'hexagonalitat són els PME més sensibles a la detecció precoç dels canvis endotelials i permeten una millor estimació i relació amb la integritat i funció endotelials.

3. SITUACIONS AMB ALTERACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL

Amb l'edat hi ha una pèrdua fisiològica de la DCE⁴⁷⁻⁵⁰, un augment del CV (polimegatisme) i una reducció de l'hexagonalitat (pleomorfisme)^{46, 48, 50, 58}, però dins d'uns marges que solen permetre mantenir la funció endotelial normal.

Es coneixen diverses situacions oculars i sistèmiques en les quals hi ha risc de tenir alteració de l'endoteli corneal (**Taula 3**).

Taula 3. Situacions amb alteracions de l'endoteli corneal 20, 48, 49, 59-68	
OCULARS	
• Alteracions de l'endoteli corneal primàries (com la Distròfia endotelial de Fuchs) • Malalties infeccioses o inflamatòries oculars • Queratoconus • Glaucoma • Síndrome pseudoexfoliativa • Traumatisme ocular • Cirurgia ocular prèvia: de cataracta, LASIK, glaucoma • Portador de lents de contacte • Cataracta avançada	
SISTÈMIQUES	
• Diabetis Mellitus • Insuficiència renal crònica	

A continuació s'exposaran les situacions amb alteració de l'endoteli corneal que poden tenir relació directa o indirecta amb aquest estudi, com és la cirurgia de la cataracta com a procediment inclòs dins l'estudi, i les malalties com la DM i la insuficiència renal crònica (IRC) per l'equiparació de ser malaltia sistèmica com ho és la MPOC.

3.1. Alteració endotelial corneal amb la cirurgia de cataracta

L'existència d'alteració de l'endoteli corneal secundària a procediments quirúrgics oculars ha estat ben estudiada, sobretot la produïda per la cirurgia de la cataracta.

La cataracta és l'opacitat del cristal·lí que es tradueix en una pèrdua de la seva transparència i per tant de l'AV. La cirurgia consisteix en la seva destrucció i aspiració mitjançant ultrasons i en l'implantació d'una lent intraocular (LIO) dins el sac capsular del cristal·lí que s'ha deixat parcialment intacte (*phacoemulsificació i aspiració amb implant de LIO*).

La descompensació corneal irreversible, amb edema corneal i *bulles* epitelials, secundaris a la lesió endotelial produïda per la cirurgia de cataracta s'anomena *queratopatia bullosa pseudofàquica*, que és actualment la indicació més freqüent de trasplantament de còrnia^{69, 70}.

3.1.1. Alteracions dels paràmetres morfomètrics endotelials amb la cirurgia

El rang de pèrdua de DCE documentat després de la cirurgia de la cataracta és molt variable, oscil·lant del 0% al 40%, tot i que en els últims anys, gràcies a la millora en la instrumentació i tècnica quirúrgica, s'ha reduït a una pèrdua del 0% al 20%⁷¹⁻⁷⁴. Tenint present aquest percentatge de pèrdua cel·lular i tenint en compte que la DCE crítica és de 300-700 cèl·lules/mm², per sota de la qual hi ha un elevat risc de descompensació corneal (**Taula 2**), vol dir que caldria una DCE prequirúrgica com a mínim de 1000 a 1200 cèl·lules/mm²⁵². Tot i així, el grau de pleomorfisme i polimegatisme són més determinants en la vulnerabilitat del dany quirúrgic, existint una relació amb l'edema corneal postquirúrgic⁷⁵. Això només és possible d'objectivar mitjançant l'exploració endotelial prequirúrgica amb ME, que hauria de ser obligatòria especialment en aquells casos de risc d'alteració endotelial coneguda (edat avançada i situacions de la **Taula 3**), sobretot tenint en compte la seva transcendència.

3.1.2. Fisiopatologia de la lesió endotelial per ultrasons

El mecanisme nociu de la facoemulsificació sobre l'endoteli corneal és multifactorial (**Figura 15**). Es pensava que la lesió venia produïda únicament per l'efecte mecànic dels ultrasons i la irrigació. Recentment s'ha documentat que l'EO hi té un paper molt important. Se sap que les oscil·lacions dels ultrasons en aigua indueixen la creació de bombolles d'aire que amb els canvis de pressió generen ones de xoc (*cavitació acústica*), les quals desintegren la molècula d'aigua formant espècies reactives d'oxigen (ERO) ($OH + H$, *hidroxil + hidrogen*)⁷⁶. Estudis experimentals en oftalmologia han demostrat la formació d'aquests ERO amb la

facoemulsificació⁷⁷⁻⁷⁸, i que aquests són els causants directes de la lesió cel·lular^{10, 79, 80}. Mitjançant anàlisis histològics i histoquímics, s'ha demostrat que les ERO produïdes per la facoemulsificació indueixen un dany directe sobre les membranes cel·lulars que acaba conduint en necrosi cel·lular i apoptosi^{81, 82}.

També s'ha pogut veure que alguns dels agents intracamerulars que poden utilitzar-se durant la cirurgia, com la lidocaïna, la cefuroxima i/o la fenilefrina, contenen ERO com el peròxid d'hidrogen, podent contribuir també a la toxicitat^{83, 84}.

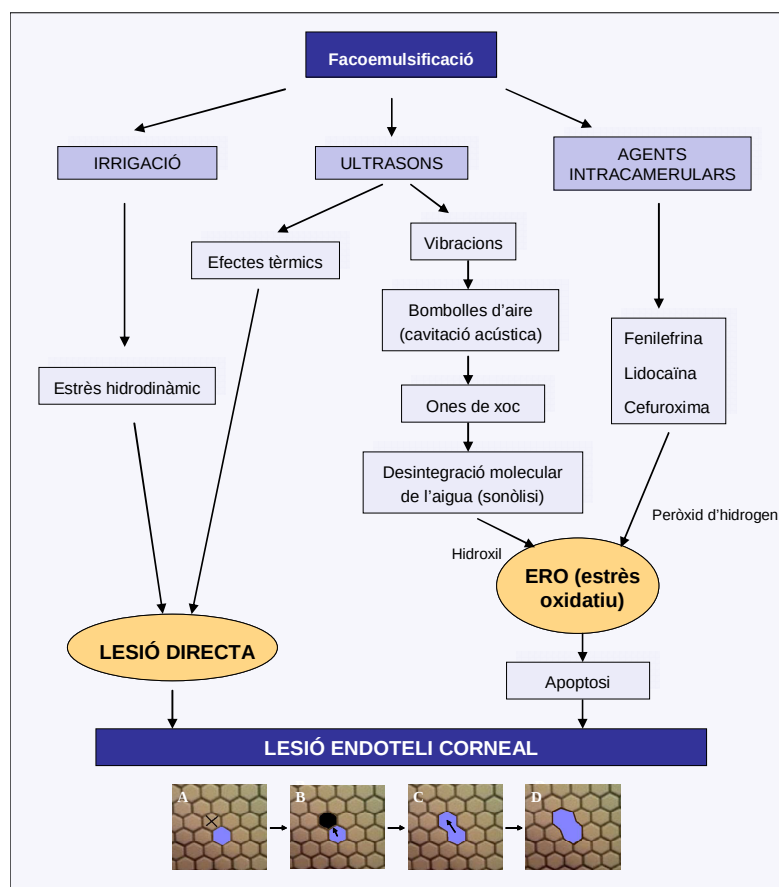


Figura 15. Fisiopatologia de la lesió endotelial corneal associada a la facoemulsificació. Tant per la lesió directa per la irrigació i els ultrasons, com per l'acció lesiva de les ERO, es produeix necrosi i apoptosi cel·lular que activa el procés de reparació del mosaic endotelial, que es tradueix en pèrdua de l'hexagonalitat i augment del CV postquirúrgics (A a D).

3.1.3. Factors influents en la lesió endotelial corneal per ultrasons

Durant la cirurgia s'utilitzen agents viscolàstics, actualment anomenats dispositius viscoquirúrgics oftàlmics (DVO), que permeten el manteniment dels espais evitant el col·lapse de les estructures. A banda d'aportar una protecció mecànica endotelial, minimitzen la cavitació acústica esmentada, i es creu que aporten un efecte antioxidant, gràcies al hialuronat sòdic que tenen en la seva composició⁷⁹.

En casos no seleccionats, és a dir, amb bones reserves endotelials, no s'han trobat diferències morfològiques postquirúrgiques de l'endoteli corneal segons s'utilitzin DVO cohesius (amb poca retenció dins l'ull durant la cirurgia, com el Healon®) respecte a DVO dispersius (amb més retenció dins de l'ull i amb més capacitat de recobrir l'endoteli, com el Viscoat®)^{71, 74, 85, 86}. Tot i així, en els pacients amb reserves funcionals limitades se segueixen usant els DVO dispersius per les avantatges teòriques que aporten com la protecció mecànica i perquè contenen una concentració d'antioxidants superiors⁸⁵.

La lesió endotelial té relació amb el temps i el poder d'ultrasons^{73, 87}. El paràmetre que té en compte tots dos valors és el *temps absolut o efectiu de facoemulsificació* (TEF) (*temps d'ultrasons x poder mitjà d'ultrasons utilitzats*)⁸⁸, que és recollit pel mateix aparell de facoemulsificació. L'energia emesa varia segons la tècnica emprada (menys amb el *faco-chop* que amb el *divide and conquer*)⁸⁸⁻⁹¹ i segons la modulació del poder de facoemulsificació triat (menys amb *pulsats* i *burst* que amb *continu*)^{88, 92}. Com més reduït és el TEF, més transparència corneal i millor AV postoperatòries s'assoleixen⁹³.

Per tant, en pacients que puguin tenir reserves funcionals limitades, per tal de minimitzar la lesió endotelial quirúrgica, caldria una valoració prequirúrgica completa que inclogui exploració amb ME per conèixer el risc de descompensació corneal, operar quan la cataracta no estigui molt avançada per minimitzar els ultrasons, usar viscolàstics dispersius, i aplicar tècniques quirúrgiques curoses, com el *faco-chop*, per reduir el temps i potències d'ultrasons.

3.2. Alteració endotelial corneal en malalties sistèmiques

3.2.1. Alteració endotelial corneal en la Diabetis mellitus

La diabetis mellitus (DM) és una malaltia sistèmica que té afectació multiorgànica. A nivell ocular, a banda de la retinopatia diabètica, existeixen alteracions a nivell corneal. Existeix una reducció de la sensibilitat per la neuropatia diabètica perifèrica que produeix lesions epitelials com les úlceres neurotròfiques, defectes epitelials persistents, etc. A nivell de l'endoteli corneal han estat descrites moltes alteracions, però no sempre concordants entre estudis.

S'ha descrit una reducció de la DCE en pacients amb DM tipus I⁵⁴ i en pacients de més de 10 anys d'evolució de la malaltia⁹⁴. Sembla que hi ha consens quant a que existeix polimegatisme i pleomorfisme en l'endoteli corneal dels pacients amb DM tant del tipus I com II^{54, 95, 96}, tot i que en alguns estudis només l'han detectada en DM tipus I, i no en DM tipus II quan es comparen amb grups de la mateixa edat no diabètics^{47, 97}.

S'ha trobat que hi ha una relació directa entre les alteracions endotelials i el temps de durada de la DM^{94, 97} i amb el grau de retinopatia diabètica (RD)^{96, 98}, però no amb el nivell de d'hemoglobina glicosilada⁹⁷.

Malgrat aquestes alteracions estructurals de l'endoteli corneal descrites, no hi sol haver un augment del gruix corneal^{54, 95, 97}, cosa que fa pensar que la funció endotelial està conservada. Però tenint en compte que el pleomorfisme i el polimegatisme són indicadors d'una baixa reserva funcional⁵⁴⁻⁵⁶, aquests pacients tenen una clara vulnerabilitat al trauma quirúrgic amb risc de descompensació corneal postquirúrgica^{54, 99, 100}, cosa que podem evidenciar en la nostra pràctica diària. Tot i l'edema corneal en el postoperatori immediat i la seva recuperació més enlentida¹⁰¹, i tot i documentar-se una major pèrdua de DCE i hexagonalitat postquirúrgica en els pacients amb DM, això no sembla tenir repercussió funcional quant al gruix corneal a llarg termini¹⁰².

Pel que fa a la fisiopatologia d'aquestes lesions morfològiques en diabètics, sembla que són produïdes per la mateixa alteració del metabolisme cel·lular que

hi ha en els altres teixits. Es creu que la hiperglucèmia activa la via dels poliols amb la formació de sorbitol dins la cèl·lula endotelial corneal, la qual cosa genera una hiperosmolaritat intracel·lular amb el conseqüent pas d'aigua pel gradient osmòtic generat. Això condueix a l'augment de la mida cel·lular (polimegatisme) i la pèrdua de l'hexagonalitat (pleomorfisme)^{25, 54, 103}. Si aquest estrès osmòtic es manté durant un llarg període de temps, es produeix una alteració permanent del citosquelet, limitant-ne la funció. S'han detectat fibres de *F-actina* aberrants creuant el citoplasma enlloc de situar-se subjacents a la membrana cel·lular en anell que seria la distribució fisiològica²⁵ (**Figura 16**).

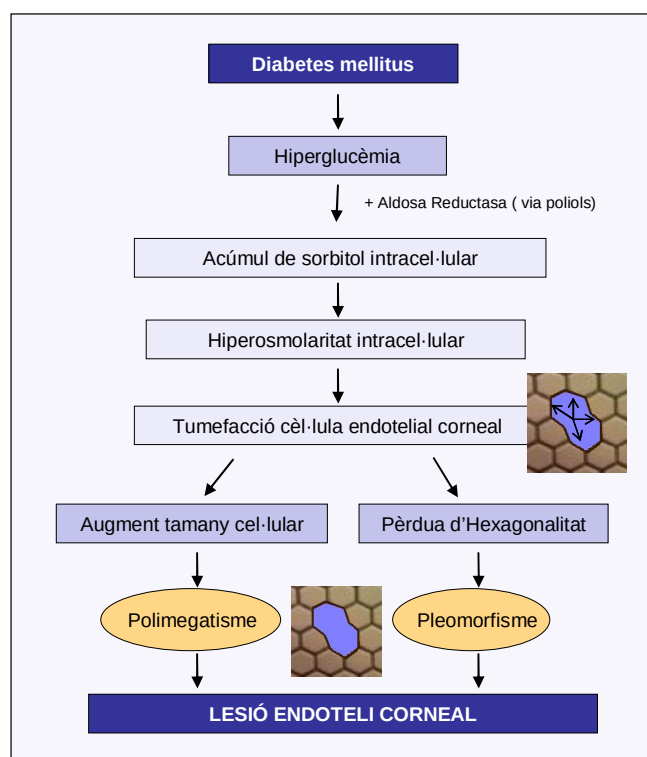


Figura 16. Fisiopatologia de la lesió de l'endoteli corneal a la DM.

De fet, s'ha demostrat que és possible revertir el polimegatisme i pleomorfisme, amb la instil·lació tòpica d'un inhibidor de l'aldosa reductasa (que és el primer enzim limitant de la via dels poliols) durant tres mesos^{104, 105}. Això reafirma la implicació del sorbitol en la fisiopatologia.

3.2.2. Alteració endotelial corneal en la insuficiència renal crònica

En pacients amb IRC, malgrat la funció endotelial corneal es manté conservada, s'han descrit alteracions endotelials com la reducció de la DCE relacionada amb el temps d'hemodiàlisi⁶⁷, polimegatisme i pleomorfisme⁶⁸.

Pel que fa al mecanisme nociu, no s'ha trobat que pugui tenir relació amb l'augment d'alumini i ferro⁶⁷, i s'ha suggerit que podria estar relacionat amb l'augment d'urea i glutatí oxidat en HA⁶⁸.

4. MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

4.1. Definició de la MPOC

La MPOC és actualment la quarta causa de morbiditat i mortalitat en el món desenvolupat, després de la malaltia cardíaca, el càncer i els accidents vasculars cerebrals¹⁰⁶. L'Organització Mundial de la Salut estima que en el 2030 sigui la tercera causa de mortalitat, després de la malaltia cardíaca i els accidents vasculars cerebrals¹⁰⁷. La MPOC deteriora molt la qualitat de vida de les persones afectades. És complicat conèixer la prevalença donat que es considera una malaltia infradiagnosticada, però es parla d'una afectació del 6,6 al 6,9% en edats entre els 25 als 75 anys¹⁰⁸ i del 12% de la població general espanyola en edats compreses entre els 40 i els 80 anys¹⁰⁹.

La MPOC està definida actualment com una malaltia prevenible caracteritzada per una limitació del flux aeri no totalment reversible. La limitació del flux aeri és normalment progressiva i està associada a una resposta inflamatòria anormal dels pulmons a partícules de gas nocives, principalment produïdes pel fum del tabac. Tot i que la MPOC afecta primàriament al pulmó, també produeix afectació sistèmica múltiple^{106, 108}.

Per tal d'establir el diagnòstic i el grau de severitat de la malaltia és imprescindible la realització de l'espirometria. Està indicada en tot pacient amb simptomatologia de tos i/o expectoració, sobretot si existeix història de tabaquisme. La presència d'obstrucció al flux aeri vindrà definida per la disminució del valor del volum espiratori forçat en el primer segon (FEV_1) en presència d'un quocient FEV_1 /capacitat vital forçada (FVC) menor de 0.7 (**Figura 17**). L'espirometria s'ha de fer en situació basal, però a més a més cal valorar els canvis en la FEV_1 després de la inhalació d'un fàrmac broncodilatador (salbutamol) que demostrï el component irreversible de la MPOC.

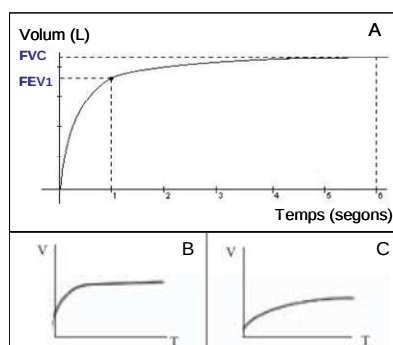


FIGURA 17. Espirometria. A. Espirometria normal on es detalla el FEV_1 i la FVC. B. Patró normal. C. Patró obstructiu de la MPOC on el principal problema és la reducció del FEV_1 . V: Volum. T: temps.

La classificació de la gravetat de la MPOC la determina el valor de FEV_1 , postbroncodilatació, segons la Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD), que és un organisme mundial que determina l'estratègia pel diagnòstic, seguiment i prevenció de la MPOC¹⁰⁶ (**Taula 4**).

Taula 4. Classificació de la gravetat de la MPOC segons l'espirometria post-broncodilatació segons la GOLD ¹⁰⁶		
S'aplica en pacients fumadors amb història de tos, expectoració i/o dispnea		
Estadis	FEV_1	FEV_1 / FVC
Estadi 0	Normal	> 0.7
Estadi I: Lleu	> 80%	< 0.7
Estadi II: Moderada	50-80%	
Estadi III: Greu	30-50%	
Estadi IV: Molt greu	< 30% o < 50% amb insuficiència respiratòria	

4.2. Fisiopatologia de la lesió pulmonar en la MPOC

El factor de risc principal és el tabaquisme crònic, tot i que tenint en compte que només el 25% dels fumadors importants desenvolupen la malaltia, i que es presenta d'una manera molt heterogènica, es pensa que hi intervenen altres factors predisposants com els genètics, l'estil de vida i la nutrició^{110, 111}.

En la fisiopatologia de la MPOC, la inhalació del fum del tabac, activa i/o passiva, o d'altres partícules nocives inhalades causen una reacció inflamatòria anormalment amplificada a nivell pulmonar on hi participen diversos processos. Hi intervenen neutròfils, macròfags, eosinòfils i limfòcits T CD8⁺, així com l'activació de citoquines proinflamatòries com el TNF-alfa i la interleuquina- 8 (IL-8) que retroalimenten aquesta inflamació. L'augment de l'activitat d'aquestes cèl·lules inflamatòries produeix un excés d'enzims proteolítics i una inactivació d'antiproteases, juntament amb processos d'apoptosi, que és el que produeix la destrucció tissular del pulmó. A més a més, l'EO produït per la pròpia reacció inflamatòria i per la inhalació crònica del fum del tabac, també produeix lesió pulmonar tant per la inactivació de les antiproteases com per lesió directa amb l'oxidació de lípids (peroxidació lipídica) i proteïnes del teixit pulmonar^{106, 111-115}.

Tots aquests processos acaben produint fibrosi de les vies respiratòries i destrucció del parènquima pulmonar. Per això la limitació crònica del flux aeri característica de la MPOC està causada per un mecanisme mixte de limitació de via aèria petita (*bronquiolitis obstructiva*) i de destrucció parenquimatososa (*emfisema*), de proporció variable segons cada pacient^{106, 108}. La contribució de cadascun d'aquests mecanismes explicarien probablement les diferents formes de presentació d'aquesta malaltia. De totes maneres, s'atribueix a l'EO el paper més important en la patogènia de la MPOC ja que, a banda de causar un dany directe al tracte respiratori, desencadena un augment dels altres mecanismes citats anteriorment¹¹³ (**Figura 18**).

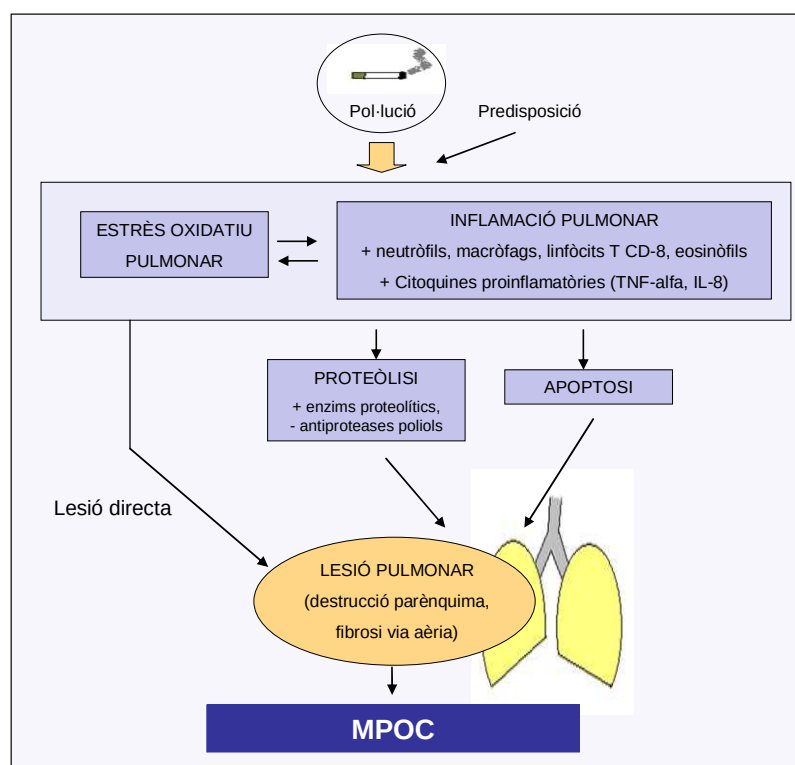


Figura 18. Fisiopatologia de la lesió pulmonar en la MPOC. En la lesió pulmonar hi intervien l'EO i la inflamació com a processos codepenents que condueixen a la proteòlisi i l'apoptosi que finalment lesionen el teixit pulmonar. La lesió cel·lular directa es produeix per l'oxidació de les membranes, les proteïnes i l'ADN.

4.3. Afectació sistèmica en la MPOC

Els pacients amb MPOC tenen un elevat risc de presentar altres malalties sistèmiques concomitants com la malaltia cardiovascular, osteoporosi, disfunció musculoesquelètica (DME), anèmia, DM, tromboembolismes i caquèxia entre d'altres^{111, 116, 117}. L'etiologia d'aquesta afectació és clarament multifactorial. Inicialment es pensava que aquesta comorbiditat venia donada per tenir factors de risc comuns, sobretot el tabaquisme i el sedentarisme, pel tractament amb corticoides rebuts i per la hipòxia sistèmica dels pacients amb MPOC. En els últims anys s'ha anat veient que també hi intervien factors inflamatoris i d'EO sistèmics, i que de fet, tenen un paper principal i molt important en la gènesi de l'afectació sistèmica^{112, 115, 118-120} (**Figura 19**).

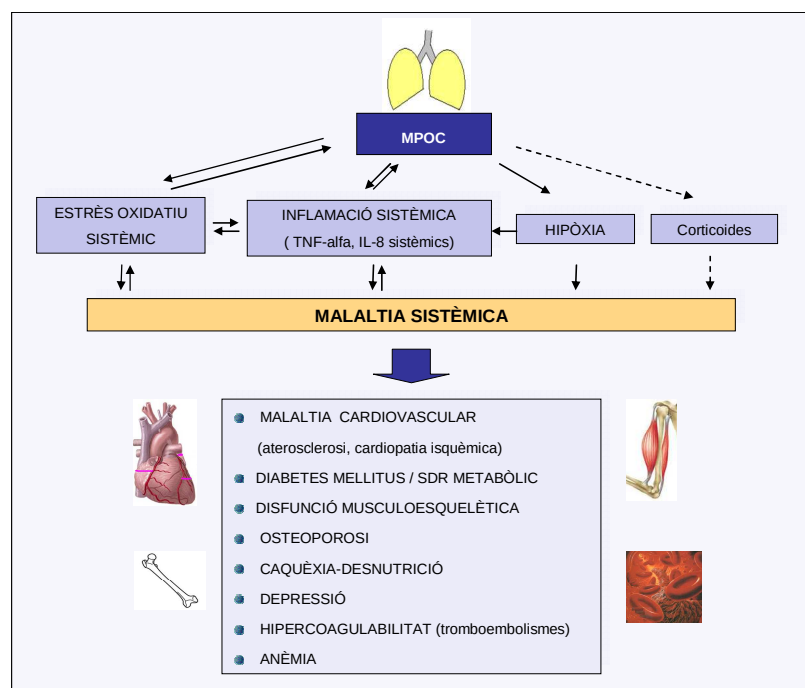


Figura 19. Afectació sistèmica en la MPOC i els mecanismes fisiopatològics implicats. Existeix un origen multifactorial. L'EO i la inflamació són processos codepenents i que s'amplifiquen entre sí i estan vinculats tant en la gènesi de la lesió pulmonar com en l'afectació sistèmica. La hipòxia i els corticoides també hi estan implicats. La hipòxia per si sola també pot contribuir a augmentar la inflamació.

Tot i així, no existeix suficient evidència com per establir si es tracta d'una "disseminació" sistèmica provinent del pulmó o bé d'un mateix procés fisiopatològic comú a diferents òrgans i sistemes considerant-se doncs de comorbiditats o síndrome^{111, 116, 120}. Hi ha indicis que la inflamació sistèmica i l'augment d'EO tinguin origen pulmonar, i sigui aquest l'inici de l'afectació extrapulmonar que existeix a la MPOC, tot i que no es coneixen els mecanismes exactes responsables d'aquestes associacions^{111, 114}. En contra d'això hi ha el fet que no hi ha relació entre les concentracions dels marcadors sistèmics pulmonars i en plasma¹¹⁷, i que el tractament amb corticoides inhalats redueix la inflamació pulmonar, però no fa disminuir els marcadors inflamatoris sistèmics cosa que fa pensar en un origen multisistèmic¹¹¹. Per això no queda clar si cal parlar de manifestacions sistèmiques de la MPOC o de comorbiditats. En tot cas, s'ha de considerar la MPOC com una malaltia sistèmica.

4.3.1. Influència de la inflamació en l'afectació sistèmica de la MPOC

En els últims anys s'ha evidenciat que la resposta inflamatòria pulmonar és molt similar a la que es pot trobar a nivell sistèmic en els pacients amb MPOC. Existeix un augment en sang de cèl·lules inflamatòries activades i un increment dels nivells plasmàtics de citokines proinflamatòries (principalment TNF-alfa, IL-8, IL-1 β i IL-6) i de reactants de fase aguda com la proteïna C-reactiva. Tot i que aquestes anormalitats estan més pronunciades durant les exacerbacions de la malaltia, ja poden trobar-se en pacients clínicament estables, i tenen una clara relació amb la fisiopatologia de les malalties sistèmiques concomitants¹²⁰⁻¹²².

L'associació de malalties cardiovasculars i la MPOC ve determinada per compartir factors de risc comuns com el tabaquisme, l'edat avançada i el sedentarisme. La inflamació sistèmica persistent d'aquestes malalties cròniques s'ha vinculat a la formació d'aterosclerosi i cardiopatia isquèmica^{114, 123} per lesió de l'endoteli vascular¹¹². S'ha vist que la gravetat de l'aterosclerosi augmenta a la MPOC¹²⁴. De fet, el tabaquisme per si sol produeix inflamació i EO a nivell pulmonar i sistèmic, canvis vasomotors i funcionals de l'endoteli vascular i activació de factors procoagulants, que també contribueixen en l'aparició d'aquestes comorbiditats^{125, 126}. Els nivells d'inflamació sistèmica són superiors quan hi ha MPOC que quan hi ha tabaquisme aïllat¹¹⁶. La DM tipus II que hi sol haver associada a la MPOC sol ser per insulinoresistència¹¹⁶, moltes vegades dins de la síndrome metabòlica pel mateix estat protrombòtic i proinflamatori, i també lligat a les malalties cardiovasculars concomitants^{117, 127, 128}. L'anèmia també és una de les afectacions associades a la MPOC, en un 15-30%, malgrat es podria pensar que el que hi podríem trobar seria la policitemia secundària a la hipòxia. Es tracta d'una anèmia normocítica normocròmica típica de les malalties inflamatòries cròniques i sembla que sigui per una resistència als efectes de la eritropoietina, també per acció principalment del TNF-alfa^{116, 129}.

La citokina proinflamatòria que més s'ha vinculat amb la inflamació local i sistèmica en la MPOC és el TNF-alfa. Els seus valors plasmàtics elevats es relacionen amb la gravetat de la malaltia i s'està veient que intervé en diversos mecanismes fisiopatològics de molta de l'afectació sistèmica de la MPOC, com la DME, la caquèxia, l'osteoporosi, la DM, l'anèmia i la depressió^{114, 116, 122}. A grans

trets, el TNF-alfa pot induir el seu efecte nociu mitjançant la transcripció del factor nuclear kappa B (NF-κB) que perpetua la inflamació, la inducció d'apoptosi i l'amplificació de la cascada inflamatòria per l'estimulació d'altres citokines proinflamatòries^{114, 117, 121, 130, 131}.

4.3.2. Influència de l'estrès oxidatiu en l'afectació sistèmica de la MPOC

L'EO és un desequilibri entre els elements oxidants que s'anomenen ERO i els sistemes antioxidants (explicat a l'apartat 5.1. de la Introducció).

Tant en pulmó i vies respiratòries, com a nivell sistèmic, s'han detectat nivells elevats de productes de la peroxidació lipídica, com el malondialdeid (MDA), i disminució d'antioxidants, com el glutatí, implicant-se l'EO com a un dels factors fisiopatogènics de l'afectació sistèmica de la MPOC^{111, 17, 132}.

El tracte respiratori dels pacients amb MPOC està en contacte amb elevades concentracions d'oxidants endògens que es produeixen com a conseqüència de l'activació i la degranul·lació de cèl·lules inflamatòries, principalment neutròfils i macròfags, i d'oxidants exògens provinents bàsicament del fum del tabac i la pol·lució¹¹³.

A l'EO se li atribueix un paper fonamental en la patogènia de l'afectació pulmonar i sistèmica de la MPOC¹³³ (**Figura 18 i 19**). De fet, l'EO i la inflamació són processos codepenents i que s'amplifiquen un a l'altre: la inflamació estimula l'alliberació de ERO, que activen la transcripció de factors com el NF-κB, que a la vegada perpetuen la inflamació^{113, 118, 134} (**Figura 20**).

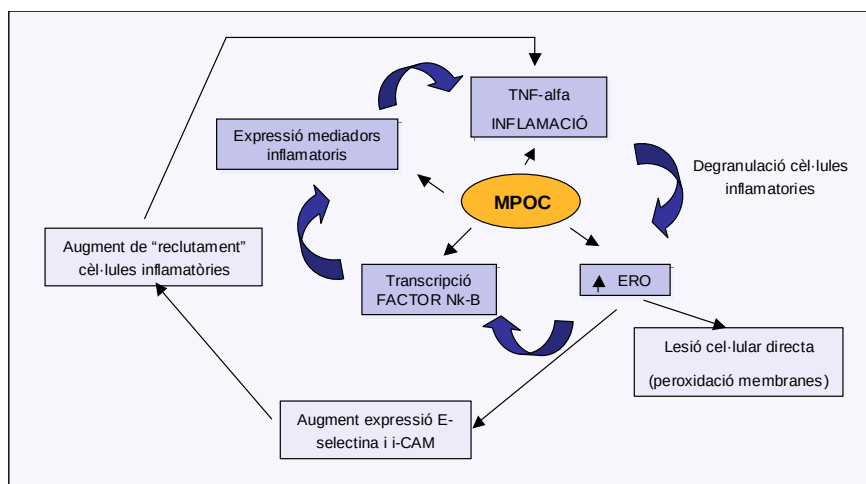


Figura 20: Lligam entre inflamació i ERO a la MPOC. La degranulació de les cèl·lules inflamatòries fa augmentar les ERO, que a banda de causar lesió cel·lular directa, activen la transcripció del NF-kB, que amplifica l'expressió de més mediadors inflamatoris que perpetuen el cicle. A més a més, les ERO fan augmentar l'expressió de molècules d'adhesió cel·lular (E-selectina i i-CAM) augmentant l'arribada de més cèl·lules inflamatòries.

4.3.3. Influència de la hipòxia en l'afectació sistèmica de la MPOC

Quan la limitació al flux aeri en pacients amb MPOC és rellevant, hi pot haver hipoxèmia que condueixi a una hipòxia tissular crònica. Això produeix una lesió metabòlica cel·lular per activació del metabolisme anaerobi que contribueix en part a la fisiopatologia de les alteracions sistèmiques associades a la MPOC.

La hipòxia tissular s'ha vinculat com a un dels mecanismes fisiopatològics de la pèrdua de pes i de la DME dels pacients amb MPOC. Existeix una alteració estructural i funcional del múscul esquelètic proporcional a la gravetat de la hipoxèmia arterial, i a més a més, se sap que la hipòxia tissular crònica suprimeix la síntesi proteica de les cèl·lules musculars¹²².

També s'ha involucrat la hipòxia com a inductor dels mecanismes de la caquèxia¹³⁵ i com a inductor de l'estat d'hipercoagulabilitat dels pacients amb MPOC que els fa tenir un elevat risc de fenòmens tromboembòlics¹³⁶.

A més a més, s'ha vist que els nivells de TNF-alfa elevats que tenen els pacients amb MPOC, es relacionen amb el grau de severitat de la hipoxèmia arterial, i que per tant, la hipòxia tissular per si mateixa pot contribuir a augmentar la inflamació sistèmica per l'activació del sistema TNF-alfa^{117, 137, 138}. És a dir, que els mecanismes són multifactorials i involucrats entre sí (**Figura 19**).

4.3.4. Influència dels corticoides en l'afectació sistèmica de la MPOC

L'ús dels corticoides inhalats en la MPOC estable està indicat en estadis III i IV de la classificació de GOLD (**Taula 4**), que presentin exacerbacions freqüents o tinguin hiperreactivitat bronquial associada. Aquests es donen habitualment en combinació amb β_2 -agonistes inhalats, ja que ajuden a reduir les exacerbacions, milloren la funció pulmonar i la qualitat de vida. Els corticoides orals només estan indicats en les exacerbacions, habitualment en un termini curt i gairebé mai s'indiquen a llarg termini. L'efecte dels corticoides sistèmics en les aguditzacions ajuda a disminuir el temps de recuperació i milloren la funció pulmonar i la hipoxèmia¹⁰⁶.

L'elevada prevalença d'osteoporosi en pacients amb MPOC (50-75%) i de les conseqüents fractures vertebrals, sempre s'ha associat a la inactivitat, al tabaquisme, a l'edat elevada i a l'ús dels corticoides inhalats i/o sistèmics^{112, 139}. Els corticoides redueixen la formació òssia reduint l'activitat osteoblàstica, i redueixen l'absorció càlcica amb la qual cosa augmenta la parathormona que fa augmentar l'activitat osteoclàstica. Però actualment se sap que els pacients amb MPOC tenen un elevat risc de desenvolupar osteoporosi fins i tot amb l'absència de l'ús de corticoides¹⁴⁰, sembla que per efectes del TNF-alfa que estimula la diferenciació de macròfags cap a osteoclasts que intensifiquen l'osteoporosi^{117, 131, 139}.

El tractament amb corticoides emprat sobretot en les exacerbacions de la MPOC, també pot interferir en el bon control glucèmic dels pacients amb DM II, però per si sola no sol ser la causa única de la diabetis¹²⁹. Tal i com s'ha esmentat, el mecanisme d'aparició de la DM associada a la MPOC també està principalment vinculat a la inflamació sistèmica.

4.4. Afectació ocular en la MPOC

Els pacients en tractament amb corticoides inhalats i orals, els fumadors, i els pacients amb MPOC com a factor de risc aïllat, tenen un elevat risc de presentar cataractes^{141, 142}. La cataracta i el glaucoma són les afectacions oculars descrites associades a la MPOC, i solen ser secundàries al tractament amb corticoides.

4.4.1. Cataracta esteroidea

L'ús de corticoides inhalats en la MPOC s'ha associat a un augment del risc de cataractes de localització principalment subcapsular posterior^{143, 144}. El risc de desenvolupar cataractes es relaciona amb la *dosi acumulada de corticoides* (DAC), és a dir, que depèn de la dosi i la durada del tractament¹⁴⁴⁻¹⁴⁶.

El mecanisme patogènic pel qual es forma la cataracta per l'acció del corticoides sistèmics encara no està aclarit, tot i que s'han proposat algunes aproximacions. En condicions normals, per inducció de factors de creixement presents a l'HA, les cèl·lules epitelials anteriors del cristal·lí proliferen i migren en direcció a l'equador, on es diferencien en les fibres cristal·linianes. Aquestes fibres es van compactant en direcció al nucli del cristal·lí, perdent els orgànuls durant el procés, la qual cosa permet la transparència juntament amb la seva disposició. Sembla que la formació de la cataracta esteroidea sigui per una migració errònia de les cèl·lules epitelials anteriors indiferenciades i aberrants cap al còrtex posterior enlloc d'empaquetar-se cap a la massa central, amb la conseqüent pèrdua de transparència¹⁴⁷⁻¹⁵⁰ (**Figura 21**).

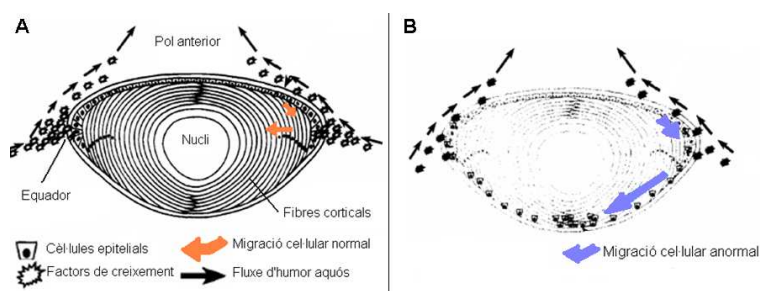


Figura 21. Migració de les cèl·lules de l'epiteli anterior del cristal·lí. A. Migració cel·lular fisiològica normal en cristal·lí transparent. B. Migració cel·lular anormal cap al còrtex posterior en la formació de la cataracta esteroidea (adaptat de Jobling AI et al. Clin Exp Optom, 2002; 85:61-75).

Aquesta migració aberrant sembla que és secundària a l'acció directa i específica amb l'activació del receptor glucocorticoide. Els glucocorticoides sistèmics passen a l'HA on entren en contacte amb la superfície anterior del cristal·lí¹⁵¹, travessen la membrana de les cèl·lules de l'epiteli anterior del cristal·lí per difusió passiva, i s'uneixen al receptor glucocorticoide present al citoplasma. L'activació d'aquest receptor modula la transcripció que fa variar l'expressió gènica, fent que s'alteri la funció de proliferació, diferenciació, apoptosi i migració d'aquestes cèl·lules¹⁴⁹ (Figura 22).

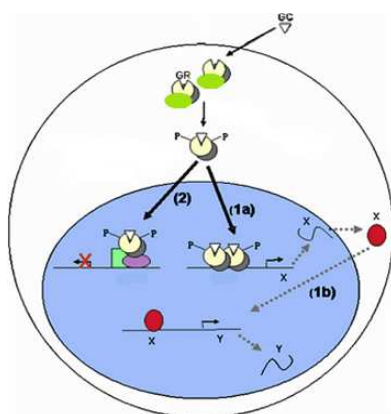


Figura 22. Modulació de la transcripció per acció dels glucocorticoides. El glucocorticoide (GC) s'uneix al receptor (GR) citoplasmàtic i estimula directament la transcripció gènica de factors (1a) que poden actuar indirectament (1b), i pot inhibir-ne d'altres (2) (adaptat de Gupta V. *Exp Eye Res.* 2009; 88:248-256.)

Recentment s'han descrit unes alteracions funcionals concretes secundàries a aquest procés de modulació de transcripció secundàries a l'acció del receptor glucocorticoide, com la disminució en l'activitat de la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa¹⁵², i la reducció de la *vimentina*, proteïna del citosquelet cel·lular¹⁵⁰. Això podria explicar la migració cel·lular anòmala de les cèl·lules de l'epiteli anterior del cristal·lí. Un altre possible mecanisme indirecte seria que per l'efecte dels corticoides hi hagi una concentració anòmala dels factors de creixement en HA que no permeti la correcta proliferació, la migració i diferenciació de les cèl·lules anteriors del cristal·lí¹⁴⁷⁻¹⁴⁸ (Figura 23).

A més a més, un cop realitzada la cirurgia de la cataracta, on s'implanta la LIO dins del sac capsular, pot observar-se també una major tendència a la opacitat de la càpsula posterior en pacients que havien tingut cataracta esteroidea, incloses les secundàries a corticoides inhalats¹⁵³.

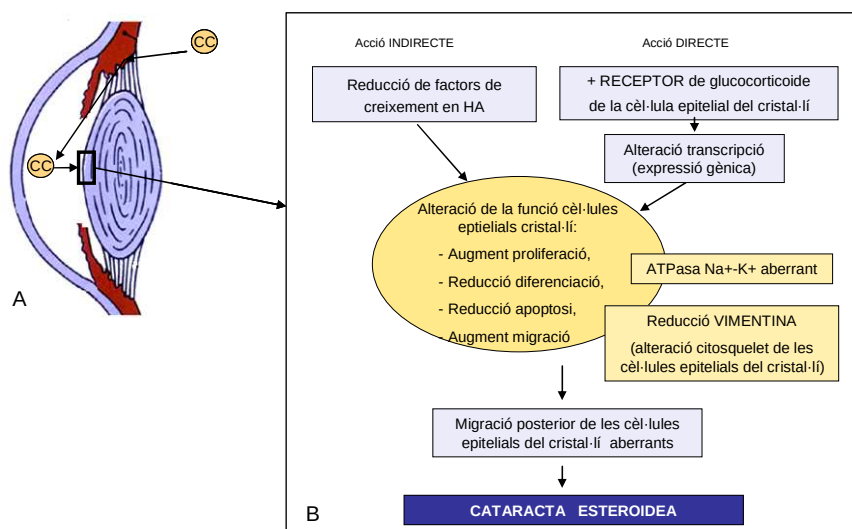


Figura 23. Possible fisiopatologia de la cataracta induïda per corticoides.

A. Els corticoides sistèmics (CC en taronja) passen a l'HA, on entren en contacte amb les cèl·lules epitelials anteriors del cristallí (reqüadre). B. Poden actuar de manera indirecta o directa, generant la seva migració aberrant que acaba produint la cataracta esteroidea.

4.4.2. Hipertensió ocular i glaucoma

És ben conegut que el tractament amb corticoides sistèmics i oculars fa augmentar la PIO, però existeix controvèrsia quant a l'efecte dels corticoides inhalats. Sembla que el tractament amb corticoides inhalats a dosis habituals no augmenta el risc d'hipertensió intraocular (HTO) ni de glaucoma¹⁵⁴, tot i que en tractaments a dosis altes i de llarga durada pot augmentar-ne el risc, sobretot quan hi ha antecedents familiars de glaucoma^{144, 146}. En cultius cel·lulars s'ha vist que els corticoides modifiquen la microestructura de la malla trabecular per alteracions en l'organització dels microfilaments de les cèl·lules trabeculars. El patró lineal fisiològic dels microfilaments d'actina¹⁷ és substituït per un patró en xarxa. També augmenta el dipòsit de substàncies a la matriu extracel·lular i es redueix la seva degradació. Amb tot, es produeix un augment de resistència al flux de drenatge de l'HA que es tradueix en un augment de la PIO¹⁵⁵.

4.4.3. Alteració de l'endoteli corneal en la MPOC

Només hi ha un article publicat que descriu alteració de l'endoteli corneal en la MPOC. Es tracta d'un estudi on va ser avaluada la DCE de la còrnia de pacients abans de la cirurgia de cataracta per determinar-ne els factors de risc de presentar una pobre reserva endotelial, que van definir com una DCE inferior a 2000 cèl·lules/mm². Van trobar que el grup amb malaltia pulmonar crònica (on agrupaven MPOC, asma bronquial, història de tuberculosi pulmonar, emfisema pulmonar, antecedent de càncer de pulmó i fibrosi pulmonar) on van ser inclosos 120 ulls de 64 pacients, era un grup de risc a presentar una pobre reserva endotelial amb una reducció estadísticament significativa de la DCE ($p<0.05$). No detallaven l'estat endotelial de la MPOC en concret, sinó englobada dins el grup de malalties pulmonars cròniques⁶⁶.

En un estudi propi ([Annex A1](#)) també es va trobar una alteració de l'endoteli corneal en la MPOC. L'estudi consistia a avaluar la DCE de les còrnies de cadàvers donants per a trasplantament de còrnia en funció de la causa de mort entre d'altres aspectes. Es van analitzar 654 globus oculars de 327 donants. Es va trobar que les còrnies dels donants afectes de MPOC, 74 en total, presentaven una reducció de la DCE estadísticament significativa ($p=0.037$) respecte a les còrnies dels donants amb mort sobtada que es van determinar com a grup control en no presentar cap malaltia crònica.

No existeixen estudis a la literatura on s'hagin estudiat els altres PME, com el CV i l'hexagonalitat, que de fet són els més relacionats amb la funció endotelial. Tampoc no es coneix la seva vulnerabilitat al trauma quirúrgic amb la cirurgia de la cataracta, ni si els mecanismes fisiopatològics de l'afectació sistèmica de la MPOC poden actuar alterant l'endoteli corneal.

5. ESTRÈS OXIDATIU I PARAOXONASA-1

5.1. Estrès oxidatiu

Totes les formes de vida mantenen un entorn reductor dins les seves cèl·lules. Un reductor és un element o compost que és capaç d'oxidar-se transferint electrons a un altre element o compost que s'anomena oxidant, que quedaria aleshores reduït. Aquest entorn reductor fisiològic és preservat pels sistemes antioxidants. L'EO és un fenomen causat per un desequilibri entre la producció d'ERO i el sistema antioxidant, a favor dels oxidants¹¹³.

Les ERO són molècules oxidants inestables i d'alta reactivitat que es troben en tots els sistemes biològics i són originats en el metabolisme molecular d'oxigen en els processos de producció d'energia, regulació del creixement cel·lular, fagocitosi i síntesi proteica. Desequilibris en aquest estat redox fisiològic per un excés d'ERO o una disminució de l'activitat antioxidant, poden causar efectes tòxics a través de l'oxidació dels lípids, de les proteïnes i l'ADN cel·lulars¹¹³.

La *peroxidació lipídica* consisteix en l'oxidació dels àcids grassos. Quan es produeix una peroxidació dels fosfolípids de les membranes cel·lulars s'altera l'estructura i la permeabilitat de la membrana, alterant els sistemes de transport, alliberant els continguts dels orgànuls com els enzims dels lisosomes i formant productes citotòxics com el MDA. L'*oxidació de proteïnes* també pot alterar-ne la seva funció, com la inactivació d'enzims, alteracions estructurals del citosquelet, alteració de factors de transcripció i de sistemes proteolítics. També poden modificar directament l'estructura de l'ADN.

5.2. Bioquímica de la paraoxonasa-1

La família de les paraoxonases (PON) compren 3 membres: PON-1, PON-2 i PON-3. La PON-1 i PON-3 es troben en circulació units a les lipoproteïnes d'alta densitat (HDL). Si bé fins fa poc es desconeixia el paper fisiològic d'aquests enzims, actualment moltes evidències apunten que té un *paper antioxidant*,

mitjançant la hidròlisi dels peròxids lipídics de les lipoproteïnes i de les membranes cel·lulars¹⁵⁶.

La PON-1 és un enzim amb un ampli espectre de substrats. Està involucrat en la protecció contra la toxicitat per xenobiòtics i *contra la peroxidació lipídica*. Té varies activitats, com la lactonasa i l'esterasa, essent l'activitat lactonasa la que té la propietat antioxidant per l'habilitat de degradar els lipoperòxids. Existeixen variants genètiques de l'enzim, polimorfismes, que fa que hi hagi una variabilitat considerable entre individus en l'activitat de PON-1^{156, 157}.

Malgrat que sempre s'ha considerat que la síntesi de PON-1 es troba al fetge i circula unida a l'HDL, en estudis realitzats en teixits de ratolí, s'ha detectat la seva presència en gairebé tots els òrgans, inclòs el teixit ocular. Aquestes troballes obren un debat sobre si la PON-1, i la PON-3, es sintetitzen de forma local als teixits o hi accedeixen provinents de l'HDL circulant, i permeten hipotetitzar sobre el possible paper que podrien tenir aquests enzims en altres malalties on l'EO hi estigui implicat donada la seva expressió proteica ubiqua^{158,159}.

A banda d'aquesta funció antioxidant, a la PON-1 se li atribueix també una funció antiapoptòtica, antiinflamatòria, i lligat a aquesta última, antiaterogènica¹⁵⁶.

Les HDL tenen un paper antiapoptòtic que perden quan s'oxiden. Gràcies al fet que la PON-1 actua contra la peroxidació de les HDL, aquesta pot mantenir la capacitat *antiapoptòtica*. A més a més, molts estudis experimentals demostren l'existència d'una estreta relació entre peroxidació lipídica i inflamació. La proteïna quimioatracent de monòcits (MCP-1) està molt estretament lligada a la reacció inflamatòria. Aquesta quimioquina regula la migració de monòcits als teixits i la seva subseqüent diferenciació a macròfags. La lipoproteïna de baixa densitat (LDL) oxidada pot estimular la producció de MCP-1. Pel contrari, la PON-1 inhibeix la producció de MCP-1, sembla que gràcies a la seva capacitat per inhibir l'oxidació de les LDL, i d'aquesta manera tenir una *funció antiinflamatòria*. Lligat a aquest procés, a la PON-1 també se li atribueix un *paper antiaterogènic* per un efecte protector en la formació de les fases inicials de l'aterosclerosi (**Figura 24**).

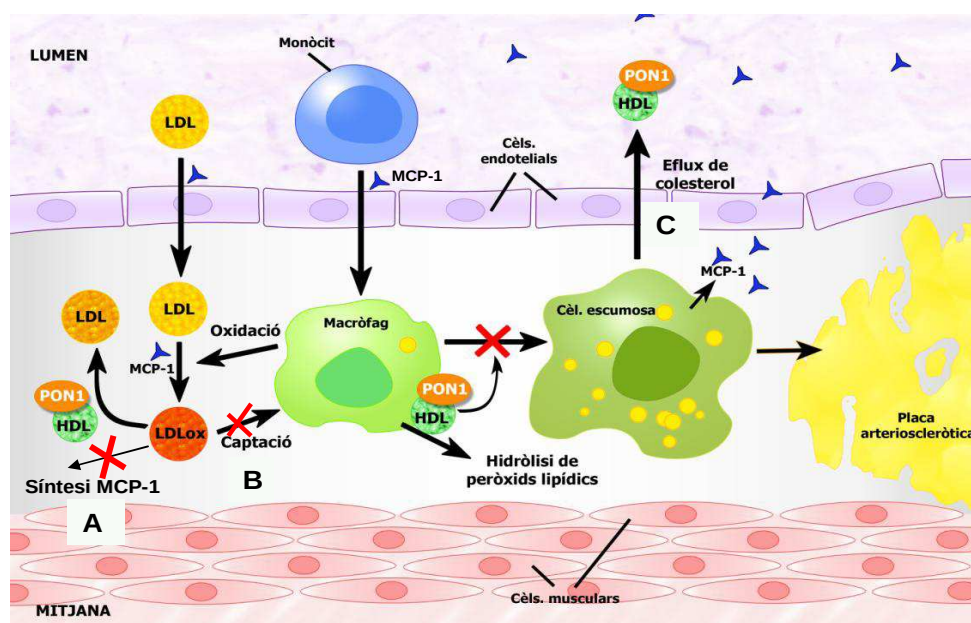


Figura 24. Paper protector de la PON-1 en les fases inicials de l'aterosclerosi. Quan per acció de l'MCP-1, els monòcits circulants s'activen i es diferencien a macròfags dins de la paret vascular alliberen ERO que oxiden les LDL. Aquestes LDL oxidades, a banda de promoure la síntesi de més MCP-1, són captades pels macròfags contribuint a la seva conversió en cèl·lules escumoses que promouran la formació de la placa aterioscleròtica. La PON-1 actua a diferents nivells per interceptar aquest procés: inhibeix la producció de MCP-1 (A), pot hidrolitzar els lípids oxidats de les LDL per que no siguin captades pels macròfags (B) i també s'ha vist que augmenten l'eflux de colesterol de dins dels macròfags cap al torrent circulatori (C) (*adaptat de Camps et al. Crit Rev Clin Lab Sci; 2009;46:83-106*).

Amb tot, hi ha un clar lligam entre la peroxidació lipídica i la inflamació amb les funcions de la PON-1 i l'HDL. De fet, davant malalties inflamatòries, s'ha vist una reducció de l'activitat en sèrum de la PON-1, amb la conseqüent desprotecció davant de l'EO, el que agreuja el procés inflamatori.

5.3. Paper de la paraoxonasa-1 en les malalties sistèmiques

La PON-1 té un efecte antioxidant per la degradació de peròxids lipídics i també se li atribueix un efecte anitinflamatori, per la qual cosa aquests enzims podrien afectar de forma important en una gran varietat de malalties.

S'han descrit alteracions en els nivells circulants de PON-1 en diverses malalties en què l'EO i/o la inflamació hi estan implicats, com la malaltia cardiovascular, l'aterosclerosi, la DM, l'hepatopatia crònica i malalties neurològiques com l'Alzheimer i el Parkinson^{156, 160-163}.

5.3.1. Paper de la paraoxonasa-1 en la MPOC

A la fisiopatologia de l'alteració pulmonar i sistèmica de la MPOC, l'EO hi té un paper crucial, tant pel dany directe al tracte respiratori per l'oxidació de lípids, proteïnes i ADN cel·lulars, com pel desencadenament dels altres mecanismes nocius^{113, 164} (explicat a l'apartat 4.3.2. de la Introducció). La PON-1 hi podria estar vinculada pel seu paper antioxidant per la seva acció contra la peroxidació lipídica. A més a més, si es té en compte que a la MPOC, l'EO i la inflamació són processos molt vinculats a la seva etiopatogenia i codepenents entre sí (**Figura 19 i 20**), i considerant que la PON-1 té efectes tan antioxidants com antiinflamatoris, la PON-1 hi podria tenir un paper important en aquests processos. Una altra possible relació seria que una possible disfunció de l'efecte antiaterogènic que té la PON-1, podria explicar la major gravetat de l'aterosclerosi que existeix a la MPOC¹²⁴. Tot i aquestes possibles vinculacions, es coneix molt poc sobre el paper antioxidant de la PON-1 en aquesta malaltia.

En un estudi es van detectar nivells de lípids i proteïnes oxidats elevats en plasma de pacients amb MPOC estable (n=43) respecte a controls sans (n=11) que es relacionaven amb el grau de severitat de la malaltia, i que en els graus II, III i IV segons la classificació de GOLD (**Taula 4**) es relacionaven amb una reducció de l'activitat de PON-1¹⁶⁵. Un altre estudi va detectar nivells plasmàtics elevats de MDA (producte de la peroxidació lipídica) i una activitat de PON-1 disminuïda en pacients amb MPOC estable (n=25) respecte als controls sans (n=20)¹⁶⁶.

Vinculat amb la MPOC està l'hàbit tabàquic tant habitual en els pacients amb MPOC. S'ha vist que l'extracte de fum del tabac inhibeix l'activitat de la PON-1 *in vitro*, i que existeix una associació entre l'hàbit de fumar i la disminució de l'activitat de la PON-1¹⁶⁷⁻¹⁶⁹.

5.4. La paraoxonasa a nivell ocular

5.4.1. Presència de paraoxonasa al teixit ocular

Comencen a haver-hi indicis que la PON-1, a banda de la seva coneguda síntesi hepàtica i circular unida a l'HDL, pugui tenir síntesi local a altres teixits i que, per tant, pugui intervenir en processos antioxidants locals^{158,159}. A nivell ocular, en un estudi realitzat en teixits de ratolí, es va observar la presència de la PON-1 i PON-3 a l'epiteli corneal, al cristal·lí i a la retina¹⁵⁷ (**Figura 25**). En teixit ocular humà, també s'ha evidenciat l'expressió proteica de PON-1 en mostres de cristal·lí¹⁷⁰ i de PON-3 a la malla trabecular¹⁷¹.

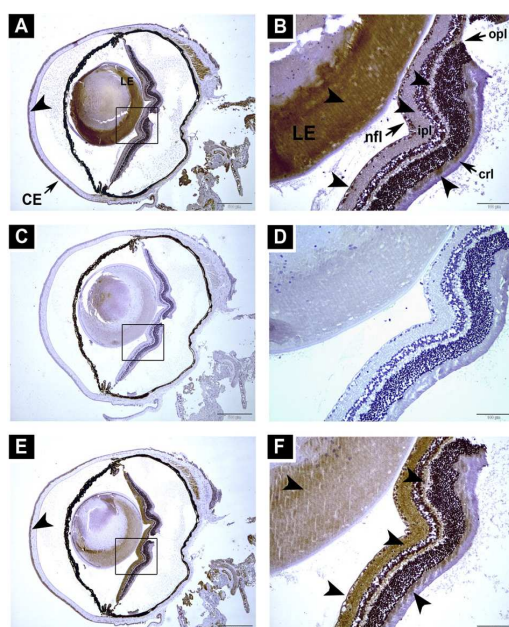


Figura 25. Anàlisi de PON en teixit ocular de ratolí. Tincions immunohistoquímiques per PON-1 (A i B), PON-2 (C i D) i PON-3 (E i F). S'evidencia tinció positiva (fletxes) de PON-1 (A i B) i PON-3 (E i F) a l'epiteli corneal (CE), cristal·lí (LE) i a diverses capes de la retina (opl, cri, ipl, nfl) (adaptat de Marsillach et al. *Free Rad Biol Med.* 2008;45:146-157).

Cada vegada hi ha més evidències de que l'EO és un factor clau en malalties oculars lligades a l'envelliment, com la cataracta, el glaucoma i la degeneració macular associada a l'edat (DMAE). El paper de la PON com a antioxidant en aquestes afeccions encara és poc conegut, tot i que comencen a haver estudis que impliquen la seva participació.

5.4.2. Paraoxonasa i la cataracta

El cristal·lí és especialment sensible a la lesió oxidativa ja que les fibres del cristal·lí es van compactant cap al nucli i no són renovades (explicat a l'apartat 4.4.1. de la Introducció). Les ERO peroxiden les membranes lipídiques i degraden les proteïnes de les fibres del cristal·lí, fent que s'agreguin i precipitin de manera anòmala, reduint així la transparència del cristal·lí i formant la cataracta. El sistema antioxidant conegut de què disposa el cristal·lí (glutatió, superòxid dismutasa i catalasa), es troba disminuït en aquest procés. De fet, recentment s'està demostrant *in vitro*, que l'acció de polifenols exògens potencia aquests sistemes antioxidants enlentint el procés de la cataractogènesi^{172, 173}.

Respecte al paper de la PON-1 com a antioxidant en el procés de formació de cataracta, s'ha vist que els pacients amb cataracta tenen una activitat de PON-1 en plasma inferior respecte als controls¹⁷⁴. El mateix grup, va evidenciar expressió proteïca de PON-1 en cataractes de cristal·lí humans, principalment a la regió de l'equador del cristal·lí. Tenint en compte que el cristal·lí és un teixit avascular, s'ha suggerit que la seva presència sigui de síntesi local com a sistema antioxidant per combatre la formació de cataracta¹⁷⁰. Aquest mateix estudi va detectar una activitat reduïda de PON-1 i un augment de MDA (producte de la peroxidació lipídica) en les cataractes de pacients amb DM respecte a les cataractes senils.

5.4.3. Paraoxonasa i el glaucoma

Existeixen clars indicis que en l'inici i progressió del glaucoma hi intervé un desequilibri entre la presència de prooxidants i els sistemes antioxidants a nivell de l'HA, que actuen principalment amb la peroxidació lipídica i la lesió oxidativa de l'ADN de la malla trabecular^{171, 175}. S'ha evidenciat una reducció d'expressió de la PON-3 a la malla trabecular en un estudi realitzat amb teixit ocular provinent de donants amb glaucoma crònic d'angle obert¹⁷¹.

5.4.4. Paraoxonasa i la DMAE

La DMAE és una degeneració de la retina que generalment comença amb les druses, dipòsits lipoprotèics extracel·lulars situats entre l'epiteli pigmentari de la

retina i la membrana de Bruch, i que pot progressar cap a la presentació atròfica o l'exsudativa amb neovascularització coroidal. En l'etiologia hi ha un fort component genètic que implica diversos factors inflamatoris. S'ha establert a l'EO com a factor de progressió de la malaltia. De fet, estudis epidemiològics mostren com el tabaquisme fa empitjorar la progressió, i pel contrari, com els complements alimentaris amb antioxidants l'enlenteixen. Comença a haver estudis que mostren com una reducció de l'activitat en plasma de la PON-1 pot tenir relació amb la presència de DMAE¹⁷⁷ i que pot tenir variacions en funció del seu polimorfisme genètic¹⁷⁶.

5.4.5. Paraoxonasa i la retinopatia diabètica

La peroxidació lipídica no només intervé en les malalties macrovasculars sinó que també en la disfunció microvascular, com la que hi ha a la RD. Se sap que en la DM hi ha una reducció de l'activitat de PON-1 plasmàtica. Per tant, la reducció de l'activitat de la PON-1 en la DM podria intervenir en la RD. De fet, se sap que la unió de homocisteïna a les proteïnes fa que aquestes siguin disfuncionals i que aquest procés intervé en la macroangiopatia diabètica i en les complicacions microvasculars, i que l'activitat lactonasa de la PON-1 contribueix a la seva detoxificació, i per tant, reduint-ne els efectes tòxics. S'ha vist que en l'humor vitri de pacients amb RD proliferativa hi ha un augment de PON-1 i de la seva activitat, per augment de la permeabilitat dels neovasos, segurament com efecte protector per eliminar la homocisteïnització de proteïnes¹⁷⁸.

HIPÒTESI i OBJECTIUS

HIPÒTESI

Tenint en compte que la MPOC es considera una malaltia sistèmica amb afectació multiorgànica, podrien estar afectades estructures oculars com l'endoteli de la còrnia. Existeixen indicis d'alteració de l'endoteli corneal en aquests pacients havent-se estudiat només la DCE. Per tant, és probable que també presentin alteració dels altres paràmetres morfològics endotelials (CV i hexagonalitat), que de fet són els més predictius de la seva reserva funcional. Per aquest motiu, i tenint en compte la inevitable alteració endotelial que es produeix amb la cirurgia de la cataracta, és possible que també puguin ser més vulnerables al trauma quirúrgic i que tinguin més risc de descompensació corneal postquirúrgica.

L'afectació sistèmica de la MPOC és multifactorial. Es coneix que l'estrès oxidatiu, la inflamació, la hipòxia i els corticoides són els principals mecanismes fisiopatològics que hi estan involucrats. En l'alteració de l'endoteli corneal en els pacients amb MPOC hi podrien intervenir alguns d'aquests factors o la combinació d'ells.

Si l'estrès oxidatiu té un paper important en el desenvolupament de la MPOC, en concret la peroxidació lipídica, i la PON-1 exerceix un efecte antioxidant protector contra aquests lipoperòxids, és probable que la PON-1 intervingui d'alguna manera en aquesta malaltia. A més a més, a la PON-1 també se li atribueix un efecte antiinflamatori, procés que també intervé de manera codepenent amb l'estrès oxidatiu de la MPOC. Tenint en compte aquests fets i considerant que es comença a conèixer la seva presència en teixit ocular, la PON-1 podria estar vinculada en l'alteració de l'endoteli corneal de la MPOC.

Referent als altres mecanismes fisiopatològics, podrien estar també vinculats en la gènesi de l'alteració de l'endoteli de la còrnia. El TNF-alfa com a citoquina proinflamatòria més vinculada en l'afectació sistèmica de la MPOC. La hipoxèmia tenint en compte que l'endoteli corneal obté l'oxigen directament de l'HA que hi arriba des de la circulació sanguínia en la seva formació al cos ciliar. I finalment els corticoides, sabent que estan implicats en l'alteració d'altres estructures oculars com la cataracta i el glaucoma esteroïdals.

OBJECTIUS

OBJECTIU GENERAL

Conèixer si els pacients amb MPOC tenen més risc de tenir alteracions de l'endoteli corneal basal, i si tenen més susceptibilitat a tenir lesió de l'endoteli corneal amb el trauma quirúrgic en ser operats de cataractes. A més a més, poder establir si els mecanismes fisiopatològics implicats en l'afectació sistèmica de la MPOC (estrès oxidatiu, inflamació, hipòxia i corticoides) estan involucrats en l'alteració de l'endoteli corneal (**Figura 26**).

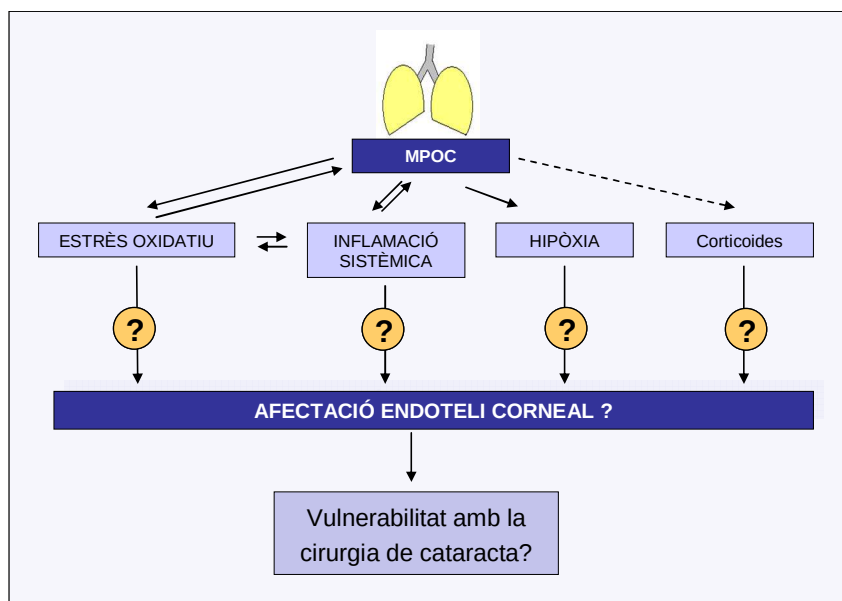


Figura 26. Visió global de l'objectiu general

OBJECTIUS ESPECÍFICS

1. Afectació de l'endoteli corneal basal en la MPOC

Objectivar si la MPOC és factor de risc de tenir alteracions dels paràmetres morfològics endotelials i si aquestes alteracions de l'endoteli corneal comporten alteració funcional respecte al gruix de la còrnia.

2. Afectació de l'endoteli corneal amb el trauma quirúrgic

Conèixer la repercussió de la cirurgia de la cataracta sobre els paràmetres morfològics endotelials i sobre el gruix de la còrnia en els pacients amb MPOC, i si aquests pacients tenen una major vulnerabilitat a la lesió de l'endoteli corneal amb el trauma quirúrgic.

3. Aproximació al mecanisme fisiopatològic de la lesió de l'endoteli corneal en la MPOC

3.1. Estrès oxidatiu

3.1.1. Conèixer si hi ha diferències de concentració de la PON-1 i les seves activitats enzimàtiques en sang en els diferents grups d'estudi, per tal de tenir una visió del paper que pot tenir la PON-1 a la MPOC.

3.1.2. Determinar si hi ha relació entre la concentració de la PON-1 i la seva activitat lactonasa sistèmiques, amb el grau de lesió de l'endoteli corneal i la paquimetria.

3.1.3. Analitzar si existeix associació entre els nivells de la PON-1 en HA i la lesió endotelial corneal i la paquimetria.

3.1.4. Estudiar la presència de PON-1 en el cristal·lí i si hi ha diferències en la seva concentració segons els grups d'estudi. Un cop determinada la seva existència, objectivar si aquesta concentració de PON-1 en el cristal·lí té algun efecte sobre el grau de lesió de l'endoteli corneal i la paquimetria.

3.2. Inflamació

3.2.1. Comparar els nivells de TNF-alfa en sang entre els diferents grups d'estudi i determinar si aquests nivells tenen relació amb el grau de lesió de l'endoteli corneal i la paquimetria.

3.3. Hipòxia

3.3.1. Estudiar quin efecte té la hipòxia sistèmica sobre el grau de lesió de l'endoteli corneal i la paquimetria.

3.3.2. Analitzar si la hipòxia en HA té relació amb el grau de lesió de l'endoteli corneal i la paquimetria.

3.4. Corticoides

3.4.1. Determinar quin efecte tenen els corticoides sobre la lesió de l'endoteli corneal i la paquimetria.

MATERIAL I MÈTODES

1. VISIÓ GLOBAL CONCEPTUAL I METODOLÒGICA

La següent figura (**Figura 27**) és un esquema gràfic que pretén donar una visió global de la relació entre la hipòtesi de treball i la metodologia emprada per tal de donar resposta als objectius plantejats. En els apartats posteriors s'explicaran els mètodes i el protocol en detall.

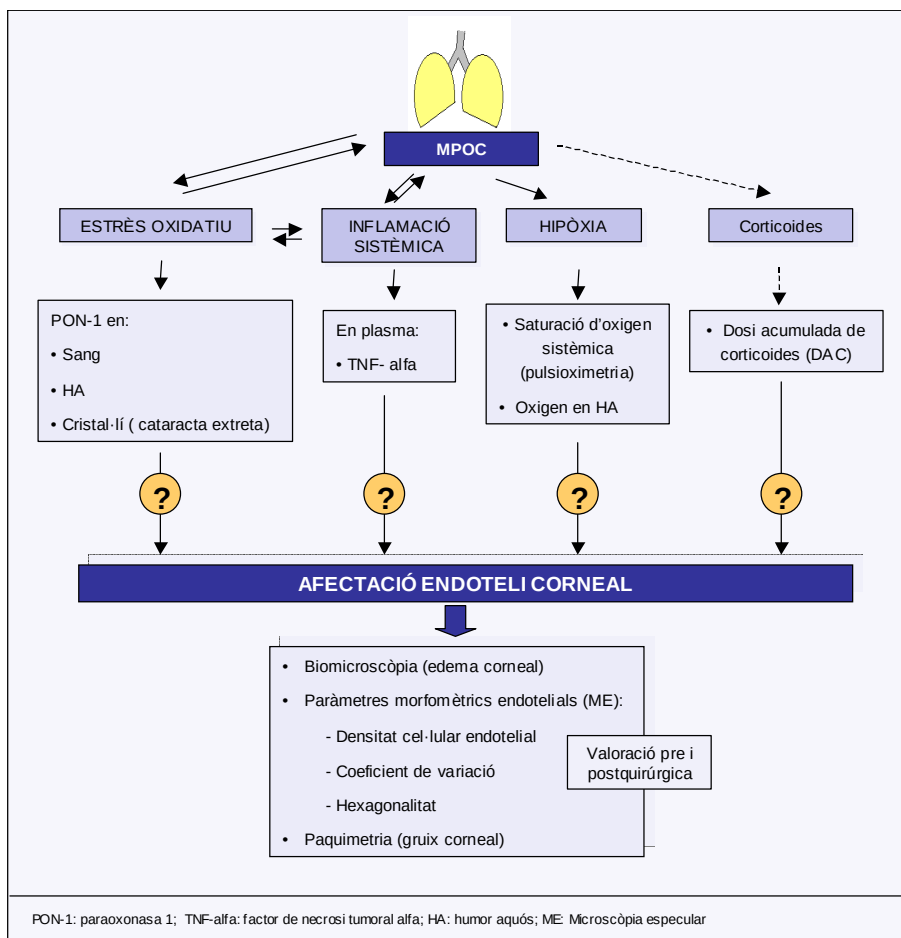


Figura 27. Visió global metodològica. S'estudia l'efecte sobre l'endotelí corneal de l'EO (amb l'anàlisi de la PON-1 sanguínia, en HA i en cristal·lí), de la inflamació (TNF-alfa en sang), de la hipòxia en sang i en HA, i de la DAC. Per tal de conèixer l'estat basal de l'endotelí corneal en la MPOC i la seva repercussió amb la cirurgia de la cataracta, s'avalua la ME, la paquimetria i la biomicroscòpia pre i postquirúrgicament.

2. DISSENY DE L'ESTUDI

Per tal de respondre als objectius exposats, s'ha realitzat un estudi observacional analític de cohorts (**Figura 28**). Un cop valorats i aplicats els criteris d'inclusió i exclusió dels pacients mitjançant una anamnesi i una exploració oftalmològica inicials, van ser formats els grups d'estudi: un grup de pacients amb MPOC (grup MPOC) i un grup control sense MPOC (grup No-MPOC). En funció dels valors de l'espirometria es va determinar el grau de MPOC (**Taula 4**), generant els grups d'estudi MPOC lleu-moderat (LL+M) i MPOC greu-molt greu (G+MG).

Prequirúrgicament, es va realitzar una avaluació sistèmica i una avaluació de l'endoteli corneal. L'avaluació sistèmica va incloure l'espirometria, l'anàlisi de sang per determinar la PON-1 i el TNF-alfa, la pulsioximetria per conèixer el grau d'hipòxia i l'anamnesi per detallar la DAC. L'avaluació endotelial va ser feta mitjançant la LF, la ME i la paquimetria (**Figura 27 i 28.1**). En els participants de tots els grups que van requerir de cirurgia de cataracta, en el mateix acte quirúrgic se'ls va extreure mostra d'HA i es van recollir els fragments de cataracta extreta per analitzar les possibles noxes locals de la lesió endotelial (grau d'hipòxia i PON-1) (**Figura 27 i 28.2**). Per conèixer la susceptibilitat de la lesió de l'endoteli corneal al trauma quirúrgic dels pacients amb MPOC respecte als controls, va avaluar-se l'estat de l'endoteli corneal després de la cirurgia de la cataracta mitjançant els mateixos mètodes de l'avaluació prequirúrgica (**Figura 27 i 28.3**).

Respecte a la mida de la mostra, es va calcular inicialment que eren necessaris 66 ulls en cada grup (33 al grup MPOC i 33 al No-MPOC) acceptant un risc tipus I o alfa del 5% amb una potència del 84% sota una hipòtesi unilateral. Aquest càlcul es va basar amb els valors de DCE ja que no es disposava d'informació dels altres PME (CV i hexagonalitat) en la MPOC encara que podrien tenir una major rellevància clínica. S'esperava que la mitjana de DCE del grup No-MPOC seria similar a la trobada per altres investigadors^{54, 66, 68, 95} i de l'ordre de 2750 cèl·lules/mm² (SD= 482,2 cel /mm²). Pel que fa a la DCE dels individus amb MPOC es va considerar una mitjana de 2459 cèl·lules/mm² (SD= 396 cèl·lules/mm²) a partir de dades pròpies no publicades donants de còrnia amb MPOC (**Annex A1**) i de l'únic article on s'objectiva aquesta dada⁶⁶.

Finalment, van ser reclutats 172 ulls de 86 pacients entre el juny del 2006 i el maig del 2010. Es va constituir una mida superior a la calculada perquè el propòsit era analitzar també els altres PME dels que no disposàvem a priori de dades per calcular la mida de la mostra necessària. Es van reclutar 62 ulls del grup No-MPOC i 110 del grup MPOC dels quals 68 ulls en el grup LL+M i 42 ulls en el grup G+MG. Van ser intervinguts de cataractes 112 ulls. Al següent esquema s'especifica el nombre d'ulls i el percentatge analitzat per a cada grup i per a cada avaluació (**Figura 28**).

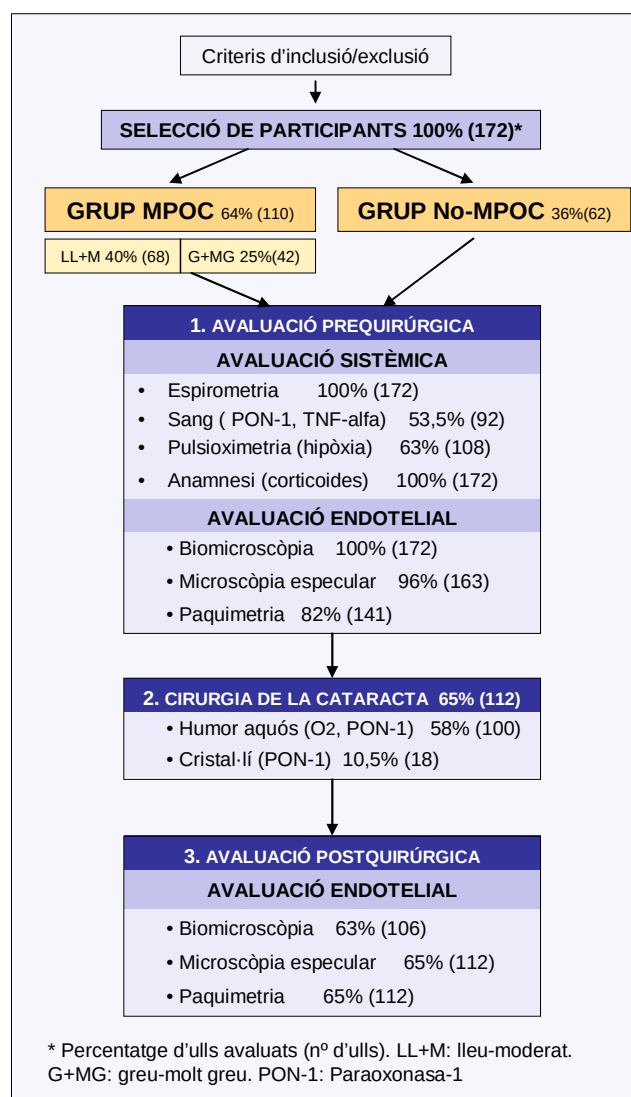


Figura 28. Disseny de l'estudi.

El projecte d'investigació va ser aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica de l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus al juliol del 2005 (**Annex A2**). L'estudi no inclou cap prova invasiva, tret de la intervenció de cataractes que ha estat un procediment convencional i pel qual els pacients hi haguessin passat igualment tot i no entrar a l'estudi. Conten amb el benefici de tenir un estudi de l'endoteli corneal que en la pràctica diària no se sol realitzar.

3. CRITERIS DE SELECCIÓ DELS PARTICIPANTS

La selecció dels participants va ser realitzada a partir del dispensari del Servei d'Oftalmologia de l'Hospital Universitari de Sant Joan de Reus, principalment a través de les visites que ens van ser remeses per valorar la cirurgia de la cataracta. Als oftalmòlegs del nostre servei se'ls va facilitar el llistat amb els criteris d'inclusió i exclusió de l'estudi per recollir aquells pacients que complien els requisits i remetre-me'ls a visita. Cal tenir en compte que ha estat complex obtenir pacients amb MPOC que no tinguessin cap patologia dels criteris d'exclusió (**Taula 5**), com per exemple la DM i el glaucoma, tenint en compte l'edat avançada i les comorbiditats que habitualment presenten.

3.1. Criteris d'inclusió

Pacients diagnosticats de MPOC pel Servei de Pneumologia tant del nostre hospital com extern, incloent qualsevol temps d'evolució i grau de MPOC (grup MPOC), i pacients no diagnosticats de MPOC (grup No-MPOC). Quan l'anamnesi i l'espirometria dels pacients d'aquest últim grup eren suggerents de MPOC eren derivats al pneumòleg i en cas de confirmació del diagnòstic de MPOC eren inclosos al grup MPOC.

Preferentment van recollir-se pacients que requerien ser intervinguts de cataracta, quan limitava l'AV a $\leq$ a 0.4 amb els optotips d'Snellen. Quan no havien de ser intervinguts es prenen les dades prequirúrgiques per avaluar l'alteració de l'endoteli corneal basal (**Figura 28.1**).

3.2. Criteris d'exclusió

Pacients afectats d'anomalies amb alteració de l'endoteli corneal demostrada i/o amb situacions que puguin interferir en les interpretacions dels resultats. Són criteris d'exclusió tant pel grup MPOC com pel grup No-MPOC (**Taula 5**).

Taula 5. Criteris d'exclusió de l'estudi.	
OCULARS	
• Alteracions de l'endoteli corneal primàries* (com la Distròfia endotelial de Fuchs) • Malalties infeccioses o inflamatòries oculars* • Queratoconus* • Glaucoma* • Síndrome pseudoexfoliativa* • Traumatisme ocular* • Cirurgia ocular previa: de cataracta, LASIK, glaucoma* • Portador de lents de contacte* • Cataracta molt avançada*	
SISTÈMIQUES	
• Diabetis Mellitus* • Insuficiència renal crònica* • Altres malalties pulmonars** • Ingesta elevada de corticoides de dosi desconeguda***	

* Tenen alteració de l'endoteli demostrada (Taula 3)

** Per evitar interferir en els resultats

*** No es podria calcular la dosi acumulativa de corticoides (DAC)

Totes les situacions oculars i/o sistèmiques que es coneix que tenen alteració de l'endoteli corneal no ens permetrien saber fins a quin punt l'alteració és per l'efecte de la MPOC i per tant cal excloure-les. Pel mateix motiu també es van excloure els pacients amb altres malalties pulmonars concomitants a la MPOC. També es van excloure situacions en què els pacients haguessin rebut una ingesta elevada de corticoides sistèmics i/o inhalats fos quina fos la indicació, si no coneixien la dosi rebuda, perquè no podríem tenir-la en compte en calcular la dosi acumulativa per valorar-ne l'efecte en l'endoteli corneal.

En l'avaluació sistèmica i ocular prequirúrgica, que s'explica en detall al següent apartat, es van revisar en detall totes aquestes situacions descrites per tal de descartar-les i poder excloure els pacients afectats.

4. MÈTODES I PROTOCOL

4.1. Consentiment informat i recollida de dades

Als pacients candidats a participar en el projecte se'ls va explicar en què consistia l'estudi i se'ls va entregar un full informatiu (**Annex A3**). Després es va procedir a la signatura del document de consentiment informat en cas d'acceptar a participar en el projecte d'investigació (**Annex A4**). Van recollir-se totes les dades de cada pacient en unes fitxes de recollida de dades (**Annex A5**).

4.2. Avaluació sistèmica

4.2.1. Anamnesi

Primerament van recollir-se les dades de filiació del pacient, així com l'edat i el sexe. Es va valorar la presència o absència de MPOC ja diagnosticada. S'ha de considerar el diagnòstic de MPOC en tot pacient de més de 40 anys amb història de dispnea, tos crònica i/o expectoració sobretot si hi ha factors de risc com el tabaquisme, però cal l'espirometria per poder establir el diagnòstic¹⁰⁶. Els pacients amb simptomatologia respiratòria i/o espirometria patològica eren derivats al Servei de Pneumologia a fi de fer-ne el diagnòstic. També es va preguntar per l'existència de les patologies i situacions sistèmiques i oculars d'exclusió de l'estudi com DM, IRC, altres patologies pulmonars, presa de corticoides de dosi desconeguda, antecedents oculars, etc. (**Taula 5**).

Per completar l'anamnesi, es va interrogar als pacients del grup MPOC sobre si incloïen corticoides inhalats en el seu tractament de base i se'n va calcular la DAC (*dosi mitja diària x 365 x anys de tractament*) expressats en mil·ligrams. Com que les pautes de tractament no sempre són les mateixes al llarg del temps, es va recollir la posologia del tractament actual i dels tractaments previs (posologia i temps de durada), fent també una recerca a la història clínica. Com que les exacerbacions i els tractaments rebuts també queden recollides a la història, també es va addicionar al càlcul de la DAC. Per calcular la *dosi mitja diària* de corticoides inhalats es van tenir en compte les inhalacions diàries i els micrograms (μg) que contenen cada inhalació (**Taula 6**).

Taula 6. Dossificació de corticoides inhalats		
Nom comercial	Principi actiu	μg /inhalació
Pulmicort turbohaler	Budesonida	100
Pulmicort suspensió aerosol	Budesonida	100-200*
Meflonide	Budesonida	200-400*
Simbikor	Budesonida	180
Rilast	Budesonida	160
Seretide	Propionat de fluticasona	125
Plusvent	Fluticasona	250

* Segons presentació

4.2.2. Espirometria

L'espirometria és la mesura més objectiva i reproducible per mesurar la limitació al flux aeri i es considera la prova *gold estàndard* pel diagnòstic i la monitorització de la progressió de la MPOC¹⁰⁶.

Tant els pacients diagnosticats de MPOC com els del grup control, van realitzar una espirometria al Servei de Pneumologia del nostre hospital. La tècnica va ser feta amb un espiròmetre Datospir-120 (Sibelmed, Barcelona), amb calibratge diari de volum mitjançant una xeringa de 3 litres amb flux alt, mig i baix i tenint en compte la temperatura i pressió atmosfèrica de l'habitació, acceptant una variabilitat del 5% durant 1 any. Es van tenir en compte l'edat, el sexe, el pes i la raça per comparar-ho amb valors de referència, que són els proposats per la

Societat Espanyola de Patologia Respiratòria^{179, 180}. Per tal d'estandarditzar la prova està establert que cal evitar haver fumat en les 24 hores anteriors, evitar menjar copiós i estimulant en les 2-3 hores prèvies, evitar exercici en l'hora anterior i retirar els broncodilatadors inhalats unes hores abans en funció del fàrmac inhalat (**Taula 7**).

Taula 7. Temps de supressió dels broncodilatadors inhalats abans de fer l'espirometria.	
Broncodilatador inhalat	Hores
Agonistes β -adrenèrgics d'acció curta (salbutamol, terbutalina)	6
Agonistes β -adrenèrgics d'acció perllongada (formoterol, salmeterol)	12
Anticol·linèrgics d'acció curta (bromur d'ipratropi)	6
Anticol·linèrgic d'acció perllongada (bromur de tiotropi)	24
Teofil·lines	36-48

La prova va ser feta per un supervisor experimentat i explicant als pacients en què consistia la tècnica. Cal que els pacients estiguin asseguts en cadira còmode i amb respatllet i sense creuar les cames. Se'ls col·loca una pinça al nas per tancar els narius, i el broquet amb filtre bacterià d'un sol us a la boca. Han de procedir omplint els pulmons tan com es pugui (inspiració màxima lenta) i bufar de forma intensa des del principi i sense parar fins que hagin buidat els pulmons (expiració màxima ràpida i forçada).

Es van aplicar els *criteris d'estandardització de l'espirometria*^{179, 180}, on cal tenir en compte els criteris d'acceptabilitat i de reproductivitat per validar la maniobra. Els criteris d'*acceptabilitat* inclouen: un inici ràpid, brusc, sense oscil·lació i sense tos, una corba al llarg curs de la maniobra sense osques i contínua, que el temps de maniobra sigui de més de 6 segons i que el flux final sigui sense canvis en l'últim segon. Cal com a mínim 3 maniobres acceptables, amb un màxim de 8. Pels criteris de *reproductivitat* cal que la diferència en els valors de FVC i FEV₁ de les dues millors maniobres siguin de menys del 5% o de 150 ml. Se seleccionen i es guarden els millors valors de FVC i FEV₁, tot i que siguin de maniobres diferents.

Es va determinar la FVC, el FEV₁, i el quocient FEV₁/FVC, abans i després de l'administració d'un broncodilatador (2 inhalacions de 100 μ g de salbutamol). Un

FEV₁/FVC inferior a 0.7 postbroncodilatació confirma la presència d'obstrucció bronquial. La prova broncodilatadora ens permet avaluar si es produeix millora després de l'acció d'un broncodilatador, i per tant, demostrar la limitació al flux aeri no totalment reversible definitiva de la MPOC¹⁰⁶.

L'espirometria va permetre confirmar el diagnòstic dels pacients amb MPOC ja diagnosticats i detectar els infradiagnosticats. Els individus que prèviament no es coneixien MPOC o afectes d'altres patologies pulmonars en els que l'espirometria sortia alterada, eren derivats al servei de pneumologia. Si es confirmava el diagnòstic de MPOC s'inclouïen al grup MPOC, i si presentaven altres malalties pulmonars eren exclosos de l'estudi (**Taula 5**). En tots els pacients amb MPOC es va determinar el grau de la malaltia en funció del valor de FEV₁ postbroncodilatació (**Taula 4**). Els pacients es van agrupar en funció de la severitat de la MPOC en els grups MPOC LL+M i MPOC G+MG. Per tant, el resultat de l'espirometria ens va determinar 3 grups d'estudi: el grup No-MPOC, el grup MPOC LL+M i el grup MPOC G+MG.

4.2.3. Pulsioximetria

La pulsioximetria és una tècnica no invasiva que mesura la *saturació d'oxigen* (SaO₂) de l'hemoglobina de la sang arterial circulant. Com que la SaO₂ es relaciona amb la pressió parcial d'oxigen (PaO₂) (**Figura 29**), mitjançant la pulsioximetria podem obtenir informació de manera indirecta de l'estat d'oxigenació sistèmica de manera no invasiva. El fonament de la pulsioximetria es basa en el fet que el color de la sang varia depenent del grau de SaO₂ de l'hemoglobina i pren la mesura per espectrofotometria. La pinça que es col·loca al dit emet un feix de llum i el sensor capta la llum reflectida a la pell. En funció de la llum reflectida, es pot conèixer la quantitat de llum que ha estat absorbida per la oxihemoglobina circulant i així es pot conèixer la SaO₂. A grans trets, els valors normals oscil·len entre el 97% i el 100%. Per sota de 95% sol indicar situacions patològiques i valors inferiors a 90% indiquen insuficiència respiratòria. És una tècnica molt útil per la seva senzillesa, rapidesa, fiabilitat, reproductivitat i innocuïtat, tot i que per valors inferiors al 80% es perd fiabilitat^{181, 182}.

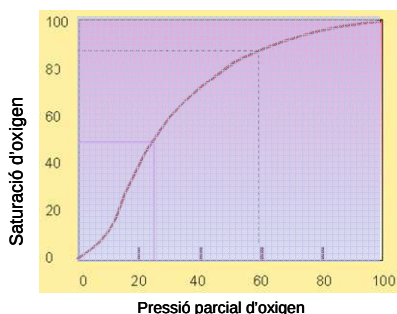


Figura 29. Relació entre la saturació d'oxigen i la pressió parcial d'oxigen.

El mateix dia de la cirurgia, en monitoritzar-se les constants vitals prèviament a l'entrada a quiròfan, es van recollir els valors de SaO₂ sistèmica mitjançant el pulsioxímetre connectat a un sistema de monitorització complex (Marquette DASH 2000, Medical Systems). La pinça amb el sensor del pulsioxímetre va ser col·locat generalment al dit índex previ massatge del tou del dit. En els casos amb laca d'ungles, es va retirar amb acetona per evitar interferències en la lectura. Es van anotar 2 valors registrats a la pantalla del monitor de SaO₂ en %, separats per un interval de temps de 30-60 minuts, amb el pacient en repòs, fent la mitja dels dos valors.

Per conèixer l'estat de l'oxigenació sistèmica, és va optar per la pulsioximetria enlloc de la gasometria arterial per evitar cap intervenció invasiva fora de la protocolària en la cirurgia de cataracta.

4.3. Exploració oftalmològica general

Va ser duta a terme en la mateixa consulta d'exploració, sense conèixer el grup on pertanyien els pacients.

4.3.1. Agudesia visual

Es va recollir l'AV sense i amb estenopec amb els optotips d'Snellen com a avaluació pre i postquirúrgica de l'exploració habitual de la cataracta.

4.3.2. Biomicroscòpia

Va ser utilitzada sempre la mateixa LF (SL-D, Topcon, Japó). Per poder explorar detalladament totes les estructures, es van dil·latar les pupiles amb la instil·lació de gotes de fenilefrina i tropicamida cada 20 minuts abans de l'exploració i després d'haver valorat l'AV.

Prequirúrgicament, l'exploració del segment anterior va permetre descartar les patologies i situacions dels criteris d'exclusió oculars (**Taula 5**). Sobretot va ser important descartar la presència de *guttles* endotelials i/o d'edema corneal. També es va determinar el grau de la cataracta segons el sistema de classificació LOCS III^{183, 184}, exclouent les de grau NO6 NC6, C5 i P5, per associació amb alteració de l'endoteli corneal⁶⁶ i perquè sovint poden requerir d'una tècnica quirúrgica diferent a la convencional i per tant obtenir resultats no comparables amb la resta.

Després de la cirurgia de la cataracta, amb la LF es va realitzar l'exploració del segment anterior convencional (estanqueïtat de paracentesi i incisió, posicionament de la LIO, etc) a les 24 hores, a la 1a, 2a i 6a setmana després de la cirurgia, valorant la presència o absència d'edema corneal a la 2a setmana com a paràmetre de repercussió funcional de la lesió de l'endoteli corneal.

4.3.3. Presió intraocular

Mitjançant el tonòmetre d'aplanament de Goldmann, sobretot per poder detectar possibles glaucomes no diagnosticats. En el cas de detectar una HTO amb criteris de glaucoma (alteració glaucomatosa campimètrica i anatòmica del nervi òptic) s'hagués exclòs el pacient de l'estudi (**Taula 5**).

4.3.4. Fons d'ull

Exploració de fons d'ull central amb LF amb lent de 90D (Volk, Mentor, USA) de no contacte i perifèric amb oftalmoscopia indirecta amb lent de 28D (Volk, Mentor, USA) dins de l'exploració de visita de protocol prèvia a la cirurgia de cataracta per detectar lesions i per poder establir un pronòstic visual postquirúrgic.

4.4. Avaluació de l'endoteli corneal

4.4.1. Microscòpia especular

Es va utilitzar un ME de no contacte de camp ampli (SP-2000P, Topcon). Quan el pacient es col·loca situat davant l'aparell recolzat a la mentonera, presenta un sistema d'autofocus i de captura d'imatges automatitzada, que realitza la microfotografia de l'endoteli corneal central quan té l'enfocament òptim. Obté una microfotografia del mosaic cel·lular de la còrnia central, i el software del mateix ME aplica un mètode d'anàlisi automàtic (Image-Net 2000 imaging system) que calcula els PME (la DCE, el CV i l'hexagonalitat), aportant una bona fiabilitat i reproductivitat^{43, 44} (**Figura 30**).

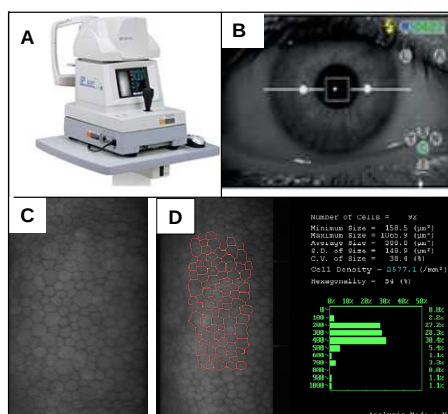


Figura 30. Microscòpia especular.

A. Model Topcon SP-2000P. B. Autofocus. C. Microfotografia del mosaic cel·lular endotelial corneal. D. Anàlisi dels PME.

La tècnica va ser feta prèvia a la cirurgia de cataracta i 3 mesos postquirúrgicament, quan la reorganització cel·lular queda estabilitzada^{52, 57}. Es van realitzar 5 microfotografies de l'endoteli corneal central de cada ull per cada pacient sense conèixer a quin grup d'estudi pertanyien. De les 5 microfotografies de cada ull analitzades es van descartar les dues de valors extrems i/o de mala qualitat (**Figura 31**), recollint el valor mitjà de les 3 fotografies restants per cada un dels PME per a cada ull.

Si la imatge de ME obtinguda ens hagués mostrat moltes *guttles* endotelials (**Figura 31**) podria correspondre a una Distròfia endotelial de Fuchs que en

l'exploració de segment anterior amb LF ens hagués passat desapercebuda, i en aquest cas s'exclouria de l'estudi (**Taula 5**).

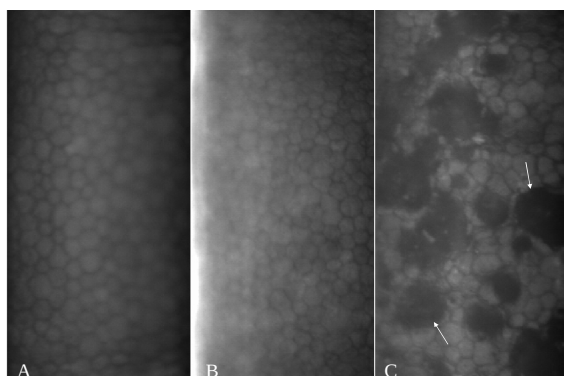


Figura 31. Imatges excloses. No s'utilitzen les dades de microfotografies de mala qualitat (A i B). La presència de *guttles* endotelials (*fletxes*) fa excloure al pacient de l'estudi (C).

Davant de PME amb molt poca reserva funcional (**Taula 2**), van recollir-se les dades prequirúrgiques per incloure-les a l'estudi (**Figura 28.1**), però la cirurgia de la cataracta va ser amb tècniques especials de protecció endotelial (DVO dispersius, mode d'ultrasons *pulsats* i reducció del temps quirúrgic), amb la qual cosa els valors postquirúrgics ja no van incloure's a l'estudi per no haver tingut la mateixa tècnica quirúrgica que la resta i per tant no comparables.

4.4.2. Biomicroscòpia

L'avaluació de l'endoteli corneal amb LF permet observar prequirúrgicament la presència de *guttles* i edema corneal, situacions d'exclusió de l'estudi, i postquirúrgicament la presència o absència d'edema corneal central a les 2 setmanes després de la cirurgia com a paràmetre de valoració de la repercussió funcional de la lesió de l'endoteli corneal.

4.4.3. Paquimetria

Va mesurar-se el gruix de la còrnia mitjançant paquimetria de no contacte amb el topògraf corneal Orbscan II (ORBTEK, Baush & Lomb, USA) que és un sistema

4.5. Cirurgia de la cataracta

Van operar-se 112 ulls per 2 cirurgians amb el mateix instrumental quirúrgic i utilitzant la mateixa tècnica quirúrgica. No van operar-se els ulls que no presentaven suficient grau de cataracta que permetessin AV de més de 0.5 amb optotips d'Snellen o pacients amb MPOC tan avançada que intoleressin el decúbit supí necessari per la intervenció quirúrgica. En aquests casos es van obtenir només els paràmetres de l'avaluació endotelial prequirúrgica. Amb DCE inferiors a 1500 cèl·lules/mm², es van obtenir els paràmetres prequirúrgics, però no els postquirúrgics per utilitzar una tècnica quirúrgica de protecció endotelial diferent a la resta i per tant, no comparable (**Figura 28.1**).

Durant la cirurgia els pacients van estar monitoritzats amb control de constants vitals, i se'ls van col·locar ulleres nassals d'oxigen a un fluxe 2 litres/minut que equival a una FiO₂ (percentatge d'oxigen en l'aire inspirat) teòrica del 28%.

Després de l'anestèsia retrobulbar (amb agulla retrobulbar de 23G amb 2.5 ml de bupivacaïna al 0.5% i 2.5 ml de mepivacaïna a l'1%) es va preparar el camp quirúrgic prèvia neteja cutània i de fons de sac amb povidona iodada (Betadine). Inicialment es va extreure la mostra d'HA mitjançant paracentesi a còrnia perifèrica perilimbar a la zona 1-2 horària amb agulla de 27G amb xeringa de tuberculina. En extreure la mostra d'HA, la CA es pot col·lapsar ràpidament amb risc de ruptura de la càpsula anterior del cristal·lí, cosa que interferiria en el procediment quirúrgic de la cataracta. Per evitar-ho, la col·locació de l'extrem de l'agulla a la CA de l'ull ha de ser amb el bisell cap a baix i el més central possible que és on hi ha més profunditat de CA. La quantitat màxima d'HA que va ser possible recollir de cada ull va ser de 0.1- 0.2 ml. La mostra es va deixar a la mateixa xeringa i conservada en nevera a 4°C, essent tot seguit transportada al laboratori per analitzar. Per la mateixa paracentesi es va reformar la CA amb DVO (Amvisc, Baush & Lomb, USA).

El procediment de la cirurgia de la cataracta va ser el convencional mitjançant facoemulsificació amb sistema venturi amb modulació amb mode *continu* (Millenium CX3170; Baush & Lomb, USA), tècnica de *faco-chop*, implant de LIO (Akreos Adapt; Baush & Lomb, USA) i l'us del DVO esmentat (Amvisc).

Es va procedir a la cirurgia de la cataracta consistent en la paracentesi, DVO, incisió de 2.8 mm, capsulorexi circular contínua, hidrodissecció i hidrodelaminació, rotació de nucli i epinucli, facoemulsificació-aspiració amb ultrasons continus amb tècnica de *faco-chop*, aspiració de masses subcapsulars, DVO, implant de LIO a sac capsular, aspiració del DVO, hidratació intraestromal de la incisió, 0.2 ml de Cefazolina intracamerular, pomada de cloramfenicol i dexametasona (De Icol) a fons de sac i oclusió.

Els fragments de cataracta aspirats van ser recollits en un casset que el mateix aparell incorpora, els quals van ser enviats al laboratori juntament amb la mostra d'HA per analitzar.

El tractament postquirúrgic va consistir en col·liri de tobramicina i dexametasona (Tobradex) cada 4 hores en reducció progressiva retirant cada setmana una instil·lació al dia, en total 5 setmanes de tractament, i col·liri de Diclofenaco Lepori monodosi cada 8 hores la primera setmana. Els controls postquirúrgics van ser a les 24 hores, a la segona setmana (on es va objectivar la presència o absència d'edema corneal amb l'exploració amb LF), a les 5 setmanes en acabar el tractament i als 3 mesos (quan també es va realitzar la paquimetria i la ME) (**Figura 28.3**).

El dany de l'endoteli corneal secundari a la facoemulsificació depèn dels ultrasons emprats que són proporcionals al grau de cataracta (a més grau de cataracta són necessaris més ultrasons)^{73, 87}. Per això, es va recollir el TEF de cada intervenció quirúrgica, que el mateix aparell registra, i que té en compte el temps i el poder d'ultrasons utilitzats (*temps d'ultrasons x poder mitjà d'ultrasons*)⁸⁸ (explicat a l'apartat 3.1.2. de la Introducció). Aquest valor de TEF s'ha tingut en compte a l'hora d'ajustar els paràmetres analitzats d'avaluació de l'endoteli corneal postquirúrgic, perquè no interferís en els resultats i per evitar els factors de confusió que suposarien el grau de cataracta i les diferències entre els dos cirurgians.

4.6. Anàlisis bioquímiques

4.6.1. En sang

Es va aprofitar l'extracció de sang que es realitza dins les proves preoperatòries habituals de la cirurgia de la cataracta. Es van recollir mostres de sèrum i plasma-EDTA, que van ser centrifugades i desades a -80°C fins al moment de realitzar les determinacions següents:

- Activitat esterasa de PON-1
- Activitat lactonasa de PON-1
- Concentració de PON-1
- Concentració de TNF-alfa

L'activitat d'esterasa de PON-1 es va determinar mesurant la taxa d'hidròlisi del substrat paraoxó a 410 nm i 37°C , en un tampó glicina 0.05 mM, pH 10.5, suplementat amb 1mM de clorur de calci (CaCl_2)¹⁸⁵. L'activitat es va expressar en U/L (1 U equival a 1 μmol de paraoxó hidrolitzat per minut). El substrat paraoxó es va preparar de nou per a cada determinació.

L'activitat lactonasa es va analitzar mesurant la hidròlisi del substrat sintètic 5-tiobutil butirolactona (TBBL), substrat i mètode cedits pel Dr. Tawfik, del Weizmann Institute of Science (Rehovot, Israel)¹⁸⁶. Els reactius utilitzats contenen 1mM de CaCl_2 , 0.25 mM de TBBL i 0.5 mM de l'àcid 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoic (DTNB), en 0.05 mM del tampó Tris-HCl pH 8. Els canvis en l'absorbància van ser monitoritzats a 412 nm durant 5 minuts. L'activitat també es va expressar en U/L (1 U equival a 1 mmol de TBBL hidrolitzat per minut).

La *concentració de PON-1* es va determinar mitjançant un ELISA no comercial. El bloqueig de la placa, prèvia incubació amb anticòs primari, es va realitzar amb albúmina de sèrum boví (BSA) al 1%. L'anticòs antiPON-1 no és comercial, va ser cedit pels Drs. Mackness (Universitat de Manchester, Regne Unit). Es va obtenir inoculant conills amb un pèptid sintètic amb una seqüència específica per PON-1 madura (CRNHQSSYQTRLNALREVQ).

La *concentració de TNF-alfa* es va determinar per ELISA mitjançant reactius comercials (Peprotech Inc., Rocky Hill, NJ, USA). Les mostres en què el TNF-alfa és indetectable se li va assignar el valor zero.

4.6.2. En humor aquós

La mostra d'HA va ser extreta tal i com s'explica a l'[apartat 4.5](#) de Material i mètodes. Primerament es va realitzar una gasometria en un analitzador GEM 3000 (Instrumentation Laboratory, Izasa, Barcelona). La quantitat sobrant va ser desada a -80°C fins al moment de realitzar la determinació de l'activitat lactonasa de PON-1 i la seva concentració mitjançant els mètodes descrits amb anterioritat. Es va haver de descartar la determinació de l'activitat esterasa a causa del poc volum de mostra obtingut.

4.6.3. En cristal·lí

Els fragments de cataracta aspirats durant la cirurgia i recollits en el casset del sistema del facoemulsificador van ser analitzats per tal de determinar la concentració de PON-1. El procés de disgregació i extracció dels compostos de la cataracta van consistir en centrifugar la cataracta a 30000 g (unitat de força centrífuga) durant 10 minuts. Un cop eliminat el sobrenadant, el pèl·let obtingut es va resuspendre en 400 μl de Buffer Tris 0.01M a pH 7.0 i es va sonificar durant 2 minuts amb l'aparell d'ultrasons (Branson -45 kHz, USA,). Es va tornar a centrifugar a 30000 g durant 10 minuts, i el sobrenadant es va guardar per analitzar. L'anàlisi de la concentració de PON-1 del sobrenadant va ser feta amb la tècnica anteriorment esmentada.

5. MÈTODES ESTADÍSTICS

Les dades recollides s'han introduït en un full de càlcul i s'han importat al paquet estadístic SPSS versió 17.0 per a Windows. Abans d'iniciar l'anàlisi estadística s'ha procedit a la seva depuració per identificar errors i dades inconsistents que

s'han corregit. Per aquesta depuració s'han aplicat comprovacions lògiques i numèriques per verificar que els valors extrems són possibles.

S'ha utilitzat el nombre d'individus i la freqüència relativa (%) de cada categoria per descriure les variables qualitatives, i la mitjana i la desviació típica per les variables quantitatives.

S'ha utilitzat l'anàlisi de la variància per comparar les mitjanes de DCE, CV, hexagonalitat, paquimetria, concentració de PON-1 en sang i en cristal·lí, i les seves activitats lactonasa i esterasa en sang, i concentració de TNF-alfa en sang entre grups d'estudi. Per comparar les mateixes mitjanes però ajustant per les variables pertinents s'han ajustat models de regressió lineal múltiple. S'han utilitzat com a variables d'ajust l'edat i el sexe per les variables prequirúrgiques, i l'edat, el sexe i el TEF per les variables postquirúrgiques. En aquests models s'ha forçat la inclusió d'aquestes variables d'ajust així com d'un terme d'interacció entre la variable independent i el grup d'estudi, quan s'ha analitzat l'efecte de les noxes sobre els PME i la paquimetria. En cas d'interacció significativa, s'han ajustat models de regressió lineal múltiple per cada grup d'estudi. Les condicions d'aplicació dels models s'han verificat utilitzant els índexs que proporciona SPSS i anàlisi de residuals.

El risc alfa o tipus I acceptat per a tots els contrastos d'hipòtesis ha estat de 0.05 i per tant s'ha refusat la hipòtesi nul·la quan $p < 0.05$. Tots els contrastos s'han plantejat com a bilaterals. Per realitzar el tractament estadístic de les dades s'ha utilitzat la versió 17.0 per a Windows del paquet SPSS.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

RESULTATS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

1. CARACTERÍSTIQUES GENERALS

Han estat estudiats un total de 172 ulls de 86 individus, 106 ulls d'homes i 66 de dones (**Figura 33**). Segons els grups, 62 ulls en el grup No-MPOC i 110 en el grup MPOC (68 en el grup LL+M i 42 en el grup G+MG) (**Figura 34**).

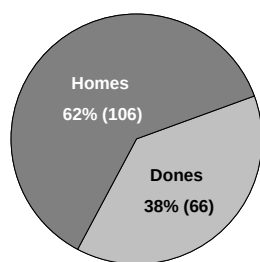


Figura 33. Distribució per sexes.

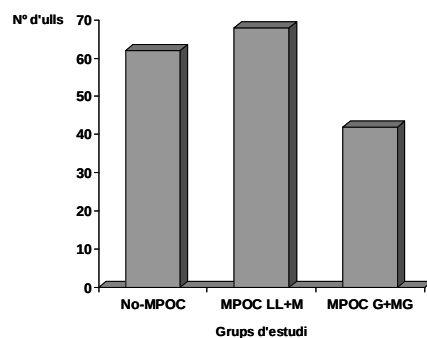


Figura 34. Nombre d'ulls segons grup d'estudi.

Referent a la distribució per edats, s'ha observat una major freqüència en el grup d'edat dels 71 als 80 anys (**Figura 35**). Van ser intervinguts 112 ulls, 42 del grup MPOC, 39 del grup MPOC LL+M i 27 del grup MPOC G+MG (**Figura 36**).

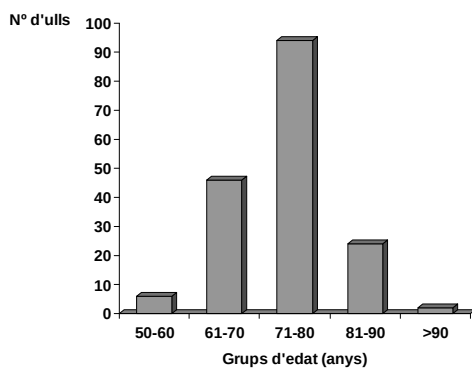


Figura 35. Distribució per edat.

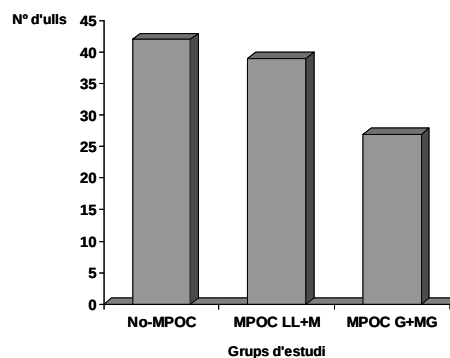


Figura 36. Nombre d'ulls intervinguts segons grup d'estudi.

2. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL BASAL EN LA MPOC

Aquest primer punt pretén objectivar si la MPOC és factor de risc de tenir alteracions de l'endoteli corneal. Per tant, s'han obtingut les mitjanes de cada PME i de la paquimetria basals, és a dir, prequirúrgics, per a cada grup d'estudi. Sense ajustar per edat i sexe, per tots els PME s'han evidenciat diferències estadísticament significatives entre els grups MPOC respecte al grup No-MPOC, obtenint una DCE i una hexagonalitat inferiors, i un CV superior. Respecte a la paquimetria, s'ha objectivat un gruix corneal estadísticament significatiu inferior en el grup MPOC G+MG respecte el grup No-MPOC (**Taula 8**).

Taula 8. Paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria prequirúrgics segons grup d'estudi.				
Paràmetres	No-MPOC n= 58	MPOC		valor p
		Lleu + Moderat n = 67	Greu + Molt greu n = 40	
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	2663 (364) *	2134 (364) ^a	2174 (491) ^a	< 0.001
Coefficient de variació (%)	30 (6)	38 (13) ^a	40 (16) ^a	< 0.001
Hexagonalitat (%)	60 (10)	51 (13) ^a	45 (18) ^a	< 0.001
Paquimetria (µm)	504 (34)	510 (45)	488 (43) ^b	0.045

* Mitjana (Desviació típica). ^a Significativament diferent del grup No-MPOC (p<0.05). ^b Significativament diferent del grup Lleu + Moderat (p<0.05).

En ajustar per edat i sexe, segueixen havent-hi diferències estadísticament significatives en els tres PME en comparar tant el grup MPOC LL+M com el G+MG amb el grup No-MPOC (DCE i hexagonalitat inferiors, i CV superior) (**Taula 9**). No es detecten diferències estadísticament significatives segons el grau d'afectació de la MPOC (**Taula 10**). Pel que fa a la paquimetria, no s'evidencien diferències estadísticament significatives entre els grups d'estudi MPOC respecte al grup No-MPOC (**Taula 9**), però sí entre els dos grups de MPOC. S'observa un gruix corneal inferior estadísticament significatiu en el grup MPOC G+MG respecte el grup MPOC LL+M (**Taula 10**).

Taula 9. Diferències en paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria prequirúrgics segons grup d'estudi MPOC en relació amb el grup No-MPOC, ajustades per edat i sexe.

Paràmetres	MPOC			
	Lleu + Moderat n=67		Greu + Molt greu n=40	
	Diferència	Valor p	Diferència	Valor p
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	-324 (72)*	< 0.001	-327 (87)	< 0.001
Coefficient de variació (%)	6 (2)	0.005	9 (3)	0.001
Hexagonalitat (%)	-7 (3)	0.011	-12 (3)	< 0.001
Paquimetria (µm)	7 (9)	0.4	-17 (10)	0.09

* Mitjana (error típic).

Taula 10. Diferències en paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria prequirúrgics en relació amb el grup MPOC LL+M, ajustades per edat i sexe.

Paràmetres	MPOC Greu + Molt greu n = 40	
	Diferència	Valor p
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	10 (85)*	0.9
Coefficient de variació (%)	3 (3)	0.3
Hexagonalitat (%)	- 5 (3)	0.1
Paquimetria (µm)	- 23 (10)	0.02

* Mitjana (error típic).

Per tant, s'ha pogut objectivar que els ulls dels pacients amb MPOC, tant del grup LL+M com del grup G+MG, presenten alteració dels PME respecte al grup No-MPOC, però no sembla que això tingui una repercussió funcional en la descompensació corneal.

3. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL AMB EL TRAUMA QUIRÚRGIC

Havent vist que els pacients amb MPOC tenen un risc augmentat de presentar alteració dels PME, i tenint en compte que la cirurgia de cataracta per si sola ja suposa un risc d'alteració de l'endoteli corneal, en aquest punt s'ha volgut determinar si els pacients amb MPOC tenen més risc i vulnerabilitat a la lesió de l'endoteli corneal amb el trauma quirúrgic.

Per això, inicialment, s'ha valorat l'edema corneal central postquirúrgic a curt termini (a les 2 setmanes amb la LF) i s'han comparat els PME i la paquimetria postquirúrgics (obtinguts als 3 mesos després de la cirurgia) en els diferents grups d'estudi per conèixer l'estat final postquirúrgic (**Taules 11-13**). Després s'ha valorat el grau de canvi dels PME i la paquimetria postquirúrgica respecte els valors prequirúrgics en els diferents grups d'estudi per tal de conèixer si existeix un grau de lesió endotelial corneal diferent entre els grups (**Taules 14-16**).

3.1. Estat endotelial corneal postquirúrgic

El percentatge de pacients amb edema corneal central postquirúrgic (valorat amb la LF a les 2 setmanes de la cirurgia) va ser del 0%, del 36% i del 31% pels grups No-MPOC, MPOC LL+M i MPOC G+MG, respectivament ($p < 0.001$). Després d'ajustar per edat, sexe i TEF es van mantenir les diferències significatives ($p = 0.002$ i $p = 0.003$).

Als 3 mesos després de la cirurgia, que és quan la reorganització cel·lular queda estabilitzada^{52,57}, s'han evidenciat diferències estadísticament significatives de tots els PME i la paquimetria postquirúrgics entre els grups MPOC i el grup No-MPOC, obtenint una DCE i hexagonalitat inferiors i un CV major en els grups MPOC. S'objectiva un gruix corneal inferior en el grup MPOC G+MG (**Taula 11**).

Taula 11. Paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria postquirúrgics segons grup d'estudi.				
Paràmetres	No-MPOC n= 40	MPOC		valor p
		Lleu + Moderat n = 46	Greu + Molt greu n = 26	
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	2035 (464) *	1701 (531) ^a	1823 (505)	0.01
Coefficient de variació (%)	35 (4)	40 (10) ^a	40 (9)	0.03
Hexagonalitat (%)	53 (14)	43 (13) ^a	40 (11)	< 0.001
Paquimetria (µm)	508 (33)	519 (51)	492 (93) ^b	0.038

* Mitjana (Desviació típica). ^a Significativament diferent del grup No MPOC (p<0.05). ^b Significativament diferent del grup Lleu + Moderat (p<0.05).

En ajustar per edat, sexe i el TEF (explicat a l'apartat 3.1.3. de la Introducció), s'ha vist que segueix existint un CV superior i una hexagonalitat inferior en els grups MPOC quan es comparen amb el grup No-MPOC. La DCE en el grup MPOC LL+M és inferior respecte el grup No-MPOC (p<0.05). Ni les diferències en la DCE postquirúrgica entre el grup MPOC G+MG i el grup No-MPOC, ni en la paquimetria postquirúrgica han arribat al nivell de significació estadística (Taula 12).

Taula 12. Diferències en paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria postquirúrgics segons grup d'estudi MPOC en relació amb el grup No-MPOC, ajustades per edat, sexe i temps efectiu.				
Paràmetres	MPOC			
	Lleu + Moderat n=46		Greu + Molt greu n=26	
	Diferència	Valor p	Diferència	Valor p
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	-342 (122)*	0.006	-218 (140)	0.123
Coefficient de variació (%)	5 (2)	0.033	5 (2)	0.043
Hexagonalitat (%)	-8 (4)	0.037	-11 (4)	0.008
Paquimetria (µm)	5 (11)	0.6	-20 (12)	0.1

* Mitjana (error típic).

No s'han detectat diferències estadísticament significatives en cap paràmetre endotelial quan es comparen els 2 grups de MPOC entre ells (Taula 13).

Taula 13. Diferències en paràmetres morfològics endotelials i paquimetria postquirúrgics en relació amb el grup MPOC LL+M, ajustades per edat, sexe i temps efectiu.

Paràmetres	MPOC Greu + Molt greu n = 26	
	Diferència	Valor p
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	150 (141)*	0.3
Coefficient de variació (%)	0.4 (3)	0.9
Hexagonalitat (%)	- 3 (4)	0.5
Paquimetria (µm)	- 25 (13)	0.06

* Mitjana (error típic).

Per tant, els PME postquirúrgics de l'endoteli corneal del grup MPOC es troben més alterats respecte al grup No-MPOC, amb un major edema corneal postquirúrgic en el grup MPOC a curt termini (a la segona setmana), tot i que a llarg termini sembla que hi hagi una recuperació funcional (paquimetria als 3 mesos sense diferències).

3.2. Canvis endotelials corneals amb la cirurgia

Com s'ha vist, tant els PME prequirúrgics com els postquirúrgics es troben més alterats en el grups amb MPOC respecte al grup No-MPOC. El que es vol en aquest punt és conèixer si els ultrasons de la cirurgia de la cataracta afecten més l'endoteli dels pacients amb MPOC respecte als controls. Per això, s'han comparat les diferències dels PME i la paquimetria postquirúrgics respecte als prequirúrgics per a cada grup d'estudi.

Tant quan no s'ajusta com quan s'ajusta per edat, sexe i TEF, s'observa com no hi ha diferències en els canvis dels PME i paquimetria amb la cirurgia entre els grups MPOC i No-MPOC, ni entre els grups MPOC entre ells (**Taules 14-16**).

Taula 14. Canvis dels paràmetres morfomètrics endotelials i paquimètrics entre abans i després de la cirurgia segons grup d'estudi

Paràmetres	No-MPOC n= 40	MPOC		valor p
		Lleu + Moderat n = 46	Greu + Molt greu n = 26	
Disminució de la Densitat cel·lular endotelial (pre-post) (cèl/mm ²)	419 (355)*	448 (389)	498 (344)	0.692
Augment del Coeficient de variació (post-pre) (%)	5 (6)	3 (11)	3 (5)	0.350
Disminució de l'Hexagonalitat (pre-post) (%)	7 (17)	9 (15)	10 (14)	0.702
Augment de la Paquimetria (post-pre) (µm)	8 (14)	12 (23)	10 (13)	0.6

* Mitjana (Desviació típica) ^a Significativament diferent del grup No MPOC (p<0.05). ^b Significativament diferent del grup Lleu + Moderat (p<0.05).

Taula 15. Diferències en el canvi dels paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria entre abans i després de la cirurgia segons grup d'estudi MPOC en relació amb el grup No-MPOC, ajustades per edat, sexe i temps efectiu.

Paràmetres	MPOC			
	Lleu + Moderat n = 46		Greu + Molt greu n = 26	
	Diferència	Valor p	Diferència	Valor p
Disminució de la Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	23 (87)*	0.8	112 (100)	0.3
Augment del Coeficient de variació (%))	- 0.6 (2)	0.8	0.5 (2.5)	0.9
Disminució de l'Hexagonalitat (%)	2 (4)	0.6	7 (5)	0.1
Augment de la Paquimetria (µm)	4 (4)	0.4	2 (5)	0.7

* Mitjana (error típic).

Taula 16. Diferències en el canvi dels paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria entre abans i després de la cirurgia en relació amb el grup MPOC LL+M, ajustades per edat, sexe i temps efectiu.

Paràmetres	Greu + Molt greu n = 26	
	Diferència	Valor p
Disminució de la Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	-91 (98)*	0.4
Augment del Coeficient de variació (%))	0.6 (3)	0.8
Disminució de l'Hexagonalitat (%)	4 (5)	0.4
Augment de la Paquimetria (µm)	-1.5 (5.5)	0.8

* Mitjana (error típic).

Sembla doncs, que els ultrasons afectin per igual els endotelis corneals tant dels pacients amb MPOC com sense MPOC, però com que en el grup MPOC es parteix d'un estat endotelial prequirúrgic més alterat, postquirúrgicament detectem també endotelis més alterats malgrat el grau de lesió amb el trauma quirúrgic no sigui diferent.

4. APROXIMACIÓ AL MECANISME FISIOPATOLÒGIC DE LA LESIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN LA MPOC

En aquest apartat es presenten els resultats de l'efecte que poden tenir els diferents mecanismes fisiopatològics proposats sobre l'endoteli corneal. Han estat agrupats en EO, hipòxia, inflamació i corticoides.

Per tal de conèixer si existeix relació entre aquests mecanismes i el grau de lesió endotelial, s'ha determinat la mitjana de canvi de cada PME i la paquimetria en augmentar o disminuir els nivells de cada factor a determinar segons el cas. En aquells casos en els que el factor fisiopatològic té interacció amb el grup d'estudi, és a dir, que no produeix el mateix efecte d'alteració de l'endoteli corneal en tots els grups, s'ha analitzat la relació separatament per a cada grup, ajustant per edat i sexe. En canvi, en aquells casos en què l'efecte sobre l'endoteli és el mateix sigui quin sigui el grup d'estudi (sense interacció), s'analitza conjuntament, ajustant per edat, sexe i grau de MPOC.

4.1. Estrès oxidatiu

S'han realitzat diversos abordatges de la PON-1 dins de la MPOC i l'efecte que pot tenir sobre l'endoteli corneal. Primerament s'han comparat entre els grups la concentració i les activitats enzimàtiques de la PON-1 en sang. A continuació s'ha analitzat l'efecte que la PON-1 de la sang, de l'HA i del citrat·lí puguin tenir sobre l'endoteli corneal.

4.1.1. Paraoxonasa-1 sistèmica segons els grups

Primer de tot, per tal de tenir una visió del paper que pot tenir la PON-1 dins del desequilibri prooxidant/antioxidant en la MPOC, s'han comparat la seva concentració i les seves activitats esterasa i lactonasa en sang per a cada un dels grups d'estudi.

No s'han trobat diferències en la concentració de PON-1 en sang entre els grups. En canvi, s'ha detectat una estadísticament significativa menor activitat lactonasa i esterasa en els dos grups MPOC en comparació amb el grup No-MPOC (**Taula 17**) que es manté després d'ajustar per edat i sexe (**Taula 18**).

Taula 17. Paràmetres d'estrès oxidatiu en sang segons grup d'estudi.					
Paràmetres	No-MPOC		MPOC		valor p
	Mitjana	n	Lleu + Moderat n = 32	Greu + Molt greu n = 20	
Concentració de PON-1 (mg/L)	34 (24)*	42	36 (15)	44 (27)	0.25
Activitat Lactonasa (U/L)	7 (2)	42	6 (2) ^a	5 (3) ^a	0.005
Activitat Esterasa (U/L)	316 (179)	40	239 (88) ^a	227 (115) ^a	0.02

* Mitjana (Desviació típica). ^a Significativament diferent del grup No-MPOC (p<0.05). ^b Significativament diferent del grup Lleu + Moderat (p<0.05).

Taula 18. Diferències en paràmetres d'estrès oxidatiu segons grup d'estudi MPOC en relació amb el grup No-MPOC, ajustades per edat i sexe.				
Paràmetres	MPOC			
	Lleu + Moderat n = 32		Greu + Molt greu n = 20	
	Diferència	Valor p	Diferència	Valor p
Concentració de PON-1 (mg/L)	3 (6)*	0.6	10 (6)	0.1
Activitat Lactonasa (U/L)	-1 (0.5)	0.02	-2 (0.6)	0.006
Activitat Esterasa (U/L)	-68 (34)	0.04	-88 (40)	0.03

* Mitjana (error típic).

No es troben diferències dels paràmetres oxidatius segons el grau de la MPOC (**Taula 19**).

Taula 19. Diferència en paràmetres d'estrès oxidatiu respecte el grup MPOC LL-M, ajustades per edat i sexe.

Paràmetres	MPOC Greu + Molt greu n = 20	
	Diferència	Valor p
Concentració de PON-1 (mg/L)	-8 (6)*	0.2
Activitat Lactonasa (U/L)	0.4 (0.6)	0.5
Activitat Esterasa (U/L)	12 (28)	0.7

* Mitjana (error típic).

4.1.2. Efecte de la concentració de paraoxonasa-1 sistèmica sobre l'endoteli corneal

Per tal de conèixer si existeix relació entre els nivells de PON-1 sistèmics i el grau de lesió de l'endoteli corneal, s'ha determinat la mitjana de canvi de cada PME i la paquimetria en augmentar la concentració de PON-1 en sang 1mg/L. No s'ha trobat interacció entre els nivells de PON-1 sistèmics i els grups d'estudi. És a dir, que la PON-1 en sang produeix el mateix efecte sobre l'endoteli sigui quin sigui el grup d'estudi, i per tant, s'ha analitzat el seu efecte conjunt, ajustant per edat, sexe i grau de MPOC. Els resultats obtinguts mostren que no hi ha relació estadísticament significativa entre la concentració de PON-1 en sang i els paràmetres corneals (**Taula 20**).

Taula 20. Efecte de la concentració de PON-1 en sang (mg/L) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimetria, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.

Paràmetres	Mitjana (error típic) *	valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	0.6 (1.7)	0.7	89
Coefficient de variació (%)	0.02 (0.04)	0.6	87
Hexagonalitat (%)	0.09 (0.07)	0.2	89
Paquimetria (µm)	0.14 (0.23)	0.5	86

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en augmentar la concentració de PON-1 1 mg/L.

4.1.3. Efecte de l'activitat lactonasa sistèmica sobre l'endoteli corneal

En no trobar interacció entre l'activitat lactonasa de la PON-1 en sang i el grup d'estudi per la DCE, l'hexagonalitat i la paquimetria s'han analitzat conjuntament tots els grups. S'ha trobat una relació inversa i estadísticament significativa entre l'activitat lactonasa sistèmica i la paquimetria (**Taula 21**).

Taula 21. Efecte de l'activitat lactonasa en sang (U/L) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimetria, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.			
Paràmetres	Mitjana (error típic) *	valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	25.7 (16.3)	0.1	89
Hexagonalitat (%)	- 0.02 (0.7)	0.9	89
Paquimetria (µm)	- 6.7 (2.2)	0.004	86

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en augmentar l'activitat de lactonasa en sang 1 U/L.

S'ha observat que el CV augmenta significativament a l'augmentar l'activitat de lactonasa en sang només en el grup MPOC LL+M (interacció significativa amb grup d'estudi) (**Taula 22**).

Taula 22. Efecte de l'activitat lactonasa en sang (U/L) sobre el Coeficient de variació cel·lular endotelial segons grup, ajustat per edat i sexe.									
Paràmetres	No-MPOC			MPOC					
	Mitjana	Valor p	n	Lleu-moderat			Greu-Molt greu		
				Mitjana	Valor p	n	Mitjana	Valor p	n
Coeficient de variació (%)	- 0.6 (0.5)*	0.3	38	2.3 (0.8)	0.01	31	- 0.35 (0.4)	0.4	18

* Mitjana (error típic) de la variació del Coeficient de variació cel·lular endotelial en augmentar l'activitat lactonasa en sang 1 U/L

4.1.4. Efecte de la paraoxonasa-1 en HA sobre l'endoteli corneal

Els nivells de PON-1 i la seva activitat lactonasa han estat indetectables en HA.

4.1.5. Efecte de la paraoxonasa-1 en cristal·lí sobre l'endoteli corneal

Quan es va plantejar l'estudi es creia que la PON-1 era exclusivament de síntesi hepàtica i que era transportada pel torrent sanguini unida a l'HDL, pel que, tenint en compte que el cristal·lí és avascular, no es va incloure analitzar inicialment la presència de PON-1 en els cristal·lins extrets en la cirurgia de la cataracta. Estudis recents han anat evidenciant que hi pot haver síntesi pròpia a determinats teixits, entre ells el cristal·lí^{158, 159, 170}, moment en què vam decidir analitzar alguns dels cristal·lins extrets (6 de cada grup d'estudi).

S'ha pogut detectar la presència de PON-1 en els cristal·lins analitzats, no havent diferències estadísticament significatives de concentració entre els diferents grups d'estudi (**Taula 23**).

Taula 23. Concentració de la PON-1 en cristal·lí (mg/l) segons grup d'estudi.			
No-MPOC n = 6	MPOC		Valor p
	Lleu + Moderat n = 6	Greu + Molt greu n = 6	
43 (23) *	39 (16)	35 (20)	0.8

* Mitjana (desviació típica)

Pel que fa a la relació entre la concentració de PON-1 del cristal·lí amb el grau de lesió de l'endoteli corneal, s'ha detectat interacció amb la DCE, sense trobar una relació estadísticament significativa per als diferents grups d'estudi (**Taula 24**).

Taula 24. Efecte de la concentració de PON-1 en cristal·lí (mg/L) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimetria segons grau de MPOC, ajustat per edat i sexe.									
Paràmetres	No-MPOC			MPOC					
	Mitjana	Valor p	n	Lleu-moderat			Greu-Molt greu		
				Mitjana	Valor p	n	Mitjana	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	4.5 (8)*	0.6	5	-1.4 (2)	0.6	5	-11 (4)	0.1	5

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en augmentar 1 mg/L la concentració de PON-1 en cristal·lí.

Tampoc no s'ha trobat una relació estadísticament significativa entre els nivells de PON-1 en cristal·lí i la resta de paràmetres endotelials (CV, hexagonalitat i paquimetria), analitzant-se conjuntament tots els grups en no presentar interacció (**Taula 25**).

Taula 25. Efecte de la concentració de PON-1 en cristal·lí (mg/L) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimètric, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.			
Paràmetres	Mitjana (error típic) *	Valor p	n
Coefficient de variació (%)	0.06 (0.07)	0.4	17
Hexagonalitat (%)	-0.01 (0.1)	0.9	17
Paquimetria (µm)	-0.04 (0.7)	0.9	15

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en augmentar 1 mg/L la concentració de PON-1 en cristal·lí.

4.2. Inflamació

4.2.1. TNF-alfa segons els grups d'estudi

No s'ha trobat una diferència estadísticament significativa quant a la concentració de TNF-alfa en sang en els diferents grups d'estudi (**Taula 26**).

Taula 26. Concentració de TNF-alfa en sang (ng/L) segons grup d'estudi.			
No-MPOC n = 42	MPOC		Valor p
	Lleu + Moderat n = 32	Greu + Molt greu n = 20	
84.5 (138)*	73.6 (113)	94.5 (118)	0.8

* Mitjana (desviació típica)

4.2.2. Efecte del TNF-alfa sistèmic sobre l'endoteli corneal

En analitzar si hi ha relació entre els nivells de TNF-alfa sistèmic i el grau d'alteració de l'endoteli corneal, no es detecta relació estadísticament significativa

sobre la DCE per a cap grup d'estudi (analitzat separatament per grups en existir interacció), ni sobre el CV i hexagonalitat (analitzat conjuntament en no haver-hi interacció). Només s'ha objectivat una relació estadísticament significativa amb la paquimetria (a més TNF-alfa en sang, menys paquimetria) (**Taules 27 i 28**).

Taula 27. Efecte de la concentració de TNF-alfa en sang (ng/L) sobre la densitat cel·lular endotelial segons grau de MPOC, ajustat per edat i sexe.

Paràmetres	No-MPOC			MPOC					
	Mitjana	Valor p	n	Lleu-moderat			Greu-Molt greu		
				Mitjana	Valor p	n	Mitjana	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	-1 (0.5)*	0.1	24	2 (1)	0.1	19	0.4 (0.9)	0.6	9

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en augmentar 1 ng/L la concentració de TNF-alfa en sang.

Taula 28. Efecte de la concentració de TNF-alfa en sang (ng/L) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimètric, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.

Paràmetres	Mitjana (error típic) *	Valor p	n
Coefficient de variació (%)	-0.01 (0.01)	0.3	54
Hexagonalitat (%)	0.02 (0.02)	0.3	54
Paquimetria (µm)	-0.14 (0.06)	0.02	50

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en augmentar 1 ng/L la concentració de TNF-alfa en sang.

4.3. Hipòxia

4.3.1. Efecte de la hipòxia sistèmica sobre l'endoteli corneal

Per tal d'estudiar quin efecte pot tenir la hipòxia sistèmica sobre el grau de lesió de l'endoteli corneal, es va valorar la saturació d'oxigen mitjançant la pulsioximetria prequirúrgica.

La saturació d'oxigen sistèmica presenta una relació estadísticament significativa amb l'hexagonalitat i la paquimetria per a tots els grups d'estudi (analitzat conjuntament en no presentar interacció): en disminuir la saturació d'oxigen, és a

dir, a més hipòxia sistèmica, es detecta una major hexagonalitat i una menor paquimetria (**Taula 29**).

Taula 29. Efecte de la Saturació d'oxigen (%) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimetria, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.			
Paràmetres	Mitjana (error típic) *	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	- 44 (25)	0.08	108
Hexagonalitat (%)	0.007 (0.003)	0.035	163
Paquimetria (µm)	- 0.043 (0.011)	< 0.001	141

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en disminuir la saturació d'oxigen un 1%.

La saturació d'oxigen té un efecte sobre el CV diferent per a cada grup d'estudi (interacció). No guarda relació estadísticament significativa en el grup No-MPOC, però sí en els dos grups MPOC, detectant-se que a menys saturació d'oxigen (més hipòxia) existeix més CV (**Taula 30**).

Taula 30. Efecte de la Saturació d'oxigen (%) sobre el Coeficient de variació endotelial segons grau de MPOC, ajustat per edat i sexe.									
Paràmetres	No-MPOC			MPOC					
	Mitjana	Valor p	n	Lleu-moderat n = 41			Greu-Molt greu n = 26		
				Mitjana	Valor p	n	Mitjana	Valor p	n
Coeficient de variació (%)	0.16 (0.8)*	0.9	42	3.9 (1.2)	0.003	41	7.2 (1.5)	< 0.001	26

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en disminuir la saturació d'oxigen un 1%.

4.3.2. Efecte de la pO₂ en humor aquós sobre l'endoteli corneal

Per tal de conèixer si la composició gasomètrica de l'HA pot afectar l'endoteli corneal, es va prendre mostra d'HA en el mateix acte quirúrgic de la cirurgia de cataracta.

La pO₂ en HA no presenta interacció amb cap paràmetre (no interacció) amb el que s'analitzen conjuntament tots els grups d'estudi. No s'objectiva relació estadísticament significativa entre la pO₂ en l'HA analitzat i els paràmetres endotelials (ni amb els PME ni amb la paquimetria) (**Taula 31**).

Taula 31. Efecte de la Pressió parcial d'O₂ en humor aquós (mmHg) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimetria, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.

Paràmetres	Mitjana (error típic) *	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	- 0.6 (1.2)	0.6	98
Coefficient de variació (%)	- 0.05 (0.04)	0.1	98
Hexagonalitat (%)	0.002 (0.04)	0.9	96
Paquimetria (µm)	- 0.1 (0.1)	0.4	94

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en disminuir 1 mmHg la Pressió parcial d'O₂ en humor aquós.

4.3.3. Efecte de la saturació d'oxigen en humor aquós sobre l'endoteli corneal

Igual que amb la pO₂, la saturació d'oxigen en l'HA analitzat no presenta interacció amb cap paràmetre, i no es detecta relació estadísticament significativa amb cap paràmetre endotelial (**Taula 32**).

Taula 32. Efecte de la Saturació d'O₂ en humor aquós (%) sobre els paràmetres morfològics endotelials i paquimetria, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.

Paràmetres	Mitjana (error típic) *	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	- 64 (86)	0.5	96
Coefficient de variació (%)	- 3.5 (2.7)	0.2	96
Hexagonalitat (%)	- 0.9 (3)	0.8	94
Paquimetria (µm)	- 10 (11)	0.4	92

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en disminuir un 1% la Saturació d'O₂ en humor aquós.

4.4. Corticoides

4.4.1 Endoteli corneal segons l'antecedent de corticoides

Per tal d'establir l'efecte que poden tenir els corticoides sobre l'endoteli corneal primerament s'han analitzat els PME i la paquimetria per grups segons si hi ha hagut l'antecedent de presa de corticoides.

Tant quan està ajustat com quan no, la DCE es veu reduïda en el grup MPOC amb presa de corticoides respecte al grup No-MPOC, però no hi ha diferències quan es compara dins del grup MPOC (amb o sense corticoides). S'evidencia una reducció de l'hexagonalitat quan hi ha l'antecedent de presa de corticoides (MPOC amb corticoides respecte a la resta de grups). El CV mostra diferències entre el grup MPOC, tant si és amb presa de corticoides com sense, respecte al grup No-MPOC. La paquimetria és estadísticament superior en el grup MPOC amb presa de corticoides respecte al grup MPOC que no en pren (**Taules 33, 34 i 35**).

Taula 33. Paràmetres morfològics endotelials i paquimetria prequirúrgics segons si hi ha presa de corticoides, segons els grups d'estudi No-MPOC i MPOC.

Paràmetres	No-MPOC		MPOC				valor p
	Sense corticoides		Sense corticoides		Amb corticoides		
	Valor	n	Valor	n	Valor	n	
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm²)	2463 (364) *	58	2219 (402)	16	2136 (417) ^a	91	< 0.001
Coefficient de variació (%)	30 (6)	58	43 (13) ^a	16	38 (14) ^a	91	< 0.001
Hexagonalitat (%)	60 (10)	58	57 (13)	16	47 (15) ^{a,b}	89	< 0.001
Paquimetria (µm)	504 (34)	47	481 (39)	16	505 (46)	78	0.1

* Mitjana (Desviació típica). ^a Significativament diferent del grup No-MPOC (p<0.05). ^b Significativament diferent del grup MPOC sense corticoides (p<0.05).

Taula 34. Diferències en paràmetres morfològics endotelials i paquimetria prequirúrgics segons si hi ha presa de corticoides en el grup MPOC en relació amb el grup No-MPOC, ajustades per edat i sexe.

Paràmetres	MPOC					
	Sense corticoides			Amb corticoides		
	Diferència	Valor p	n	Diferència	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	-192 (109)*	0.08	16	-360 (71)	< 0.001	91
Coefficient de variació (%)	11 (3)	0.001	16	6 (2)	0.006	91
Hexagonalitat (%)	-1 (4)	0.8	16	-10 (2)	< 0.001	89
Paquimetria (µm)	-21 (12)	0.08	16	5 (9)	0.5	78

* Mitjana (error típic).

Taula 35. Diferències en paràmetres morfomètrics endotelials i paquimetria prequirúrgics segons si hi ha presa de corticoides en relació amb el grup MPOC sense corticoides, ajustades per edat i sexe.

Paràmetres	MPOC amb corticoides		
	Diferència	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	-156 (117)*	0.2	91
Coefficient de variació (%)	-5 (4)	0.2	91
Hexagonalitat (%)	-9 (4)	0.03	89
Paquimetria (µm)	32 (13)	0.02	78

* Mitjana (error típic).

4.4.2. Efecte de la dosi acumulativa de corticoides sobre l'endoteli corneal

Per tal de determinar si la DAC té efecte sobre la lesió de l'endoteli corneal, s'analitza només el grup MPOC, ja que la DAC en el grup No-MPOC és nul·la (no tenen presa de corticoides).

S'ha analitzat per tots els grups conjuntament en no existir interacció. S'ha detectat un efecte estadísticament significatiu de la DAC sobre l'hexagonalitat (a més dosi de corticoides, menys hexagonalitat), i sobre la paquimetria (a més dosi de corticoides, més paquimetria) (**Taula 36**).

Taula 36. Efecte de la Dosi acumulativa de corticoides (mg) sobre els paràmetres morfomètrics endotelials i paquimètric, ajustat per edat, sexe i grau de MPOC.

Paràmetres	Mitjana (error típic) *	Valor p	n
Densitat cel·lular endotelial (cèl/mm ²)	0.074 (0.1)	0.4	163
Coefficient de variació (%)	-0.001 (0.003)	0.8	163
Hexagonalitat (%)	-0.007 (0.003)	0.035	163
Paquimetria (µm)	0.043 (0.011)	< 0.001	141

* Mitjana (error típic) de la variació dels paràmetres en augmentar 1 mg la dosi acumulativa de corticoides.

DISCUSSIÓ

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

La funció de l'endoteli corneal és impedir l'acumulació d'aigua a l'estroma corneal provinent de l'HA. Quan aquesta funció es troba alterada, la còrnia s'edematitza, es perd la transparència corneal fisiològica, i com a conseqüència final es redueix l'AV. Quan la descompensació de la còrnia és irreversible requereix de trasplantament de còrnia ja sigui de gruix complet com específicament de endotelial.

L'endoteli corneal normal està fet d'una monocapa cel·lular amb un patró en mosaic molt regular de cèl·lules hexagonals. Quan per algun motiu hi ha mort cel·lular, en no tenir capacitat proliferativa *in vivo*²¹⁻²³, les cèl·lules veïnes migren i s'elonguen per ocupar l'espai buit perdent la seva forma hexagonal fisiològica i perdent la regularitat de mida cel·lular del mosaic²⁰. També hi ha situacions en les quals aquests canvis morfològics són secundaris a canvis metabòlics intracel·lulars. Els dos processos es tradueixen en alteracions del CV i l'hexagonalitat, PME que poden obtenir-se mitjançant la ME. Aquests canvis cel·lulars permeten mantenir la funció fins a uns límits (reserva funcional). Com més difereix l'endoteli de l'aparença normal, més difícil és mantenir la seva funció²⁴. Per això és important detectar les situacions de risc de tenir lesió endotelial com puguin ser l'edat avançada^{45, 46, 48, 50, 58}, les distròfies endotelials hereditàries^{20, 48, 59}, algunes malalties sistèmiques^{66-68, 94-103}, etc, sobretot quan hagin de ser sotmeses a intervenció quirúrgica intraocular, com pugui ser la cirurgia de cataracta, que és ben sabut que provoca lesió d'aquestes cèl·lules⁷²⁻⁹³. En aquests casos cal ser conscient que la cirurgia intraocular presenta uns riscos superiors de descompensació corneal, i que per tant, cal detectar-los i conèixe'ls per tal de poder aplicar una tècnica quirúrgica específica de protecció endotelial.

La MPOC és actualment la quarta causa de morbiditat i mortalitat en el món desenvolupat¹⁰⁶ estimant-se que en el 2030 sigui la tercera causa de mortalitat¹⁰⁷. Es parla d'una afectació del 12% de la població general espanyola en edats compreses entre els 40 i els 80 anys¹⁰⁹. Està definida com una malaltia caracteritzada per una limitació del flux aeri no totalment reversible. La limitació del flux aeri és normalment progressiva i està associada a una resposta inflamatòria anormal dels pulmons a partícules de gas nocives, sobretot les produïdes pel tabac^{106, 108}. Els pacients en tractament amb corticoides inhalats i orals, els

fumadors, i els pacients amb MPOC com a factor de risc aïllat, tenen un elevat risc de presentar cataractes¹⁴¹⁻¹⁴³. Per tant, essent la MPOC una malaltia tan freqüent a la població, i tenint en compte que sovint hi ha la presència de cataractes, trobem habitualment pacients amb MPOC a la nostra pràctica diària en les consultes d'oftalmologia per tal de ser intervinguts de la cataracta.

Tot i que la MPOC afecta principalment el pulmó, també produeix una afectació sistèmica múltiple on s'han involucrat diversos mecanismes fisiopatològics sistèmics. Això fa plantejar si aquests mecanismes nocius existents poden afectar estructures oculars. Existeixen indicis que la MPOC pot ser un grup de risc de tenir alteracions de l'endoteli corneal⁶⁶. El coneixement que se'n té de moment és molt limitat, ja que només ha estat avaluada la DCE, i amb grups poc definits on no només s'estudiava la MPOC, sinó també altres grups de malalties, tal i com es comentarà en l'apartat següent. Tampoc no s'ha estudiat la susceptibilitat al dany de l'endoteli corneal amb la intervenció de la cataracta en aquesta malaltia, ni el mecanisme fisiopatològic causant d'aquesta alteració endotelial descrita.

A més a més de la DCE, aquest estudi avalua el CV, l'hexagonalitat i la paquimetria en els pacients amb MPOC amb criteris diagnòstics definits. També s'ha estudiat el grau de vulnerabilitat de lesió de l'endoteli corneal amb la cirurgia de cataracta per conèixer si els pacients amb MPOC tenen una susceptibilitat major. Per ampliar el coneixement, s'han analitzat les possibles relacions dels mecanismes fisiopatològics involucrats en l'afectació sistèmica de la MPOC amb les alteracions de l'endoteli corneal.

1. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL BASAL EN LA MPOC

Actualment tan sols es disposa d'indícis a la literatura que la MPOC pugui tenir alteracions de l'endoteli corneal. Ishikawa⁶⁶ va realitzar un estudi que consistia a valorar quines situacions oculars i/o sistèmiques eren factor de risc a tenir una reserva endotelial corneal reduïda, que va definir com a DCE inferior a 2000

cèl·lules/mm². Va trobar que els pacients amb malaltia pulmonar crònica (120 ulls de 64 pacients), que englobava MPOC, asma bronquial, història de tuberculosi pulmonar, emfisema pulmonar, antecedent de càncer de pulmó i fibrosi pulmonar, era un grup de risc a presentar una pobra reserva funcional endotelial corneal ($p<0.05$). Un estudi propi ([Annex A1](#)) on es va avaluar la DCE de les còrnies de cadàvers donants per a trasplantament de còrnia en funció de la causa de mort, va detectar que les còrnies de donants afectes de MPOC (74 còrnies) presentaven una reducció de la DCE estadísticament significativa ($p=0.037$) respecte a les còrnies dels donants amb mort sobtada que es va determinar com a grup control. Són els únics indicis dels que disposem de coneixement d'afectació de l'endoteli corneal en la MPOC.

En l'estudi d'Ishikawa⁶⁶ no es detalla l'estat endotelial de la MPOC en concret, sinó englobada dins del grup de malalties pulmonars cròniques, per tant, no se'n pot obtenir una informació pura del grup MPOC. En cap dels dos estudis esmentats es té en compte el grau d'afectació de la malaltia, ni són exclosos els casos amb afectacions sistèmiques i/o oculars que es coneix que afecten l'endoteli corneal ([Taula 3](#)) i que, per tant, podrien coexistir amb el fet de tenir la MPOC i afectar com a factors de confusió. A més a més, només va ser avaluada la DCE.

Per tal d'obtenir un coneixement més ampli del grau d'afectació basal de l'endoteli corneal en els pacients amb MPOC, en aquest estudi s'han establert uns grups d'estudi definits, s'ha tingut en compte el grau d'afectació de la malaltia, i s'han exclòs les situacions d'alteració endotelial corneal coneguda. A més a més de la DCE, s'ha estudiat el CV i l'hexagonalitat, que són els paràmetres amb més relació amb la funcionalitat cel·lular⁵³⁻⁵⁶, i s'ha inclòs la paquimetria, comparant aquests paràmetres entre els grups amb MPOC (LL+M i G+MG) i el grup No-MPOC.

Els resultats obtinguts mostren que els dos grups amb MPOC, respecte al grup No-MPOC, presenten alteracions en els tres PME: una DCE i una hexagonalitat inferiors, i un CV superior. Dins del grup de MPOC no s'han detectat diferències en funció del grau de severitat de la malaltia. Tal com s'ha esmentat, quan hi ha mort cel·lular, es tradueix en una reducció de la DCE, però a més a més, les cèl·lules veïnes en migrar i elongar-se per ocupar l'espai buit, perden la forma hexagonal

fisiològica, que es tradueix en una reducció de l'hexagonalitat (pleomorfisme). Això fa que també augmenti la mida d'aquestes cèl·lules, perdent-se la regularitat de la mida cel·lular del mosaic endotelial corneal, traduïnt-se en un augment del CV (polimegatisme)²⁰. Aquests canvis morfomètrics també poden ser conseqüència d'alteracions metabòliques intracel·lulars, com passa per exemple, en les alteracions cel·lulars endotelials en la DM (explicat a l'apartat 3.2.1. de la Introducció)⁹⁴⁻¹⁰³. Aquest canvi de configuració cel·lular és geomètrica i termodinàmicament inestable, i pot conduir a alteracions permanents del citosquelet intracel·lular que en determinin la disfunció^{17, 25}. De fet, el CV i l'hexagonalitat són els PME més predictius de la integritat i funció endotelial⁵³⁻⁵⁶. Els valors obtinguts de CV i hexagonalitat en els grups amb MPOC estan propers, però no arriben, als valors que es consideren crítics (Taula 2) per sota dels quals s'estaria fora de la reserva funcional i per tant amb alt risc de descompensació corneal. Per això, no sembla que aquestes alteracions en els PME tinguin repercussió funcional, no havent trobat diferència de paquimetria entre els grups amb MPOC respecte al grup sense MPOC.

El que sorprèn és la paquimetria inferior, però dins del rang fisiològic, que s'ha evidenciat en el grup MPOC G+MG respecte el grup MPOC LL+M. Tenint en compte que entre aquests dos grups no hi ha diferències pel que fa als PME, s'assumeix que les diferències de gruix corneal entre grups no siguin secundàries a alteracions funcionals de l'endoteli corneal. Considerant que en condicions normals l'epiteli i l'endoteli suposen cadascú el 5% del gruix total de la còrnia i l'estroma el 90%², podria ser que aquest aprimament detectat fos a expenses d'una alteració estructural o pèrdua de substància de l'epiteli i/o l'estroma, i que això fos per una major afectació aquest nivell en graus més avançats de la malaltia. No es coneix la trajectòria de l'estat corneal d'aquests pacients, amb la qual cosa podria pensar-se que en algun moment haguessin pogut tenir edema, i que això hagués desestructurat l'arquitectura estromal que finalment conduís a l'aprimament. També es podria plantejar que una disfunció de les cèl·lules endotelials produís una reducció en la síntesi de la membrana de Descemet, que tot i que suposa només un 2% aproximadament del gruix total de la còrnia, contribuís a la detecció de còrnies més primes. Una altra explicació seria pensar que no és que es tracti d'un aprimament, sinó que sigui al revés, que els del grup

MPOC LL+M tinguin un gruix corneal major que el grup MPOC G+MG. En aquest cas, es podria pensar que els pacients que haguessin arribat fins a aquest grau sever de la malaltia potser siguin els que tinguin menys repercussió sistèmica, cosa que els ha permès arribar fins aquí, i per això tinguin menys afectació corneal, que de fet és del que disposem d'una mida de mostra inferior.

L'afectació de l'endoteli corneal està ben documentada en dues altres malalties sistèmiques que també tenen afectació multiorgànica. De la mateixa manera que s'ha evidenciat en aquest estudi amb la MPOC, tant en la DM com en la IRC s'ha descrit una reducció de la DCE, pleomorfisme i polimegatisme, que no sol comprometre la funció endotelial corneal^{66-68, 54, 95-97}. En la DM i la IRC, l'alteració té relació amb el temps de durada de la malaltia, existint més alteració en la DM tipus I que en el tipus II^{47, 54, 94, 97}, i en el cas de la IRC, més afectació segons el temps d'hemodiàlisi⁶⁷. En aquest estudi, tot i existir una tendència a haver un major grau de polimegatisme i pleomorfisme en el grup de MPOC més greu (grup G+MG) respecte al grup MPOC LL+M, no s'han detectat diferències estadísticament significatives. Potser calgui augmentar la mida de la mostra per evidenciar aquest major grau d'afectació en funció del grau de severitat de la malaltia.

Per tant, s'ha pogut objectivar que els ulls dels pacients amb MPOC, tant del grup LL+M com del grup G+MG, presenten alteració de tots els PME respecte al grup No-MPOC, i que els valors de CV i hexagonalitat, que són els més predictius de la funcionalitat endotelial, es troben propers als valors crítics, però en no sobrepassar-los, no sembla que presentin una repercussió funcional del gruix corneal.

Això ha de fer prendre consciència que els pacients amb MPOC són pacients amb risc d'alteració de l'endoteli corneal de base, amb els valors de CV i hexagonalitat propers als valors crítics de reserva funcional, i que per tant, davant de les situacions que es coneix que per si soles també tenen alteració endotelial com puguin ser glaucoma, uveïtis, DM associada, cirurgia de cataracta, etc ([Taula 3](#)), poden presentar un risc superior de descompensació corneal. Per tant, caldrà evitar o fer un abordatge curós d'aquestes situacions per tal de minimitzar el dany endotelial corneal addicional al propi de la MPOC.

Un altre aspecte a tenir en compte, és que si es fa un trasplantament de còrnia en un receptor amb MPOC, tenint en compte que per les possibles noxes pròpies de la MPOC aquest botó corneal trasplantat estarà sotmès a un risc de lesió endotelial superior, i que per tant, seria convenient escollir a priori un botó corneal amb el màxim de reserva funcional possible.

2. AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL AMB EL TRAUMA QUIRÚRGIC

És ben conegut que la cirurgia de la cataracta provoca lesions de l'endoteli corneal. De fet, la indicació més freqüent de trasplantament de còrnia és la *queratopatia bullosa pseudofàquica*, que és la descompensació corneal irreversible per fracàs de la funció endotelial corneal secundària al trauma quirúrgic pels ultrasons de la facoemulsificació, que es tradueix en edema corneal i *bulles* epitelials^{69, 70}.

Els ultrasons i la irrigació de la facoemulsificació provoquen una lesió directa mecànica sobre el mosaic endotelial corneal, però es coneix que principalment la lesió ve induïda per l'EO generat per les oscil·lacions dels ultrasons. Aquestes creen bombolles d'aire dins l'HA que produeixen ones de xoc (cavitació acústica), les quals desintegren la molècula d'aigua formant ERO. Aquestes ERO lesionen directament les membranes cel·lulars induint a la necrosi cel·lular⁷⁶⁻⁸² (**Figura 15**). Per això, el factor més determinant de la lesió de les cèl·lules de l'endoteli corneal és la quantitat d'ultrasons emprada a la cirurgia. El paràmetre que recull el temps i el poder d'ultrasons utilitzats durant la cirurgia és el TEF (*temps d'ultrasons x poder mitjà d'ultrasons utilitzats*)^{73, 87, 88}. Com més reduït és el TEF, més transparència corneal i millor AV postoperatòries s'assoleixen⁹³. Existeixen tècniques quirúrgiques i modulacions del facoemulsificador que minimitzen el TEF (*faco-chop* respecte al *divide and conquer*⁸⁸⁻⁹¹, i *pulsats* i *burst* respecte a *continu*^{88, 92}, respectivament). També s'utilitzen DVO, que a banda d'evitar el

col·lapse de les estructures oculars i aportar una protecció mecànica de l'endoteli, disminueixen l'EO gràcies a que redueixen la cavitació acústica i a que aporten un efecte antioxidant amb el hialuronat sòdic que contenen⁷⁹. En pacients amb reserves funcionals endotelials limitades s'utilitzen DVO dispersius que es coneix que aporten més protecció endotelial en tenir més retenció dins l'ull durant la cirurgia⁸⁵.

Malgrat la millora en les tècniques quirúrgiques, la lesió de les cèl·lules de l'endoteli corneal amb la cirurgia de la cataracta és gairebé inevitable. S'ha documentat una pèrdua de DCE del 0-20% amb la cirurgia⁷¹⁻⁷⁴. Per tant, per tal de no arribar als valors crítics de DCE (300-700 cèl·lules/mm²) i evitar la descompensació corneal, caldria un mínim de DCE prequirúrgica de 1000 a 1200 cèl·lules/mm²⁵². Generalment aquest no és el problema, ja que fins i tot en la majoria de situacions amb alteració de l'endoteli corneal, existeix una DCE per sobre d'aquests valors. Són el grau de pleomorfisme i polimegatisme prequirúrgics els que realment determinen la vulnerabilitat al dany quirúrgic i a la descompensació corneal⁷⁵. Per tant, és de suma importància conèixer els grups de risc a tenir el CV i l'hexagonalitat alterats, sobretot si han de ser sotmesos a intervenció quirúrgica de la cataracta.

Tenint en compte les alteracions basals dels PME en els pacients amb MPOC evidenciades en aquest estudi, amb uns valors de CV i hexagonalitat propers als valors crítics, es pot assumir que aquests pacients podrien considerar-se un grup de risc de descompensació corneal amb la cirurgia de la cataracta. Per tal de conèixer el risc i la vulnerabilitat a la lesió endotelial amb el trauma quirúrgic en la MPOC, han estat comparats els paràmetres corneals finals postquirúrgics i el grau de canvi amb la cirurgia, respecte el grup No-MPOC i segons el grau de severitat de la malaltia.

A les 2 setmanes de la cirurgia, el 31-36% dels pacients del grup MPOC van presentar edema corneal central evidenciat amb la LF, en canvi, cap dels pacients del grup No-MPOC en van presentar. Aquesta descompensació corneal dels pacients amb MPOC, pot respondre a la repercussió funcional dels PME prequirúrgics basals alterats que presentaven, en concret el CV i l'hexagonalitat propers als valors crítics, empitjorats amb el trauma quirúrgic.

Se sap que al llarg de les següents setmanes postoperatòries, hi ha un procés de remodelació cel·lular, on les cèl·lules que han perdut la seva morfologia, intenten recobrar la forma i mida cel·lular fisiològiques dins del possible en funció del dany tissular que hi hagi hagut. Aquest procés queda estabilitzat als 3 mesos després de la cirurgia^{52, 57}. És en aquest moment quan es van analitzar els PME i la paquimetria postquirúrgics ajustant per edat, sexe i TEF. Tot i trobar-se una DCE postquirúrgica més baixa en els pacients amb MPOC respecte al grup sense la malaltia, estan molt per sobre dels valors crítics, no afectant aquest paràmetre en la funció endotelial corneal. A més a més, la DCE no ens informa de la dinàmica del procés de remodelació i reparació cel·lular com ho fan els paràmetres morfològics (CV i hexagonalitat)¹⁰². Torna a evidenciar-se un CV superior i una hexagonalitat inferior postquirúrgics en el grup amb MPOC respecte al grup sense la malaltia, tot i que no hi ha diferències del gruix corneal a llarg termini.

En comparar el grau de canvi dels PME i la paquimetria postquirúrgics respecte als prequirúrgics per a cada grup d'estudi, no s'evidencien diferències. És a dir, que sembla que els ultrasons de la cirurgia de la cataracta afecten per igual a tots els grups, però com que en el grup amb MPOC es parteix d'uns PME prequirúrgics pitjors, els postquirúrgics detectats també ho són malgrat que el grau de lesió amb el trauma quirúrgic sigui el mateix, essent els pacients amb MPOC més vulnerables a tenir pitjor cel·lularitat amb la cirurgia de la cataracta.

Per tant, hi ha un major grau de pleomorfisme i polimegatisme pre i postquirúrgic en el grup amb MPOC, que es tradueix en una major descompensació corneal en el postoperatori, tot i que sembla que existeix un retorn a la normalitat del gruix corneal als 3 mesos segurament que gràcies al procés de remodelació cel·lular.

S'han documentat resultats similars en la DM. També parteixen de pleomorfisme i polimegatisme prequirúrgics elevats⁵⁴⁻⁵⁶ i una major vulnerabilitat amb la cirurgia, amb edema corneal en el postoperatori immediat i recuperació endotelial enlentida^{54,99-101}. Malgrat documentar-se una major pèrdua de DCE i hexagonalitat, això no sembla tenir repercussió funcional en el gruix corneal a més llarg termini¹⁰².

Amb tot, queda clara la rellevància de conèixer els grups de risc a tenir una alteració dels PME basals, com la MPOC, com s'ha pogut evidenciar en aquest estudi, quan han de ser intervinguts de cataracta, ja que el trauma quirúrgic pot fer-los entrar a nivells per sota els valors crítics i estar per sota la reserva funcional endotelial, i per tant conduir a descompensacions corneals, que tot i que la majoria de vegades puguin ser reversibles, quan no ho són l'única opció terapèutica és el trasplantament de còrnia. Per tal de minimitzar la lesió endotelial amb la cirurgia de la cataracta en aquests grups de risc amb reserves funcionals limitades, caldria aplicar un seguit de consideracions. Inicialment seria convenient realitzar una valoració prequirúrgica completa que inclogués l'exploració amb ME per conèixer en quin rang de seguretat es troben els PME. Un altre aspecte seria escollir el moment quirúrgic idoni en funció del grau de cataracta per no haver d'utilitzar un excés d'ultrasons en cataractes que fossin massa avançades. En els casos amb PME alterats evidenciats amb la ME, o en els casos de risc de tenir-los alterats, com la MPOC, caldria aplicar una tècnica quirúrgica curosa de protecció endotelial com la tècnica *faco-chop*⁸⁸⁻⁹¹ i modulacions del facoemulsificador *burst* i *pulsat*^{88, 92} que minimitzarien el TEF, i la utilització de DVO dispersius⁸⁵.

3. APROXIMACIÓ AL MECANISME FISIOPATOLÒGIC DE LA LESIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN LA MPOC

Actualment la MPOC es considera una malaltia sistèmica multiorgànica^{116, 117, 111}. Se sap que l'afectació sistèmica està generada per una etiologia multifactorial on intervenen factors inflamatoris, EO, la hipòxia tissular generada per la patologia pulmonar i els efectes dels corticoides rebuts^{112, 115, 118-120}. Està a debat si es tracta d'un origen pulmonar amb disseminació sistèmica dels factors inflamatoris i d'EO, o que es tracti d'una comorbiditat amb un mateix procés fisiopatològic comú a diferents òrgans^{111, 114, 116, 117, 120}.

Tenint en compte que l'afectació sistèmica és deguda a aquesta etiologia multifactorial, podem pensar que en l'afectació de l'endoteli corneal en la MPOC hi

puguin intervenir algun d'aquests factors, o combinació d'ells. Per això, s'ha buscat l'efecte que pot tenir l'EO, la inflamació, la hipòxia i els corticoides sobre l'endoteli corneal en els pacients amb MPOC en comparació amb els que no en tenen i en funció del grau de la severitat de la malaltia.

3.1 Estrès oxidatiu

A la MPOC hi ha un desbalanç entre les ERO i els sistemes antioxidants, amb el conseqüent EO^{111, 117, 119, 132, 133}. L'excés d'ERO i la disminució d'antioxidants, provoca una oxidació de lípids (peroxidació lipídica), proteïnes i ADN de les cèl·lules, que condueix al dany tissular i l'apoptosi, i a la vegada activen les cascades inflamatòries^{118, 133, 164}. La peroxidació dels fosfolípids de les membranes cel·lulars altera la seva estructura i permeabilitat, formant productes citotòxics. S'han detectat nivells plasmàtics elevats de productes de peroxidació lipídica en la MPOC, quedant clar que aquest és un mecanisme important en la lesió tissular pulmonar i sistèmica en aquesta malaltia^{111, 117, 119}. La PON-1 és un enzim antioxidant que actua degradant aquests lípids oxidats mitjançant la hidròlisi evitant el dany cel·lular, cosa que implica que podria afectar de forma important en gran varietat de malalties en què l'EO hi està involucrat. De fet, s'ha descrit la seva disfunció en malalties com la DM, la malaltia cardiovascular i l'hepatopatia crònica^{156,160-163}. Hi ha diversos motius per pensar que la PON-1 pugui estar vinculada en la fisiopatologia de la MPOC. La PON-1 és un antioxidant que actua contra la peroxidació lipídica¹⁵⁶, i en la MPOC aquest procés fisiopatològic hi té un paper important^{118, 133, 164}. A més a més, l'EO i la inflamació presents a la MPOC són processos codepenents i que s'amplifiquen entre si^{113, 118, 134}, i s'ha vist que la PON-1 té efectes tan antioxidants com antiinflamatoris per processos relacionats¹⁵⁶. Una altra consideració és que la PON-1 també té un efecte antiaterogènic¹⁵⁶, i a la MPOC existeix una major severitat de l'aterosclerosi¹²⁴. Tot i aquesta probable vinculació, es coneix molt poc sobre el paper antioxidant de la PON-1 en la MPOC.

De fet, en la MPOC només està documentada una activitat de PON-1 disminuïda relacionada amb un augment de peroxidació lipídica plasmàtics en dos únics estudis^{165, 166}. En aquest estudi, que compta amb una mida de mostra superior, tot

i que no s'objectiven diferències de concentració de la PON-1 en sang, també s'ha pogut objectivar una menor activitat enzimàtica de la PON-1 en sang en els grups amb MPOC, respecte al grup sense la malaltia. Aquesta menor activitat ens informa tant d'una disminució de la capacitat antioxidant de la PON-1, com que hi ha hagut la seva inactivació per part dels productes de degradació alliberats en la hidròlisi dels lipoperòxids presents en excés¹⁵⁶. Per tant, tot apunta que a la MPOC hi ha una disminució de la capacitat antioxidant on la PON-1 hi pugui estar involucrada.

No existeixen estudis a la literatura que avaluin el paper que pot tenir la PON-1 en les alteracions de l'endoteli corneal. En aquest estudi s'ha analitzat per separat l'efecte que produeix la PON-1 de la sang, de l'HA, i del cristal·lí sobre l'endoteli corneal.

3.1.1. Efecte de la paraoxonasa-1 en sang sobre l'endoteli corneal

La concentració de PON-1 en sang no sembla tenir cap efecte sobre l'endoteli corneal. Això és lògic si tenim en compte que la PON-1 es troba en circulació unida a les HDL, i que per tant, en ser una macromolècula, no pot passar per la BHE ocular del cos ciliar i no pot accedir a l'HA que és el que queda en contacte amb l'endoteli corneal^{4, 5}.

En analitzar l'efecte que produeix l'activitat enzimàtica (lactonasa) de la PON-1 en sang sobre l'endoteli corneal, no s'ha trobat que afecti sobre la DCE ni l'hexagonalitat. En canvi, sí que s'ha detectat una relació entre l'activitat lactonasa sanguínia amb el CV en el grup de pacients amb MPOC de grau LL+M, i amb la paquimetria en tots els grups d'estudi.

Tenint en compte que la PON-1 sanguínia, en anar unida a l'HDL, no accedeix a l'HA i no entra en contacte amb l'endoteli corneal, ens fa plantejar per quin mecanisme pot existir aquesta relació entre l'activitat de la PON-1 sistèmica amb aquestes lesions corneals. Es podria plantejar la hipòtesi que l'activitat antioxidant de la PON-1 sistèmica sí que podria influir en variacions de les ERO i dels productes de degradació circulants els quals, en accedir a l'HA, sí que podrien

tenir un efecte sobre l'endoteli corneal, i produir els canvis sobre el CV i la paquimetria detectats (**Figura 37**). S'han descrit a la literatura dues altres patologies oculars que tenen relació amb l'activitat de la PON-1 en sang: les cataractes¹⁶⁹ i la DMAE¹⁷¹. Igual que l'endoteli corneal, el cristal·lí és un teixit avascular pel que la relació entre l'activitat de la PON-1 en sang amb l'aparició de la cataracta podria respondre també a aquesta hipòtesi proposada en què l'activitat antioxidant sistèmica faci variar les ERO circulants que sí podrien lesionar aquestes estructures. De la mateixa manera, en la DMAE, malgrat tenir irrigació vascular, la PON-1 tampoc no podria passar la BHA retiniana, i per tant, l'efecte podria ser conduït pel mateix mecanisme.

Hi ha altres situacions descrites en què es relacionen les ERO amb lesió de l'endoteli corneal, com l'exposició continuada de la còrnia a la llum ultravioleta que genera alts nivells d'ERO i que explicaria la disminució de DCE amb l'edat i la menor DCE al centre de la còrnia respecte a la perifèria²². També s'ha vist que en cultius cel·lulars de còrnies donants l'exposició a ERO com el peròxid d'hidrogen produeix lesions a l'ADN de les cèl·lules endotelials dosi depenents²⁸. També s'ha suggerit que el polimegatisme i pleomorfisme descrits en la IRC podrien estar relacionats amb el glutatió oxidat en HA⁶⁸. Així doncs, les cèl·lules endotelials, com les altres cèl·lules de l'organisme, són susceptibles a patir lesions per part de les ERO.

S'ha documentat la lesió d'altres estructures intraoculars per part de les ERO en HA en altres malalties, com el glaucoma, on les ERO existents a l'HA actuen lesionant la malla trabecular¹⁷⁵.

L'altre mecanisme que podria explicar aquesta relació entre l'activitat de PON-1 sistèmica amb la patologia ocular, parteix de les últimes evidències de la literatura que demostren una síntesi local de PON a diferents teixits^{158, 159}. A banda de la seva coneguda síntesi hepàtica i circular unida a l'HDL, a nivell ocular s'ha observat la presència de PON-1 i PON-3 a l'epiteli corneal, al cristal·lí i a la retina en teixits de ratolí¹⁵⁸ (**Figura 25**) i en teixit ocular humà s'ha evidenciat l'expressió protèica de PON-1 en mostres de cristal·lí¹⁷⁰ i de PON-3 a la malla trabecular¹⁷¹. Com es comentarà posteriorment, en aquest estudi també s'ha evidenciat la presència de PON-1 en els cristal·lins de les cataractes extretes. L'activitat de la

PON-1 està fortament determinada pel genotip de l'individu i aquest és el mateix tant en les cèl·lules hepàtiques com en les dels teixits perifèrics^{156, 157}. Per tant, els pacients amb genotips que impliquin una PON-1 circulant de baixa activitat, també tindran la mateixa isoforma a la PON-1 del cristal·lí. En el cas de la lesió de l'endoteli corneal, serien les variacions en l'activitat de la PON-1 del cristal·lí, paral·leles a les sanguínies, les que podrien fer variar les ERO i/o la PON-1 cristal·liniana en HA, que serien les que podrien tenir efecte sobre l'endoteli corneal (**Figura 37**).

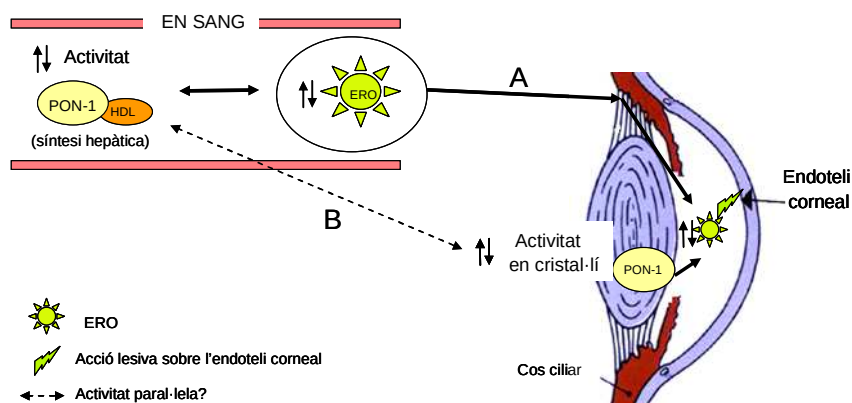


Figura 37. Possibles mecanismes de relació de l'activitat de la PON-1 en sang amb la lesió de l'endoteli corneal. A. Les variacions de l'activitat de PON-1 en sang farien variar les ERO circulants, que en accedir a l'HA podrien lesionar l'endoteli corneal. B. L'efecte local a l'endoteli corneal podria tenir relació amb l'activitat de la PON-1 en sang pel paral·lisme amb l'activitat de la PON-1 sintetitzada al cristal·lí.

Considerant que a la MPOC existeix EO, s'assumeix que existeix un excés d'ERO circulants que ocasionarien el dany sobre les cèl·lules endotelials de la còrnia tal i com s'ha suposat anteriorment, i a la vegada activarien l'activitat enzimàtica antioxidant, com la lactonasa de la PON-1, que detectariem elevada. Si aquesta lesió conduís a la mort de cèl·lules de l'endoteli corneal, s'activarien els sistemes de reparació propis, consistents en la migració i elongació de les cèl·lules contigües a les cèl·lules mortes, amb la conseqüent pèrdua de forma i uniformitat de mida cel·lular pròpies del mosaic endotelial corneal. També podria passar que l'excés de ERO produís oxidació de les proteïnes que conformen el citosquelet

intracel·lular (*vimentina* i *F-actina*) desestructurant-lo i conduint a l'alteració cel·lular funcional i morfològica, tal com s'està veient que succeeix en altres cèl·lules de l'organisme com en les cèl·lules endotelials vasculars¹⁸⁷⁻¹⁸⁹. És a dir que els canvis morfomètrics de les cèl·lules endotelials corneals per l'excés de ERO, tant podrien ser secundaris al procés de reparació del mosaic davant de mort cel·lular, com per canvis estructurals intracel·lulars. En teoria, tots dos mecanismes produirien inicialment una reducció de l'hexagonalitat i un augment del CV. Si el mecanisme fos per mort cel·lular, segurament s'hauria reflectit també en una reducció de la DCE per la pèrdua de cèl·lules relacionada amb l'activitat lactonasa, cosa que no s'ha evidenciat a l'estudi. Per tant, tot apunta que probablement les alteracions morfomètriques detectades siguin secundàries a canvis estructurals, possiblement per l'oxidació de les proteïnes del citosquelet. El citosquelet de les cèl·lules endotelials corneals està format per la *vimentina* i la *F-actina*. La *vimentina* manté l'estabilitat de l'estructura cel·lular formant una xarxa complexa intracitoplasmàtica que envolta el nucli, mantenint-lo central, i estenent-se radialment cap a la perifèria ancorant-se als complexos d'unió apicals. La *F-actina* es disposa adjacent a la membrana cel·lular formant una espècie d'anell hexagonal, permetent mantenir la forma cel·lular. També intervé en la migració cel·lular i en la recuperació de la seva forma hexagonal quan la perd, per un procés no estàtic d'unió de diverses *G-actines* per formar el polímer de la *F-actina*. A més a més, és important pel manteniment de les unions intercel·lulars per mantenir la integritat del mosaic endotelial corneal^{16-18, 25} (**Figura 38**).

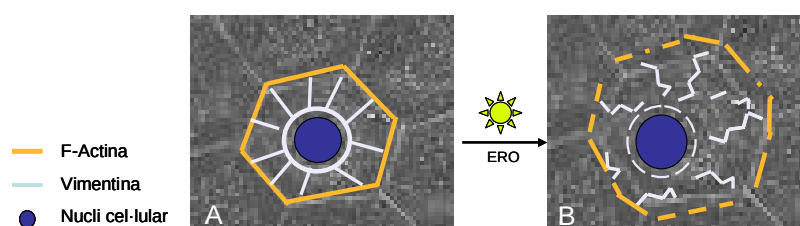


Figura 38. Possible mecanisme lesió de les ERO sobre les cèl·lules endotelials corneals. A. Estructura del citosquelet normal. B. Les ERO oxidarien les proteïnes del citosquelet (*vimentina* i *F-actina*) desestructurant-lo i determinant el canvi de morfologia cel·lular.

La relació trobada entre l'activitat lactonasa amb el CV en el grup MPOC LL+M, fa reflexionar sobre per què exerceix un efecte sobre el CV i no sobre l'hexagonalitat, i fa plantejar-se també el motiu pel qual aquesta activitat lactonasa només tingui efecte sobre el CV en aquest grup de MPOC, i no sobre el grup MPOC G+MG. Això podria explicar-se tenint en compte els processos de remodelació cel·lular i atenent a les fases evolutives de la MPOC. Amb el procés de remodelació cel·lular, les cèl·lules alterades anirien adquirint de nou la forma hexagonal gràcies al procés dinàmic d'ensamblatge de la *F-actina* subjacent a la membrana cel·lular, buscant la forma que els és termodinàmicament més estable¹⁵⁻¹⁷ (**Figura 14**). Un cop recuperada l'hexagonalitat, el CV elevat perduraria en el temps, fins que finalment, podrien tornar a adquirir de nou la uniformitat de mides cel·lulars i per tant, la normalització del CV. Tenint en compte que la MPOC es considera una malaltia infradiagnosticada¹⁰⁶, s'assumeix que en l'inici de la malaltia ja hi pugui existir EO i per tant lesions tissulars. Podria ser que en aquest moment, existís lesió de l'endoteli corneal on podrien detectar-se les alteracions morfològiques endotelials inicials comentades (reducció de l'hexagonalitat i augment del CV). Però en no ser diagnosticats encara de MPOC són alteracions que no s'haurien pogut objectivar. En canvi, en els estadis inicials diagnosticats de la malaltia (MPOC LL+M), podem objectivar aquesta relació directa entre l'activitat lactonasa i l'augment de CV, assumint que són secundaris a un excés d'ERO, però com que ja estariem en la següent fase de remodelació cel·lular, ja s'hauria recuperat l'hexagonalitat, que detectem sense alteració. Probablement, per aquesta raó, en els graus més greus de la malaltia (MPOC G+MG), sovint ja amb tractaments més complets i possible reducció de l'EO, s'estigui ja en la fase final de remodelació amb el CV i l'hexagonalitat normalitzats i per això, no s'hagi detectat relació entre l'activitat lactonasa i els PME. També podria ser explicat pel fet que en aquesta fase de la malaltia, els propis productes de degradació de la hidròlisi dels lipoperòxids poden haver inactivat la PON-1, no detectant-se relació entre la seva activitat enzimàtica amb les alteracions endotelials corneals.

Entre l'activitat lactonasa i la paquimetria també s'ha detectat una relació, en aquest cas indirecta, en tots els grups d'estudi, és a dir, que amb augments de l'activitat lactonasa de la PON-1 en sang, es detecten paquimetries inferiors. Seguint l'argumentació prèvia, s'assumeix que l'EO condueixi a dany tissular. Si

ensem que aquesta lesió és a nivell de l'endoteli corneal, pensàriem que hi hauria d'haver alteracions dels PME que si estiguessin per sota dels valors crítics, en quedar fora de la reserva funcional, conduirien a edema corneal, i per tant a un augment de paquimetria. Però ja hem vist que l'activitat lactonasa només afecta el CV, i només en un dels grups. Per tant, els canvis de gruix detectats relacionats amb l'activitat lactonasa no sembla que siguin secundaris a alteracions dels PME, a no ser que pensem que en algun moment de l'evolució existís un edema corneal que desestructurés les fibres de colagen estromal, quedant finalment més aprimada. També ens podem plantejar que tenint en compte que la paquimetria mesura tot el gruix corneal, podria ser que es veiés afectada per alteracions en altres nivells de la còrnia. Per exemple, tenint en compte que la membrana de Descemet és sintetitzada per les cèl·lules endotelials corneals, i tot i que només suposa un 2% aproximadament del gruix total de la còrnia (**Figura 6**), una disfunció en aquesta síntesi, per exemple, pel propi EO, podria suposar una reducció en la paquimetria. El dany tissular per l'EO podria afectar també a altres capes de la còrnia com l'epiteli i/o l'estroma, sobretot si consideréssim que la síntesi hepàtica de PON-1 fos paral·lela a la síntesi a altres teixits, i considerant que s'ha vist la presència de PON-1 a l'epiteli de la còrnia en teixit ocular de ratolí¹⁵⁸.

3.1.2. Efecte de la paraoxonasa-1 en humor aquós sobre l'endoteli corneal

La PON-1 ha estat indetectable en les mostres d'HA obtingudes. Això és lògic si es considera que la seva presència fos sanguínia, ja que tal com s'ha comentat anteriorment, la PON-1 en sang no podria accedir a l'HA ja que, en anar unida a l'HDL¹⁵⁶, no podria passar la BHE ocular del cos ciliar^{4, 5}.

S'ha evidenciat la presència de PON-1 en el cristal·lí demostrada tant en el propi estudi com en altres^{158, 170}, i tenint en compte que el cristal·lí és un teixit avascular, aquesta PON-1 segurament sigui de síntesi pròpia en aquest teixit. La no detecció de la seva presència en HA pot ser perquè no hi hagi pas des del cristal·lí a l'HA, o perquè no coneixem el seu ritme circadià, o perquè el turnover de l'HA és tan ràpid^{6, 7} que no permet la seva determinació.

3.1.3. Efecte de la paraoxonasa-1 en cristal·lí sobre l'endoteli corneal

En plantejar l'estudi no es va incloure inicialment l'anàlisi de la PON-1 en els cristal·lins extrets durant la cirurgia de la cataracta, ja que va ser posteriorment quan hi van començar a haver els indicis que la PON-1 podia ser sintetitzada en altres teixits com el cristal·lí, a banda de la coneguda síntesi hepàtica^{158, 159, 170}. Va ser en aquest moment que es va decidir analitzar la concentració de PON-1 en 6 cristal·lins de cada grup, 18 en total, com a aproximació analítica. S'ha pogut evidenciar la seva presència en tots els cristal·lins analitzats amb una clara tendència a haver menys concentració com més gravetat de la MPOC, però no estadísticament significatiu probablement per la poca grandària de mostra. Aquest resultat fa pensar que a mesura que hi ha més severitat de la malaltia hi pugui haver una presència antioxidant inferior per part de la PON-1 i per tant, probablement més EO intraocular que pugui lesionar l'endoteli corneal. La PON-1 detectada en els cristal·lins, en ser un teixit avascular, fa altament probable que sigui de síntesi pròpia. En la mateixa línia, en un estudi on s'analitzaven cataractes de pacients amb DM, es va detectar una activitat reduïda de PON-1 en les cataractes dels pacients amb DM respecte a les cataractes senils¹⁷⁰.

Tenint en compte aquesta última reflexió, en què s'apunta un major EO intraocular per la menor presència de PON-1 en els cristal·lins d'individus amb MPOC, i considerant que en el procés de la cataractogènesi en general hi està altament involucrat l'EO^{172, 173}, el desequilibri amb la PON-1 en aquests pacients podria estar vinculat en la seva gènesi de cataracta i podria explicar el fet que la MPOC sigui un factor de risc a tenir més presència de cataracta, no només explicable pel tabaquisme i els CC's rebuts¹⁴². Això obre noves línies d'investigació en la implicació de la PON-1 en el procés de la cataractogènesi, tant en la cataracta senil com en altres patologies en les quals l'EO hi tingui un paper important.

No s'ha evidenciat relació entre la concentració de PON-1 en cristal·lí i els PME. Augmentant la mida de mostra potser podria detectar-se alguna relació. També seria interessant analitzar no només la concentració de PON-1 en cristal·lí, sinó també la seva activitat lactonasa i la presència de productes de degradació de la hidròlisi de lipoperòxids. Això ens permetria conèixer si hi ha paral·lelisme amb

l'activitat enzimàtica en sang i poder corroborar així la hipòtesi que es plantejava anteriorment respecte a la possible explicació a la relació detectada entre l'activitat de PON-1 sistèmica amb les alteracions corneals (**Figura 37**).

Per tant, cada cop és més evident la implicació de l'EO en diverses patologies oculars, començant a existir evidències de la participació de la PON-1. Ha quedat palesa la relació entre la seva activitat enzimàtica sistèmica amb alteracions de l'endoteli corneal a la MPOC, així com la seva presència en teixit ocular. Això obre moltes portes a noves investigacions del paper de la PON-1 en patologia ocular, no només sobre l'endoteli corneal, sino també en el seu paper en el procés de carctogènesi, entre d'altres. Això podrà plantejar noves línies terapèutiques en les patologies oculars.

3.2. Inflamació

Juntament amb l'EO, la inflamació és un dels mecanismes fisiopatològics principals en l'afectació pulmonar i sistèmica de la MPOC¹²⁰⁻¹²². De fet, l'EO i la inflamació són processos codepenents i que s'amplifiquen un a l'altre^{118, 134}. La citoquina proinflamatòria que més s'hi ha vinculat és el TNF-alfa. Els seus valors plasmàtics elevats es relacionen amb la gravetat de la malaltia, detectant-se sobretot durant les exacerbacions de la malaltia. Ha quedat demostrada la seva participació en la majoria dels mecanismes de l'afectació sistèmica de la MPOC. A grans trets, pot induir el seu efecte nociu mitjançant la transcripció del factor NF-κB que perpetua la inflamació, la inducció d'apoptosi, gènesi de més EO i l'amplificació de la cascada inflamatòria per l'estimulació d'altres citoquines proinflamatòries^{114, 130} (**Figura 20**). Tenint en compte la seva accessibilitat en HA i la seva participació en altres patologies oculars com el rebuig del trasplantament de còrnia¹⁹⁰ i el glaucoma¹⁹¹, podria estar també involucrat en l'afectació detectada de l'endoteli corneal en la MPOC.

En aquest estudi han estat analitzats els nivells de TNF-alfa plasmàtics. No s'han detectat diferències en la seva concentració en sang entre els diferents grups d'estudi. Com que la mostra sanguínia va ser extreta per l'analítica preoperatòria

de la cirurgia de la cataracta, i coincidia amb fases estables de la malaltia per tal de poder ser intervinguts, és probable que no es detectessin valors especialment elevats de TNF-alfa ja que principalment aquests es detecten en les exacerbacions de la malaltia. Tampoc no s'ha demostrat que els seus nivells tinguin relació amb els PME, però sí amb un alteració de la paquimetria. Els nivells de TNF-alfa en HA no van ser analitzats per falta de mostra suficient.

En situacions com les uveïtis i el rebuig de trasplantament corneal, s'ha trobat una vinculació entre els nivells de TNF-alfa molt elevats en HA amb alteracions de les cèl·lules de l'endoteli corneal. Sembla que el TNF-alfa actua alterant el citosquelet intracel·lular, en concret a l'anell de filaments d'*actina* adjacents a la membrana cel·lular, que fa modificar les unions intercel·lulars, provocant una disrupció de la integritat del mosaic cel·lular endotelial i la conseqüent descompensació i edema corneals^{16, 192-194} (**Figura 39**).

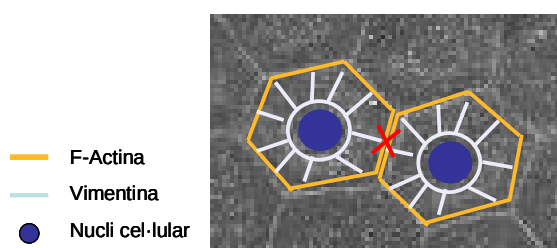


Figura 39. Mecanisme d'afectació endotelial per part del TNF-alfa.

Actua alterant la *F-actina*, que modifica les unions intercel·lulars produint disrupció del mosaic endotelial (*creu vermella*).

En aquest estudi, s'ha detectat que el TNF-alfa sistèmic produeix un efecte sobre la paquimetria en sentit contrari al que s'esperaria trobar considerant el que s'acaba de comentar. Amb augments de la seva concentració s'han detectat paquimetries inferiors, quan el que s'esperaria trobar és una descompensació corneal i per tant detecció de paquimetries més gruixudes. Podria ser que aquest aprimament detectat respongui a que inicialment hi hagués edema corneal que, en reabsorbir-se, desestructuri les fibres de colagen estromal perdent el gruix total. També podria ser a conseqüència d'alteracions en altres nivells de la còrnia, com per una reducció de la síntesis de la membrana de Descemet, aprimaments epitelials i/o estromals.

3.3. Hipòxia

La hipoxèmia existent a la MPOC per la limitació al flux aeri condueix a una hipòxia tissular crònica que contribueix a l'afectació sistèmica de la malaltia. La falta de requeriment d'oxigen produeix lesió metabòlica cel·lular. S'ha descrit directament la seva implicació en els mecanismes fisiopatològics de la caquèxia i pèrdua de pes¹³⁵, la DME¹²² i l'estat d'hipercoagulabilitat¹³⁶. A més a més, aquesta hipòxia tissular per si mateixa pot contribuir a augmentar la inflamació sistèmica per l'activació del sistema TNF-alfa^{117,137, 138}.

Com és obvi, aquesta hipòxia tissular crònica podria afectar a tot l'organisme, incloent les estructures oculars. Aquest podria ser també un dels mecanismes que podrien conduir a l'alteració de l'endoteli corneal descrita en la MPOC. Considerant que la còrnia és un teixit avascular, les vies d'oxigenació d'aquest teixit són particulars i diferents per a cada capa corneal. Els requeriments d'oxigen de l'epiteli i l'estroma s'obtenen principalment de l'oxigen atmosfèric a través de la pel·lícula lacrimal. En molt poca quantitat arribaria de l'HA per difusió i de la vascularització limbar, en aquest cas cap a la còrnia perifèrica. En canvi, l'endoteli corneal obté l'oxigen directament de l'HA, que hi arribaria des de la circulació sanguínia en la seva formació al cos ciliar. L'oxigen de l'HA prové únicament de l'abastiment sanguini del cos ciliar, i no pas de l'oxigen atmosfèric que pogués travessar la còrnia^{4, 12} (**Figura 5**). Per tant, és obvi pensar que la hipoxèmia existent a la MPOC, comporti a una reducció de la pO_2 en HA, i per tant, aquesta hipòxia pugui afectar directament a les cèl·lules de l'endoteli corneal.

3.3.1. Efecte de la hipòxia en humor aquós sobre l'endoteli corneal

No s'ha detectat relació entre la hipòxia en HA amb cap paràmetre endotelial corneal. Possiblement sigui degut a que l'anàlisi de la pO_2 i la saturació d' O_2 de l'HA en aquest estudi va ser feta en les mostres preses durant l'acte quirúrgic, moment en què ja tenen l'oxigenació amb les ulleres nasals, i que per tant, puguin tenir ja una oxigenació òptima i no representativa de la hipòxia que puguin tenir habitualment.

3.3.2. Efecte de la hipoxèmia sobre l'endoteli corneal

Per tal de conèixer quin efecte pot exercir la hipòxia sistèmica sobre l'endoteli de la còrnia, s'ha valorat la saturació d'oxigen mitjançant la pulsioximetria prequirúrgica. En tots els grups amb MPOC s'ha detectat que la hipòxia sistèmica està relacionada amb augments del CV. Que no existeixi aquesta relació en els pacients sense la malaltia fa pensar que potser hi intervinguin altres factors concomitants presents només en la MPOC.

La hipòxia tissular podria ocasionar mort cel·lular d'algunes cèl·lules del mosaic endotelial, que amb el procés de reparació propi faria que les cèl·lules veïnes ocupessin l'espai deixat, generant la diferència de mides cel·lulars amb el consegüent augment de CV. També podria ser que la hipòxia conduís a canvis metabòlics similars als produïts per la hipòxia que generen les lents de contacte (LC). Tot i que el requeriment d'oxigen arriba per vies diferents segons sigui la capa corneal, s'ha vist com la hipòxia de l'epiteli corneal que produeixen les LC, pot afectar a les cèl·lules de l'endoteli de la còrnia conduint a polimegatisme i pleomorfisme^{48, 195-198}. Sembla que la hipòxia epitelial de les LC genera una acidosi metabòlica que difon des de l'epiteli cap a l'endoteli, generant edema osmòtic epitelial i estromal, i generant els canvis cel·lulars estructurals endotelials¹⁹⁹. A més a més, s'indueix una resposta inflamatòria per l'activació del citocrom p-450 de les cèl·lules epitelials que activa la síntesi de metabòlits de l'àcid araquidònic que tenen la capacitat d'inhibir la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa de la bomba metabòlica endotelial, amb el que s'inverteix el gradient osmòtic fisiològic amb la consegüent tumefacció cel·lular. L'ús continuat de LC fa que aquesta tumefacció cel·lular sigui crònica, conduint a canvis del citosquelet, cosa que es tradueix en la pèrdua d'hexagonalitat i en canvis en la mida cel·lular²⁰⁰⁻²⁰². Per un mecanisme similar, s'ha vist que amb l'oclusió palpebral nocturna, hi ha una reducció de l'abastiment d'oxigen atmosfèric epitelial i estromal, que activa el metabolisme anaeròbic que produeix àcid làctic. Aquesta acidosi metabòlica genera un augment de pressió osmòtica que afavoreix la difusió d'aigua des de l'HA cap a l'estroma amb el consegüent edema corneal, que s'ha vist existeix mentres es dorm i durant les primeres hores d'haver-se despertat^{37, 40-42}. Per tant, això evidencia com la lesió tissular pels canvis metabòlics que genera la hipòxia corneal, encara que provingui

d'altres capes corneals, pot generar canvis estructurals en les cèl·lules de l'endoteli corneal.

En el cas del CV elevat que hem evidenciat en els pacients amb MPOC relacionat amb la hipoxèmia, podria respondre també a aquests mecanismes descrits que causa la hipòxia en els portadors de LC i amb l'oclusió palpebral nocturna, en aquest cas però, per una hipòxia directament endotelial per la reducció d'oxigen en HA. És a dir que la troballa de l'augment de CV amb la hipoxèmia, podria ser tant pel propi procés de reparació endotelial davant la mort cel·lular, com per una tumefacció cel·lular pel possible canvi metabòlic cel·lular generat. Com passava amb l'activitat de la PON-1, si els canvis morfomètrics fossin secundaris a mort cel·lular, s'hagués detectat també una reducció en la DCE relacionada amb la hipòxia per la pèrdua de cèl·lules, cosa que no s'ha evidenciat. Per tant, és probable que les alteracions produïdes per la hipòxia estiguin relacionades pels canvis metabòlics intracel·lulars (**Figura 40**).

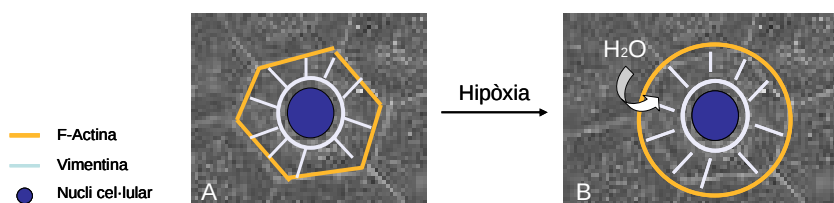


Figura 40. Possible mecanisme de l'alteració endotelial corneal secundària a la hipòxia. A. Configuració cel·lular endotelial normal. B. La hipòxia en HA podria activar el metabolisme anaeròbi que invertiria el gradient osmòtic conduint a la tumefacció cel·lular i per tant al canvi morfològic.

El que sorprèn és que aquest augment de CV relacionat amb la hipòxia no vagi acompanyat de reducció d'hexagonalitat. S'ha trobat que la hipoxèmia té un efecte molt petit i en sentit contrari, en disminuir un 1% la saturació d'oxigen augmenta un 0.007% l'hexagonalitat, que segurament no tingui transcendència clínica. Pot ser que pel procés de remodelació i reestructuració del citosquelet, gràcies a l'ensamblatge dinàmic de la *F-actina* subjacent a la membrana cel·lular, aquestes

cèl·lules anirien adquirint novament la forma hexagonal que és la forma termodinàmicament més estable^{16, 17, 25}. Com que l'hipoxèmia que s'ha valorat és mitjançant la pulsioximetria prequirúrgica s'assumeix que en aquest moment s'estigui en una fase estable i, per tant, que hagi permès iniciar els processos de remodelació. L'últim que es recuperaria seria el CV, quan les cèl·lules del mosaic endotelial s'anessin uniformitzant, sempre i que la noxa desaparegués, cosa que no sol passar en la MPOC tot i el seu bon control. El fet que s'hagi detectat una relació entre la hipoxèmia amb l'augment de CV, però no amb una reducció d'hexagonalitat, fa reflexionar sobre l'elevada capacitat d'adaptació davant la cronicitat del procés que permet anar recuperant l'hexagonalitat malgrat que la noxa sigui constant.

També s'ha detectat relació entre la hipòxia sistèmica i una paquimetria inferior. S'entén que no es tradueixi en un gruix corneal augmentat ja que, com s'ha vist, existeix una bona capacitat de remodelació cel·lular que permet mantenir la funcionalitat. El fet que es relacioni amb un aprimament corneal torna a fer pensar, com en el cas de l'efecte de l'activitat de la PON-1 i el TNF-alfa en sang, en que potser inicialment hi hagués edema corneal que posteriorment condueixi a aprimament per pèrdua de substància estromal, o per canvis epitelials i/o estromals, o per reducció de síntesi de la membrana de Descemet. En tot cas, l'efecte detectat entre la hipoxèmia i la reducció paquimètrica és molt petit i sense repercussions funcionals.

3.4. Corticoides

Els corticoides inhalats en la MPOC estan indicats en els estadis avançats de la malaltia davant d'exacerbacions freqüents o hiperreactivitat bronquial associada. Via oral estan indicats en terminis curts pel control de les exacerbacions¹⁰⁶. Els corticoides en aquests pacients participen en la gènesi de l'osteoporosi^{112, 139, 140}, interfereixen en el bon control glucèmic dels pacients amb DM¹²⁹, i s'han vinculat en el procés de formació de glaucoma^{144, 146} i de la cataracta esteroidea^{143, 144}.

Per tal de conèixer quin efecte poden tenir els corticoides sobre l'endoteli corneal, s'han analitzat els PME segons l'antecedent de la seva presa. Sembla que els

corticoides no tenen efecte sobre el CV, ja que les diferències de CV que hi ha entre el grup amb MPOC amb el grup sense la malaltia hi són tant si hi ha l'antecedent de presa de corticoides com si no. Per tant, l'alteració del CV en la MPOC segurament sigui secundària a altres noxes, que com s'ha vist es veu influenciada per l'activitat latonasa de la PON-1 i la hipoxèmia. La DCE es veu reduïda en el grup MPOC amb presa de corticoides respecte al grup No-MPOC, però no hi ha diferències quan es compara amb el grup de MPOC que no ha rebut corticoides, cosa que fa pensar que l'efecte no sigui purament secundari als corticoides si no que actuï sinèrgicament amb altres factors. On sí sembla que els corticoides hi tenen un efecte clar és sobre l'hexagonalitat. S'ha objectivat una reducció d'hexagonalitat quan hi ha l'antecedent de presa de corticoides, tant si es compara amb el grup sense MPOC com amb el grup amb MPOC sense presa de corticoides. També s'ha detectat una augment de la paquimetria en el grup amb MPOC amb presa de corticoides respecte a quan no n'hi ha. Quan es busca l'efecte que pot exercir la DAC (*dosi mitja diària x 365 x anys de tractament*) sobre l'endoteli corneal, els resultats van en la mateixa línia. Augments de la DAC comporten reduccions en l'hexagonalitat i augments de paquimetria.

Sembla doncs, que els corticoides exerceixen un efecte sobre les cèl·lules endotelials fent reduir la seva forma fisiològica hexagonal. Si això fos secundari al procés de reparació endotelial davant de mort cel·lular, on les cèl·lules veïnes s'elongarien per ocupar els espais deixats, es traduiria també en un augment de CV per la diferència de mides cel·lulars, cosa que no s'ha detectat. Per tant, això fa pensar en que aquesta pèrdua de configuració hexagonal no formi part del procés de reparació, sinó que respongui a algun canvi metabòlic o estructural cel·lular, que afecti per igual a totes les cèl·lules del mosaic endotelial i que permeti la uniformitat de les seves mides cel·lulars.

En plantejar-se quin podria ser el mecanisme que produís aquest canvi de configuració cel·lular, és útil fixar-se en els efectes que produeixen els corticoides sobre altres estructures oculars, com en el procés de formació de la cataracta i el glaucoma.

La presència de la cataracta esteroidea es relaciona amb la DAC, és a dir, que depèn de la dosi i la durada del tractament¹⁴⁴⁻¹⁴⁶. Sembla que és produïda per una

migració errònia de les cèl·lules epitelials anteriors del cristal·lí aberrants cap al còrtex posterior enlloc d'empaquetar-se cap a la massa central que seria el procés fisiològic normal¹⁴⁷⁻¹⁵⁰ (**Figura 21**). Hi ha diversos mecanismes proposats que expliquen aquesta migració anòmala (**Figura 23**), però tot sembla apuntar que els corticoides sistèmics al passar a l'HA¹⁵¹ entren en contacte amb la superfície anterior del cristal·lí, activen el receptor glucocorticoide intracitoplasmàtic de les cèl·lules epitelials anteriors fent variar l'expressió gènica i alterant la seva funció de proliferació, diferenciació, apoptosi i migració¹⁴⁹. S'ha vist que en aquest procés de modulació de transcripció, es redueix l'activitat de la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa d'aquestes cèl·lules¹⁵² i es redueix la *vimentina*, proteïna del citosquelet intracel·lular¹⁵⁰, que explicarien aquesta migració cel·lular errònia causant de la cataracta esteroidea.

El tractament amb corticoides inhalats a dosis altes i de llarga durada també pot augmentar el risc de glaucoma, sobretot quan hi ha antecedents familiars^{144, 146}. S'ha vist com els corticoides modifiquen el patró lineal dels microfilaments d'*actina* de les cèl·lules de la malla trabecular cap a un patró en xarxa¹⁷. Juntament amb un augment del dipòsit de substàncies a la matriu extracel·lular, es produeix un augment de resistència al flux de drenatge de l'HA que es tradueix en un augment de la PIO¹⁵⁵.

Per tant, és evident com els corticoides tenen la capacitat d'alterar el citosquelet intracel·lular provocant canvis de configuració cel·lular. Podrien fer el mateix efecte en les cèl·lules de l'endoteli corneal tenint en compte que el seu citosquelet està constituït tant per la *vimentina* com per l'*F-actina*. La presència dels corticoides en HA ha estat provada^{151, 203}. De la mateixa manera que en el mecanisme de gènesi de la cataracta esteroidea, els corticoides entrarien en contacte amb l'endoteli corneal, també avascular, per la seva arribada en l'HA, i podrien actuar mitjançant l'activació del receptor glucocorticoide, que és també present en aquestes cèl·lules^{204, 205}. D'aquesta manera es podria variar l'expressió gènica podent alterar l'activitat de la *vimentina* i alterant la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa com s'ha detectat que passa en les cèl·lules del cristal·lí^{150, 152}. Igual que els corticoides actuen canviant la configuració de l'*actina* en les cèl·lules de la malla trabecular en el glaucoma, podrien alterar-ne també la seva configuració en les cèl·lules de l'endoteli corneal.

Totes aquestes possibles alteracions justificarien la disminució d'hexagonalitat i l'augment de paquimetria que hem objectivat en aquest estudi com a efecte dels corticoides dosidepenents. La pèrdua de la forma hexagonal s'explicaria principalment per les alteracions de la *F-actina* que, com s'ha explicat, en condicions normals és la responsable del manteniment de la forma hexagonal per l'anell que forma subjacent a la membrana cel·lular. La possible alteració de la bomba Na^+-K^+ ATPasa podria invertir el gradient osmòtic fisiològic produint tumefacció cel·lular, que faria perdre també l'hexagonalitat. L'alteració de la *F-actina* i la *vimentina*, com que també mantenen els complexos d'unió intercel·lular podrien justificar una disrupció de la integritat del mosaic endotelial. Totes aquestes alteracions estructurals farien alterar la funció endotelial^{16-18, 25}, amb descompensació corneal, que podrien explicar l'augment de paquimetria detectat (Figura 41).

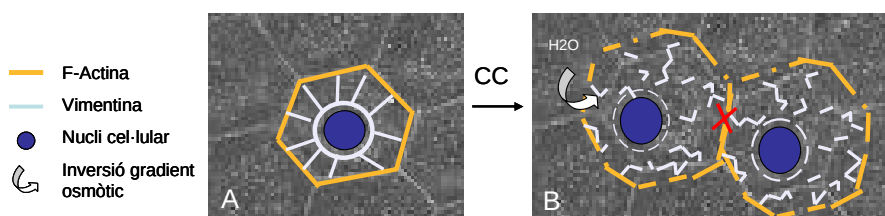


Figura 41. Possible mecanisme de lesió de l'endoteli corneal pels corticoides.

A. Configuració cel·lular normal. B. Els corticoides (CC) podrien alterar l'estructura de la *vimentina* i de la *F-actina* modificant la morfologia cel·lular i afectant a les unions intercel·lulars (*creu vermella*). També podrien invertir el gradient osmòtic per alteració de la bomba Na^+-K^+ ATPasa (*fletxa*) conduint també al canvi de configuració cel·lular per la tumefacció.

3.5. Vinculació de les noxes

Per tant, el que s'ha anat veient és que els mecanismes fisiopatològics estudiats en aquest estudi, com a possible noxa de l'endoteli corneal a la MPOC, hi poden participar. En tots els casos sembla que els canvis morfomètrics detectats siguin generats per alteració intracel·lular, més que no pas per mort cel·lular directa. En el cas de l'EO, els canvis morfomètrics podrien respondre a canvis estructurals

cel·lulars per l'oxidació de les proteïnes del citosquelet. La inflamació, per acció del TNF-alfa, podria produir una disrupció de la integritat de la barrera endotelial per l'alteració de les zones d'unió intercel·lular secundaris a canvis també del citosquelet. La hipòxia podria generar canvis metabòlics intracel·lulars que alteressin el gradient osmòtic amb la tumefacció i el canvi de morfologia cel·lular. Finalment, sembla que els corticoides també tenen la capacitat de modificar el citosquelet produint els canvis estructurals intracel·lulars.

Cap dels mecanismes estudiats ha estat relacionat amb la menor DCE basal detectada en la MPOC. Podria ser que, per acció sinèrgica dels canvis cel·lulars que generen tots els mecanismes analitzats, acabés conduint a la mort cel·lular que expliqués la menor DCE. També podria ser que hi intervinguessin altres factors, com per exemple la hipercàpnia, tal com s'apunta que influeix també en la lesió endotelial en els portadors de LC²⁰⁶⁻²⁰⁸. De fet, en la gasometria realitzada en les mostres d'HA d'aquest estudi, s'ha pogut evidenciar relació entre la pCO₂ i la DCE (amb augments de 1mmHg de pCO₂ en HA, reduccions de 14 cèl·lules/mm², amb $p=0.009$).

Es pot concloure doncs, que tal i com succeeix a la resta de la patologia sistèmica present a la MPOC, sembla que l'afectació de l'endoteli corneal detectada en aquesta malaltia també tingui un origen multifactorial, amb la possible participació de tots els mecanismes proposats, i probablement amb d'altres que encara no es coneixen i que calguin noves línies d'investigació.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

CONCLUSIONS

Atenent als resultats obtinguts, i en resposta al objectius específics i generals plantejats, es poden extreure les conclusions següents:

1. Els pacients amb MPOC presenten alteració basal de tots els paràmetres morfològics endotelials respecte als pacients que no tenen la malaltia. En no sobrepassar als valors crítics de reserva funcional, tot i que molt propers, no repercuteixen funcionalment en quant al gruix corneal.
2. En la MPOC existeix una major vulnerabilitat a la lesió de l'endoteli corneal amb la cirurgia de la cataracta, amb major pleomorfisme i polimegatisme postquirúrgic, i un risc superior de descompensació corneal en el postoperatori immediat (2 setmanes), que sol recuperar-se en les setmanes posteriors.
3. *Referent al mecanisme fisiopatològic:*

3.1. *Respecte a l'estrès oxidatiu:*

La PON-1 participa en l'estrès oxidatiu existent a la MPOC, i està vinculada a l'alteració de l'endoteli corneal d'aquesta malaltia.

3.1.1. Tot i que no s'han detectat diferències en la seva concentració, s'ha evidenciat una menor activitat antioxidant de la PON-1 sanguínia a la MPOC respecte a quan no hi ha la malaltia.

3.1.2. No s'ha trobat que la concentració de PON-1 en sang tingui un efecte sobre l'endoteli corneal, però sí s'ha objectivat un efecte de la seva activitat lactonasa sobre el coeficient de variació en el grup amb MPOC de grau lleu-moderat, i sobre la paquimetria de tots els grups d'estudi.

3.1.3. No s'ha detectat la presència de PON-1 en humor aquós. En circular en sang unida a l'HDL, la macromolècula no deu poder accedir per la barrera hematoaquosa a l'humor aquós, i no es coneix si la PON-1 del cristal·lí hi pot accedir.

3.1.4. S'ha objectivat la presència de PON-1 en els cristal·lins analitzats. No s'ha detectat que tingui efecte sobre l'endoteli corneal ni la paquimetria, ni s'han trobat diferències de concentració segons els grups d'estudi, possiblement per disposar d'una mida de mostra petita de cristal·lins analitzats.

3.2. *Respecte a la inflamació:*

3.2.1. En fases estables de la MPOC no s'objectiven diferències en la concentració de TNF-alfa plasmàtics entre grups, ni s'ha detectat que tingui efecte sobre l'endoteli corneal. S'ha relacionat el TNF-alfa amb un aprimament corneal.

3.3. *Respecte a la hipòxia:*

3.3.1. La hipòxia sistèmica es relaciona amb l'alteració del coeficient de variació en la MPOC i amb alteracions de gruix corneal.

3.3.2. No s'ha detectat relació entre la hipòxia en humor aquós i les alteracions corneals, segurament que per l'oxigenació òptima durant la cirurgia.

3.4. *Respecte als corticoides:*

3.4.1. Els corticoides rebuts com a tractament a la MPOC tenen un clar efecte sobre l'alteració de l'hexagonalitat de l'endoteli corneal i l'engruiximent de la còrnia.

Conclusió global

Els pacients amb MPOC són pacients amb alteració de l'endoteli corneal de base amb els valors de coeficient de variació i hexagonalitat propers als valors crítics de reserva funcional, per la qual cosa existeix un risc de descompensació corneal. Per tant, caldrà fer un abordatge curós davant de situacions que es coneix que per si soles també tenen alteració endotelial (com DM, glaucoma, intervencions

quirúrgiques, etc.) per tal de minimitzar el dany endotelial corneal addicional al propi de la MPOC.

En la MPOC existeix una major vulnerabilitat a la lesió endotelial amb la cirurgia de la cataracta amb una descompensació corneal postquirúrgica que sol recuperar-se amb el temps. Seria aconsellable aplicar un protocol a tots els pacients amb MPOC que inclogués l'estudi prequirúrgic dels paràmetres morfomètrics endotelials amb microscòpia especular i l'aplicació de tècniques quirúrgiques de protecció endotelial.

Pel que fa a l'estudi de la fisiopatologia de l'alteració endotelial present a la MPOC, sembla que tingui un origen multifactorial amb la participació de gairebé tots els mecanismes proposats (estrès oxidatiu, hipòxia i corticoides), tal i com succeeix a la resta de l'afectació multiorgànica de la malaltia, essent possiblement l'alteració del citosquelet intracel·lular el principal causant de les alteracions morfològiques detectades.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

REFERÈNCIES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

1. Enfermedades externas y córnea. Curso de ciencias básicas y clínicas. *American Academy of Ophthalmology*. Elsevier. 2007-2008. Sección 8;8-9.
2. Hassell JR, Birk DE. The molecular basis of corneal transparency. *Exp Eye Res*. 2010;91:326-335.
3. Adler. Fisiologia del ojo. Aplicación clínica. Versió espanyola de la 10a edició de l'obra *Adler's Physiology of the eye*. Mosby. 2004. Capítulo 4: Córnea y esclerótica; 59-93.
4. Fundamentals and Principles of Ophthalmology. Basic and clinical science course. American Academy of Ophthalmology; Section 2; 2006-2007:304-322.
5. Adler. Fisiologia del ojo. Aplicación clínica. Versió espanyola de la 10a edició de l'obra *Adler's Physiology of the eye*. Mosby. 2004. Capítulo 8: Hidrodinámica del humor acuoso; 237-240.
6. To CH, Kong CW, Chan CY, Shahidullah M, DO CW. The mechanism of aqueous humour formations. *Clin Exp Optom*. 2002;85:335-349.
7. Civan MM, Macknight AD. The ins and outs of aqueous humour secretion. *Exp Eye Res*. 2004;78:625-631.
8. Oshida E, Matsumoto Y, Arai K. Free radicals in the aqueous humor of patients with glaucoma. *Clin Ophthalmol*. 2010;30:653-660
9. Leite MT, Prata TS, Kera CZ, Miranda DV, de Moraes Barros SB, Melo LA Jr. Ascorbic acid concentration is reduced in the secondary aqueous humour of glaucomatous patients. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2009;37:402-406.
10. Rubowitz A, Assia El Rosner M, Topaz M. Antioxidant protection against corneal damage by free radicals during phacoemulsification. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:1866-1870.
11. Fundamentals and Principles of Ophthalmology. Basic and clinical science course. American Academy of Ophthalmology; Section 2; 1994-1995:257-258.
12. Macknight AD, MacLaughlin CW, Peart D, Purves RD, Carré DA, Civan MM. Formation of the aqueous humor. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000;27:100-106.
13. Tripathi BJ, Tripathi RC, Livingston AM, Borisuth, MSC. The role of growth factors in the embryogenesis and differentiation of the eye. *Am J Anat*. 1991;192:442-471.
14. Reneker LW, Silversides DW, Xu L, Overbeek PA. Formation of corneal endothelium is essential for anterior segment development - a transgenic mouse model of anterior segment dysgenesis. *Development*. 2000; 127: 533-542.
15. Krachmer. Cornea. Fundamentals, diagnosis and management. Elsevier Mosby. Second edition; 2005. Part I, Section 1, Chapter 1: Cornea;17.
16. Srinivas SP. Cell signaling in regulation of the barrier integrity of the corneal endothelium. *Exp Eye Res*. 2011 (*Epub ahead of print*).
17. Kivelä T, Uusitalo M. Structure, development and function of cytoskeletal elements in non-Neuronal cells of the human eye. *Prog Retin Eye Res*. 1998;17:385-428.

18. Ramachandran C, Srinivas SP. Formation and disassembly of adherens and tight junctions in the corneal endothelium: regulation by actomyosin contraction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:2139-2148.
19. Srinivas SP. Dynamic regulation of barrier integrity of the corneal endothelium. *Optom Vis Sci.* 2010;87:239-254.
20. Waring GO III, Bourne WM, Edelhauser HF, Kenyon KR. The corneal endothelium. Normal and pathologic structure and function. *Ophthalmology.* 1982;89:531-590.
21. Konomi K, Zhu C, Harris D, Joyce NC. Comparison of the proliferative capacity of human corneal endothelial cells from the central and peripheral areas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:4086-4091.
22. Mimura T, Joyce NC. Replication competence and senescence in central and peripheral human corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47:1387-1396.
23. Whikehart DR, Parikh CH, Vaughn AV, Mishler K, Edelhauser HF. Evidence suggesting the existence of stem cells for the human corneal endothelium. *Mol Vis.* 2005; 11:816-824.
24. Mishima S. Clinical investigations on the corneal endothelium. *Ophthalmology.* 1982;89:525-530.
25. Kim EK, Geroski DH, Holley GP, Urken SI, Edelhauser HF. Corneal endothelial cytoskeletal changes in F-actin with aging, diabetes, and after cytochalasin exposure. *Am J Ophthalmol.* 1992;114:329-335.
26. Joyce NC, Harris DL, Mello DM. Mechanisms of mitotic inhibition in corneal endothelium: contact inhibition and TGF-beta2. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002; 43:2152-2159.
27. Klenkler B, Sheardown H. Growth factors in the anterior segment: role in tissue maintenance, wound healing, and ocular pathology. *Exp Eye Res.* 2004;79 677-688.
28. Joyce NC, Harris DL, Shu CC. Relationship among oxidative stress, DNA damage, and proliferative capacity in human corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:2116-2122.
29. McGowan SL, Edelhauser HAF, Pfister RR, Whikehart DR. Stem Cell markers in the human posterior limbus and corneal endothelium of unwounded and wounded corneas. *Mol Vis.* 2007;18:1984-2000.
30. Beutelspacher SC, Serbecic N, Scheuerle AF. Assessment of central corneal thickness using OCT, ultrasound, optical low coherence reflectometry and Scheimpflug pachymetry. *Eur J Ophthalmol.* 2011;21:132-137.
31. Paul T, Lim M, Starr CE, Lloyd HO, Coleman DJ, Silverman RH. Central corneal thickness measured by the Orbscan II system, contact ultrasound pachymetry, and the Artemis 2 system. *J Cataract Refract Surg.* 2008;34:1906-1912.

32. Cheng AC, Tang E, Mohamed S, Lam DS. Correction factor in Orbscan II in the assessment of corneal pachymetry. *Cornea*. 2006;25:1158-1161.
33. Lattimore MR Jr, Kaupp S, Schallhorn S, Lewis R 4th. Orbscan pachymetry: implications of a repeated measures and diurnal variation analysis. *Ophthalmology*. 1999;106:977-981.
34. Menassa N, Kaufmann C, Goggin M, Job OM, Bachmann LM, Thiel MA. Comparison and reproducibility of corneal thickness and curvature readings obtained by the Galilei and the Orbscan II analysis systems. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34:1742-1747.
35. Jonuscheit S, Doughty MJ. Repeatability of central corneal thickness measures by Orbscan pachymetry for right and left eyes. *Eye Contact Lens*. 2009;35:20-25.
36. Christensen A, Narváez J, Zimmerman G. Comparison of central corneal thickness measurements by ultrasound pachymetry, konan noncontact optical pachymetry, and orbscan pachymetry. *Cornea*. 2008;27:862-865.
37. Shen M, Wang J, Ou J, Xu S, Wang X, Fang H, Lu F. Diurnal variation of ocular hysteresis, corneal thickness, and intraocular pressure. *Optom Vis Sci*. 2008;85:1185-1192.
38. Fogagnolo P, Rossetti L, Mazzolani F, Orzalesi N. Circadian variations in central corneal thickness and intraocular pressure in patients with glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:24-28.
39. du Toit R, Vega JA, Fonn D, Simpson T. Diurnal variation of corneal sensitivity and thickness. *Cornea*. 2003;22:205-209.
40. Feng Y, Varikooty J, Simpson TL. Diurnal variation of corneal and corneal epithelial thickness measured using optical coherent tomography. *Cornea*. 2001;20:480-483.
41. Odenthal MT, Nieuwendaal CP, Venema HW, Oosting J, Kok JHC, Kijlstra A. In vivo human corneal hydration control dynamics: a new model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40:312-319.
42. Klyce SD. Stromal lactate accumulation can account for corneal oedema osmotically following epithelial hypoxia in the rabbit. *Journal of Physiology*. 1981;321:49-64.
43. Van Schaick W, van Dooren BT, Mulder PG, Völker-Dieben HJ. Validity of endothelial cell analysis methods and recommendations for calibration in Topcon SP-2000P specular microscopy. *Cornea*. 2005;24:538-544.
44. Cheung SW, Cho P. Endothelial cells analysis with the TOPCON specular microscope SP-2000P and IMAGENet system. *Curr Eye Res*. 2000;21:788-798.
45. Abib FC, Barreto J Jr. Behavior of corneal endothelial density over a lifetime. *J Cataract Refract Surg*. 2001;27:1574-1578.

46. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res.* 1985;4:671-678.
47. Inoue K, Tokuda Y, Inoue Y, Amano S, Oshika T, Inoue J. Corneal endothelial cell morphology in patients undergoing cataract surgery. *Cornea.* 2002;21:360-363.
48. Sheng H, Bullimore MA. Factors affecting corneal endothelial morphology. *Cornea.* 2007;26:520-525.
49. Higa A, Sakai H, Sawaguchi S, Iwase A, Tomidokoro A, Amano S, Araie M. Corneal endothelial cell density and associated factors in a population-based study in Japan: the kumejima study. *Am J Ophthalmol.* 2010;149:794-99.
50. Bourne WM, Nelson LF, Hodge DO: Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38:779-782.
51. Sherrard ES, Novakovic P, Speedwell L. Age-related changes of the corneal endothelium and stroma as seen in vivo by specular microscopy. *Eye.* 1987:197-203.
52. Ventura AC, Wälti R, Böhnke M. Corneal thickness and endothelial density before and after cataract surgery. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:18-20.
53. O'Neal MR, Polse KA. Decreased endothelial pump function with aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1986;27:457-463.
54. Schultz RO, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF, Schultz KJ. Corneal endothelial changes in type I and type II diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol.* 1984;98:401-410.
55. Rao GN, Lohman LE, Aquavella JV. Cell size-shape relationships in corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1982; 22:271-274.
56. Rao GN, Shaw EL, Arthur EJ, Aquavella JV. Endothelial cell morphology and corneal deturgescence. *Ann Ophthalmol.* 1979;11:885-899.
57. Schultz RO, Glasser DB, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF. Response of the corneal endothelium to cataract surgery. *Arch Ophthalmol.* 1986;104:1164-1169.
58. Laing RA, Sanstrom MM, Berrospi AR, Leibowitz HM. Changes in the corneal endothelium as a function of age. *Exp Eye Res.* 1976;22:587-594.
59. Krachmer. Cornea. Fundamentals, diagnosis and management. Elsevier Mosby. Second edition; 2005. Part II, Section 4, Chapter 19: Specular Microscopy;268-277.
60. Avisar R, Weinberger D. Corneal endothelial morphologic features in toxic anterior segment syndrome. *Cornea.* 2010; 29:251-253.
61. Gagnon MM, Boisjoly HM, Brunette I, Charest M, Amyot M. Corneal endothelial cell density in glaucoma. *Cornea.* 1997;16:314-318.
62. Miyake K, Matsuda M, Inaba M. Corneal endothelial changes in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1989; 108:49-52
63. Naumann GOH, Schlötzer-Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation; a clinicopathologic study. *Ophthalmology.* 2000; 107: 1111-1124.

64. Wali UK, Bialasiewicz AA, Rizvi SG, Al-Belushi H. In vivo morphometry of corneal endothelial cells in pseudoexfoliation keratopathy with glaucoma and cataract. *Ophthalmic Res.* 2009; 41:175-179.
65. Quiroga L, Lansingh VC, Samudio M, Peña FY, Carter MJ. Characteristics of the corneal endothelium and pseudoexfoliation syndrome in patients with senile cataract. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2010;38:449-455.
66. Ishikawa, MD. Risk factors for reduced corneal endothelial cell density before cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28:1982-1992.
67. Diaz-Couchoud P, Bordas FD, Garcia JR, Camps EM, Carceller A. Corneal disease in patients with chronic renal insufficiency undergoing hemodialysis. *Cornea.* 2001;20:695-702.
68. Ohguro N, Matsuda M, Fukuda M. Corneal endothelial changes in patients with chronic renal failure. *Am J Ophthalmol.* 1999; 128: 234-236.
69. EBAA data from the 1992 and 2001 Eye Banking Association of America, 1001 Connecticut Ave., NW, Suite 601, Washington, DC 20036.
70. Dades de l'Organització catalana de trasplantaments (OCATT) dels trasplantaments realitzats a Catalunya l'any 2010.
71. Maár N, Graebe A, Schild G, Stur M, Amon M. Influence of viscoelastic substances used in cataract surgery on corneal metabolism and endothelial morphology: comparison of Healon and Viscoat. *J Cataract Refract Surg.* 2001; 27:1756-1761.
72. Diaz-Valle D, Benítez del Castillo Sánchez JM, Castillo A, Sayagués O, Moriche M. Endothelial damage with cataract surgery techniques. *J Cataract Refract Surg.* 1998;24:951-955.
73. Baradaran-Rafii A, Ragmati-Kamel M, Eslani M, Kiavash V, Kaarimian F. Effect of hydrodynamic parameters on corneal endothelial cell loss after phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg.* 2009;35:732-737.
74. Ravalico G, Tognetto D, Baccara F, Lovisato A. Corneal endothelial protection by different viscoelastics during phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg.* 1997;23:433-439.
75. Rao GN, Aquavella JV, Goldberg SH, Berk SL. Pseudophakic bullous keratopathy; relationship to preoperative endothelial status. *Ophthalmology* 1984; 91:1135-1140.
76. Riesz P, Kondo T. Free radical formation induced by ultrasound and its biological implications. *Free Radic Biol Med.* 1992; 13:247-270.
77. Cameron MD, Poyer JF, Aust SD. Identification of free radicals produced during phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg.* 2001; 27:463-470.
78. Takahashi H, Sakamoto A, Takahashi R, Ohmura T, Shimmura S, Ohara K. Free radicals in phacoemulsification and aspiration procedures. *Arch Ophthalmol.* 2002;120:1348-1352.

79. Augustin AJ, Dick HB. Oxidative tissue damage after phacoemulsification: influence of ophthalmic viscosurgical devices. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30:424-427.
80. Nemet AY, Assia EI, Meyerstein D, Meyerstein N, Gedanken A, Topaz M. Protective effect of free-radical scavengers on corneal endothelial damage in phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2007;33:310-315.
81. Murano N, Ishizaki M, Sato S, Fukuda Y, Takahashi H. Corneal endothelial cell damage by free radicals associated with ultrasound oscillation. *Arch Ophthalmol*. 2008;126:816-821.
82. Geffen N, Topaz M, Kredy-Farhan L, Barequet IS, Farzam N, Assia EI, Savion N. Phacoemulsification-induced injury in corneal endothelial cells mediated by apoptosis: in vitro model. *J Cataract Surg* 2008;34:2146-2152.
83. Lockington D, Macdonald EC, Young D, Stewart P, Caslake M, Ramaesch K. Presence of free radicals in intracameral agents commonly used during cataract surgery. *Br J Ophthalmol*. 2010;94:1674-1677.
84. Demir MN, Demir ZA, Yalçın Tök O, Yılmaz FM, Yılmaz G, Nurözler AB, Ornek F. Oxidative stress of intracameral lidocaine and levobupivacaine on ocular tissues. *Br J Ophthalmol*. 2010; 94:1083.1087.
85. Peck CM, Joos ZP, Zaugg BE, Abdel-Aziz S, Stringham JD, Werner L, Mamalis N, Olson RJ. Comparison of the corneal endothelial protective effects of Healon-D and Viscoat. *Clin Experiment Ophthalmol* 2009; 37:397-401
86. Kiss B, Findl O, Menapace R, Petternel V, Wirtitsch M, Lorang T, Gengler M, Drexler W. Corneal endothelial cell protection with a dispersive viscoelastic material and an irrigating solution during phacoemulsification: low-cost versus expensive combination. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29:733-740.
87. Diaz-Valle D, Benítez Del Castillo Sanchez JM, Toledano N, Castillo A, Pérez-Torregrosa V, García-Sánchez J. Endothelial morphological and functional evaluation after cataract surgery. *Eur J Ophthalmol*. 1996;6:242-245.
88. Devgan U. Decreasing phaco energy. Optimizing surgical parameters in the age of refractive cataract. *Cataract and Refract Surg Today*. 2004;nov-des:1-5.
89. Wong T, Hingorani M, Lee V. Phacoemulsification time and power requirements in phaco chop and divide and conquer nucleofractis techniques. *J Cataract Refract Surg*. 2000;26:1374-1378.
90. 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. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34:996-1000.
91. Tsorbatzoglou A, Módis L, Kertész K, Németh G, Berta A. Comparison of divide and conquer and phaco-chop techniques during fluid-based phaco-emulsification. *Eur J Ophthalmol*. 2007;17:315-319.

92. Ozkurt YB, Eyciman T, Sengor T, Haboglu M, Bas G, Kurna S, Aki S. Comparison of burst, pulse, and linear modes used in phacoemulsification surgery. *Eur J Ophthalmol.* 2010;20:353-364.
93. Fine IH, Packer M, Hoffman RS. Power modulations in new phacoemulsification technology: Improved outcomes. *J Cataract Refract Surg.* 2004;30:1014-1019.
94. Lee JS, Oum BS, Choi HY, Lee JE, Cho BM. Differences in corneal thickness and corneal endothelium related to duration in diabetes. *Eye.* 2006;20:315-318.
95. Keoleian GM, Pach JM, Hodge DO, Trocme SD, Bourne WM. Structural and functional studies of the corneal endothelium in diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol.* 1992;113:64-70.
96. Shenoy R, Khandekar R, Bialasiewicz A, Al Muniri A. Corneal endothelium in patients with diabetes mellitus: a historical cohort study. *Eur J Ophthalmol.* 2009;19:369-375
97. Larsson LI, Bourne WM, Pach JM, Brubaker RF. Structure and function of the corneal endothelium in diabetes mellitus type I and type II. *Arch of ophthalmol.* 1996;114:9-14.
98. Weston BC, Bourne WM, Polse KA, Hodge DO. Corneal hydration control in diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36:586-595.
99. Lee JS, Lee JE, Choi HY, Oum BS, Cho BM. Corneal endothelial cell change after phacoemulsification relative to the severity of diabetic retinopathy. *J Cataract Refract Surg.* 2005;31:742-749.
100. Morikubo S, Takamura Y, Kubo E, Tsuzuki S, Akagi Y. Corneal changes after small-incision cataract surgery in patients with diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol.* 2004;122:966-969.
101. 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.* 2011; 30:424-428.
102. Hugod M, Store-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.* 2011; 30:749-753.
103. Akagi Y, Yajima Y, Kador PF, Kuwabara T, Kinoshita JH. Localization of aldose reductase in the human eye. *Diabetes.* 1984;33:562-566.
104. Coster D. Topical aldose reductase inhibitor. *Br J Ophthalmol.* 1995;79:1064-1065.
105. Ohguro N, Matsuda M, Ohashi Y, Fukuda M. Topical aldose reductase inhibitor for correcting corneal endothelial changes in diabetic patients. *Br J Ophthalmol.* 1995;79:1074-1077.
106. *Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD*, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2010. Accés per: <http://www.goldcopd.org/> (consultat al març del 2011).

107. World Health Organization. Accès per: <http://www.who.int/respiratory/copd/burden/> (consultat al març del 2011).
108. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. Celli BR, MacNee W, ATS/ERS Task Force. *Eur Respir J*. 2004;23:932-946.
109. Ancoghea J, Badiola C, Duran-Tauleria E, Garcia Rio F, Miravittles, Muñoz L, Sobradillo V, Soriano JB. The EPI-SCAN survey to assess the prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in Spanish 40-to-80-year-olds: protocol summary. *Arch Bronconeumol*. 2009; 45:41-47.
110. LØkke A, Lange P, Scharling H, Fabricius P, Vestbo J. Developing COPD: a 25 year follow up study of the general population. *Thorax*. 2006; 61:935-939.
111. Nussbaumer-Ochsner Y, Rabe KF. Systemic manifestations of COPD. *Chest*. 2011; 139:165-173.
112. Anderson D, Macnee W. Targeted treatment in COPD: a multi-system approach for a multi-system disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2009;4:321-335.
113. Cavalcante AG, de Bruin PF. The role of oxidative stress in COPD: current concepts and perspectives. *J Bras Pneumol*. 2009;35:1227-1237.
114. Sindén NJ, Stockley RA. Systemic inflammation and comorbidity in COPD: a result of "overspill" of inflammatory mediators from the lungs? Review of the evidence. *Thorax*. 2010;65:930-936.
115. MacNee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2005;2:50-60.
116. Barnes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Respir J*. 2009;33:1165-1185.
117. Fabbri LM, Luppi F, Beghé B, Rabe KF. Complex chronic comorbidities of COPD. *Eur Respir J*. 2008; 31:204-212.
118. Sadowska AM, van Overveld FJ, Górecka D, Zdrał A, Filewska M, Demkow UA, Luyten C, Saenen E, Zielinski J, De Backer WA. The interrelationship between markers of inflammation and oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: modulation by inhaled steroids and antioxidant. *Respir Med*. 2005;99:241-249.
119. Wouters EF. Chronic obstructive pulmonary disease. 5: systemic effects of COPD. *Thorax*. 2002;57:1067-1070.
120. Gan WQ, Man SF, Senthilselvan A, Sin DD. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax*. 2004;59:574-580.
121. Agustí A, Soriano JB. COPD as a systemic disease. *COPD*. 2008;5:133-138.
122. Agustí AG, Noguera A, Sauleda J, Sala E, Pons J, Busquets X. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2003;21:347-360.

123. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005; 352: 1685-1695.
124. Topsakal R, Kalay N, Ozdogru I, Cetinkaya Y, Oymak S, Kaya MG, Dogan A, Inanc MT, Ergin A. Effects of chronic obstructive pulmonary disease on coronary atherosclerosis. *Heart Vessels*. 2009;24:164-168.
125. MacCallum PK. Markers of hemostasis and systemic inflammation in heart disease and atherosclerosis in smokers. *Proc Am Thorac Soc*. 2005;2:34-43.
126. Yanbaeva DG, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G, Wouters EF. Systemic effects of smoking. *Chest* 2007;131:1557-1566.
127. Marquis K, Maltais F, Duguay V, Bezeau AM, LeBlanc P, Jobin J, Poirier P. The metabolic syndrome in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Cardiopulm Rehabil* 2005;25:226-232.
128. Mannino DM, Thorn D, Swensen A, Iloguin F. Prevalence and outcomes of diabetes, hypertension and cardiovascular disease in COPD. *Eur Respir J*. 2008;32:962-969.
129. Chatila WM, Thomashow BM, Criner GJ, Make BJ. Comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5:549-555
130. Li YP, Schwartz RJ, Waddell ID, Holloway BR, Reid MB. Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF-kappaB activation in response to tumor necrosis factor alpha. *FASEBJ*. 1998;12:871-880.
131. Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest*. 2000;106:1481-1488.
132. Hanta I, Kocabas A, Canacankatan N, Kuleci S, Seydaoglu G. Oxidant-antioxidant balance in patients with COPD. *Lung*. 2006;184:51-55.
133. Drost EM, Skwarski KM, Sauleda J, Soler N, Roca J, Agusti A, MacNee W. Oxidative stress and airway inflammation in severe exacerbations of COPD. *Thorax*. 2005;60:293-300.
134. Rahman I, Adcock IM. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *Eur Respir J*. 2006;28:219-242.
135. Raguso CA, Luthy C. Nutritional status in chronic obstructive pulmonary disease: role of hypoxia. *Nutrition*. 2011;27:138-143.
136. Sabit R, Thomas P, Shale DJ, Collins P, Linnane SJ. The effects of hypoxia on markers of coagulation and systemic inflammation in patients with COPD. *Chest*. 2010;138:47-51.
137. Takabatake N, Nakamura H, Abe S, Inoue S, Hino T, Saito H, Yuki H, Kato S, Tomoike H. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor-alpha system in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1179-1184.

138. Koechlin C, Maltais F, Saey D, Michaud A, LeBlanc P, Hayot M, Préfaut C. Hypoxaemia enhances peripheral muscle oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2005;60:834-841.
139. Jørgensen NR, Schwarz P. Osteoporosis in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Curr Opin Pulm Med*. 2008;14:122-127.
140. Jørgensen NR, Schwarz P, Home I, Henriksen BM, Petersen LJ, Backer V. The prevalence of osteoporosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a cross sectional study. *Respir Med*. 2007;101:177-185.
141. Hodge WG, Whitcher JP, Satariano W. Risk factors for age-related cataracts. *Epidemiol Rev*. 1995;17:336-346.
142. Delcourt C, Cristol JP, Tessier F, Léger CL, Michel F, Papoz L. Risk factors for cortical, nuclear, and posterior subcapsular cataracts: the POLA study. *Pathologies Oculaires Liées à l'Age*. *Am J Epidemiol*. 2000;151:497-504.
143. Cumming RG, Mitchell P, Leeder SR. Use of inhaled corticosteroids and the risk of cataracts. *N Engl J Med*. 1997;337:8-14.
144. Esteban C, Aburto M. Safety of inhaled corticosteroids in COPD. *Arch Bronconeumol*. 2010;46:28-35.
145. Weatherall M, Clay J, James K, Perrin K, Shirtcliffe P, Beasley R. Dose-response relationship of inhaled corticosteroids and cataracts: a systematic review and meta-analysis. *Respirology*. 2009;14:983-990.
146. Gartlehner G, Hansen RA, Carson SS, Lohr KN. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in patients with COPD: a systematic review and meta-analysis of health outcomes. *Ann Fam Med*. 2006;4:253-262.
147. Jobling AI, Augusteyn RC. What causes steroid cataracts? A review of steroid-induced posterior subcapsular cataracts. *Clin Exp Optom*. 2002; 85: 61-75.
148. James ER. The etiology of steroid cataract. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2007;23:403-420.
149. Gupta V, Wagner BJ. Search for a functional glucocorticoid receptor in the mammalian lens. *Exp Eye Res*. 2009; 88:248-256.
150. Xie GL, Yan H, Lu ZF. Inhibition of glucocorticoid-induced alteration of vimentin by a glucocorticoid receptor antagonist RU486 in the organ-cultured rat lens. *Mol Vis*. 2011;17:32-40.
151. Knisely TL, Hosoi J, Nazareno R, Granstein RD. The presence of biologically significant concentrations of glucocorticoids but little or no cortisol binding globulin within aqueous humor: relevance to immune privilege in the anterior chamber of the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35:3711-3723.
152. Xie GL, Yan H, Lu ZF. Inhibition of glucocorticoid-induced changes of Na⁺,K⁺-ATPase in rat lens by a glucocorticoid receptor antagonist RU486. *Exp Eye Res*. 2010; 91:544-549.

153. Praveen MR, Shah GD, Vasavada AR, Shah AR, Johar K, Gami Y, Diwan RP, Shah SM. Posterior capsule opacification in eyes with steroid-induced cataracts: Comparison of early results. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37:88-96.
154. Gonzalez AV, Li G, Suissa S, Ernest P. Risk of glaucoma in elderly patients treated with inhaled corticosteroids for chronic airflow obstruction. *Pulm Pharmacol Ther*. 2010;23:65-70.
155. Jones R III, Rhee DJ. Corticosteroid-induced ocular hypertension and glaucoma: a brief review and update of the literature. *Curr Opin Ophthalmol*. 2006;17:163-167.
156. Camps J, Marsillach J, Joven J. The paraoxonases: role in human diseases and methodological difficulties in measurement. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2009;46:83-106.
157. Camps J, Mackness M, Mackness B, Marsillach J, Joven J. Serum paraoxonase-1 activity and genetic polymorphisms: common errors in measurement and interpretation of results. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48:893-894.
158. Marsillach J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Beltrán R, Joven J, Camps J. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues. *Free Radic Biol Med*. 2008;45:146-157.
159. Rodríguez-Sanabria F, Rull A, Beltrán-Debón R, Aragonès G, Camps J, Mackness B, Mackness M, Joven J. Tissue distribution and expression of paraoxonases and chemokines in mouse: the ubiquitous and joint localisation suggest a systemic and coordinated role. *J Mol Histol*. 2010; 41:379-386.
160. Marsillach J, Aragonès G, Mackness B, Mackness M, Rull A, Beltrán-Debón R, Pedro-Botet J, Alonso-Villaverde C, Joven J, Camps J. Decreased paraoxonase-1 activity is associated with alterations of high-density lipoprotein particles in chronic liver impairment. *Lipids Health Dis*. 2010;9:46.
161. Camps J, Marsillach J, Rull A, Alonso-Villaverde C, Joven J. Interrelationships between paraoxonase-1 and monocyte chemoattractant protein-1 in the regulation of hepatic inflammation. *Adv Exp Med Biol*. 2010;660:5-18.
162. Parra S, Marsillach J, Aragonés G, Beltrán R, Montero M, Coll B, Mackness B, Mackness M, Alonso-Villaverde C, Joven J, Camps J. Paraoxonase-1 gene haplotypes are associated with metabolic disturbances, atherosclerosis, and immunologic outcome in HIV-infected patients. *J Infect Dis*. 2010;201:627-34.
163. Marsillach J, Camps J, Beltran-Debón R, Rull A, Aragonés G, Maestre-Martínez C, Sabench F, Hernández M, Castillo DD, Joven J, Mackness M, Mackness B. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1 and 3 in human atheromatous plaques. *Eur J Clin Invest*. 2010;41:308-314.
164. Gerritsen WB, Asin J, Zanen P, van den Bosch JM, Haas FJ. Markers of inflammation and oxidative stress in exacerbated chronic obstructive pulmonary disease patients. *Respir Med*. 2005;99:84-90.

165. Torres-Ramos YD, Guzman-Grenfell AM, Montoya-Estrada A, Ramirez-Venegas A, Martinez RS, Flores-Trujillo F, Ochoa-Cautino L, Hicks JJ. RBC membrane damage and decreased band 3 phospho-tyrosine phosphatase activity are markers of COPD progresión. *Front Biosci.* 2010;2:1385-1393.
166. Isik B, Isik RS, Ceylan A, Calik O. Trace elements and oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Saudi Med J.* 2005;26:1882-1885.
167. Nishio W, Watanabe Y. Cigarette smoke extract inhibits plasma paraoxonase activity by modification of the enzyme's free thiols. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 236:289-93.
168. James RW, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2000; 101:2252-7.
169. Isik B, Ceylan A, Isik R. Oxidative stress in smokers and non-smokers. *Inhal Toxicol.* 2007;19:767-769.
170. Hashim Z, Ilyas A, Saleem A, Salim A, Zarina S. Expression and activity of paraoxonase 1 in human cataractous lens tissue. *Free Radic Biol Med.* 2009; 15: 1089-1095.
171. Liton PB, Luna C, Challa P, Epstein DL, Gonzalez P. Genome-wide expression profile of human trabecular meshwork cultured cells, nonglaucomatous and primary open angle glaucoma tissue. *Mol Vis.* 2006;12:774-790.
172. Zheng Y, Liu Y, Ge J, Wang X, Liu L, Bu Z, Liu P. Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. *Mol Vis.* 2010;16:1467-1474.
173. Jia Z, Song Z, Zhao Y, Wang X, Liu P. Grape seed proanthocyanidin extract protects human lens epithelial cells from oxidative stress via reducing NF-kB and MAPK protein expression. *Mol Vis.* 2011;17:210-217.
174. Hashim Z, Zarina S. Assessment of paraoxonase activity and lipid peroxidation levels in diabetic and senile subjects suffering from cataract. *Clin Biochem.* 2007;40:705-709.
175. Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Javadzadeh A, Rashtchizadeh N, Moharrery M. Oxidative DNA damage and total antioxidant status in glaucoma patients. *Mol Vis.* 2011;17:41-46.
176. Baskol G, Karakucuk S, Oner AO, Baskol M, Kocer D, Mirza E, Saraymen R, Ustdal M. Serum paraoxonase 1 activity and lipid peroxidation levels in patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmologica.* 2006;220:12-16.
177. Pauer GJ, Sturgill GM, Peachey NS, Hagstrom SA; Clinical Genomic and proteomic AMD study group. Protective effect of paraoxonase 1 gene variant Gln192Arg in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2010;149:513-522.

178. Barathi S, Angayarkanni N, Pasupathi A, Natarajan SK, Pukraj R, Dhupper M, Velpandian T, Muralidharan C, Sivashanmugham M. Homocysteinethiolactone and paraoxonase: novel markers of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2010;33:2031-2037.
179. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J; ATS/ERS Task Force. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26:319-338.
180. Pla directori de les malalties respiratòries del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya 2010. Accés per: www.gencat.cat/salut/depsalut (consultat al març del 2011).
181. McMorro RC, Mythen MG. Pulse oximetry. *Curr Opin Crit Care*. 2006;12:269-271.
182. Sinex JE. Pulse oximetry: principles and limitations. *Am J Emerg Med*. 1999;17:59-67.
183. Chyckack LT Jr, Wolfe JK, Singer DM, Leske MC, Bullimore MA, Bailey IL, Frient J, McCarthy D, Wu SY. The Lens Opacities Classification System III. The longitudinal study of Cataract Study Group. *Arch Ophthalmol*. 1993;111:831-836.
184. Davison JA, Chaylack LT. Clinical application of the lens opacities classification system III in the performance of phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29:138-145.
185. Ferré N, Camps J, Prats E, Vilella E, Paul A, Figuera L, Joven J. Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. *Clin Chem*. 2002;48:261-268.
186. Khersonsky O, Tawfik DS. Chromogenic and fluorogenic assays for the lactonase activity of serum paraoxonases. *Chembiochem*. 2006;7:49-53.
187. Mowbray AL, Kang DH, Rhee SG, Kang SW, Jo H. Laminar shear stress up-regulates peroxiredoxins (PRX) in endothelial cells: PRX 1 as a mechanosensitive antioxidant. *J Biol Chem*. 2008; 18:1622-1627.
188. Bernhard D, Csordas A, Henderson B, Rossmann A, Kind M, Wick G. Cigarette smoke metal-catalyzed protein oxidation leads to vascular endothelial cell contraction by depolymerization of microtubules. *FASEB J*. 2005;19:1096-1107.
189. Collard CD, Montalto MC, Reenstra WR, Buras JA, Stahl GL. Endothelial oxidative stress activates the lectin complement pathway: role of cytokeratin 1. *Am J Pathol*. 2001;159:1045-1054.
190. Sagoo P, Chan G, Larkin DF, George AJ. Inflammatory cytokines induce apoptosis of corneal endothelium through nitric oxide. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:3964-3973.

191. Balaiya S, Edwards J, Tillis T, Khetpal V, Chalam KV. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) levels in aqueous humor of primary open angle glaucoma. *Clin Ophthalmol*. 2011;5:553-556.
192. Shivanna M, Srinivas SP. Elevated cAMP opposes (TNF-alpha)-induced loss in the barrier integrity of corneal endothelium. *Mol Vis*. 2010;16:1781-1790.
193. Shivanna M, Rajashekhar G, Srinivas SP. Barrier dysfunction of the corneal endothelium in response to TNF-alpha:role of p38 MAP kinase. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:1575-1582.
194. Shivanna M, Srinivas SP. Microtubule stabilization opposes the (TNF-alpha)-induced loss in the barrier integrity of corneal endothelium. *Exp Eye Res*. 2009;89:950-959.
195. Bourne WM. The effect of long-term contact lens wear on the cells of the cornea. *CLAO J*. 2001;27:225-230.
196. Nieuwendaal CP, Odenthal MT, Kok JH, Venema HW, Oosting J, Riemsdag FC, Kiilstra A. Morphology and function of the corneal endothelium after long-term contact lens wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35:3071-3077.
197. Carlson KH, Bourne WM, Brubaker RF. Effect of long-term contact lens wear on corneal endothelial cell morphology and function. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1988;29:185-193.
198. Mac Rae SM, Matsuda M, Shellans S, Rich LF. The effects of hard and soft contact lenses on the corneal endothelium. *Am J Ophthalmol*. 1986;102:50-57.
199. Chhabra M, Prausnitz JM, Radke CJ. Modeling corneal metabolism and oxygen transport during contact lens wear. *Optom Vis Sci*. 2009;86:454-466.
200. Connors MS, Stoltz RA, Webb SC, Rosenberg J, Dunn MW, Abraham NG, Lanjado-Schwartzman M. A closed eye contact lens model of corneal inflammation. Part 1: increased synthesis of cytochrome P450 arachidonic acid metabolites. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36:828-840.
201. Connors MS, Stoltz RA, Davis KL, Dunn MW, Abraham NG, Levere RD, Lanjado-Schwartzman M. A closed eye contact lens model of corneal inflammation. Part 2: Inhibition of cytochrome P450 arachidonic acid metabolism alleviates inflammatory sequelae. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36:841-850.
202. Mastuyugin V, Mosaed S, Bonazzi A, Dunn MW, Schwartzman ML. Corneal epithelial VEGF and cytochrome P450 4B1 expression in a rabbit model of closed eye contact lens wear. *Curr Eye Res*. 2001;23:1-10.
203. Rauz S, Walker EA, Shackleton CH, Hewison M, Murray PI, Stewart PM. Expression and putative role of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isozymes within the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001; 42:2037-2042).
204. Stokes J, Noble J, Brett L, Phillips C, Seckl JR, O'Brien C, Andrew R. Distribution of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors and 11beta-hydroxysteroid

- dehydrogenases in human and rat ocular tissues. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41:1629-1638.
205. Wilson SE, Lloyd SA, He YG. Glucocorticoid receptor and interleukin-1 receptor messenger RNA expression in corneal cells. *Cornea.* 1994;13:4-8.
206. Liesegang TJ. Physiologic changes of the cornea with contact lens wear. *CLAO J.* 2002;28:12-27.
207. Jones LW, Jones DA. Non-inflammatory corneal complications of contact lens wear. *Cont Lens anterior Eye.* 2001;24:73-79.
208. Doughty MJ, Aakre BM, Ystenaes AE, Svarverud E. Short-term adaptation of the human corneal endothelium to continuous wear of silicone hydrogel (lotrfilcon A) contact lenses after daily hydrogel lens wear. *Optom Vis Sci.* 2005;82:473-480.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AFECTACIÓ DE L'ENDOTELI CORNEAL EN PACIENTS AMB MALALTIA PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÒNICA

Núria Soler Lluís

Dipòsit Legal: T.1472-2012

Annex A1. Estudi propi

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:
**FACTORES INFLUYENTES DEL ENDOTELIO CORNEAL EN CÓRNEAS
DONANTES**

Autor: Núria Soler Lluís

Primer premio en las
VIII JORNADAS NACIONALES PARA MÉDICOS RESIDENTES DE
OFTALMOLOGÍA. Palma de Mallorca. Junio 2005

Servicio de Oftalmología
Núria Soler
Òscar Gris

Con colaboración de:
Francisco Caballero, Antonio López-Navidad.
Banco de Tejidos del Hospital de Sant Pau

Ignasi Gich. Servicio de Epidemiología y Estadística

Hospital de Sant Pau. Barcelona
Marzo 2005

FACTORES INFLUYENTES DEL ENDOTELIO CORNEAL

PROPÓSITO DEL TRABAJO

Es sabido que existe una pérdida celular endotelial corneal en pacientes trasplantados de córnea¹. La pérdida celular anual es de 7,8% del tercer al quinto año postrasplante¹. Por ello es muy importante conocer los factores que influyen sobre el endotelio de las córneas de los donantes para poder optimizar el pronóstico a largo plazo de las queratoplastias.

Está universalmente aceptado que el endotelio corneal puede verse afectado por la edad formando parte del proceso degenerativo fisiológico, incrementándose la incidencia de guttas endoteliales, así como disminuyendo la densidad celular endotelial²⁻⁴.

Existe controversia en cuanto a la influencia ejercida sobre el endotelio corneal de otros factores, como la causa de muerte de los donantes^{3, 5} y el tiempo transcurrido entre la muerte y la enucleación del globo ocular^{3, 6}.

Este trabajo pretende estudiar el endotelio corneal en función de la edad, del tiempo de enucleación y de la causa de muerte, para poder optimizar la calidad de las córneas para trasplante.

Además, el conocimiento del efecto sobre el endotelio corneal de diversas patologías, puede aportar información de la fisiopatología ocular de dichas enfermedades.

DISEÑO Y MÉTODOS

Entre noviembre de 1999 y diciembre de 2003 obtuvimos 836 globos oculares de 418 donantes en el Banco de ojos del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

Selección de los donantes:

Todos los donantes se obtuvieron en el propio hospital. Los criterios de selección de donantes de córnea fueron los establecidos por la Comisión Asesora de Trasplante de Córnea del Servei Català de la Salut . Se excluyeron como donantes los fallecidos por causa desconocida y los afectados de infecciones víricas como el virus de la inmunodeficiencia humana, rabia, hepatitis B y C comprobadas serológicamente o pacientes de riesgo para estas infecciones víricas. Tampoco se

aceptaron como donantes aquellos que presentaban enfermedades degenerativas del sistema nervioso central ⁷⁻⁹.

A nivel ocular, se excluyeron los donantes con afectación estructural o morfológica del segmento anterior conocidas, aquellos con infección activa ocular y los que presentaron antecedentes de queratitis herpéticas. Respecto a los donantes con neoplasia ocular se excluyeron los que presentaron metástasis macroscópicas a nivel ocular o con tumores oculares primarios ⁷⁻⁹.

Todos los fallecidos por neoplasias sistémicas, tanto sólidas como hematológicas, fueron aceptados como donantes de córnea a excepción de los que presentaron evidencia macroscópica de afectación ocular.

Extracción, validación y preservación de las córneas:

Después de la extracción completa del globo ocular del donante se procedió al estudio de la córnea y de cámara anterior bajo lámpara de hendidura para descartar alteraciones estructurales. A continuación se disecó con tijeras el botón corneoescleral con un diámetro de 14 milímetros y se preservó en Optisol^R a +4°C. Posteriormente se realizó estudio endotelial mediante microscopía especular de no contacto. En cuanto al estudio endotelial *cuantitativo* se procedió al conteo endotelial corneal central tomando la media de cuatro valores obtenidos. Respecto al estudio endotelial *cualitativo* principalmente consistió en detectar la presencia de guttas. Se excluyeron las córneas con contajes endoteliales inferiores a 2200 cel/mm² y las afectadas por guttas.

Una vez superada la validación corneal se procedió al trasplante de córnea durante la primera semana desde la extracción del globo ocular.

Análisis estadístico:

Se realizó análisis estadístico multifactorial para valorar la influencia de varios factores sobre el endotelio. Se valoraron la *densidad celular endotelial* (células/mm²) y la presencia de *guttas*.

Las tres variables de estudio como posibles factores influyentes del endotelio fueron: 1) la *edad* de los donantes, 2) el *tiempo de enucleación*, consistente en el

tiempo transcurrido entre la muerte del donante y la extracción del globo ocular, expresado en horas, y 3) la *causa de muerte*.

Respecto a la causa de muerte se diferenciaron los siguientes grupos en función de las patologías que padecían los donantes al fallecer: neoplásicos, diabéticos, broncopatas, cardiopatas, hipertensos, y aquellos que fallecieron por muerte súbita sin estar afectados de ninguna enfermedad crónica.

Se utilizó el SPSS como base de datos y como programa de estudio estadístico. En función de los tipos de variables a correlacionar se utilizaron distintos métodos estadísticos (TABLA 1-4).

RESULTADOS

De las 836 globos oculares obtenidos en el Banco de ojos entre el periodo de tiempo citado, se pudo recoger información completa de 654, que fueron las utilizadas para el estudio.

Densidad celular endotelial:

Obtuvimos que con la *edad* la densidad celular endotelial se afectaba negativamente presentando un valor de correlación de Pearson de -0.345 , siendo estadísticamente significativo ($p=0,000$) (Tabla 1 y Gráfico 1).

Respecto a las patologías existentes en los donantes, encontramos diferencias estadísticamente significativas en los donantes *diabéticos* ($p=0,012$) y en el grupo de donantes afectados de **broncopatía crónica** ($p=0,037$), con mayor y menor densidad celular endotelial, respectivamente (Tabla 2 y Gráfico 2).

En cuanto al *tiempo de enucleación* transcurrido entre la muerte y la extracción del globo ocular, y en cuanto al resto de patologías de los donantes, no presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 1 y 2).

Presencia de guttas endoteliales:

La presencia de guttas endoteliales mostró ser influenciada por dos de las variables analizadas, existiendo diferencias estadísticamente significativas:

Se observó mayor presencia de guttas endoteliales a medida que se incrementaba la edad de los donantes ($p=0,003$) (Tabla 3), y por el contrario, menor presencia de guttas endoteliales en el grupo de donantes fallecidos por muerte súbita ($p=0,023$) (Tabla 4).

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en ningún grupo de enfermedad crónica (Tabla 4).

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

El conocimiento de los factores influyentes sobre el endotelio corneal nos permitirá optimizar la calidad de las córneas para trasplante.

Con la edad, la densidad celular endotelial disminuye y la presencia de guttas endoteliales aumenta, formando parte del proceso degenerativo fisiológico³. Los resultados del estudio son compatibles con los descritos en la literatura²⁻⁴.

El tiempo transcurrido entre la muerte del donante y la enucleación puede alterar las células endoteliales. Se ha podido comprobar que cuando el tiempo de enucleación es excesivamente prolongado, superior a 10 horas, la densidad celular endotelial disminuye^{1, 10-11}. Sin embargo, en tiempos adecuados, las células endoteliales no se ven afectadas⁶, como en nuestro estudio donde el tiempo medio ha sido solo de 3,015 horas (sd 1,236) razón por lo que en nuestro estudio no hemos encontrado que esta variable afecte al endotelio.

En cuanto a la influencia de la causa de muerte y las patologías de los donantes sobre el endotelio corneal destacan en nuestro estudio principalmente la diabetes mellitus, las broncopatías, y el grupo de donantes que fallecieron por muerte súbita:

Se ha sugerido que los diabéticos presentan una alteración funcional del endotelio corneal evidenciado por un incremento del grosor corneal y por edema corneal persistente después de la cirugía de catarata y vitrectomía, no atribuibles a defectos epiteliales¹². Esta alteración funcional no es debida a una menor densidad celular endotelial, ya que se ha descrito que en los diabéticos es normal¹³⁻¹⁵. Se atribuye a cambios estructurales endoteliales descritos a modo de polimegatismo (elevado coeficiente de variación del área celular) y pleomorfismo

(bajo porcentaje de células hexagonales)¹². Se ha demostrado que estas alteraciones se traducen en una mayor susceptibilidad al trauma quirúrgico al tener menor reserva funcional¹². En nuestro estudio se ha encontrado un aumento estadísticamente significativo de densidad celular endotelial en los donantes que padecían diabetes. Actualmente estamos analizando este subgrupo valorando edad, tiempo de evolución de la diabetes, presencia o no de retinopatía diabética, grado de polimegatismo y pleomorfismo, para poder dar explicación a este hallazgo.

Respecto a los donantes afectos de broncopatía, hemos hallado que presentan una menor densidad celular estadísticamente significativa. No se ha descrito previamente en la literatura ningún estudio que evalúe la influencia de esta enfermedad crónica sobre el endotelio. Se sabe que la mayoría del oxígeno corneal difunde a través de las lágrimas desde la atmósfera, y que principalmente éste es consumido por el epitelio y estroma. En cambio, la necesidad endotelial de oxígeno la satisface principalmente el humor acuoso¹⁶. Por tanto, una posible explicación a esta menor densidad celular endotelial hallada en los broncópatas podría ser explicada por la hipòxia que éstos presentan.

Por último, en los donantes que fallecieron por muerte súbita hemos hallado que tienen una presencia menor de guttas endoteliales. Esto puede ser debido a que se trata de un grupo de donantes jóvenes y sin patología crónica asociada, teniendo en cuenta que la incidencia de guttas es mayor en la población de edad avanzada como proceso degenerativo fisiológico.

Por tanto, en cuanto a la optimización de la calidad de las córneas obtenidas para trasplante, se aconseja prestar especial atención a los donantes de edades avanzadas, aunque si presentan una densidad celular endotelial superior a 2.200 cel/mm² y no presentan guttas, podrán ser candidatas a ser trasplantadas. En cuanto al tiempo de enucleación, se aconseja que este sea corto. Respecto a las patologías de los donantes al fallecer, podría ser útil valorar el grado de polimegatismo y pleomorfismo de los donantes diabéticos y broncópatas como medida de valoración de la función endotelial.

TABLAS Y GRÁFICOS

TABLA 1. Influencia de la edad y del tiempo de enucleación sobre la densidad celular endotelial (Correlació de Pearson).

	Valores extremos	Media (+/- desviación estándar)	Correlación de Pearson (<i>r</i>)	Nivel de significación estadística (<i>p</i>)
Edad (años)	2 – 94	61,72 (+/- 16,521)	- 0,345	0,000
Tiempo de enucleación (horas)	1 – 11	3,015 (+/- 1,236)	0,042	0,452

TABLA 2. Influencia de la patología y causa de muerte de los donantes sobre la densidad celular endotelial (Análisis de la varianza: ANOVA).

Enfermedad de los donantes / Causa de muerte	Densidad celular endotelial		Nivel de significación estadística
	<i>Si: Presencia de la enfermedad No: Ausencia de la enfermedad</i>		
	Si	No	P
Neoplasia	2940,245 (+/- 469,144) n = 272	2883,19 (+/- 476,745) n = 382	0,453
Diabetes	3062,70 (+/- 524,563) n = 46	2880,91 (+/- 467,526) n = 608	0,012
Broncopatía	2785,11 (+/- 348,886) n = 74	2907,22 (+/- 486,537) n = 578	0,037
Cardiopatía	2827,63 (+/- 503,241) n = 102	2905,90 (+/- 467,391) n = 552	0,125
Hepatopatía	2886,33 (+/- 379,749) n = 12	2893,83 (+/- 475,429) n = 642	0,957
Hipertensión arterial	2868,95 (+/- 417,675) n = 88	2897,54 (+/- 481,947) n = 566	0,599
Muerte súbita	2912,45 (+/- 504,257) n = 214	2884,57 (+/- 458,57) n = 440	0,480

TABLA 3. Influencia de la edad sobre la presencia de guttas endoteliales (Análisi de la varianza: ANOVA)

	Guttas endoteliales		Nivel de significación estadística
	Si	No	<i>p</i>
Edad (media +/- sd)	69,67 (+/- 9,853) n = 48	62,24 (+/- 16,758) n = 628	0,003

TABLA 4. Influencia de la enfermedad y causa de muerte de los donantes sobre la presencia de **guttas endoteliales** (Pruebas de chi-cuadrado).

Enfermedad de los donantes / Causa de muerte	Nivel de significación estadística (<i>p</i>)
Neoplasia	0,548
Diabetes	0,543
Broncopatía	0,253
Cardiopatía	0,835
Hepatopatía	1,00
Hipertensión arterial	0,120
Muerte súbita	0,023

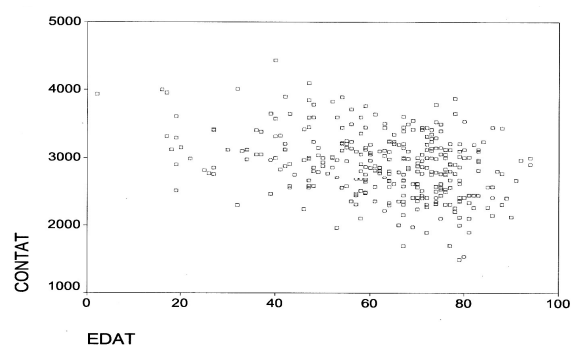
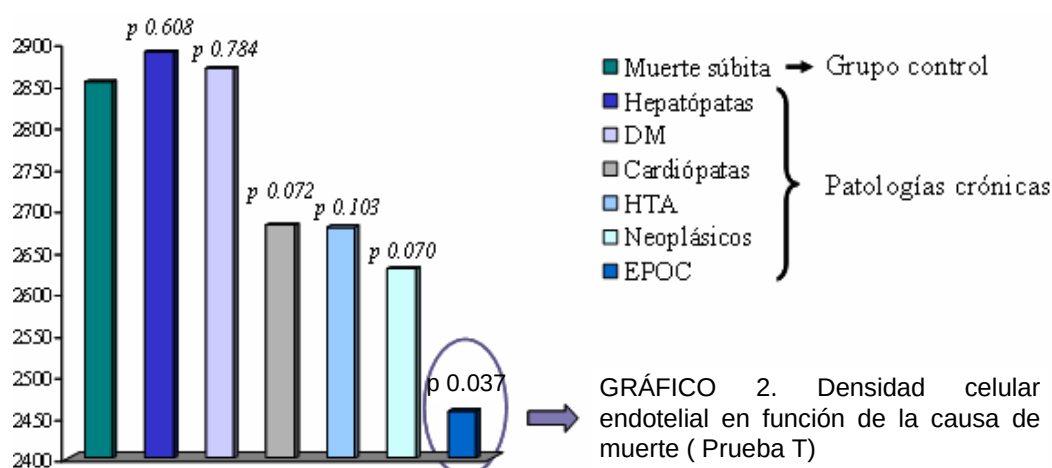


GRÁFICO 1. Densidad celular endotelial en función de la edad (Correlación de Pearson $-0,345$).



BIBLIOGRAFIA

- Bohringer D, Reinhard T, Spelsberg H, Sundmacher R. Influencing factors on chronic endothelial cell loss characterised in a homogeneous group of patients. Br J Ophthalmol 2002; 86: 35-8.
- Moller-Pedersen T. A comparative study of human corneal keratocyte and endothelial cell density during aging. Cornea 1997; 16: 333-8.
- Armitage WJ, Easty DL. Factors influencing the suitability of organ-cultured corneas for transplantation. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997; 38: 16-24.
- Mattern RM, Heck EL, Cavanagh HD. The impact on tissue utilization of screening donor corneas by specular microscopy at the University of Texas Southwestern Medical Center. Cornea 1995; 14: 562-7.
- Ronkina TI. Activation of corneal endothelial proliferation in cancers of arious sites. Arkh Patol 1993; 55: 66-9.
- Langenbucher A, Nguyen NX, Sietz B. Predictive donor factors for chronic endothelial cell loss after nonmechanical penetrating keratoplasty in a regression model. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2003. 241: 975-81.
- García-Sousa S, López-Navidad A, Caballero F, Leal J, Viedma MA. Potential cornea donors in a general hospital. Transplantation Proceedings 1999; 31: 2607-2608.
- Eye Bank Association of America. Medical Standards- November 2003.
- European Eye Bank Association. Medical Standards- January 2004.

10. Thuret G, Chiquet C, Bernal F. Prospective, randomized clinical and endothelial evaluation of 2 storage times for cornea donor tissue in organ culture at 31 degrees C. *Arch Ophthalmol* 2003; 121: 442- 50.
11. Gain P, Thuret G, Chiquet C. Cornea procurement form very old donors: post organ culture cornea outcome and recipient graft outcome. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 404-11.
12. Keoleian GM, Pach JM, Hodge DO, Trocme SD, Bourne WM. Structural and functional studies of the corneal endothelium in diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol* 1992; 113: 64-70.
13. Larsson Li, Bourne WM, PAch JM, Brubaker RF. Structure and function of the corneal endothelium in diabetes mellitus type I and type II. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 9-14.
14. Matsuda M, Ohguro N, Ishimoto I, Fukuda M. Relationship of corneal endothelial morphology to diabetic retinopathy, duration of diabetes and glycemic control. *Jpn J Ophthalmol* 1990; 34: 53-6.
15. Shetlar DJ, Bourne WM, Campbell RJ. Morphologic evaluation of Descemet's membrane and corneal endothelium in diabetes mellitus. *Ophthalmology* 1989; 96: 247-50.
16. Grayson. *Enfermedades de la córnea*. 4ª edición. Harcourt Brace. Mosby. Pag 23-27.

Annex A2. Aprovació Comitè Ètic



Annex A3. Full informatiu pels participants

HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE

Naturaleza del proyecto

El proyecto de investigación para el que le pedimos su participación tiene por título:
"Estudi de l'endoteli corneal en pacients amb malaltia pulmonar obstructiva crònica".

Se sabe que la cirugía de cataratas puede descompensar la córnea de aquellos pacientes que tengan una baja reserva funcional de su córnea, limitando así la agudeza visual postquirúrgica. Existen indicios de que las córneas de los pacientes afectados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) tienen riesgo de tener éstas alteraciones corneales.

Por ello, se ha diseñado un proyecto para estudiar el estado funcional de las córneas de los pacientes con EPOC y la respuesta ante una cirugía de cataratas.

Procedimientos

La participación en el estudio consiste en:

- Permitir que los investigadores puedan conocer y trabajar con datos como el diagnóstico, la edad, la evolución de la enfermedad, etc.
- Responder a tests y cuestionarios específicos de investigación, además de la entrevista y pruebas necesarias para poder hacer el diagnóstico, como la espirometría (prueba no invasiva para conocer su función pulmonar).
- Permitir que se le realice un estudio de su córnea antes y después de la cirugía de la catarata (prueba no invasiva que consiste en realizar una fotografía de la córnea llamada microscopia endotelial).
- Se realizará la extracción de sangre estándar preoperatoria, utilizándola para analizar varios parámetros.
- La cirugía de la catarata será mediante el procedimiento habitual.

Todos los datos recogidos para la investigación se guardan informatizados en unos ficheros especialmente diseñados para la investigación y en ellos no aparece ni su nombre ni ningún dato que pueda identificarlo.

Beneficios y riesgos

El beneficio del estudio es profundizar en el conocimiento de las córneas de los pacientes con EPOC, para poder establecer el momento adecuado para realizar la cirugía de cataratas en estos pacientes, así como para optimizar de la técnica quirúrgica

empleada. A corto plazo no se prevé que los resultados obtenidos en el estudio puedan beneficiar directamente al participante, si no que serán unos resultados que beneficiarán a la población general.

Al realizar un estudio corneal antes de la cirugía de la catarata que habitualmente no se realiza, como beneficio directo a los participantes, se podrán detectar aquellas córneas con riesgo elevado de descompensarse irreversiblemente después de la cirugía. Esto nos permitirá analizar mejor el beneficio-riesgo de la cirugía de la catarata en estos casos.

El estudio no supone ningún riesgo que no sea el derivado de la extracción de sangre preoperatoria, y los propios de la cirugía de la catarata que también serán explicados, requiriendo de la firma del consentimiento informado propio de la cirugía.

Garantía de participación voluntaria

Los investigadores le garantizamos que sea cual sea su decisión respecto a la participación en el proyecto, su atención sanitaria por parte del personal del hospital no se verá afectada. Además en el caso de que Vd. acepte participar, sepa que se puede retirar en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y en tal caso sus datos serían retirados de la base de datos.

Confidencialidad

El hospital y los investigadores se responsabilizan de que en todo momento se mantenga la confidencialidad respecto a la identificación y los datos del participante. El nombre y los datos que permitirán identificar al paciente solo constan en la historia clínica. Los investigadores utilizan códigos de identificación sin conocer el nombre de la persona a la que pertenece la muestra. Estos procedimientos están sujetos a lo que dispone la Ley Orgánica 15/1999 del 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal.

Preguntas

Llegado este momento le damos la oportunidad de que, si no lo ha hecho antes, haga preguntas. Le responderemos lo mejor que podamos.

Aquest model ha estat aprovat per la Comissió d'Investigació de l'Hospital Psiquiàtric Universitari Institut Pere Mata (Reunió del 7/7/00) i pel Comitè ètic d'Investigació de l'Hospital Universitari de Sant Joan de Reus (Reunió del 3/8/00)

Annex A4. Consentiment informat

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

El/LaDra Soler..... informa al paciente o al representante legal (familiar de referencia o tutor) Sr./Sra de la existencia de un proyecto de investigación sobre el estudio de las corneas de los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica titulado (EPOC) “ **Estudi de l'endoteli corneal en pacients amb malaltia pulmonar obstructiva crònica**”.

Este proyecto pretende estudiar el estado funcional de las corneas de los pacientes con EPOC y su respuesta ante una cirugía de cataratas.

Por ello, se requiere de un estudio de la función pulmonar, de las corneas (mediante fotografías), y del análisis de sangre preoperatorio de los participantes.

El beneficio del estudio es profundizar en el conocimiento de las corneas de los pacientes con EPOC, para poder establecer el momento adecuado para realizar la cirugía de cataratas en estos pacientes, así como para optimizar de la técnica quirúrgica empleada. A corto plazo no se prevé que los resultados obtenidos en el estudio puedan beneficiar directamente al participante, si no que serán unos resultados que beneficiarán a la población general.

El estudio no supone ningún riesgo que no sea el derivado de la extracción de sangre preoperatoria, y los propios de la cirugía de la catarata que también serán explicados, requiriendo de la firma del consentimiento informado propio de la cirugía.

El equipo investigador garantiza la confidencialidad respecto a la identidad del participante y por otra parte garantiza que la muestra y los resultados derivados de la investigación serán utilizados par los fines descritos y no otros.

He sido informado de la naturaleza del estudio que se resume en esta hoja, he podido hacer preguntas que aclararan mis dudas y finalmente he tomado la decisión de participar, sabiendo que la decisión no afecta mi atención terapéutica en el centro y que me puedo retirar del estudio en cualquier momento.

	Nombre y apellidos	Fecha	Firma
Paciente			
Familiar o tutor			
Informante			

Annex A5. Fitxes de recollida de dades

<i>Identificació pacient complerta</i>		<i>GRUP: EPOC // NO EPOC</i>	
		<i>DATA:</i>	
		<i>Nom de qui omple la fitxa :</i>	

AVALUACIÓ OFTALMOLÒGICA

AO:	- Alteracions de l'endoteli corneal 1a (pe. Fuchs)	Si / No
	- Malalties infeccioses o inflamatòries de la còrnia	Si / No
	- Glaucoma d'angle tancat	Si / No
	- Síndrome pseudoexfoliativa	Si / No
	- Traumatisme ocular	Si / No
	- Cirurgia ocular prèvia	Si / No
	- PLC (en el passat o present)	Si / No
	- Antecedents d'uveïtis	Si / No

	UD	UE
- AV (optotips d'Snellen)		
- TO		
- FU		
- BMC		
- Còrnia		
- CA		
- PXE		
- Signes d'uveïtis		
- Altres		
- CATARACTA LOCS III	NO	NO
	NC	NC
	C	C
	P	P

Recorda excloure Cataracta nuclear avançada (NO6 i NC6)

Comentaris:

Identificació pacient complerta

GRUP: EPOC // NO EPOC

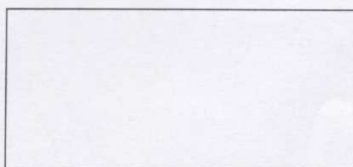
DATA:

Nom de qui omple la fitxa :

PARÀMETRES QUIRÚRGICS

- Data de la cirurgia
- Cirurgia
- Ull dret // esquerre
- Tipus de LIO
- Potència de la LIO
- LIO a sac // sulcus // càmara anterior
- Temps quirúrgic
- Ultrasons: Temps // Potència
- Aspiració
- Incidències quirúrgiques i comentaris

ETIQUETA DE LA LIO



Identificació pacient complerta

GRUP: EPOC // NO EPOC
DATA:
Nom de qui omple la fitxa :

AVALUACIÓ SISTÈMICA

▪ Avaluació general:

- Edat Sexe: Home / Dona

- Pes Talla IMC

- Història laboral:

- Antecedents patològics (a part de MPOC) i tractaments sistèmics rebuts:

- -

- -

- -

• Avaluació MPOC:

- Anys d'evolució de la MPOC:

- Oxigen domiciliari? Si / No

Durada del tto amb O2 Dosi.....

- Fàrmacs:

Principi actiu	Dosi	Durada del tractament
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		

- Tabaquisme: cigarrets al dia xanys fumant / 20 = n° paquets / any

- Funció pulmonar (espirometria):

FEV1 FVC

FEV1/FVC

- Gasometria (en el grup EPOC):

pO2 pCO2 pH

HCO3 Saturació d'oxigen

Identificació pacient completa

GRUP: EPOC // NO EPOC

DATA:

Nom de qui omple la fitxa :

PROTOCOL ANALÍTICA SANG

1. Analítica pre-operatòria estàndard
2. Incloure els següents paràmetres:
 - Glucosa
 - Creatinina
 - Urea
 - Composició iònica: Na
 - K
 - Mg
 - pO₂
 - pCO₂
 - pH
 - HCO₃
 - Saturació d'oxigen
 - Peròxid total
 - Paraoxonasa
 - Proteïnes
 - Albumina
 - Hematocrit

COMPOSICIÓ HUMOR AQUÓS

- O₂
- CO₂
- Ph
- HCO₃
- Peròxids totals
- Paraoxonasa

