

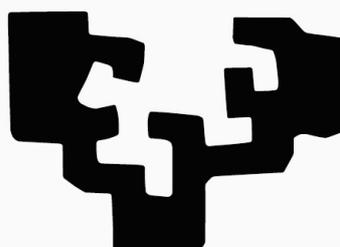
Euskal Herriko Unibertsitatea-Universidad del País Vasco

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias Médico-Quirúrgicas

Departamento de Dermatología, ORL y Oftalmología

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

TÍTULO: Estudio de expresión de factores de riesgo de opacificación capsular en células del epitelio anterior del cristalino tras cirugía de catarata con láser Femtosegundo

TITLE: Study of risk factors expression in capsular opacification from lens epithelial cells after Femtosecond laser-assisted cataract surgery.

Autor: Txomin Alberdi Ibarloza

Donosti 2018

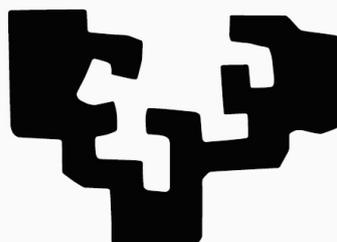
Euskal Herriko Unibertsitatea-Universidad del País Vasco

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias Médico-Quirúrgicas

Departamento de Dermatología, ORL y Oftalmología

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

TÍTULO: Estudio de expresión de factores de riesgo de opacificación capsular en células del epitelio anterior del cristalino tras cirugía de catarata con láser Femtosegundo

TITLE: Study of risk factors expression in capsular opacification from lens epithelial cells after Femtosecond laser-assisted cataract surgery.

DIRECTORES TESIS: Javier Mendicute Del Barrio

Javier Ruiz Ederra

Donosti 2018

DEDICATORIA

A mis padres
por la semilla de superación que han sembrado
en mi,
a M^a Teresa , Helene y Jone
por su apoyo emocional y estímulo.

AGRADECIMIENTOS

Tras finalizar la redacción de mi tesis doctoral, tengo el placer de enfrentarme al capítulo más emotivo de este trabajo, que no es otro que el de los agradecimientos. He de sintetizar en unas breves líneas, mi más sentida y sincera gratitud hacia las personas que me han brindado su ayuda. Sin ellas, hubiese sido del todo imposible afrontar con éxito la elaboración de este proyecto, en la que tanta ilusión he puesto.

De forma muy especial, quiero dejar constancia de mi agradecimiento al Dr. Javier Mendicute, como pionero de la cirugía de laser femtosegundo a nivel mundial, como jefe del Servicio y codirector de este trabajo, sin su prestigio, apoyo y generoso esfuerzo, este trabajo no hubiera sido posible. Javier me ha apoyado en todo momento, especialmente en el diseño del trabajo, así como en la realización de las cirugías con el Femtofacio, su ayuda ha sido fundamental por su rigor y búsqueda de la excelencia.

A Javier Ruiz Ederri que como codirector me ha ayudado en el diseño del proyecto y a moverme en el mundo de la genética. Sin su ayuda yo hubiera andado totalmente perdido. Gracias a su esfuerzo y al de Olatz Barandika en el análisis genético de las muestras de epitelio capsular anterior, ha sido posible concluir este trabajo.

Mi agradecimiento también al personal de Biodonosti y del Biobanco vasco para la investigación.

Profesionalmente he tenido la suerte de aprender de colegas que han sido referentes inolvidables para mí. De mi paso por el Hospital de Galdakao quiero agradecer a los jefes de Servicio Javier Orbegozo y a José Antonio López Garrido a los que nunca podré corresponder como merecerían tantos años de conocimiento y sabiduría empleados en mi desarrollo profesional.

A mis compañeros y amigos del Hospital de Galdakao de los que aprendí mucho, disfrutando al mismo tiempo de su amistad y de su ciencia.

A mis compañeros y amigos del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Donostia, oftalmólogos, optometristas, enfermeras y administrativos, por su inestimable ayuda incondicional para la elaboración de este trabajo, expresando una especial gratitud a nuestros optometristas Ana Ondarra, Aizpea Ugalde y Adela Churruca por su colaboración en la realización de las incontables capturas de imagen con Pentacam.

Quiero agradecer a Cristina Sarasqueta por su paciencia y profesionalidad en la elaboración de los análisis estadísticos.

Mi gratitud a mis padres. Sin su ejemplo no hubiera sido posible este trabajo, ellos me enseñaron el valor del esfuerzo. Gracias a su apoyo y cuidados tuve la suerte de llegar a ser oftalmólogo. A mis hermanos José Ignacio, Juan Ramón, Andoni e Itziar os llevo en mi corazón.

Por último, en el apartado personal, mi gratitud y todo mi amor a Teresa, mi esposa, compañera y amiga, por su inestimable apoyo y comprensión para sobrellevar el abandono al que ha estado sometida durante todas las horas que he dedicado a éste trabajo. También gracias, una y otra vez a Helene y Jone, mis hijas, que espero con todo deseo que lleguen a entender algún día el motivo por el que durante tantas horas no he podido dedicarles la atención que merecen, y para que les quede el recuerdo de un ideal realizado, también con su ayuda.

ÍNDICE PAGINADO

INTRODUCCIÓN.....	1
1. GENERALIDADES.....	5
2. OPACIFICACIÓN/CONTRACCIÓN DE LA CÁPSULA ANTERIOR.....	10
2.1. Introducción	
2.2. Importancia clínica	
2.3. Métodos de cuantificación	
2.3.1 Método subjetivo clínico propuesto por Werner.	
2.3.2 Método objetivo mediante densitometría con el Oculus Pentacam® HR	
2.3.3 Medición del porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis.	
2.4. Fisiopatología	
2.5. Etiopatogenia	
3. OPACIFICACIÓN DE LA CÁPSULA POSTERIOR.....	23

3.1. Introducción

3.2. Importancia clínica

3.3. Métodos de cuantificación

3.3.1. Métodos clínicos

3.3.2. Softwares de análisis de imagen fotográfica digitalizada.

3.3.2.1. Análisis de densidad de bordes

3.3.2.2. Análisis de textura

3.3.2.3. Métodos de imagen de segmento anterior (OCT y densitometría con el Oculus Pentacam® HR)

3.4. Fisiopatología

3.5. Etiopatogenia

4. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE LOS GENES DE INTERÉS MEDIANTE RT-Q-PCR.....40

5. IMPORTANCIA DEL LÁSER DE FEMTOSEGUNDO EN LA CIRUGÍA DE CATARATAS.....	42
---	-----------

6. FRENTES DE INVESTIGACIÓN PARA EVITAR LA APARICIÓN DE OPACIFICACIÓN CAPSULAR TRAS LA CIRUGÍA DE CATARATA.....	44
--	-----------

HIPÓTESIS.....	49
-----------------------	-----------

OBJETIVOS.....	53
-----------------------	-----------

1. OBJETIVO GENERAL

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1. Estudio de la expresión de factores implicados en la opacificación capsular en células A de cápsula anterior de cristalino.

2.2. Estudio de la evolución de la opacificación del cristalino tras la cirugía de catarata, mediante:

2.2.1. Análisis del grado de opacidad de la cápsula posterior mediante densitometría de área mediante el Sistema OCULUS Pentacam^RHR

2.2.2. Análisis de la Opacidad de cápsula anterior (OCA).

2.2.2. a. Análisis de la OCA medida por puntuación subjetiva mediante exploración en lámpara de hendidura

2.2.2.b. Análisis de la OCA que es medida objetivamente por densitometría mediante el sistema OCULUS Pentacam^RHR

2.2.3. Análisis del la Retracción de la cápsula anterior objetivada tras medición del área de CCC en las sucesivas visitas postoperatorias.

2.3 Establecimiento de una correlación entre la expresión de los genes analizados (objetivo 1) y las medidas de la evolución de la opacificación del cristalino (objetivo 2).

JUSTIFICACIÓN.....57

1. IMPORTANCIA CLÍNICA Y ECONÓMICA

2. BÚSQUEDA DE UN MÉTODO OBJETIVO PARA CUANTIFICAR LA OPACIFICACIÓN DE CÁPSULA ANTERIOR

3. ESTE ES EL ÚNICO ESTUDIO...

4. GENÉTICA

5. LAZOS DE COLABORACIÓN

MATERIAL Y MÉTODOS.....63

1. APROBACIÓN POR COMITÉ DE ÉTICA

2. DISEÑO

2.1. TÉCNICAS PARA LLEVAR A CABO LOS OBJETIVOS 1 Y 3

2.2. TÉCNICAS PARA LLEVAR A CABO LOS OBJETIVOS 2 Y 3

3. ELEMENTOS SUJETOS A ESTUDIO

3.1 PIEZAS QUIRÚRGICAS: Cápsula anterior del cristalino-Células epiteliales anteriores de la cápsula del cristalino

3.2 SUJETOS DEL ESTUDIOS: Pacientes

3.3.1 Criterios de inclusión

3.3.2 Criterios de exclusión

3.3. TÉCNICA QUIRÚRGICA

3.4. EVALUACIONES POSTERIORES A LA CIRUGÍA Y
PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

3.4.1. Porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis en el postoperatorio

3.4.2. Niveles de densitometría de OCA y OCP (Pentacam®HR densitometry software)

3.4.3 Medición de ACO por baremo subjetivo clínico

3.4.4. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES: GENÉTICA

3.4.4.1 Extracción de ARN de la cápsula anterior del cristalino

3.4.4.2 Análisis de la expresión de genes candidatos implicados en la opacificación capsular a nivel de mRNA PCR cuantitativa en tiempo real.

4. VARIABLES

5. ANÁLISIS DE DATOS

6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

RESULTADOS.....93

1 ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA OPACIFICACIÓN

1.1 Resultados del análisis de validación del método de medida de opacidad capsular anterior

1.2 Resultados del análisis de correlación entre los niveles de densidad de cápsulas anteriores y posteriores proporcionados por dos diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam® HR (área, lineal) y el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis.

2 ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES DE CECHs

3 ESTUDIO DE CORRELACIÓN ENTRE VALORES DE DENSITOMETRÍA DE ÁREA DE OCP-OCP y EXPRESIÓN DE GENES

DISCUSIÓN127

1. Métodos de medida de opacidad de cápsula anterior
2. Análisis de correlación entre los niveles de densidad de cápsulas anteriores y posteriores proporcionados por los dos diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam® HR (área y lineal) y el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis
3. Técnica quirúrgica
4. Correlación de niveles de densitometría de área de OCA y OCP con niveles de expresión de genes implicados en la transición epitelio-mesenquimal en las CEAC.

CONCLUSIONES 157

1. CONCLUSIÓN DE LOS OBJETIVOS GENERALES

2. CONCLUSIÓN DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS

ANEXO 1. BIBLIOGRAFÍA161

ANEXO 2. PUBLICACIONES.....205

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

5-FU 5-Fluorouracilo
 α SMA α -actina de músculo liso
aFGF ó FGF-1 acidic Fibroblast growth factor
ADN Ácido desoxirribonucleico
AINE Antiinflamatorios no esteroideos
ALKs kinasas tipo Activina
AMH hormona anti-mülleriana
ANOVA Analysis of Variance. Análisis de varianza
AQP-1 aquoporina 1
AQUA Automated Quantification of After-Cataract
ARN Acido ribonucleico
ARNm Acido ribonucleico mensajero
AV Agudeza visual
 β TGF Beta trasforming growth factor
bFGF *Fibroblast Growth Factor b*. Factor de crecimiento fibroblástico tipo b
BMPs Proteínas morfogenéticas del hueso
BSS *Balanced Salt Solution*. Solución salina balanceada
CAM Moléculas de adhesión a células
CCC Capsulorrexis circular continua
CEAC Células del epitelio anterior del cristalino
CEC Células del epitelio cristalino humano
CECH Células del epitelio cristalino humano
CTGF *Connective Tissue Growth Factor*. Factor de crecimiento del tejido conectivo
rACTA2 receptor de α -smooth muscle actin, encoded by ACTA2 gene **Gap junction**
Cx43 conexina 43 o Gap junction **alpha-1 protein (GJA1)**
EDTA Ácido etilendiaminotetraacético
EGF Factor de crecimiento epidérmico
EGF *Epidermal Growth Factor*. Factor de crecimiento epidérmico
E_{max} Efecto máximo
EMT epithelial- mesenchymal transition
EPCO Evaluation of posterior Capsule Opacification
EPNP Esclerectomía profunda no perforante
FDA Food and Drug Association
FGF-2 basic fibroblast growth factor -2
FT-TEM Factor de transcripción de transdiferenciación epitelio-mesenquimal
GADPH Glyceraldehy 3-phosphate dehidrogenase
GDFs Los factores de crecimiento y diferenciación
GSU Grey scale units, Unidades de escala de grises
hAd5 Adenovirus serotipo humano 5
HGF el factor de crecimiento de hepatocitos
HLE línea celular epitelial humana ej: (HLE B-3).
IGF-II el factor de crecimiento similar a la insulina tipo II
IFN-gamma interferón gamma
IL-1,IL6,IL-8 interleukinas 1,6,8
LIO lente intraocular

LECs lens epithelial cells
LED Light-Emitting Diode
miRNAs microRNA micro Acido ribonucleico
MLCK Quinasa de la cadena ligera de la miosina
MLCPPase Fosfatasa de la cadena ligera de la miosina
MMC Mitomicina C
MMP *Matrix Metalloproteinases*. Metaloproteasas de matriz extracelular
mRNA Acido ribonucleico mensajero
OCA Opacificación de la cápsula anterior
OCP Opacificación de la cápsula posterior
OCT tomografía de coherencia óptica
OMS Organización mundial de la salud
OSCA Open-Access Systematic Capsule Assessment
PCR Reacción de cadena de la polimerasa
PI peak intensity
PDGF *Platelet Derived Growth Factor*. Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PGA *Polyglycolic acid*. Ácido poliglicólico
PIO Presión intraocular
PNS Pentacam Nucleus Grading System
POCO Posterior capsule opacification software
POCOman Posterior capsule opacification software
QS Quality specification
r Coeficiente de correlación de Pearson
rACTA2 receptor de α -smooth muscle actin, encoded by ACTA2 gene
rCTNNB1 this gene provides instructions for making a protein called beta-catenin
rTGFR1, rTGFR2, rTGFR3 Receptor Transforming Growth Factor β 1,2,3,
rGJA1, Gap junction protein A1
RTK Receptores Tirosina Quinasas
rTJP1 receptor de la Proteína de unión estrecha ZO-1- o Tight junction protein ZO-1 o Zonula occludens protein 1, en humanos está codificada por el gen TJP1
r Smad receptor de *SMA and MAD related proteins*. Receptor de Proteínas relacionadas con las SMA y MAD. Ejemplo (**rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4**)
Smad *SMA and MAD related proteins*. Proteínas relacionadas con las SMA y MAD
TBCT Trabeculectomía
TEM transdiferenciación miofibroblástica o transdiferenciación epitelio mesenquimal
TGF α *Transforming Growth Factor α* . Factor de crecimiento transformante α
TGF β *Transforming Growth Factor β* . Factor de crecimiento transformante β
TIMPs los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz.
TJP1 Proteína de unión estrecha ZO-1- o Tight junction protein ZO-1 o Zonula occludens protein 1, en humanos está codificada por el gen TJP1
TNF α *Tumor Necrosis Factor α* . Factor de necrosis tumoral α
VEGF *Vascular Endothelial Growth Factor*. Factor de crecimiento vascular endotelial
Láser Neodimio-YAG láser Neodymium-doped yttrium aluminium garnet
VIH Virus Inmunodeficiencia Humana.

INTRODUCCIÓN

... sin causa y sin principio es imposible que algo exista o se lleve a cabo.

Aristóteles, El arte de la retórica, Libro I, Capítulo VII

... el principio es lo más importante en toda obra,...

Platón, La República, Libro II, XVII

1. GENERALIDADES

2. OPACIFICACIÓN/CONTRACCIÓN DE LA CÁPSULA ANTERIOR

2.1. Introducción

2.2. Importancia clínica

2.3. Métodos de cuantificación

2.3.1. Método subjetivo clínico propuesto por Werner

2.3.2. Método objetivo mediante densitometría con el Oculus Pentacam®HR

2.3.3. Medición del porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis.

2.4 Fisiopatología

2.5 Etiopatogenia

3. OPACIFICACIÓN DE LA CÁPSULA POSTERIOR

3.1. Introducción

3.2. Importancia clínica

3.3. Métodos de cuantificación

3.3.1. Métodos clínicos

3.3.2. *Softwares* de análisis de imagen fotográfica digitalizada.

3.3.2.1. Análisis de densidad de bordes

3.3.2.2. Análisis de textura

3.3.2.3. Métodos de imagen de segmento anterior (OCT y densitometría con el Oculus Pentacam® HR)

3.4. Fisiopatología

3.5. Etiopatogenia

4. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE LOS GENES DE INTERÉS MEDIANTE RT-Q-PCR

5. IMPORTANCIA DEL LÁSER DE FEMTOSEGUNDO EN LA CIRUGÍA DE CATARATAS

6. FRENTES DE INVESTIGACIÓN PARA EVITAR LA APARICIÓN DE OPACIFICACIÓN CAPSULAR TRAS LA CIRUGÍA DE CATARATA

1. GENERALIDADES

La extracción de cataratas mediante facoemulsificación es actualmente el procedimiento quirúrgico oftalmológico realizado con mayor frecuencia en nuestro medio. Charles D. Kelman se considera el precursor de esta técnica gracias a sus trabajos realizados en la década de los 60 (Kelman CD, 1967). La facoemulsificación se difunde por Europa y EEUU en la década de los 80 y 90, siendo su uso hoy en día generalizado en el mundo. C.D. Kelman desarrolló la facoemulsificación como una combinación de ultrasonidos con un sistema de irrigación-aspiración, tomando como referencia los sistemas de limpieza bucal de los dentistas. Desde entonces, todos los esfuerzos han ido encaminados a mejorar las maniobras quirúrgicas y a perfeccionar los instrumentos para conseguir la estandarización y la reproducibilidad con el menor riesgo posible para los pacientes. Dentro de este proceso un hito que catapultó el desarrollo de la facoemulsificación fue la técnica de la capsulorrexis circular continua manual (Gimbel et al., 1990). Gracias a la capsulorrexis manual que permite una apertura circular y continua de la cápsula anterior del cristalino, la facoemulsificación se realiza de manera más estable y el saco capsular, que aloja tras la cirugía la lente intraocular, permite un mejor centrado de ésta en el postoperatorio. Tras la llegada de la capsulorrexis circular continua asistida por plataformas de láser femtosegundo, hemos conseguido mejorar el centrado de la capsulorrexis circular continua además de poder planificar su tamaño (Kránitz K, 2011), (Nagy ZZ, 2011). El mantenimiento de la estructura del saco cristalino tras la cirugía de catarata que conlleva la facoemulsificación se asocia a complicaciones postoperatorias como la contracción de la capsulorrexis, la opacificación de la cápsula anterior (OCA) y la opacificación de la cápsula posterior (OCP) (Werner L, 2000), (Werner L 2001), (Sacu S, et al., 2004).

La OCP sigue siendo la causa más común de alteración de la agudeza visual en el postoperatorio tras la cirugía de catarata mediante facoemulsificación y se va formando durante los primeros años posteriores a la cirugía (Prodosimo et al., 2003). La OCA se

establece en el primer mes del postoperatorio y continúa hasta el 6º mes (Kimura W et al., 1998). La OCA y la contracción de la capsulorrexis son un obstáculo para el correcto examen de la periferia del fondo de ojo. Esto dificulta el diagnóstico y tratamiento de patologías de la periferia retiniana tanto en consulta como en quirófano. Conseguir una disminución en la aparición de la OCA y de la retracción de la capsulorrexis tiene una importancia creciente para evitar la aparición en el postoperatorio de un *tilt* (inclinación sobre un eje) de la óptica de la lente intraocular implantada, o su descentramiento (desplazamiento en ejes X-Y), o su desplazamiento anteroposterior (desplazamiento en eje Z). Actualmente debido al aumento en el uso de las lentes intraoculares multifocales y tóricas, que son más sintomáticas en caso de desplazamiento y *tilt* de la óptica de la LIO (Lente Intraocular), es especialmente importante mantener un buen centrado de la LIO para lograr un buen resultado visual (Baumeister, 2005).

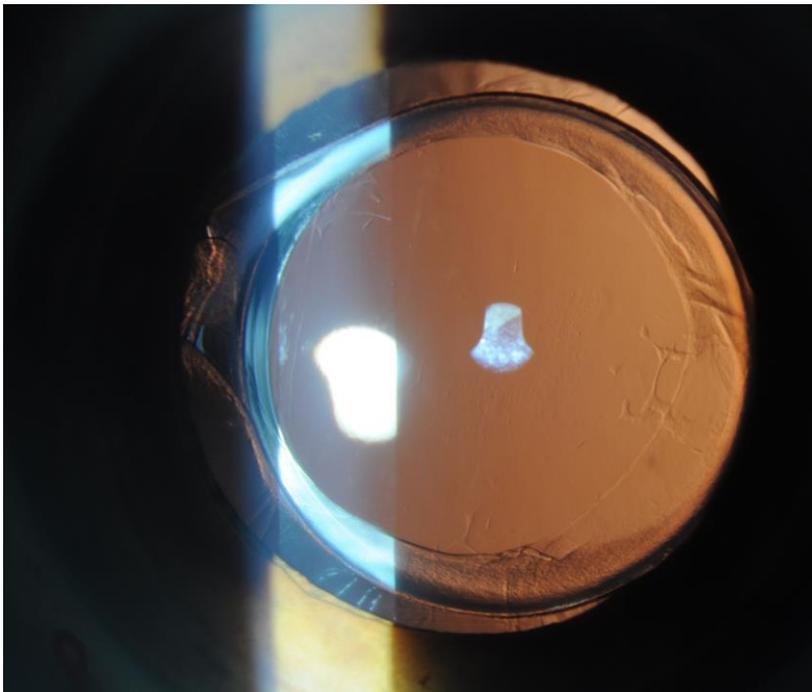


Figura 1. Se aprecia OCA con cápsula posterior transparente

Se han realizado muchos estudios de investigación sobre la prevención y el tratamiento de la OCA y la OCP y varios factores de riesgo han sido identificados como

predisponentes para el desarrollo de ambas situaciones (Werner L et al., 2000), (Werner L et al., 2001), (Sacu et al., 2004).

De acuerdo con la importancia clínica de los dos tipos de opacificación capsular el desarrollar una técnica de cuantificación objetiva de la opacificación de la cápsula anterior (Sacu et al., 2004), (Minami et al., 2015), (Sacu, 2002) y de la opacificación de la cápsula posterior (Minami, 2015), (Bender, 2004), (Findl 2003), (Grewal, 2008), (Praveen, 2014) son de suma importancia en la evaluación de la eficacia de los ensayos.

Este proyecto nos obligó a cuantificar la opacificación de cápsula anterior y posterior de forma objetiva para realizar nuestra investigación. En nuestra búsqueda por encontrar un método objetivo para la medición de la OCA realizamos un estudio cuyos resultados han sido publicados en la revista Journal of Cataract and Refractive Surgery *“A comparative analysis of anterior capsule opacification after femtosecond laser-assisted cataract surgery by clinical classification with density values provided by Pentacam® HR densitometry software”*.

Los resultados del estudio fueron decisivos para validar el sistema de medición utilizado para cuantificar el grado OCA en nuestro proyecto de investigación que es el nuevo software de densitometría del Oculus Pentacam® HR.

Después de revisar la literatura sobre este tema, podemos concluir que la cuantificación (Werner, 2001), (Praveen, 2014) clínica subjetiva propuesta por Werner y colaboradores en la revista Ophthalmology en el 2001 ha sido hasta la fecha el método más comúnmente empleado para medir la OCA después de la cirugía de cataratas. Se trata de un método subjetivo clínico con valores ordinales discontinuos.

Nosotros en este estudio hemos utilizado el nuevo software de densitometría del Oculus Pentacam®HR para la medición de la OCA por considerarlo un método más objetivo. En cuanto a la medición de la OCP muchos sistemas de análisis de imagen se han desarrollado con éxito para la cuantificación de la OCP y son ampliamente utilizados en

ensayos de investigación, como el EPCO, POCO, Pocomam, AQUA y OSCA. (Bender, 2004), (Findl, 2003), (Hayashi, 1998). En la mayoría de los casos se utilizan estos métodos para medir la opacidad de la zona capsular posterior que está dentro de los límites de la capsulorrexis.

En este estudio de investigación hemos utilizado, también, para la medición de la opacificación de la cápsula posterior, el nuevo software de densitometría del Oculus Pentacam® HR. Hemos creído conveniente medir ambos tipos de opacificación capsular con el mismo sistema de medida para de reducir variables y poder comparar ambos tipos de opacificación capsular de manera objetiva.

La toma de imágenes por el Pentacam®HR es simple de realizar, rápido y tiene una curva de aprendizaje más fácil, comparado con los softwares de análisis de imágenes fotográficas para la medición de esta opacificación.

Desde que Lasa et al. en 1995 demostraron que las imágenes Scheimpflug podrían ser una herramienta útil para la evaluación de la OCP (Lasa MS et al., 1995), el método Scheimpflug es un método apoyado por una amplia literatura para la medición de la opacificación de la cápsula posterior por lo que no nos hemos visto en la necesidad de realizar un estudio de validación para este método de medición. (Hayashi K, et al.,1998) (Hayashi H, et al., 1998) como el que realizamos en el caso de la opacificación de cápsula anterior (Alberdi T et al., 2016)

En 2004 K. Hayashi propuso que para que la medición de la opacificación de la cápsula posterior fuera más exacta se debería obtener la media del valor de densitometría de, al menos, cuatro meridianos. Siguiendo esta sugerencia nosotros hemos realizado las mediciones en los meridianos 0 °, 45 °, 90 °, y 135° tanto para la OCA como para la OCP.

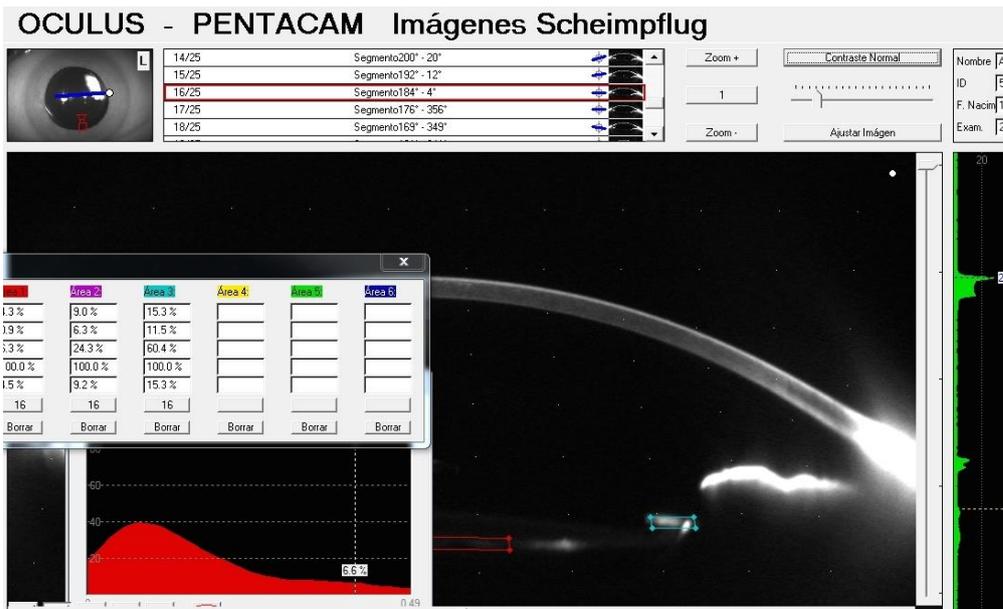


Figura 2. Captura de imagen en eje 180°-0° y cálculo de densitometría de Área en cápsula anterior y posterior en proceso de realización

Así durante el trabajo de campo de este estudio vimos que la cámara Scheimpflug del Pentacam[®]HR proporciona mediciones de densitometría de la OCA y la OCP de una forma fácil, rápida, objetiva y reproducible por lo que lo elegimos como método de cuantificación.

En este estudio es importante una cuantificación objetiva y exacta de la OCA y de la OCP ya que estos niveles serán comparados con niveles expresión de mARN de diversos factores en las células epiteliales del cristalino en el momento de la cirugía de catarata mediante femtofacoemulsificación. De este modo podremos comprobar si nuestra hipótesis de que los niveles de expresión de mARN de determinados factores en células epiteliales del cristalino (CEC) en el momento de la cirugía son fundamentales en la evolución de los diferentes grados de OCA y OCP en el postoperatorio de nuestros pacientes. Para entender mejor el resto de los apartados en este primer capítulo nos dedicaremos a analizar la OCA y la OCP, desde diferentes enfoques. También explicaremos las técnicas quirúrgicas actuales en la cirugía de cataratas y sus peculiaridades. Por último revisaremos los frentes de investigación para evitar la aparición de opacificación capsular tras la cirugía de catarata que existen en la actualidad.

2. OPACIFICACIÓN/CONTRACCIÓN DE LA CÁPSULA ANTERIOR

2.1. INTRODUCCIÓN

La opacificación de la cápsula anterior (OCA) se establece en el primer mes del postoperatorio y continúa hasta el sexto mes (Kimura W et al., 1998), (Sacu S et al., 2002). Es necesario distinguir entre la OCA y OCP ya que no sólo detallan una diferente localización de la opacificación dentro la cápsula cristalina sino que representan entidades clínicas diferentes, con origen en subpoblaciones celulares diferentes, además de etiopatogenias y fisiopatologías propias.

2.2. IMPORTANCIA CLÍNICA

La capsulorrexia supuso un gran avance en la cirugía de la catarata (Gimbel et al., 1990), (Gimbel et al., 1991). Gracias a las técnicas extracapsulares de cirugía de la catarata (entre ellas la facoemulsificación) el procedimiento se realiza de manera más segura y controlable. El saco capsular queda anatómicamente más estable y como aloja dentro de sí a la LIO tras la cirugía de la catarata, esta situación permite un mejor centrado de LIO en el postoperatorio. Como contrapartida, la opacificación/contracción de la cápsula anterior surgieron como entidades clínicas en consecuencia de la utilización de la capsulorrexia durante la facoemulsificación (Werner L, 2000), (Sacu S et al., 2004).

2.2.1. RELEVANCIA CLÍNICA PARA EL OFTALMÓLOGO:

Como hemos comentado anteriormente la presencia de una opacificación/retracción de la cápsula anterior supone un impedimento para la realización de exploraciones diagnósticas y tratamientos oftalmológicos. Interfiere negativamente en la visualización para el diagnóstico y tratamiento láser en consulta de desgarros retinianos periféricos además de la visualización para diagnóstico y cirugía de múltiples patologías vítreo-retinianas.

2.2.2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DEL PACIENTE

Las manifestaciones clínicas están relacionadas con el grado de opacificación-retracción de la cápsula anterior y el posible descentramiento secundario de la lente que ello conlleva.

2.2.2.1. Opacificación-retracción capsular anterior:

La opacificación-retracción de la cápsula anterior actúa como un diafragma fijo que empeora la adaptación a situaciones de baja luminosidad pues desbarata los esfuerzos de la midriasis pupilar para adaptarse a estas situaciones, cuando la retracción es más importante también afecta a la visión de lejos con disminución de la agudeza visual y fenómenos disforópticos. Se considera que el borde de una capsulorrexis menor de 10 mm² es capaz de comprometer el juego pupilar y causar estos problemas (Hayashi H et al., 1998), (Hayashi K et al., 1998). Además, si el ojo humano tiene capacidad para diferenciar un minuto de arco, una disminución de diámetro de la capsulorrexis de menos de 2,3 mm conlleva una disminución de la agudeza visual (Hansen SO et al., 1993).

2.2.2.2 Desplazamiento secundario de la LIO:

Las manifestaciones clínicas secundarias a OCA difieren según el tipo de LIO. Las LIO plegables pueden ser deformadas por la opacificación-retracción de la cápsula anterior

con resultados visuales impredecibles. Se admite que los pacientes con LIO monofocal toleran mejor desplazamientos en el eje X-Y moderados de ésta.

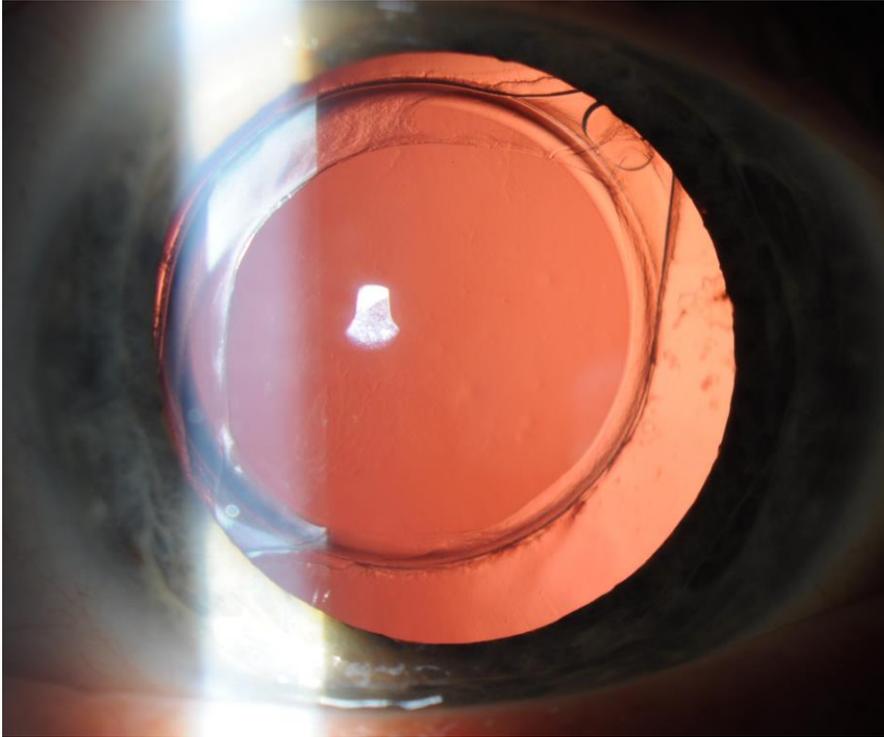


Figura 3. Paciente del estudio con opacificación-retracción de cápsula anterior más predominante en nasal superior con ligero desplazamiento de LIO monofocal plegable hacia nasal superior. Ojo Izquierdo

Una nueva categoría de LIOs se comenzó a generalizar en 2003 cuando la *Food and Drug Administration* aprobó las LIOs multifocales para su uso en los Estados Unidos. En la actualidad, el aumento en el uso de LIOs multifocales y tóricas en todo el mundo, hace que las cirugías de cataratas requieran un buen centrado de estas LIOs para lograr buenos resultados visuales, ya que, pequeños y moderados *tilt* y descentramientos, que son generalmente asintomáticas con lentes monofocales, son más frecuentemente sintomáticas cuando se han implantado lentes multifocales y tóricas (Baumeister, 2005).

2.2.2.3. Tipos de desplazamiento de la LIO

El Tilting, se trata de una rotación de la óptica de la LIO sobre un eje que conlleva cambios refractivos astigmáticos (Baumeister, 2005).

El desplazamiento también pueden ser en el eje Z o anteroposterior lo que provoca variaciones en el componente esférico de la refracción (Baumeister, 2005).

El desplazamiento en el eje X-Y produce un descentramiento de la óptica de la LIO en relación a la pupila que puede provocar cambios refractivos, diplopía, aberraciones cromáticas...

En general, se acepta que con una capsulorrexis muy pequeña o fimosis capsular anterior, la LIO no sólo puede inclinarse y causar un cilindro, sino que también se puede mover posteriormente en el ojo y por lo tanto inducir hipermetropía.

Por el contrario, en la fibrosis posterior de la cápsula, las bandas fibróticas hacen que la LIO se incline y se desplace hacia delante, induciendo así miopía y cilindro.

2.2.2.4. Lentes intraoculares multifocales :

Las manifestaciones clínicas por el descentramiento de la LIO debido a la retracción de la cápsula anterior son actualmente más posibles con la utilización cada vez más frecuente de LIOs multifocales y tóricas.

Manifestaciones clínicas, tales como:

Pérdida de la multifocalidad de las LIOs multifocales y deslumbramiento nocturno. Puede aparecer diplopía, halos severos.

Por pérdida de la función del diafragma pupilar debido a la retracción capsular aparece dificultad en la adaptación a diferentes condiciones de luminosidad además de *glare*.

Disminución de AV lejos, en ocasiones con mejoría de AV de cerca por desplazamiento posterior de la óptica y consecuentemente miopización.

2.3 Métodos de cuantificación de la OCA

Se han realizado muchos estudios de investigación sobre la prevención y el tratamiento de la OCA y la OCP, y se han identificado múltiples factores de riesgo que predisponen el desarrollo de la ACO y de la OCP (Werner L, 2000), (Werner L, 2001), (Sacu S, et al., 2004).

De acuerdo con la importancia clínica de ambos tipos de opacificación capsular una adecuada cuantificación de la ACO (Werner L et al., 2000), (Sacu S et al., 2004) y de la OCP (Keichiro Minami et al., 2015), (Bender L et al., 2004), (Findl O et al., 2003), (Grewal D et al., 2008), (Praveen MR et al., 2014) es de suma importancia en la evaluación de la eficacia de los ensayos de investigación.

2.3.1 Método subjetivo clínico propuesto por Werner et al.

Se trata de un método subjetivo propuesto por L. Werner (Werner L et al., 2001) mediante el cual el oftalmólogo cuantifica la opacificación/retracción. Se puntúa en valores de 0 a 4, según la siguiente clasificación:

- a) Grado 0 : cápsula anterior transparente
- b) Grado I : opacificación localizada en el borde de la capsulorrexis circular continua (CCC)
- c) Grado II: opacificación moderada y difusa, a veces con algún pliegue
- d) Grado III : opacificación intensa, con áreas de pliegue capsular
- e) Grado IV : fimosis/contracción de la apertura de la CCC ($\leq 3,5$ mm)

Se trata del método más utilizado hasta la fecha; sin embargo, es un método subjetivo y su variable es ordinal, por lo que puede considerarse un método subóptimo para la investigación, que requiere de variables lo más objetivas posibles y mejor si son continuas. Se explica de forma más extensa en el apartado 3.4.3 de “Material y Métodos”.

2.3.2 Método objetivo mediante densitometría mediante el Oculus Pentacam® HR

Ha sido el método elegido en este estudio. Después de revisar la literatura sobre el tema se puede concluir que el método de cuantificación clínica subjetiva propuesto por Werner en el 2001 ha sido el más utilizado para medir la opacificación de la cápsula anterior después de la cirugía de catarata (Sacu S et al., 2002), (Sacu S et al., 2004), (Keichiro Minami et al., 2015). Sacu et al. en 2002 se utilizaron el análisis de las imágenes obtenidas por lámpara de hendidura para la cuantificación de la OCA y analizó la variabilidad en las fotografías y los problemas que surgían con el método de análisis de imágenes (Sacu S et al., 2002). Vieron que las fotografías se vieron afectadas por reflejos de luz que interferían con las imágenes. Desde entonces se han desarrollado algoritmos para reducir estos artefactos en cada imagen que consiste en la eliminación de los reflejos de luz, realce de contraste, filtrado,... Tanta manipulación en cada fotografía introduce variabilidad y sesgos. Otro aspecto que disminuye la objetividad de estos sistemas es la necesidad de la intervención humana directa en varias etapas de análisis. Sin embargo, a pesar del desarrollo de nuevos métodos de análisis de imagen, el análisis clínico sigue siendo el más ampliamente utilizado en la cuantificación de la opacificación de la cápsula anterior.

Esta clasificación clínica proporciona valores ordinales cualitativos subjetivos. Lasa et al. Demostraron, en 1995, que las imágenes Scheimpflug podrían ser una herramienta útil para la futura evaluación de la OCP (Lasa MS et al., 1995). El sistema de fotografía Scheimpflug fue desarrollado posteriormente por Hayashi en 1998 (Hayashi K et al.,

1998), (Hayashi H et al., 1998). En 2004 K. Hayashi lo utilizó para la medición de la OCP, para lo que calculó la media de los valores de 4 meridianos distintos de la captura de imágenes de Scheimpflug, siendo los meridianos escogidos 0°, 45°, 90° y 135°, como ya hemos comentado anteriormente. La imagen de más alta calidad se transfirió a un ordenador de análisis de imágenes en línea. La densidad media de dispersión de luz de la zona central de 3,00 x 0,25 mm de la cápsula posterior se midió utilizando la densitometría axial del ordenador (Hayashi K et al., 1998).

Una década más tarde, el nuevo software Pentacam®HR mide tres tipos de densitometría (área, lineal y pico) en la cápsula anterior y posterior del cristalino y proporciona valores continuos cuantitativos objetivos como una evaluación fácil y rápida.

Para este estudio de investigación nosotros hemos utilizando este novedoso sistema de medición. Previamente hemos realizado un estudio de correlación de este método con el subjetivo clínico descrito por Werner en el 2001. Este estudio fue publicado en el Journal of Cataract and Refractive Surgery (Alberdi T et al., 2016).

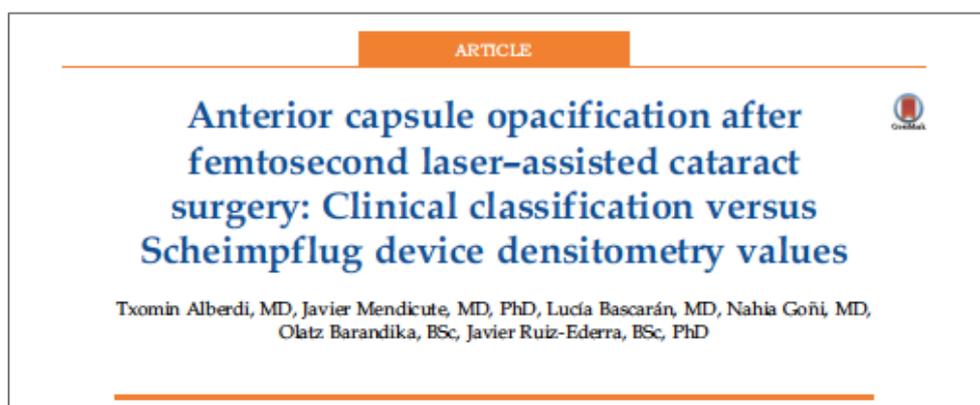


Figura 4. Artículo en el JCRC (Alberdi T et al., 2016).

En este estudio publicado recientemente hemos encontrado que los valores proporcionados por la densitometría de área y la densitometría lineal tienen una fuerte correlación positiva con los valores obtenidos por la escala subjetiva descrita por L. Werner tras el análisis mediante Rho de Spearman. Utilizando el mismo análisis no hubo correlación estadísticamente significativa entre la densitometría pico y la escala subjetiva.

Es por ello que hemos adoptado la densitometría Pentacam de área y lineal para el análisis de OCA y OPC en este trabajo de investigación. Según este estudio la densitometría pico no es un buen método para la evaluación clínica de la opacificación de la cápsula anterior, por tanto, lo hemos desechado para este trabajo de investigación. Los valores de densitometría de área y lineal representan la densitometría media en un área o línea respectivamente y se expresan como un porcentaje de 0 a 100. El valor de la densitometría pico es el punto en el que la densitometría de la lente es más alto en el densitograma. Por esta razón la densitometría pico tiene otras aplicaciones clínicas (Harsum S et al., 2009), (Alberdi T et al., 2017).

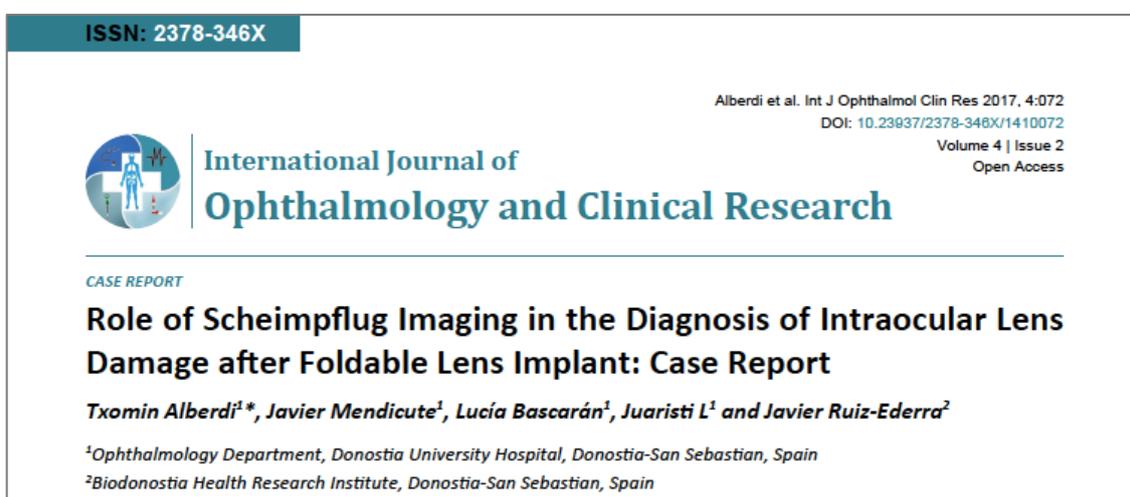


Figura 5. Artículo IJOCR. (Alberdi T et al., 2017). Otras utilidades de la densitometría PEAK

El método de medida más utilizado hasta la fecha, La clasificación clínica con lámpara de hendidura, es un método subjetivo de cuantificación de ACO que proporciona valores ordinales cualitativos. Tiene algunas desventajas, ya que puede verse afectada por factores externos tales como insuficiente dilatación de la pupila, cambios en la iluminación con lámpara de hendidura, variabilidad entre observadores, etc.

Las mediciones de densitometría de área y de densitometría lineal proporcionadas por Pentacam®HR son valores continuos cuantitativos objetivos, por lo que nos hemos decantado por su utilización en esta investigación ya que consideramos son más

apropiadas para su uso en los ensayos. La adquisición de imágenes Scheimpflug por parte del Pentacam®HR debe llevarse a cabo de acuerdo con los procedimientos estandarizados recomendados por el fabricante para prevenir la aparición de artefactos y permitir su posterior análisis. El análisis de la ACO puede ser imposible o verse afectado por factores externos tales como opacidades corneales o insuficiente dilatación pupilar. Estas circunstancias han sido tenidas en cuenta en la selección de pacientes.

El dispositivo calcula una puntuación de especificación de calidad, que tiene en cuenta el área cubierta, la alineación y el movimiento ocular. Esta puntuación ayuda a los usuarios a evaluar la validez de los datos en cada examen.

En nuestra opinión, esta tecnología tiene un gran potencial para documentar la progresión de la ACO en los estudios longitudinales, así como para los estudios epidemiológicos y ensayos clínicos. Se explica de forma mas extensa en el apartado 3.3.2.3.1. Sistemas Scheimplug de “introducción” y en el 3.4.2. de “Material y Métodos”.

2.3.3 Medición del porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis.

En este estudio hemos medido además el área de capsulorrexis y el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis en las sucesivas visitas postoperatorias. Para la medida de la retracción de la cápsula anterior es de gran ayuda que la capsulorrexis sea asistida por láser femtosegundo pues de este modo todas las capsulorrexis del estudio son del mismo tamaño, salvo pequeñas diferencias por poder dióptrico corneal, la profundidad de cámara anterior y la compresión (circunferencias de 5 mm de diámetro); esto nos facilitó la cuantificación del porcentaje de reducción de área de la capsulorrexis (área inicial de capsulorrexis de 19,635 mm² en todas las cirugías) en cada evaluación postoperatoria sucesiva usando el Area calculator SketchandCalc program (Alberdi T et al., 2016).

Este método de análisis se explica de forma más exhaustiva en el apartado 3.4.1. de “Material y Métodos”.

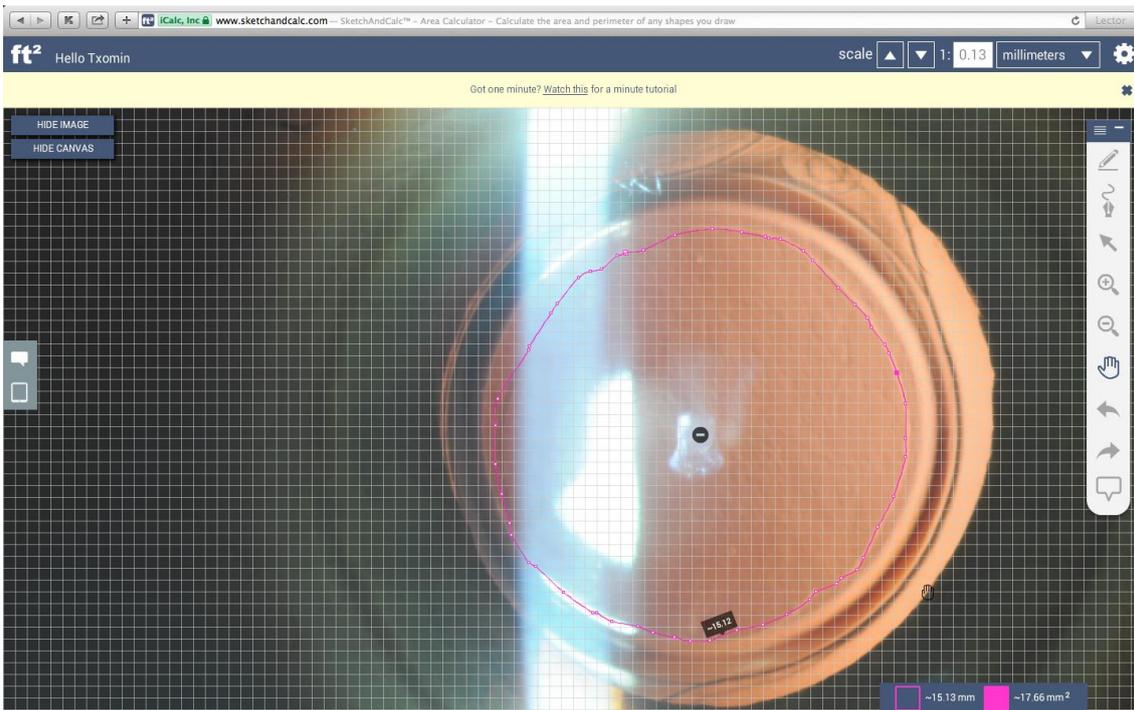


Figura 6. Imagen del contorno de CCC dibujado manualmente en el SketchandCalc program

2.4. FISIOPATOLOGÍA

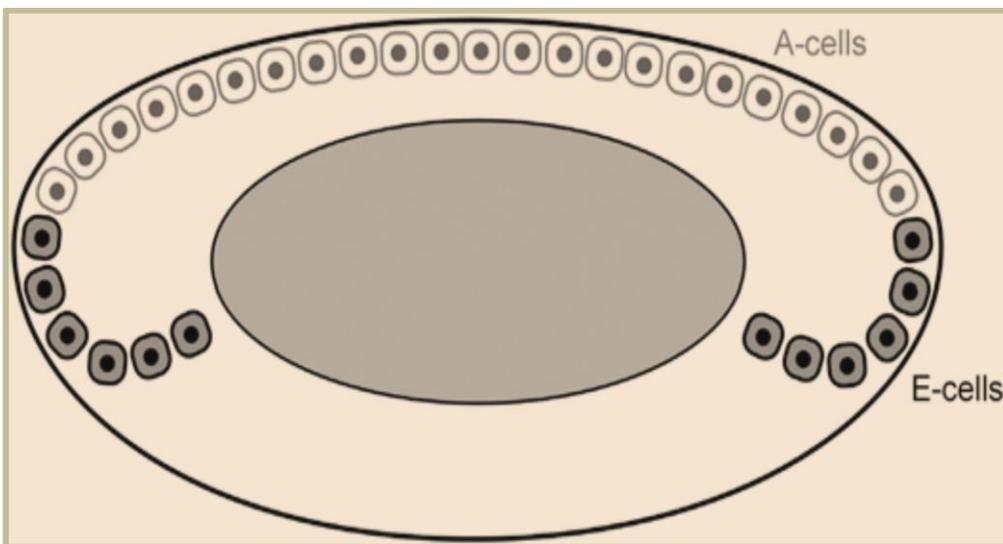


Figura 7. En la imagen se aprecia la disposición en monocapa de las células A y E

Las opacificaciones de las cápsulas anterior y posterior son causadas porque parte de la monocapa de las células epiteliales cristalinas anteriores (células A) y de la monocapa

de las células cristalinas epiteliales ecuatoriales (células E) de la cápsula del cristalino permanecen en el saco capsular después de la cirugía.

En el caso de la monocapa de células A (situadas antero-internas en la cápsula del cristalino), éstas células sufren una transdiferenciación miofibroblástica o epitelio-mesenquimal (TEM), proliferan y migran hacia otras zonas del saco capsular inicialmente libres de epitelio (Thiery et al., 2003).

Las células A tienen menor capacidad de proliferación que las E pero generan matriz extracelular que expresan (α SMA) α -actina de músculo liso y producen colágeno I y III, fibronectina y tenascina. Esto explica que se produzca fibrosis capsular anterior sobre todo pero también posterior y retracción del saco capsular. La opacificación tipo fibrosis de la cápsula posterior pudiéndose originar a partir de células E parece estar más en relación con las células A. Las células del epitelio ecuatorial del cristalino, o células E, se diferencian y, dada su mayor capacidad para la proliferación, proliferan a modo de acúmulos celulares denominados perlas de Elschnig (Saxby et al., 1998).

Esta fibrosis/retracción a partir de las células A se produce en los primeros 3-6 meses después de la cirugía según Kimura et al., mientras que la proliferación en forma de perlas de Elschnig por parte de las células E es más tardía y se da a partir de los 1-2 años de la cirugía (Kimura W et al., 1998), (Sacu S et al., 2002).

Estos procesos, si se desarrollan de forma moderada en el saco capsular periférico no son sintomáticos, pero, si son más severos, invaden el eje visual o causan retracción con desplazamiento de la LIO, pudiendo desencadenar un deterioro visual.

Se considera que la inflamación generada por la cirugía así como una reacción a cuerpo extraño tras el contacto de las células epiteliales remanentes con los biomateriales de la lente intraocular, inducen la liberación de interleukinas (IL-1, IL6, IL-8) y factores de crecimiento siendo el más importante el TGF- β o *beta-transforming growth factor*, además de, el FGF-2 o *basic fibroblast growth factor-2*, el *Acidic FGF* o FGF-1 que son los inductores de la transdiferenciación miofibroblástica (Tognetto, 2003), (Reyntjens, 2004), (Kruger, 2001). Esta transformación miofibroblástica de las células A se traduce en

aparición de fibroblastos y matriz extracelular lo que supone una fibrosis-retracción blanquecina sobre todo en la zona de contacto entre la superficie anterior de la LIO y la capsulorrexis, es decir la OCA. Las células A pueden extenderse también hacia cápsula posterior desarrollando en ésta fenómenos de OCP tipo fibroso.

Los cambios de fibrosis-retracción tanto de cápsula anterior como de cápsula posterior se establecen según W. Kimura antes de los 6 meses del postoperatorio (Kimura W et al., 1998).

2.5 Etiopatogenia

Los mecanismos etiopatogénicos involucrados en la aparición de la OCA están relacionados con los factores que evitan o favorecen la transformación miofibroblástica o transdiferenciación epitelio-mesenquimal (TEM) de la monocapa de células epiteliales tipo A cristalinas residuales y la proliferación de las células E.

2.5.1 Factores relacionados con el material y diseño de la LIO.

En líneas generales el material parece ser que juega un papel primordial en la opacificación-retracción de la cápsula anterior, siendo el diseño muy importante para entender el desarrollo de la OCP.

2.5.1.1. Material de la lente intraocular

Diversos estudios han establecido que las lentes que más opacificación-retracción provocan en cápsula anterior son las de silicona, después estarían las acrílicas hidrófilas y las de polimetilmetacrilato y por último las que menos opacidad generan son las acrílicas hidrófobas (Werner L et al., 2001), (Tognetto D et al., 2003), (Hayashi K et al.,

2005), (Werner L et al., 2000), (Park TK et al., 2002). Nosotros hemos utilizado una lente acrílica hidrofóbica para la realización de este estudio para minimizar sesgos

2.5.1.2. Diseño de la óptica de la lente intraocular

- Teoría de la bioadhesividad: Las siliconas y los hidrogeles con menor grado de adhesividad a las superficies de colágeno generan mayor opacidad/contracción de cápsula anterior y también mayor opacificación de cápsula posterior porque favorecen la migración de células A. La bioadhesividad es mayor en las lentes acrílicas hidrófobas (Oshinka T et al., 1998). Nosotros hemos utilizado una LIO acrílica hidrofóbica para la realización de este estudio.

- Teoría presión contacto:

- A mayor presión entre capsulorrexis y superficie anterior de la LIO mayor opacidad en esa zona, por tanto favorecen la opacificación de la capsulorrexis las LIOs con superficie anterior convexa y la evitan las de superficie anterior plana. Nosotros hemos utilizado para este estudio la LIO Envista modelo MX60 con superficie anterior plano convexa.

- Los hápticos mas angulados desplazan hacia atrás la óptica y evitan la opacificación de la capsulorrexis, los hápticos poco angulados favorecen la presión óptica-capsulorrexis y favorecen la opacificación de la capsulorrexis (Findl et al., 2005).

- Tanto el material de los hápticos (Gallagher SP, et al., 1999) como el diseño en borde redondo o cuadrado (Miyata K, et al., 2007) no parecen tener importancia especial en la opacificación de la cápsula anterior. Más adelante veremos la gran importancia del diseño del borde de la lente en la opacificación de la cápsula posterior.

2.5.2 Enfermedades propias del paciente

Ambos tipos de opacidad capsular son más frecuentes en pacientes con enfermedades asociadas a rotura de barrera hemato-acuosa previa a la cirugía (pseudoexfoliación, uveítis, catarata traumática, vitrectomía...).

Se admite que los factores de riesgo para desarrollar opacificación de cápsula anterior serían:

La Pseudoexfoliación (Hayashi H, 1998), Retinosis pigmentosa (Hayashi K, 1998), Diabetes (Hayashi Y, 2004), Uveitis, Miopía Magna, Distrofia Miotónica (Hansen SO, 1993).

Los factores de riesgo que predisponen a la opacificación de la cápsula posterior serían, entre otras, sobre todo la juventud y la pseudoexfoliación (Miyata K, 2007).

En este estudio hemos excluido a los pacientes con todas estas enfermedades y también a los pacientes de edad inferior a 65 años.

3. OPACIFICACIÓN DE LA CÁPSULA POSTERIOR

3.1. Introducción

Hoy en día la opacificación de la cápsula posterior sigue siendo la complicación postquirúrgica tardía más frecuente tras la cirugía de la catarata, también denominada catarata secundaria o *after cataract*. ocurre en el 3%-50% de los pacientes entre 2 meses y 5 años después de la cirugía (Prodoscimo et al., 2003). Llama la atención la disparidad de porcentajes de OCP recogidos por los diferentes autores explicable por los diferentes medios utilizados para su evaluación. Muchos autores se basan en el número de capsulotomías YAG realizadas en un área geográfica para estimar la prevalencia de esta patología. Sin embargo es erróneo establecer una similitud entre tasas de capsulotomía

posterior y tasas de opacificación de cápsula posterior. Con el aumento en la implantación de lentes tóricas y multifocales, con los cuales los pacientes son más sintomáticos con grados menores de opacificación de cápsula posterior se realiza la capsulotomía YAG de forma más precoz que cuando se utilizan otro tipo de lentes intraoculares. Los estudios además son muy heterogéneos, no teniendo en cuenta, en general, conocidos factores de riesgo de opacificación de cápsula posterior como son, menor edad, pseudoexfoliación, uveítis, retinosis pigmentosa, distrofia miotónica, vitrectomía previa, catarata traumática... (Raj SM et al., 2007).

3.2. IMPORTANCIA CLÍNICA

Teniendo en cuenta las complicaciones asociadas a la cirugía de catarata y los costos asociados con el tratamiento de la OCP, hay una clara necesidad de avanzar en el conocimiento de los mecanismos celulares que conducen a la OCP y el desarrollo de nuevos abordajes terapéuticos. Es de especial importancia en la cirugía pediátrica en la que la tasa de opacificación de cápsula posterior se estima del 100%.

3.2.1. Formas clínicas

La opacificación se puede clasificar, según el tiempo de aparición, como precoz o tardía. También se puede detallar, la localización del área opacificada como: periféricas, centrales, paracentrales.

Apple DJ y colaboradores describieron dos formas morfológicas clínicamente distinguibles de esta complicación: la OCP de tipo fibrosa y la OCP de tipo perlas de Elschnig (Apple DJ et al., 1992).

En la práctica clínica, frecuentemente estas dos formas clínicas pueden aparecer mezcladas, en lo que se denomina opacidad tipo mixta.

Actualmente según la clasificación de tipo morfológico se diferencian tres tipos:

A) Opacificación del tipo fibroso

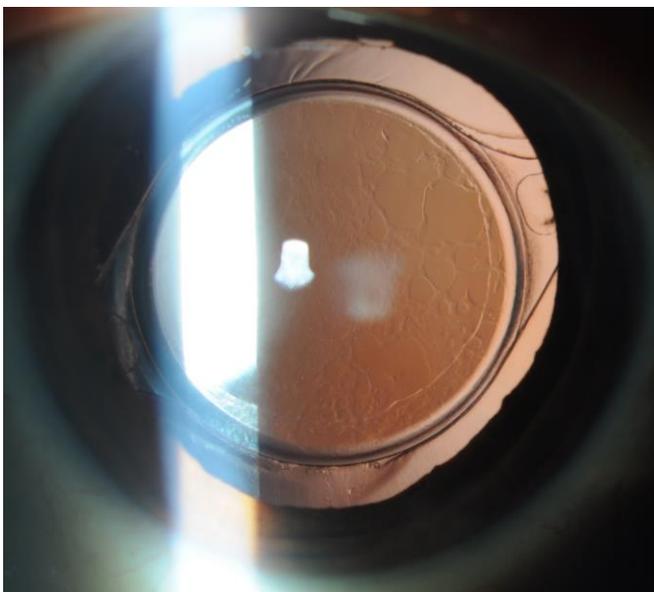


Figura 8. OCP tipo fibroso en un paciente del estudio

Las células A pueden extenderse también hacia la cápsula posterior, desarrollando en ésta, fenómenos de fibrosis-retracción. Las células A tienen menor capacidad de proliferación que las E pero generan matriz extracelular que expresan (α SMA) α -actina de músculo liso y producen colágeno I y III, fibronectina y tenascina, explicando que se produzca fibrosis capsular anterior sobre todo pero también posterior y retracción del saco capsular. La opacificación tipo fibrosis de la cápsula posterior, pudiéndose originar a partir de células E, parece estar más en relación con las células A.

Los cambios de fibrosis-retracción tanto de cápsula anterior como de cápsula posterior se establecen antes de los 6 meses del postoperatorio (Mcdonnell PJ, 1985), (Nagamoto T, 1996).

B) Opacificación tipo Perlas

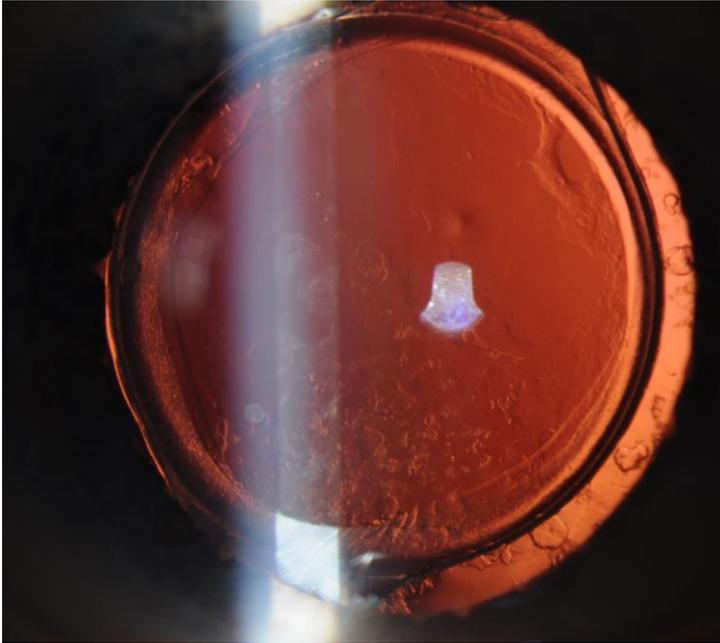


Figura 9. OCP tipo perlas. Se aprecian Perlas de Elschnig en periferia y hemisferio inferior de la LIO

Las células de epitelio ecuatorial del cristalino o células E, se diferencian y dada su mayor capacidad para la proliferación, proliferan a modo de acúmulos celulares denominados perlas de Elschnig (Saxby et al., 1998).

C) Opacificación tipo mixta

Es sabido que las células epiteliales ecuatoriales además de perlas pueden provocar una metaplasia fibrosa que sucede típicamente alrededor de los hápticos de las lentes intraoculares, pero que puede desarrollarse también tras la óptica de la lente, además pueden desarrollar una opacificación tipo mixta cuando se entremezclan tipo fibrosis y tipo perlas.

3.3. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LA OCP

3.3.1 MÉTODOS CLÍNICOS

En general, son métodos que presentan limitaciones debido a que son subjetivos y poco reproducibles

3.3.1.1. Agudeza visual

Se ha utilizado la agudeza visual además del deslumbramiento y la sensibilidad al contraste como medida de la OCP. Esta medida no es válida pues además de subjetiva puede ser modificada por otros múltiples factores.

3.3.1.2. Método subjetivo clínico

Al igual que el método propuesto por Werner para la puntuación de la opacificación de la cápsula anterior, se trata de puntuar la opacificación de la cápsula posterior por un observador a través de imágenes fotográficas tomadas por retroiluminación (Werner et al., 2001).

3.3.1.3. Incidencia de capsulotomía YAG

Esta muy influenciado por las exigencias clínicas del paciente y por factores económicos (Apple DJ, 2001).

3.3.2. SOFTWARES DE ANÁLISIS DE IMAGEN FOTOGRÁFICA DIGITALIZADA

3.3.2.1 ANÁLISIS DE DENSIDAD DE BORDES

EPCO (Evaluation of Posterior Capsule Opacification)

Se basa en el análisis de imágenes fotográficas digitales tomadas con retroiluminación. Es un análisis computerizado de densidad de bordes introducido por M.R. Tertz en 1997 (Tetz MR et al., 1997). Esta disponible comercialmente. EPCO 2000 presenta un software de descarga gratuita desde 2013, el *software* libre lleva años sin actualizarse. Se establecen áreas geográficas por análisis morfológico gracias a un *software*. Estas áreas deben ser puntuadas de 0 a 4 por el clínico observador de forma subjetiva. Un algoritmo calcula la puntuación final en relación a las áreas morfológicas y sus puntuaciones subjetivas. El método al igual que el POCO, que se explica más adelante, tiene la limitación de que no es totalmente objetivo (Tetz MR et al., 1997).

3.3.2.2 ANÁLISIS DE TEXTURA

Recientemente han aparecido diversos sistemas de imágenes con los que se obtienen indicadores numéricos para una cuantificación más objetiva de la opacificación de la cápsula posterior, POCO, POComan, AQUA y OSCA; todos se basan en el análisis de imágenes digitales fotográficas obtenidas bajo retroiluminación por lámpara de hendidura. Sin embargo, no existe hasta ahora un consenso sobre cuál es el mejor método para la cuantificación objetiva de la OCP (Findl O, 2003), (Hirnschall, 2014).

3.3.2.2.1. POCO system

Al igual que el EPCO se basa en el análisis de imágenes fotográficas digitales tomadas con retroiluminación. También, al igual que el EPCO, introduce un paso subjetivo del analizador para validar diferentes áreas. El *software* establece diferentes áreas de opacificación de cápsula posterior en relación a su textura y establece una valoración de 0% a 100% en cada área calculando después el grado de opacificación final de cápsula posterior.

3.3.2.2.2 AQUA (Automated Quantification of After-Cataract)

Al igual que el EPCO y POCO se basa en el análisis de imágenes fotográficas digitales tomadas con retroiluminación y realiza un análisis de textura como POCO. Este *software* analiza el grado de desorden de una matriz de escala de grises por tanto evalúa el grado de heterogeneidad de la cápsula posterior (Aslam TM, 2002). Se correlaciona bien con análisis subjetivos, pero infraestima la opacificación de tipo fibroso por mostrar imágenes menos heterogéneas y tampoco se relaciona bien con la agudeza visual si hay áreas libres de opacificación que puedan hacer de estenopeico rodeadas de áreas de opacificación densas.

3.3.2.2.2 OSCA (Open-Access Systematic Capsule Assessment)

Este sistema de análisis de OCP es objetivo y clínicamente útil. Incorpora detección y eliminación de flash, así como análisis de textura (Aslam TM, 2006). En la etapa final de la fusión, partes de la imagen que están estropeadas por el reflejo de flash en la foto principal son reemplazadas por las regiones correspondientes exactas pero sin reflejos de la segunda imagen registrada, creando un compuesto final libre de reflexiones no deseadas (Findl O, 2003). Otra nueva característica es que el usuario es capaz de especificar el tamaño del área capsular a analizar. Proporciona características y beneficios que antes no estaban disponibles para la mayoría de los investigadores o clínicos.

3.3.2.3. ANÁLISIS SOBRE IMAGEN CON REJILLA CODIFICADA POR COLOR

3.3.2.3.1 POComan

El sistema POComan (Bender L, 2004) también es subjetivo y no es convincente para el análisis del OCP en cuanto a medir la progresión o la significación visual (Aslam TM, 2005).

3.3.2.3. MÉTODOS DE IMAGEN DE SEGMENTO ANTERIOR

3.3.2.3.1 OCT

La tomografía de coherencia óptica (OCT) utiliza imágenes de tomografía óptica no invasiva e interferométrica, con una penetración de aproximadamente <2-3 mm en el tejido. La técnica en 1991 se desarrollo con una resolución axial de ~30 μm . En el año 2001 su resolución es ya submicrométrica. Hoy en día se ha convertido en una prominente técnica biomédica de visualización de tejidos. Tiene ventajas sobre otros sistemas de imágenes médicas. La ultrasonografía, la resonancia magnética (MRI) y la microscopia confocal no son adecuadas para el estudio morfológico de tejidos, ya que las primeras dos poseen escasa resolución y la tercera no posee profundidad de penetración milimétrica. La OCT está basada en la interferometría de baja coherencia (Baumgartner A, 1998).

Mediante la tomografía de coherencia óptica, Moreno-Montañes y colaboradores evaluaron la opacificación de la cápsula posterior en humanos después de la cirugía de cataratas con implante de LIO mediante un sistema de OCT de segmento posterior de 820 nm (Moreno-Montanes J, 2005). La reproducibilidad intraobservador fue buena. Sin embargo, la interobservador fue moderada; esto evidencia la importancia de la

experiencia previa en el manejo del equipo. El sistema fue capaz de diferenciar entre opacidad de tipo fibroso y opacidad de tipo perlas. En 2005 en un total de 66 ojos estudiados con OCP y 20 ojos sin opacidad de cápsula posterior, se obtuvieron intensidad de pico (PI) y espesamiento posterior de la cápsula (PCT), con PCT indicando la distancia entre dos picos de reflectividad, con una resolución axial aproximada de 10 μm . Ambas variables se compararon con la agudeza visual y la opacificación de la cápsula posterior. De los parámetros estudiados, sólo el grosor de la cápsula se correlacionó con la agudeza visual y no así la intensidad de pico, lo que sugiere que el grosor de la opacificación es un factor importante en la disminución de AV (Moreno-Montañés J, 2005), (Moreno-Montañés J, 2008).

Utilizando una OCT-SA, Elgohary y colaboradores analizaron la relación entre la cara posterior de la óptica de la LIO y la cápsula posterior, factor que se considera importante en la fisiopatología de la opacificación capsular. Elgohary y col demostraron que un implante acrílico hidrofóbico de hápticos en C presenta una mejor aposición con la cápsula posterior que un implante de silicona tipo plato (Elgohary MA, 2006). En este estudio hemos elegido la LIO Envista modelo MX60 de tipo acrílico hidrofóbico con diseño de hápticos C-loop modificado en todos los pacientes intervenidos.

3.3.2.3.1. Sistemas Scheimpflug

El Pentacam reconstruye imágenes en 3-D de alta resolución del polo anterior del ojo, tras capturar múltiples imágenes mediante una cámara rotacional que utiliza un sistema Scheimpflug que cuenta el equipo. Este sistema Scheimpflug captura fotografías en múltiples meridianos (25 ó 50 imágenes en 2 segundos) en cada escaneo automatizado. Tras la captura, elabora un modelo tridimensional del segmento anterior del ojo a partir de los 25.000 puntos de elevación real. Lasa et al. demostraron en 1995 que las imágenes

Scheimpflug podrían ser una herramienta útil para la futura evaluación de la OCP (Lasa MS, 1995). El sistema de fotografía Scheimpflug fue desarrollada posteriormente por Hayashi en 1998 (Hayashi H, 1998), (Hayashi K, 1998). En 2004, Hayashi K y colaboradores, encontraron una fuerte correlación positiva entre los valores de densitometría Pentacam®HR y las puntuaciones clínicas subjetivas utilizando cuatro meridianos para la medición de la OCP (Hayashi K, 2004). La imagen de más alta calidad se transfirió a un ordenador en línea para el análisis de imágenes en línea. La densidad media de dispersión de luz de la zona central de 3,00 x 0,25 mm de la cápsula posterior se midió utilizando la densitometría axial del ordenador.

Tanaka et al en 2004, encontraron otra limitación: que el material de LIO influye significativamente las mediciones de la densitometría por la dispersión de la luz al pasar a través de la lente intraocular. Por lo tanto la densidad de la OCP, cuantificadas por este sistema, no se puede comparar directamente con los diferentes materiales ópticos sin restar la densidad de dispersión de luz en las diferentes lentes intraoculares al valor medido en la cápsula posterior. Las lentes intraoculares de color amarillo-polarizados fueron diseñados para absorber la luz azul-violeta, por lo que la transmitancia de luz LED azul del sistema de Scheimpflug es un 10% a 20% menor que con las LIOs no teñidas. Por el contrario, cuando la lente intraocular está en el saco (como en nuestro estudio), la medición de la OCA no se ve perturbada por dispersiones de luz causada por la naturaleza de la lente intraocular, porque ésta se sitúa detrás de la OCA (Tanaka Y et al., 2004).

Según Tanaka lo considera un método objetivo de medición pero no lo considera adecuado para comparar diferentes biomateriales (Tanaka Y et al., 2004).

Un estudio (Hernandez I, 2011) realiza la cuantificación de la cápsula posterior del cristalino de manera objetiva y reproducible, mediante la utilización de tomogramas del Pentacam. Este estudio evaluó la eficacia del Pentacam en obtener imágenes de la OCP cuantificables objetivamente mediante un *software* para el análisis de imágenes médicas llamado Image J que es descargable libremente. Este sistema permite obtener un

indicador preciso y reproducible para la cuantificación objetiva de la OCP, evitando así los errores humanos que derivan de una cuantificación subjetiva en la lámpara de hendidura.

Oculus Pentacam®HR: Hoy en día el nuevo Pentacam®HR lleva incluido un *software* que analiza la densitometría de área, línea y pico en las imágenes de cada meridiano. Este sistema es capaz de realizar mediciones de la cápsula anterior y posterior tras tomar 25 o 50 imágenes. Una segunda cámara pupilar frontal realiza la alineación de estas imágenes, compensado el movimiento ocular. El proceso dura menos de 2 segundos y los movimientos oculares son detectados y corregidos simultáneamente.

En nuestro estudio la adquisición de imágenes se realiza en un ambiente oscuro, sin ventanas, en una sala de evaluación clínica con un nivel de luminancia de 1 candela / m² o menos. Este dispositivo Scheimpflug calcula una puntuación de calidad teniendo en cuenta el área cubierta, la alineación y el movimiento ocular. Esta puntuación ayuda a los usuarios a evaluar la validez de los datos de cada examen. Sólo las imágenes con una puntuación de calidad superior a 95 fueron etiquetados como válidos por el aparato.

Las imágenes son detectadas y procesadas en un formato de modelo tridimensional del segmento anterior del ojo. El dispositivo proporciona el análisis de la cámara 3-D (profundidad, ángulo y volumen). Su nuevo *software* de densitometría incluye el software PNS para la cuantificación de la opacificación del cristalino además de los tres métodos de densitometría Scheimpflug (densitometría de área, densitometría lineal y densitometría de pico) para medir densidad de estructuras de segmento anterior y es utilizable a nivel de cápsula anterior y posterior del cristalino. Los valores de densitometría se expresan en unidades de escala de grises (GSU). La escala GSU esta calibrado por el fabricante en un *software* que define una dispersión mínima de luz de 0 (transparencia máxima) y dispersión máxima de luz de 100 (transparencia mínima). Los valores GSU se suministran instantáneamente.

3.4 Fisiopatología

Durante la facoemulsificación se provoca una rotura de la barrera hemato-acuosa. La inflamación tras la cirugía se ha identificado como factor de riesgo de la OCP y además todas aquellas enfermedades asociadas a rotura de barrera hemato-acuosa ya previa a la cirugía, se asocian a mayores tasas de opacificación capsular (pseudoexfoliación, uveítis, catarata traumática, vitrectomía...). Esto ha sido tenido en cuenta en nuestro estudio durante la selección de pacientes, excluyéndose los pacientes con enfermedades asociadas a rotura de la barrera hemato-acuosa.

El trauma quirúrgico para el ojo que se produce al extraer la catarata, induce la producción de citoquinas y factores de crecimiento como parte de la respuesta a la cirugía (Meacock WR, 2000). En el contexto de la OCP, la citoquina TGF- β es uno de los principales factores de crecimiento implicados en la respuesta a la cirugía de catarata. El TGF- β transmite su información mediante la participación de los complejos receptores de la superficie celular, que transmiten su señal para activar las vías de señalización en el citoplasma y el núcleo. En las células epiteliales cristalinas (CECs), la unión del TGF- β al receptor causa la activación de las proteínas Smad (Vía canónica de señalización del TGF- β), que actúan mediante el aumento de la transcripción de una batería de genes involucrados en la proliferación celular. Por lo tanto, el TGF- β induce un cambio en el comportamiento de las CECs, pasando de ser células quiescentes sin apenas división celular, a células que proliferan y adoptan una morfología de tipo fibroblasto, y expresan nuevos marcadores de proteína, tales como la actina de músculo liso tipo alfa (α SMA). Esta transformación de un fenotipo epitelial a mesenquimal se conoce como transdiferenciación miofibroblástica o epitelio-mesenquimal (TEM). Mediante la medición de marcadores de proliferación celular y de TEM en modelos experimentales de OCP a partir de muestras humanas y de animales de experimentación se han confirmado el papel central que juega el TGF- β en este proceso (Miyamoto T et al., 2002), (Medvedovic M, 2006), (Saika S, 2001).

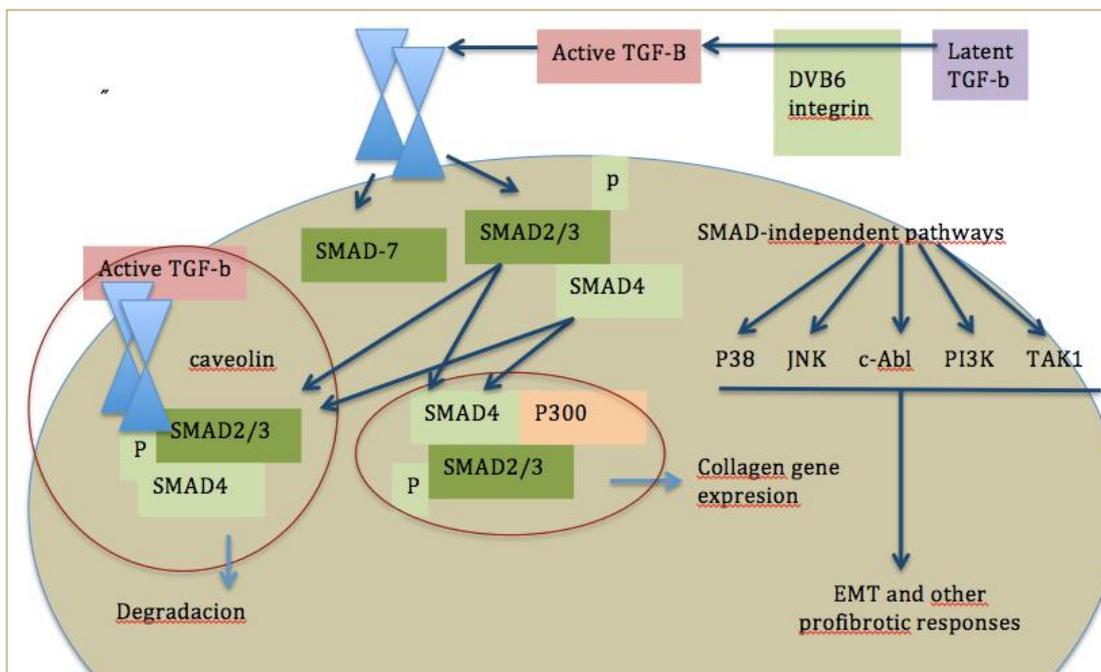


Figura 10. Vías de señalización del TGF-β: Vía dependiente y no dependiente de SMAD
 Modificado de la foto original de <https://www.humphath.com/spip.php?article12518>

La superfamilia de receptores de TGF-β, comprende 2 grupos de serina/treonin-quinasas: el tipo I y el tipo II. Se trata de proteínas transmembrana que forman un complejo heteromérico de señalización. Los receptores tipo I se conocen como quinasas tipo Activina (ALKs), y los receptores de tipo II son denominados según el ligando al que se unen, entre las que se incluyen las proteínas morfogenéticas del hueso (BMPs), los factores de crecimiento y diferenciación (GDFs); la hormona anti-mülleriana (AMH), la Activina, el Nodal o el TGF-β. La señalización de TGF-β canónica requiere la fosforilación de Smad2 y Smad3 (es la vía TGF-β /SMAD) que luego se translocan en el núcleo y activan la expresión de genes diana, tales como α-SMA, fibronectina, vimentina, colágeno I y colágeno IV (Derynck R, 2003). Además, el TGF-β puede activar la vía de señalización de la familia de las quinasas, como las reguladas por señal extracelular/quinasa de adhesión focal (SFK / FAK) (Walker JL, 2007), la vía señalización de la proteasoma ubiquitina (Awasthi N, de 2008), la cascada TAK1/p38, la cascada TAK1/JNK/JUN, la cascada RAS/RAF/MEK/ERK, la cascada Rho-like GTPasa/ROCK y la Jagged / Notch

como vías no canónicas para inducir la TEM (Derynck R, 2003), (Massage J, 1998), (Chen XF, 2012), (Zhang YE, 2009).

La proliferación y la transdiferenciación epitelio-mesenquimal o TEM de las CECs desempeñan un papel clave en la patogénesis de la opacificación de la cápsula. Durante la TEM, las CEC experimentan un reordenamiento del citoesqueleto, pierden la polaridad epitelial y se diferencian en células fibroblásticas activas (Nalluri SM, 2015).

Como ya hemos comentado anteriormente la vía de señalización TGF- β /SMAD es la vía central o canónica en la patología fibrótica de la opacificación capsular (Dawes LJ, 2009). Hay tres isoformas de TGF- β en los mamíferos. La TGF- β 2 es la isoforma principal en el humor acuoso, y se regula significativamente al alza después de la cirugía y durante la inflamación. Es por ello que distintos autores consideran la inhibición de la TEM inducida por TGF- β 2 como una estrategia terapéutica prometedora para evitar la opacificación de la cápsula tras la cirugía de cristalino (Lovicu FJ, 2002), (Sun CB, 2014). Dentro de vía de señalización TGF- β /SMAD, a su vez los Smad4, Smad3 y Smad2 son componentes principales en su cascada de señalización. Tras la estimulación del ligando TGF- β con SMAD4 forman un complejo heteromérico con SMAD2 y SMAD3 (RSmads), que son fosforilados por un receptor del complejo TGF- β activado, compuesto por dos tipos I y II de receptores transmembrana de serina- treonina-quinasa (Massage J,1998).

Desde hace muchos años está demostrada la presencia de muchas moléculas implicadas en el desarrollo de TEM en las células epiteliales anteriores del cristalino. Así Shigemitsu T. y colaboradores demostraron en 1999, la presencia de las siguientes sustancias en las células del epitelio de las cápsulas anteriores de cristalino humano recogidas en el momento de la cirugía de catarata: EGF, EGF-R, FGF, FGF-R, TGF- β , TGF- β -RII, IGF-II, IL-6, IL-1-RII, TNF- α , PGE2, queratina, fibronectina, laminina y colágeno tipo tipo IV. Estos resultados demuestran que existen en las CECH en el momento de la cirugía de la catarata muchos tipos de moléculas potencialmente implicados en procesos de señalización y que favorecen la TEM y la aparición de opacificación cápsular (Shigemitsu T et al., 1999). Además demostraron que las siguientes moléculas estaban presentes en

muestras de la fibrosis capsular posterior y anterior de la catarata secundaria: EGF, EGF-R, FGF, FGF-R, TGF- β , TGF- β -RII, IGF-II, PDGF-AB, IL-6 , IL-1RII, TNF- α , PGE2, PAI-1, α -SMA, queratina, fibronectina, laminina, colágenos de tipo I, II y VI.

Sabiendo de la existencia de todas estas moléculas en las células epiteliales anteriores del cristalino y teniendo en cuenta los conocimientos extraídos a través de la literatura sobre todo de estudios *in vitro* y animales, elegimos una serie de genes para nuestro estudio. En el apartado “discusión” iremos explicando las razones que nos llevaron a elegir nuestras dianas para éste estudio.

Además del TGF- β , es probable que otros factores estén participando en cierta medida, en la opacificación capsular, según se ha observado en modelos experimentales, donde el desarrollo de la OCP se ve influenciado por el bloqueo de muchos otros factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), o el factor de crecimiento de hepatocitos, HGF) o ciertos factores implicados en la respuesta inflamatoria (IL-1, IL-6, aldocetoreductasas). Los factores de crecimiento epidérmico (EGF), el fibroblástico (FGF), el similar a la insulina (IGF-II), el hepatocítico (HGF) (Tognetto, 2003), (Reyntjens, 2004), (Kruger, 2001) están relacionados con la regulación de la proliferación de las células epiteliales del cristalino y parece que actúan juntas para promover la proliferación de las células epiteliales, proceso que en el caso de las células epiteliales tipo E, explicaría la aparición de proliferaciones celulares en el saco capsular tipo perlas de Elschmig.

3.5 Etiopatogenia- Factores de riesgo para inflamación / OCP

A continuación realizaremos un resumen de estos factores de riesgo

A) Edad

Es sabido que la respuesta inflamatoria a la cirugía de catarata es más florida en la edad pediátrica y que las células epiteliales a esa edad responden también de forma más activa frente a la inflamación quirúrgica. En la edad pediátrica la tasa de opacificación de la cápsula posterior es muy elevada variando según los autores entre 87,2 % (Sharma N, 1999) y 100% (Panley SK, 1999). Según Buckley y col., la tasa es del 100% cuando la cápsula posterior se mantiene intacta (Buckley *et al.*, 1993).

En general se acepta que a mayor edad disminuye la reactividad de las células epiteliales y que las tasas de opacificación son menores.

B) Diabetes Mellitus

Hay revisiones que establecen un aumento en la aparición de opacificación capsular posterior en pacientes diabéticos (Hayashi K *et al.*, 2002) y otras en las que se encuentra una disminución en la tasa de aparición de esta complicación (Zaczek A *et al.*, 1999). En la diabetes mellitus se produce un daño en la microcirculación con una rotura de la barrera hemato-acuosa que es un factor que favorece la inflamación y la OCP. Al mismo tiempo la hiperosmolaridad, la hiperglucemia y el aumento de sorbitol en las células epiteliales remanentes del cristalino afecta al metabolismo de estas (Varma SD, 2005). Esto explicaría que las células epiteliales sean menos activas tras la cirugía. Como factores que alteran los resultados de los estudios están que los pacientes diabéticos acceden a la cirugía a edades más tempranas y que en ellos se realizan más vitrectomías y que en ellos se han implantado más lentes de polimetilmetacrilato.

C) Inflamación ocular

Cualquier proceso con rotura de la barrera hemato-acuosa y que favorezca la liberación de citoquinas favorece la aparición de OCP, como son la cirugía complicada, la vitrectomía, la catarata traumática y las uveítis.

D) Miopía

Hay estudios que apoyan y refutan considerar a la miopía como factor de riesgo de la OCP. En 2006 K. Hayashi y colaboradores reclutaron 90 ojos de 90 pacientes programados para cirugía de facoemulsificación. Treinta en ojos con miopía alta (mayor o igual que menos 8 dioptrías), 30 ojos con miopía moderada (menor que menos 8 Dioptrías y mayor o igual que menos 3 Dioptrías) y 30 con baja miopía (menor que menos 3 Dioptrías). No encontraron una relación entre grado de miopía y grado de OCP (Hayashi K et al., 2006).

E) Pseudoexfoliación

Presentan mayores tasas de OCP, mayor índice de roturas capsulares y de desinserciones capsulares por debilidad de las fibras zonulares. Existe una rotura de la barrera hemato-acuosa previa a la cirugía que conlleva una mayor inflamación relacionada con la intervención quirúrgica (Küchle M, 1997).

F) Glaucoma

En glaucomas secundarios con rotura de barrera hemato-acuosa y/o alteraciones en la dilatación intraoperatoria (uveítico, pseudoexfoliativo, neovascular...) es aceptado que la OCP es más frecuente. En el glaucoma crónico simple las tasas parecen menores si se utiliza mitomicina en las cirugías combinadas (Shin DH, 1998).

G) Retinosis pigmentosa

Se asocia a altas tasas de opacificación de capsular de etiología no clara (Auffarth GU, 1997).

H) Distrofia Miotónica

Hay estudios que asocian a esta enfermedad con altas tasas de opacificación capsular (Garroth HM, 2004).

4. METODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE LOS GENES DE INTERÉS MEDIANTE RT-Q-PCR

La qPCR o PCR a tiempo real es una variación de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, de sus siglas en inglés) estándar que permite la cuantificación de ADN de una muestra. Al igual que la PCR estándar, esta técnica se basa en la amplificación de un segmento de ADN comprendido entre dos secuencias complementarias a los nucleótidos cebadores o primers denominado amplicón. Para la cuantificación, la cantidad producida de dicho amplicón se mide en cada ciclo de PCR a tiempo real gracias a la adición de fluoróforos que se unen al él de forma cuantitativa. La fluorescencia emitida es proporcional a la cantidad de ADN amplificado, que a su vez es proporcional al número de copias de ADN iniciales en cada muestra. De esta forma aquellas muestras con mayor expresión del gen, el amplicón fluorescente aparecerá en ciclos anteriores (ciclo umbral o Cq) y podrá ser comparada para determinar su expresión relativa.

Una limitación de la qPCR es que se debe utilizar ADN como secuencia diana, ya que las ADN polimerasas no pueden amplificar ARN de una manera similar. Este problema se puede superar mediante el uso de la enzima transcriptasa inversa para generar DNA

complementario (cDNA) a partir de ARN de hebra simple, obtenido por retrotranscripción de ácido ribonucleico (ARN); en este caso, la técnica es una RT-PCR cuantitativa o en tiempo real, o RT-Q-PCR (Valasek & Repa, 2005). Debe evitarse la confusión con la técnica denominada «PCR tras transcripción inversa» (RT-PCR, del inglés reverse transcriptase PCR), en la cual existe un paso de retrotranscripción de ARN a ADN pero que no necesariamente cuantifica el producto a tiempo real.

Otra de las limitaciones de la qPCR está relacionada con la variabilidad que se introduce en la cuantificación y que conlleva a un error en la estimación de la cuantificación de producto amplificado. Dicha variabilidad es resultado de la integridad de ADN; de la eficiencia enzimática y de otros muchos factores, por lo que se han desarrollado numerosos sistemas de estandarización. Los más ampliamente utilizados se orientan a la cuantificación relativa del gen a estudio respecto de otro, denominado «normalizador», que se selecciona debido a su expresión casi constante. Estos genes suelen denominarse en inglés *house-keeping genes* debido a que suelen estar involucrados en funciones básicas en la supervivencia celular, lo cual suele implicar una expresión constitutiva (Vandesompele et al., 2002). De este modo, efectuando en cada experimento la medición de los genes de interés y dividiéndolos por la expresión del gen normalizador seleccionado es posible comparar los niveles de expresión de los genes de interés, a pesar de no conocer su nivel de expresión en términos absolutos. Los genes normalizadores más empleados son aquellos que codifican para las proteínas tubulina, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, albúmina, ciclofilina ó RNA ribosomales, entre otros (Pfaff et al., 2005).

De esta manera, cuando se combina la técnica de qPCR con una reacción de retrotranscripción o RT puede determinarse la cantidad de un determinado RNA mensajero (mRNA) de una muestra mediante una cuantificación relativa. Dicha cuantificación se denomina relativa ya que se compara la cantidad del mRNA de un gen específico en un grupo de estudio respecto a la cantidad de dicho mRNA en un grupo control.

Antes de realizar los estudios de cuantificación de mRNAs es importante la optimización de las condiciones de la qPCR para el desarrollo de un ensayo robusto. Una mala optimización puede suponer una falta de reproducibilidad entre estudios así como ensayos ineficientes e insensibles. Unos resultados reproducibles en qPCR requieren que la eficiencia de la PCR sea cercana al 100% (duplicación del producto en cada ciclo).

Entre los factores que afectan a dicha eficiencia, destaca la capacidad de los cebadores para amplificar de manera eficaz una secuencia concreta del genoma. Existen múltiples aspectos que determinan dicha capacidad o eficiencia, ya sean sus características primarias (longitud, contenido de C/G, composición extremo 3', complementariedad interna) o secundarias (complementariedad entre cebadores, estructuras secundarias). Por lo tanto un buen diseño de los cebadores es clave para realizar estudios de qPCR fiables y reproducibles.

5. IMPORTANCIA DEL LASÉR DE FEMTOSEGUNDO EN LA CAPSULORREXIS

CAPSULORREXIS GUIADA POR LÁSER FEMTOSEGUNDO

En este estudio hemos realizado todas las intervenciones de catarata asistida por láser femtosegundo usando la plataforma de láser femtosegundo VICTUS™. Se realizó en todas la cirugías una capsulotomía de 5,0 mm con una energía de 7,0 µJ. La fragmentación del cristalino se realizó con un diámetro exterior circular de 2,0 mm y tres cortes radiales de 6 mm de diámetro con 8,4 µJ de energía. Después de la hidrodissección, se realizó facoemulsificación convencional endocapsular del núcleo, aspiración cortical y pulido de la cápsula anterior. A continuación, se rellenó la cápsula del cristalino con hialuronato de sodio al 1% y se implantó una LIO de óptica de 6,0 mm

en este saco capsular. Por último, el cirujano confirmó cuidadosamente si las lentes intraoculares fueron implantadas correctamente en el interior del saco capsular. Para evitar cualquier sesgo atribuido a la LIO como resultado de las diferentes intensidades de luz de dispersión de la superficie anterior de la LIO, todos los pacientes recibieron el mismo tipo de LIO acrílica hidrofóbica no teñida, la enVista™ modelo MX60 (Keiichiro Minami et al., 2015).

Gracias al láser femtosegundo podemos realizar capsulorrexis del tamaño deseado y siempre circular y simétrica. Esto se logra de forma casi independiente al grosor corneal a la distancia axial del ojo y a la profundidad de cámara anterior del ojo. Como factores condicionantes para realizar una correcta CCC guiada por láser femtosegundo estarían la presencia de un diámetro pupilar insuficiente y la pérdida de transparencia en córnea (ej: leucoma denso). Estas circunstancias han sido tenidas en cuenta en la selección de pacientes de este estudio. El láser de femtosegundo trabaja con una longitud de onda próxima al infrarrojo (1.030 nm), en forma de pulsos cortos (10^{-15} seg) y es incapaz de atravesar neovascularizaciones corneales, ni opacidades densas... En ausencia de estos condicionantes permite realizar capsulorrexis en situaciones complicadas tales como, pseudoexfoliación capsular, cámaras anteriores estrechas, ausencia de reflejo de fondo, fibrosis capsulares y cataratas infantiles.

La capsulorrexis guiada con láser femtosegundo permite realizar una capsulorrexis a la carta centrando o descentrando esta con respecto a pupila a nuestro gusto, según consideremos necesario.

En 2001 Friedman demuestra que la correcta realización de la capsulorrexis, en su tamaño, forma y centrado tiene una importancia clave en la posición final de la lente y esto en la inhibición de la OCP. Concluye que las capsulorrexis guiadas por láser femtosegundo son más regulares, solapan mejor los bordes de la LIO y permiten un mejor centrado de la LIO frente a la capsulorrexis manual. Además demuestra reproducibilidad de la capsulotomía realizada con láser femtosegundo (Friedman et al., 2011) y menor descentramiento horizontal (Nagy et al., 2009). Además en un estudio en

ojos de cerdo se ha demostrado que las capsulotomías realizadas con láser son más resistentes a las fuerzas centrífugas (Auffarth, 2013).

Esta aceptado que la capsulorrexis anterior debe ser circular y centrada y ligeramente inferior al tamaño de la óptica de la lente intraocular. Se estima que en los 360° debe haber una aposición de 0,5 mm entre la superficie anterior de la óptica y la cara posterior de la capsulorrexis anterior. Esto evitará el descentrado de la lente intraocular y el *tilt*.

K. Kranitz en 2011 concluye que el descentramiento de la LIO es hasta 6 veces más probable cuando la capsulorrexis se practica de forma manual (Kranitz K et al., 2011).

K. Kranitz en 2012 encontró diferencias estadísticamente significativas en relación al *tilt* y el descentramiento entre el grupo “capsulorrexis manual” con respecto al grupo “capsulorrexis con femtosegundo” al año de la cirugía (Kranitz K et al., 2012). En este estudio la diferencia en el *tilt* vertical era de más de 5°. Según Holladay (Holladay JT et al., 2002) éste es el *tilt* crítico a partir del cual las lentes esféricas pierden sus ventajas. Esta diferencia tendría significación en la calidad visual percibida por el paciente.

6. FRENTES DE INVESTIGACIÓN PARA EVITAR LA APARICIÓN DE OPACIFICACIÓN CAPSULAR TRAS LA CIRUGÍA DE CATARATA

Dada la importancia epidemiológica y para la calidad de vida de los pacientes operados de catarata de la opacificación capsular postoperatoria, el futuro desarrollo de la cirugía de catarata pasa inevitablemente por la resolución de este condicionante biológico y el mantenimiento de la transparencia del saco capsular.

Si el porcentaje de opacificación de cápsula posterior era del 50% en la década de los 80, en 1998 se estimaba en torno a un 15% (Schaumberg DA, 1998). Los factores que más han influido hasta la fecha en esa disminución son: la hidrodisección del córtex, la

capsulorrexis de un diámetro algo inferior al de la óptica de la lente intraocular, la colocación de los hápticos dentro del saco, la creciente biocompatibilidad y adhesividad de las nuevas generaciones de lentes intraoculares, los bordes cuadrados de la óptica, así como su superficie anterior no convexa y hápticos angulados. A pesar de la mejoría en las tasas de opacificación, siguen abiertos varios frentes de investigación para tratar de disminuir la incidencia de esta complicación. Entre ellos:

1. Técnicas quirúrgicas cada vez más avanzadas con incisiones cada vez menores y facoemulsificadores más sofisticados con lo que se genera menor respuesta inflamatoria del ojo a la cirugía. La inflamación genera citoquinas y factores de crecimiento autocrinos y paracrinos (FGF β , TGF β , HGF y EGF ...) que estimulan la transdiferenciación de las células epiteliales A y la proliferación y migración de las células epiteliales E y la consiguiente opacificación capsular. Se acepta que cirugías menos inflamógenas inducen menos liberación de estos factores favorecedores de la opacificación capsular. Numerosos estudios han documentado que la cirugía de catarata asistida por láser femtosegundo puede aumentar la precisión y la reproducibilidad de la capsulotomía anterior, reducir el tiempo efectivo de facoemulsificación, causar menos inflamación de la cámara anterior en el post-operatorio (Abell RG, 2013) y disminuir el daño endotelial inducido por cirugía en comparación con la cirugía de catarata convencional (Conrad-Hengerer I, 2013). Todos estos factores asociados con la cirugía de catarata asistida por láser pueden mejorar aún más el perfil de seguridad y los resultados visuales del procedimiento de catarata convencional actual. Es por ello que en este estudio hemos elegido la cirugía de catarata asistida por láser femtosegundo.

2. Biomateriales de la lente intraocular: Un meta análisis de varios estudios publicado en el 2007 que comparaba LIOs de distintos materiales mostró tasas de OCP significativamente mayores en las lentes intraoculares de hidrogel (acrílico hidrofílico) y

en las de polimetilmetacrilato que en las lentes intraoculares de otros materiales (acrílico hidrofóbico de borde cuadrado, silicona de nueva generación (Jin-Wei Cheng, 2007). Nosotros en este estudio hemos utilizado una LIO acrílica hidrofóbica de borde cuadrado para eliminar variables.

3. Geometría de las lentes intraoculares: Los diseños de lentes de borde cuadrado en la óptica de la lente y angulación posterior de los hápticos suponen un freno para el avance de la OCP. Boyce y colaboradores en el 2002 demostraron matemáticamente, que una LIO de borde cuadrado ejerce dos veces más presión sobre la cápsula posterior en el punto de contacto entre esta y la esquina del borde de la óptica. (Boyce et al., 2002) Esta presión aumentada puede producir un bloqueo físico a la migración de las células epiteliales y por consiguiente explicar la menor incidencia de OCP observada con la utilización LIOs con este tipo de diseño del borde óptico cuadrado en comparación con los de borde redondo. Este sellado impediría que las citoquinas y el transforming growth beta factor (TGF- β) tomaran contacto con las células epiteliales capsulares evitando su transformación miofibroblástica (Boyce, 2002). Es por ello que en nuestro estudio hemos utilizado lentes intraoculares de borde cuadrado y con material reconocidamente biocompatible.

4. Relación capsulorrexis/óptica de la lente. Algunos estudios han señalado que el control del tamaño de la CCC constituye un factor adicional importante para prevenir la OCP siempre y cuando se logre que su diámetro sea ligeramente menor al de la óptica de la LIO quedando en aposición sobre la cara anterior de la óptica de la lente en los 360°. Se plantea que la estrecha unión LIO-capsulorrexis impide el paso al interior del saco capsular de factores deletéreos y mediadores inflamatorios que podrán estimular la proliferación celular epitelial.

En este estudio utilizamos el **láser femtosegundo** para la realización de la capsulorrexis de un tamaño predeterminado (5mm de diámetro usando una energía 7.0

mJ) para conseguir un mejor centrado de la óptica de la lente intraocular en el saco capsular así como una mejor aposición con el borde de la óptica de 6.0 mm (enVista modelo MX60 de Bausch & Lomb) . En el apartado anterior hemos explicado más detalladamente la importancia de la CCC.

5. Fármacos. Se ha investigado en los últimos años la utilización de fármacos durante o después de la cirugía con el objetivo de inhibir la proliferación y TEM de las CECs. Se han usado sustancias intrasaculares mezcladas con viscoelástico o BSS o a través de implantes impregnados con el fármaco así como medicamentos tópicos y orales. A continuación se describen algunas de ellas:

Antimetabolitos : Se han experimentado in vitro y en animales el suero salino hiperosmolar, la mitomicina (Fernandez, 2004), actinomicina D, metrotrexato, daunorrubicina, 5-fluoracilo, colchicina, (Inan, 2001), arabinósido de citosina ...Otros fármacos: Acido retinoico (Inan, 2001), EDTA, colchicina, ciclosporina. Son fármacos que tienen probado efecto citotóxico sobre las células de epitelio cristalino pero no están siendo utilizadas en humanos por su conocido efecto citotóxico sobre las células del endotelio corneal.

Antinflamatorios : Dado que los fenómenos inflamatorios son importantes en la aparición de la OCP se han realizado diversos estudios con varios antiinflamatorios como indometacina, diclofenaco, dexametasona, betametasona, Ketorolaco... en los que no se han encontrado diferencias significativas en la prevención de la OCP frente a placebo (Chandler, 2007).

Inmunoterapias: la MDX-Ra es la única inmunotoxina ensayada en la cirugía de catarata en humanos. MDX RA [4197X-RA] es una inmunotoxina terapéutica que en 1998 estaba en fase III. En 1998 el estudio se suspendió en la fase en humanos ya que el 2,3% (13/565) de los pacientes experimentaron reacciones adversas inexplicables (Meacock, 2000). Inmunotoxinas utilizadas *in vitro* o en experimentación sobre animales se han

documentado como inhibidoras de la OCP, sin embargo estos estudios no han pasado a fase 3, *in vivo* en humanos

Terapia génica: Estudios han demostrado la eficacia del uso de la transferencia de genes mediada por adenovirus, para prevenir la OCP mediante la sobreexpresión de moléculas proapoptóticas como pro-caspasa 3 o Bax en las CECs residuales post-cirugía . Sin embargo, este enfoque es factible sólo si la transferencia de genes se puede restringir a las células residuales responsables de la opacificación capsular. Malekaze y sus colaboradores han probado un adenovirus (serotipo humano 5, hAd5), un lentivirus (VIH) y un vector de oncorretrovirus (MLV) para valorar su eficacia en la transducción *in vivo* en CECs en conejos. *Ex vivo* encontraron que los vectores hAd5 fueron los más eficientes (mas del 90 % de las células podían ser transducidas). Se encontró que los promotores LEP503 , MIP y Filensin indujeron una fuerte expresión de un gen específico en CECHs. Siguiendo este ensayo *ex vivo* demostraron en un modelo de conejo que la transferencia genética podría ser espacialmente restringida al saco capsular confinando el vector con Matrigel. El enfoque combinado de utilizar un promotor específico para las CECs y un gel biocompatible supone una nueva estrategia terapéutica para la OCP que se dirige a las CECs residuales tras la cirugía de cataratas (Malekaze F et al., 2006).

Perfect capsule : se trata de un dispositivo de silicona que desplegándose en la cápsula anterior realiza un sellado de la capsulorexis pudiendo introducirse fármacos en el saco capsular minimizándose teóricamente el efecto tóxico de estos en endotelio corneal (Rabsilber TM et al., 2007)

HIPÓTESIS

En este estudio proponemos como hipótesis que las diferencias en la opacificación capsular anterior y posterior que encontramos entre pacientes intervenidos de catarata se deben en parte al diferente grado de expresión de genes implicados en la transición epitelial-mesenquimal en sus células epiteliales A de cápsula anterior en el momento de la cirugía.

La opacificación capsular posterior es la complicación postoperatoria más frecuente en el postoperatorio de la cirugía de la catarata. Es una complicación que ocurre hasta en un 50% de los pacientes tras seguimiento de 5 años. Las técnicas quirúrgicas están muy estandarizadas, los facoemulsificadores son cada vez menos inflamógenos, las lentes intraoculares presentan materiales más biocompatibles y diseños que frenan la proliferación de las células epiteliales. A pesar de todos estos avances la opacificación capsular sigue apareciendo de manera muy desigual en los pacientes, sin que los conocimientos actuales sean capaces de explicar estas diferencias en su globalidad. La identificación de factores de riesgo de la opacificación capsular que se expresen de manera previa a la cirugía de catarata nos permitirá encontrar biomarcadores de prognosis y/o diagnosis de esta complicación tan prevalente a nivel mundial.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

El principal objetivo del presente trabajo fue la búsqueda de biomarcadores de riesgo de opacificación capsular en muestras de epitelio anterior del cristalino procedente de pacientes intervenidos de cirugía de catarata.

Para ello realizamos un análisis de correlación entre el grado de expresión de un grupo 10 genes candidatos (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFBR1, rTGFBR3, rACTA2, rCTNNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) en las células epiteliales de las cápsulas anteriores extraídas de los pacientes intervenidos de catarata asistida con láser femtosegundo y el grado de evolución de las opacificaciones anterior y posterior de la cápsula cristaliniana a partir de un estudio prospectivo observacional del grado de opacificación capsular anterior y posterior y de retracción de la capsulorrexis postquirúrgica de una cohorte de pacientes. Los objetivos específicos fueron:

1. Estudiar la expresión de genes relacionados con la opacificación capsular en células A de cápsula anterior del cristalino a nivel de RNA mensajero.

2. Estudiar la evolución de la opacificación del cristalino tras la cirugía de catarata, mediante:
 - 2.1. Análisis del grado de opacidad de la cápsula posterior mediante densitometría.
 - 2.2. Análisis de la Opacidad de cápsula anterior (OCA).
 - 2.2.a. Análisis de la OCA mediante puntuación subjetiva con lámpara de hendidura.
 - 2.2.b. Análisis del grado de opacidad de la cápsula anterior mediante densitometría.
 - 2.3. Análisis del la Retracción de la cápsula anterior objetivada tras medición del área de CCC en las sucesivas visitas postoperatorias.

3. Analizar la correlación entre la expresión de lo genes diana (objetivo 1) y las medidas de la evolución de la OCA y OCP (objetivo 2).

JUSTIFICACIÓN

1. IMPORTANCIA CLÍNICA Y ECONÓMICA

La opacificación de la cápsula posterior es actualmente la causa más común de alteración de la agudeza visual en el postoperatorio tras la cirugía de catarata mediante facoemulsificación. En la actualidad la opacificación de la cápsula posterior es tratada mediante capsulotomía láser YAG, que conlleva un pequeño riesgo de amenaza visual con complicaciones como el edema macular cistoide o el desprendimiento de retina. La realización de capsulotomías, días de baja laboral por disminución visual, complicaciones..., todo ello costó al sistema de Salud americano 250 millones de dólares en 1993 (Steinberg EP, 1993). Si bien, su incidencia ha disminuido desde entonces sigue siendo un importante problema sanitario a resolver. Además la capsulotomía láser YAG frecuentemente no está disponible en los países subdesarrollados, añadiendo otro problema a las dificultades en la lucha contra la ceguera en el tercer mundo.

La opacificación de la cápsula anterior y la contracción de la capsulorrexis son un obstáculo para el correcto examen de la periferia del fondo de ojo, dificultando el diagnóstico y tratamiento de patologías de periferia retiniana tanto en consulta como en quirófano. Actualmente debido al aumento en el uso de las lentes intraoculares multifocales y tóricas, que son más sintomáticas en caso de desplazamiento y *tilt* de la óptica de la lente intraocular es especialmente importante evitar la aparición de la opacificación de la cápsula anterior y de la retracción de la capsulorrexis para mantener un buen centrado de la LIO y lograr así un buen resultado visual.

Se han realizado muchos estudios de investigación sobre la prevención y el tratamiento de la opacificación de la cápsula anterior y la opacificación de la cápsula posterior y varios factores de riesgo han sido identificados para predisponer al desarrollo de ambas situaciones (Werner et al., 2000), (Werner et al., 2001), (Sacu, et al., 2004).

De acuerdo con la importancia clínica de los dos tipos de opacificación capsular una cuantificación objetiva de la opacificación de la cápsula anterior (Sacu et al., 2004), (Minami et al., 2015), (Sacu 2002) y de la opacificación de la cápsula posterior (Minami, 2015), (Bender, 2004), (Findl, 2003), (Grewal, 2008), (Praveen, 2014) es de suma importancia en la evaluación de la eficacia de los ensayos.

2. BÚSQUEDA DE UN MÉTODO OBJETIVO PARA CUANTIFICAR LA OPACIFICACIÓN DE CAPSULA ANTERIOR

Necesitamos una forma objetiva de medida de opacificación de cápsula anterior para realizar nuestra investigación. Hasta ahora el método más utilizado ha sido el método clínico subjetivo propuesto por Werner (Werner et al., 2001). Sin embargo consideramos que un método subjetivo no es ideal para estudios de investigación. Nosotros proponemos la densitometría área y lineal del Scheimpflug Pentacam®HR como nuevo método de medida para la opacificación de la cápsula anterior (Alberdi et al., 2016).

3. ESTE ES EL ÚNICO ESTUDIO QUE CONOZCAMOS que hace una comparación prospectiva de los niveles de densitometría proporcionados por el OCULUS PENTACAM® HR scheimpflug de la cápsula anterior, los niveles de densitometría de la cápsula posterior y los porcentajes de retracción de las capsulorrexis.

Todo ello medido en un seguimiento de 1 año (primera semana, primer mes, tercer, sexto y duodécimo meses) después de la cirugía de catarata asistida por láser femtosegundo. Los análisis hasta este estudio se realizan con valores subjetivos para la opacificación de capsula anterior. Consideramos que los resultados del siguiente estudio comparativo prospectivo serán de gran ayuda para comprender el comportamiento de estas variables durante el primer año después de la cirugía.

4. GENÉTICA

Hasta la fecha la mayoría de los estudios sobre este tema se han realizado *in vitro* y en animales. Nuestra expectativa es que los resultados obtenidos *in vivo* en humanos ayudarán a avanzar en el conocimiento de una enfermedad tan prevalente como la opacificación capsular tras la cirugía del cristalino y esto ayude a que se abran nuevas vías de actuación para su prevención. Además, queremos que nuestro estudio ayude a conocer los niveles de expresión génica en humanos como biomarcadores de pronóstico de opacificación capsular anterior y posterior en los pacientes sometidos a cirugía de catarata. Además de aumentar el conocimiento de la expresión de estos genes *in vivo* en humanos podría ayudar a buscar dianas terapéuticas para prevenir la aparición de estas complicaciones en la cirugía de la catarata.

5. LAZOS DE COLABORACIÓN

Establecer lazos de colaboración entre investigadores clínicos del Servicio de oftalmología del Hospital Donostia e investigadores no clínicos del Instituto de investigación Biodonostia, normalizando envío de muestras para análisis genético y almacenamiento en Biobanco vasco para la investigación.

MATERIAL Y MÉTODOS

“La ignorancia afirma o niega rotundamente; la ciencia duda”.

Voltaire (1694-1778) Filósofo y escritor francés.

"Ezina ekinez egina" legendario proverbio vasco

(Lo imposible, poniéndose a ello, está hecho)

MATERIAL Y MÉTODOS

1. APROBACIÓN POR COMITÉ DE ÉTICA

2. DISEÑO

2.1. Técnicas para llevar a cabo los objetivos 1 y 3

2.2. Técnicas para llevar a cabo los objetivos 2 y 3

3. ELEMENTOS SUJETOS A ESTUDIO

3.1 **PIEZAS QUIRÚRGICAS:** Cápsula anterior del cristalino-Células epiteliales anteriores de la cápsula del cristalino

3.2 **SUJETOS DE ESTUDIO:** Pacientes

3.2.1 Criterios de inclusión

3.2.2 Criterios de exclusión

3.3. **TÉCNICA QUIRÚRGICA**

3.4. **EVALUACIONES POSTERIORES A LA CIRUGÍA Y**

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

3.4.1. Porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis en el postoperatorio

3.4.2. Niveles de densitometría de la OCA y de la OCP (pentacam®HR densitometry software)

3.4.3 Medición de la ACO por baremo subjetivo clínico

3.4.4. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES: GENÉTICA

3.4.4.1 Extracción de ARN de la cápsula anterior del cristalino

3.4.4.2 Análisis de la expresión de genes candidatos implicados en la opacificación capsular a nivel de mRNA PCR cuantitativa en tiempo real.

4. VARIABLES

5. ANÁLISIS DE DATOS

6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

1. APROBACIÓN POR COMITÉ DE ÉTICA

El proyecto de investigación “Estudio de expresión de factores de riesgo de opacificación capsular en células del epitelio anterior del cristalino tras cirugía de catarata con láser Femtosegundo” que es la base de esta tesis doctoral fue aprobado por el Comité de Ética del Área de Salud de Gipuzkoa con Código de Protocolo: JMB-CCC-2014-03. Todos los pacientes que participaron en el estudio dieron su consentimiento informado por escrito de conformidad con la Declaración de Helsinki.

2. DISEÑO

Estudio prospectivo observacional de 12 meses de evolución.

2.1 TÉCNICAS PARA LLEVAR A CABO LOS OBJETIVOS 1 y 3

Para poder llevar a cabo **el objetivo específico 1 y el 3** analizamos primeramente la expresión de genes candidatos seleccionados (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB2, rTGFB3, rACTA2, rCTNNA1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) para este estudio que están implicados en la opacificación capsular, según estudios *in vitro* y en animales, a nivel de mRNA en las células epiteliales del cristalino que han sido sometidos a capsulorrexia asistida por láser femtosegundo. Se utilizó una muestra de la cápsula anterior que contiene adheridas las CEACs y que gracias al uso del sistema de láser femtosegundo, se persigue estandarizar la técnica y minimizar la introducción de variables como el tamaño de la cápsula obtenida para su análisis o el tiempo y energía utilizada durante la intervención etc... de manera que éstas sean comparables entre los distintos individuos. La muestra de la cápsula anterior fue extraída con pinza de capsulorrexia e introducida en un botecito para envío al instituto Biodonostia. El instituto Biodonostia está situado a escasos 100

metros del quirófano de oftalmología por lo que la cápsula fue procesada en un intervalo inferior a 30 minutos desde su extracción en todos los casos ya que los técnicos estaban avisados de antemano. Se utilizaron un mínimo de 80 muestras.

2.2. TÉCNICAS PARA LLEVAR A CABO LOS OBJETIVOS 2 y 3

En segundo lugar para llevar a cabo **el objetivo 2** medimos la opacificación capsular POSTERIOR y ANTERIOR mediante un método objetivo. El OCULUS Pentacam® HR es un sistema de alta resolución giratorio que adquiere 50 cortes a través de una cámara de Scheimpflug y posteriormente realiza una reconstrucción 3D del polo anterior ocular. Una vez adquirida la imagen posee múltiples aplicaciones para el análisis de esta información. En su última versión que utilizamos para este estudio presenta un software para medición de opacificación capsular mediante densitometría de área, lineal y pico. El procedimiento se detalla más ampliamente en el apartado “3.5. evaluaciones posteriores a la cirugía y procedimientos experimentales” de material y métodos.



Figura 1. OCULUS Pentacam® HR utilizado en este estudio

Ademas para llevar a cabo el objetivo 2 medimos la opacificación capsular ANTERIOR mediante un test de puntuación subjetiva por parte del oftalmólogo investigador del grado de fibrosis de cápsula anterior. Se puntúa en valores de 0 a 4, según la clasificación propuesta por Werner y colaboradores en 2001 (Werner L et al., 2001). El procedimiento se detalla más ampliamente en el apartado “3.5. evaluaciones posteriores a la cirugía y procedimientos experimentales” de material y métodos.

Para el **objetivo 2** necesitamos la medición de la retracción de la cápsula anterior y para ello se midió el área de CCC a través de fotografías digitales en las sucesivas visitas postoperatorias mediante el programa Area calculator SketchandCalc. El área de CCC intraoperatorio es el mismo en todos los pacientes dado que se realiza asistido por láser femtosegundo. En todos los pacientes se realizó una CCC de 5 mm de diámetro, siendo por tanto el área inicial ($\text{área} = 3.1416 \times 2.5^2$) de 19,63 mm² en todos ellos. La escala para la medición del área en las sucesivas fotografías se obtiene del diámetro de 6mm de la óptica de la lente intraocular introducida que es siempre la misma (la lente acrílica hidrofóbica EnVista^R de Bausch and Lomb). La disminución del área de la CCC que se objetivó en las sucesivas visitas postoperatorias se debe a la retracción de la CCC.

El procedimiento se detalla más ampliamente en el apartado “3.5. evaluaciones posteriores a la cirugía y procedimientos experimentales” de material y métodos.

3. ELEMENTOS SUJETOS A ESTUDIO

3.1. PIEZAS QUIRÚRGICAS: CÁPSULA ANTERIOR DEL CRISTALINO

Por un lado intraoperatoriamente se extrae la cápsula anterior de cristalino tras la CCC asistida por láser femtosegundo y en vez de desecharse como es norma en nuestra práctica diaria se envió a Biodonostia para procesado y posterior análisis de expresión de genes en las células epiteliales anteriores adheridas al mismo. La toma de muestra de cápsula anterior del cristalino intraoperatoriamente no supone ningún riesgo añadido para el paciente pues este tejido se extrae y desecha en todas las cirugías de catarata. Sería guardar para procesar y analizar un tejido que se desecha diariamente en nuestra práctica clínica. El paciente fue informado sobre el procedimiento quirúrgico y sobre el análisis de muestras biológicas mediante dos consentimientos informados. Por un lado el habitual de cirugía de catarata y por otro un modelo de hoja de información al paciente para proyectos de investigación que impliquen utilización de muestra biológica. Antes de ser incluido en el estudio clínico se informó a cada paciente sobre la voluntariedad de su participación y también que, en cualquier momento, podía abandonar el estudio sin explicar sus razones y sin que esto representara un perjuicio en su tratamiento médico.

3.2. SUJETOS DE ESTUDIO: PACIENTES

SELECCIÓN DEL PACIENTE

Antes de la cirugía de cataratas todos los pacientes respondieron a un cuestionario exhaustivo sobre su historia clínica y un examen oftalmológico completo.

También incluimos la tonometría de aplanación, la evaluación en lámpara de hendidura y la oftalmoscopia a través de pupilas dilatadas.

Todos los pacientes involucrados en el estudio dieron su consentimiento previo por escrito y eran plenamente conscientes de la naturaleza de los ensayos.

Todos los pacientes cumplían los siguientes criterios de inclusión y nadie mostró ninguno de los criterios de exclusión.

3.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los pacientes que cumplan con los siguientes criterios de inclusión y no presenten ninguno de estos criterios de exclusión:

Edad del paciente: entre 65 y 85 años.

Ojos sanos con catarata intervenidos mediante facoemulsificación asistida por láser femtosegundo.

Implantación de Lente intraocular enVista™ de *Bausch and Lomb* en el saco capsular mediante inyector.

Capsulorexis íntegra y lente intraocular enVista™ (Modelo MX60) de borde cuadrado en posición correcta intrasacular al finalizar la intervención.

Consentimientos informados firmados por el paciente.

El paciente debe dar garantías de acudir a los exámenes de seguimiento.

3.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Antes de la admisión en éste estudio, los siguientes criterios se toman en cuenta para la exclusión de un sujeto participante:

Opacidades corneales y midriasis insuficiente ya que ambas podrían alterar la evaluación fotográfica en el postoperatorio y la medición mediante Pentacam®HR de los niveles de densitometría de las cápsulas en el postoperatorio.

Distrofias corneales endoteliales y degeneraciones corneales

El síndrome de pseudoexfoliación, uveítis o cualquier otra enfermedad que altere la barrera hemato-acuosa.

Anomalías retinianas, glaucoma o Tumores intraoculares.

Historia previa de procedimientos quirúrgicos oculares.

Una condición del saco capsular que contraindique la implantación de una lente intraocular (LIO).

Complicaciones quirúrgicas intraoperatorias y postoperatorias precoces relacionadas con la intervención relativa a este estudio.

También criterios de exclusión fueron la historia de enfermedad sistémica como conectivopatías o enfermedades reumatológicas, excluyéndose además los pacientes que toman de forma crónica corticoides, antiinflamatorios, inmunosupresores o inmunomoduladores.

Diabetes Mellitus no controlada o con retinopatía.

3.3. TÉCNICA QUIRÚRGICA

Se realizaron 80 operaciones de catarata asistida por láser femtosegundo en 80 ojos de 80 pacientes (32 hombres y 48 mujeres) mediante la plataforma de láser femtosegundo VICTUS™ de Bausch & Lomb. Figura 1



Figura 1. Plataforma de láser femtosegundo VICTUS™

Se realizó una capsulotomía de 5.0 mm con energía de 7,0 mJ en todos los ojos. Se realizó la fragmentación de la lente con diámetro exterior circular de 2,0 mm y 3 cortes radiales utilizando 8,4 mJ de energía. Figura 2



Figura 2. Pantalla de programación de la CCC en la plataforma de láser Femtosegundo VICTUS™. Todas las CCC del estudio son de 5 mm de diámetro.

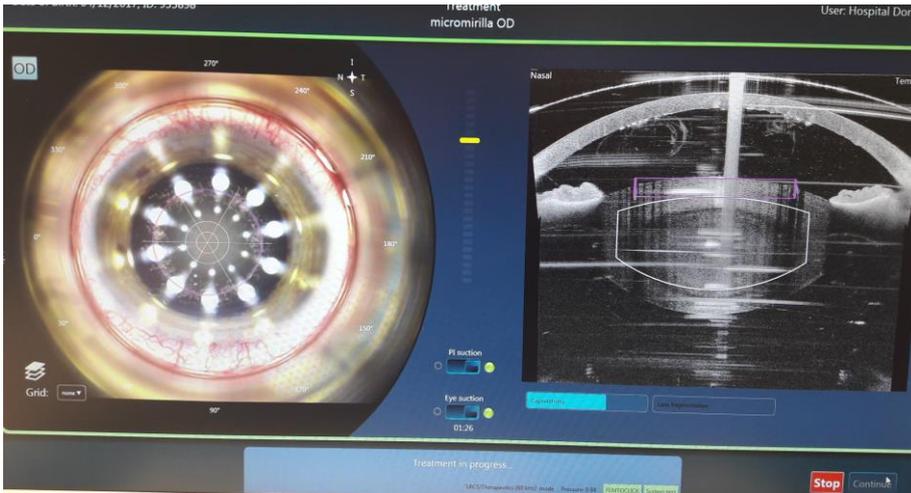


Figura 3. En la pantalla del VICTUS™ se configuran los límites de la capsulorrexis para evitar capsulotomías incompletas

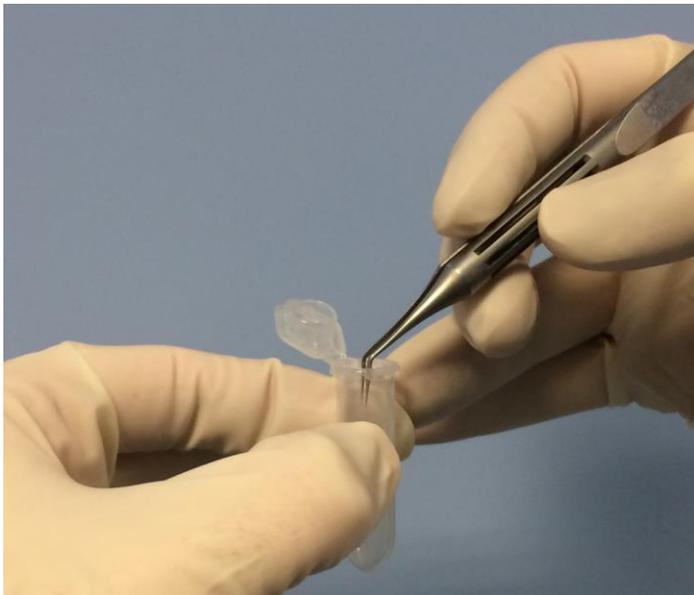


Figura 3. La cápsula anterior tallada con láser femtosegundo se extrae y se envía para procesado antes de 30 minutos y análisis genético al Instituto de Biodonosti

Después de la hidrodissección se completó una Facoemulsificación endosacular del núcleo, aspiración de la cortical y pulido de la cápsula anterior. Todas las cirugías se realizan por el mismo cirujano y utilizando los mismos parámetros personalizados. Figura 4.

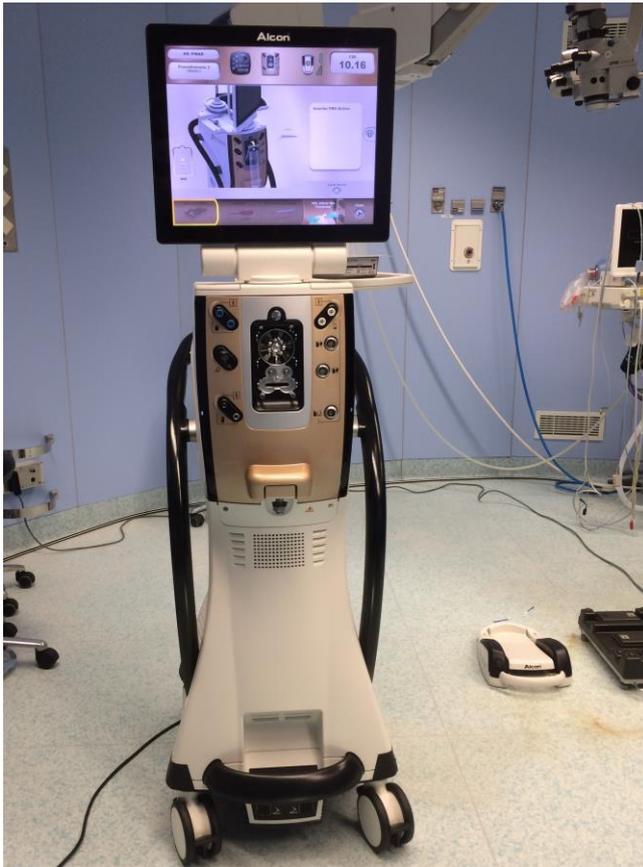


Figura 4. Facoemulsificador utilizado en este estudio:
Centurion^RVision System de Alcon

A continuación, se insertó mediante inyector una LIO plegable con óptica de 6,0 mm en un saco capsular inflado con hialuronato sódico al 1%. Finalmente, el cirujano confirmó que las LIOs estaban en la posición intrasacular correcta al final de la operación. Con el fin de evitar cualquier sesgo atribuido a las lentes intraoculares (LIOs) debido a diferentes intensidades de luz de dispersión de la superficie anterior del LIO, el mismo tipo de IOL hidrofóbica acrílica no teñida con bordes cuadrados, la enVistaTM (Modelo MX60) fue implantada en todos los ojos. (Keiichiro Minami, 2015).

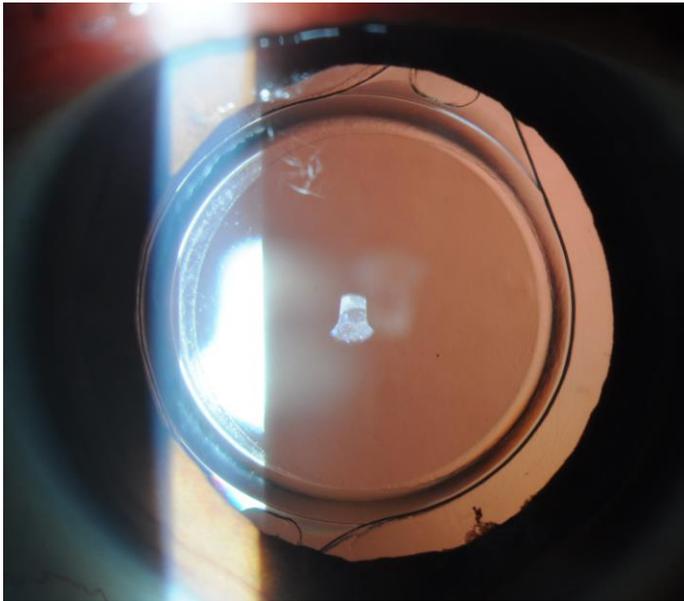


Figura 5. LIO modelo enVista™ (Modelo MX60) implantada correctamente en posición intrasacular centrada

Postoperatoriamente, todos los pacientes recibieron medicación rutinaria similar que consistía en tobramicina colirio 4 veces día durante 1 semana y diclofenaco sódico tópico y dexametasona colirio 4 veces al día durante un mes

3.4. EVALUACIONES POSTERIORES A LA CIRUGÍA y PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

La evaluación posquirúrgica de los pacientes se realizó en la primera semana, primer mes, tercer, sexto y duodécimo mes. Durante estas visitas se cuantificaron los niveles de densitometría de la OCA y la OCP y el área de apertura capsular anterior

3.4.1. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL ÁREA DE LA CAPSULORREXIS EN EL POSTOPERATORIO: se mide en trans-iluminación a través de imágenes digitales adquiridas en todas las visitas con el paciente en midriasis máxima farmacológica.

El área CCC en las imágenes digitales se midió en mm² utilizando la calculadora de área Sketchandcalc (<https://www.sketchandcalc.com/>). Figuras 6, 7 y 8.

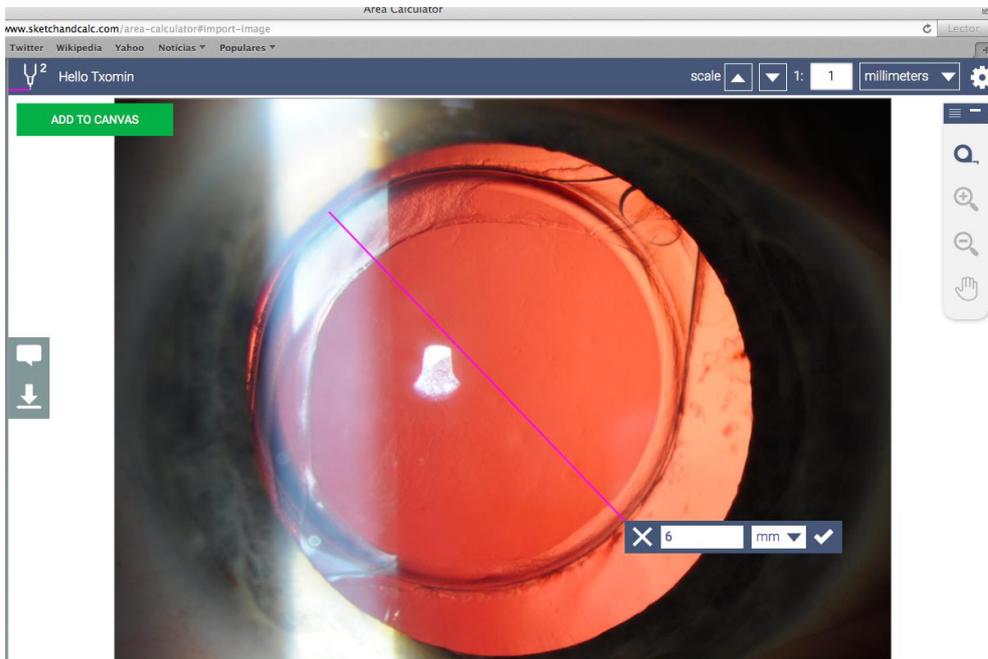


Figura 6. El diámetro de la óptica de la LIO modelo enVista™ (Modelo MX60) es de 6 mm. Al ser el mismo modelo de lente en todos los pacientes del estudio su diámetro sirve en todos los pacientes de referencia para calcular el área de la CCC.

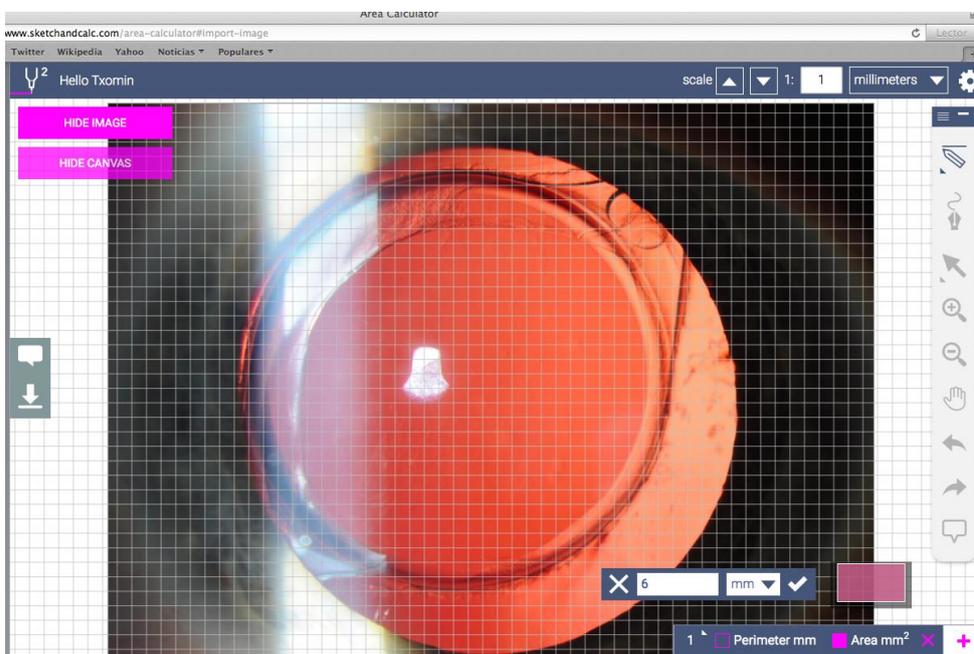


Figura 7. Para iniciar el dibujo manual sobre la CCC se selecciona modo CANVAS

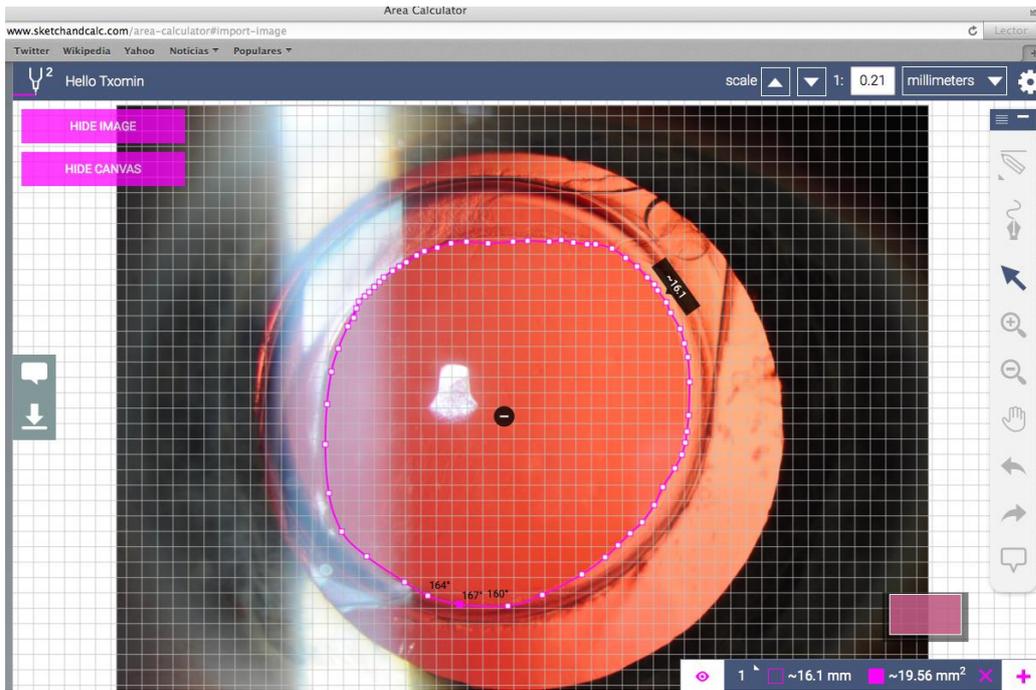


Figura 8. Tras dibujar manualmente sobre el perímetro de la CCC, el valor del área de la CCC aparece instantáneamente en mm².

En todas las operaciones se realizó una capsulotomía de 5,0 mm de diámetro utilizando la plataforma de láser de femtosegundo VICTUS™ correspondiente a una área inicial de 19,635 mm². Se obtuvieron imágenes digitales en ojos de pupilas dilatadas farmacológicamente en todas las evaluaciones posquirúrgicas y se adquirieron con un dispositivo fotográfico Topcon de lámpara de hendidura y se guardaron con el software IMAGEnet® 5. Figuras 9 y 10

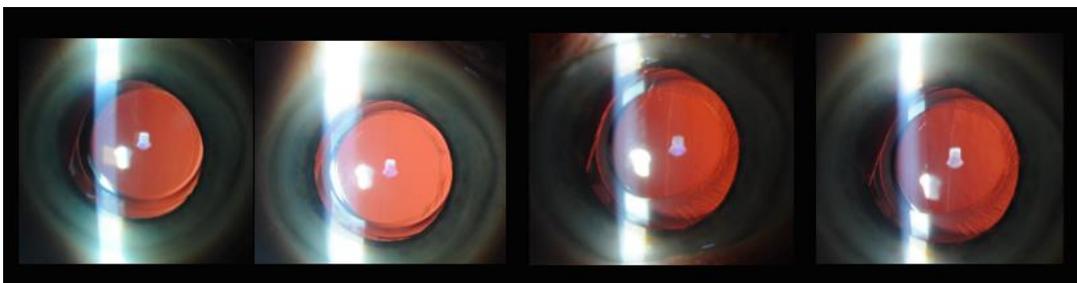


Figura 9. Las imágenes fotográficas de cada visita se guardan en todos los pacientes para su análisis. En la imagen se aprecia montaje de la foto adquirida en la visita de la semana, del mes, del tercer mes y del sexto mes de un paciente del estudio. Se aprecia OCA y retracción CCC progresiva.



Figura 10. Imagen de la captura de una foto de un paciente del estudio mediante el software IMAGEnet® 5

En las imágenes digitales el área CCC se midió en mm^2 usando la calculadora de área Sketchandcalc (<https://www.sketchandcalc.com/>).

Esta aplicación esta disponible on line y requiere registro y pago. En todos los pacientes se realiza una CCC de 5 mm de diámetro, siendo por tanto el área inicial (área = 3.1416×2.5^2) de $19,635 \text{ mm}^2$.

El área calculator para poder medir el área de CCC solicitada que se dibuja manualmente con el ratón sobre la pantalla requiere una escala de referencia como se aprecia en la figura 8.

La escala para la medición del área en las sucesivas fotografías se obtiene del diámetro de la óptica de la lente intraocular introducida que es siempre la misma (la lente acrílica hidrofóbica enVista^R de Bausch and Lomb con óptica de 6 mm de diámetro) como se aprecia en la Figura 6.

La disminución del área de la CCC que se objetiva en las sucesivas visitas postoperatorias se debe a la retracción de la CCC por fibrosis retracción de cápsula anterior.

3.4.2. NIVELES DE DENSITOMETRÍA OCA Y OCP (PENTACAM®HR DENSITOMETRY SOFTWARE)

Los niveles de densitometría de la cápsula anterior se tomaron usando el nuevo software de densitometría Pentacam®HR. Cincuenta cortes de imágenes de Scheimpflug fueron adquiridas en cada exploración. Figuras 9, 10 y 11. El aparato consta de una segunda cámara pupilar frontal que alinea las imágenes y compensa los movimientos oculares. El proceso de medición dura menos de dos segundos y movimientos oculares mínimos fueron detectados y corregidos simultáneamente por el propio dispositivo.

La imagen se realizó en una sala de evaluación clínica oscurecida con un nivel de luminancia igual o menor que $1 \text{ cd} / \text{m}^2$ en todos los casos, medida por Gossen Starlite 2 light meter.

El Pentacam®HR calcula la calidad de la captura y realiza una puntuación de la calidad de cada captura con el Quality specification (QS). Solo se aceptaron para el estudio las imágenes capturadas con un nivel de calidad de más de 95.

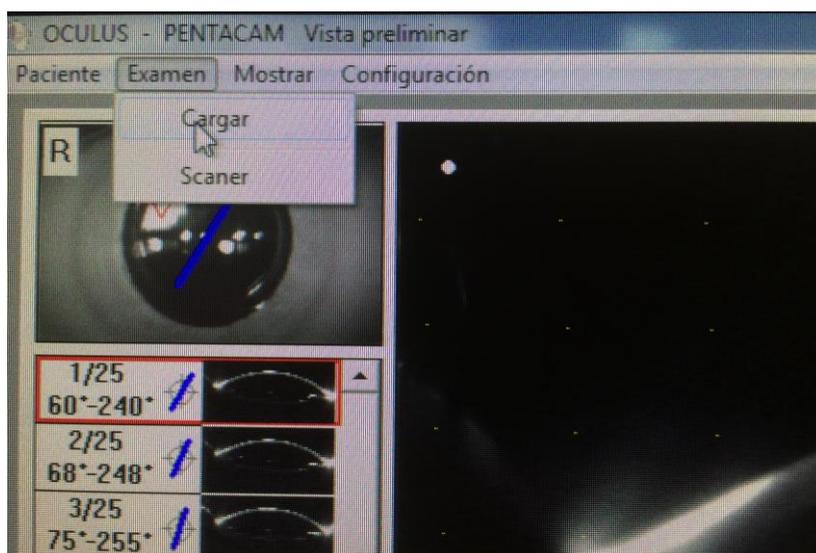


Figura 9. Tras la captura de las imágenes Scheimpflug, seleccionamos Examen-Cargar

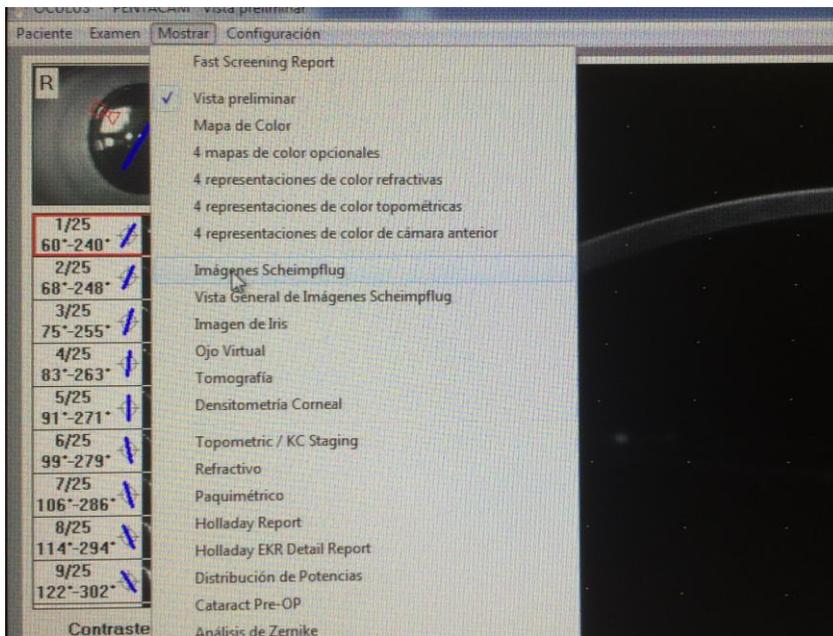


Figura 10. Después seleccionamos Mostrar imágenes Scheimpflug



Figura 11. A continuación elegimos el meridiano a estudiar, en este caso 90°. En la imagen en posición inferior izquierda, se aprecian por este orden, las herramientas de medida: la herramienta para densitometría lineal (3º posición), densitometría área (quinta posición) y el último el PNS para medir densidad del núcleo de cristalino para medición del grado de catarata



Figura 12. Tras seleccionar un meridiano a estudio seleccionamos herramienta de medida de densimetría que queramos analizar (área o lineal).

El Pentacam®HR proporciona un software de densimetría para medir el grado de catarata en el cristalino, el nuevo software de estadificación el PNS (Chylack LT Jr, 2016), (Pei X, 2008). Figuras 11 y 12. Sería la herramienta sexta, empezando de izquierda a derecha, en posición inferior izquierda de la pantalla del dispositivo. Además proporciona tres métodos de densimetría (área, lineal y pico) disponibles para medir la densidad de estructuras de segmento anterior y que nosotros hemos utilizado para medir densidad de la cápsula del cristalino. Figuras 11 y 12.

En este estudio hemos incluido dos métodos del nuevo software de densimetría Oculus Pentacam® HR, la densimetría de área y la densimetría lineal. Figuras 11, 12 y 13

Hemos descartado la densimetría pico para la realización de trabajo de investigación tras los resultados del estudio publicado recientemente (Alberdi T, 2016). En todas las visitas postoperatorias se midieron los niveles de densimetría de la cápsula anterior obtenidos de las imágenes de Scheimpflug en cuatro

meridianos: 0 °, 45 °, 90 °, 135 ° (Hayashi K, 2004). Los valores de ACO de los dos lados de la cápsula anterior de cada uno de los cuatro meridianos fueron entonces promediados y considerados como representando el verdadero valor ACO (Hayashi K, 1998), (Hayashi H, 1998), (Hayashi K, 2004).

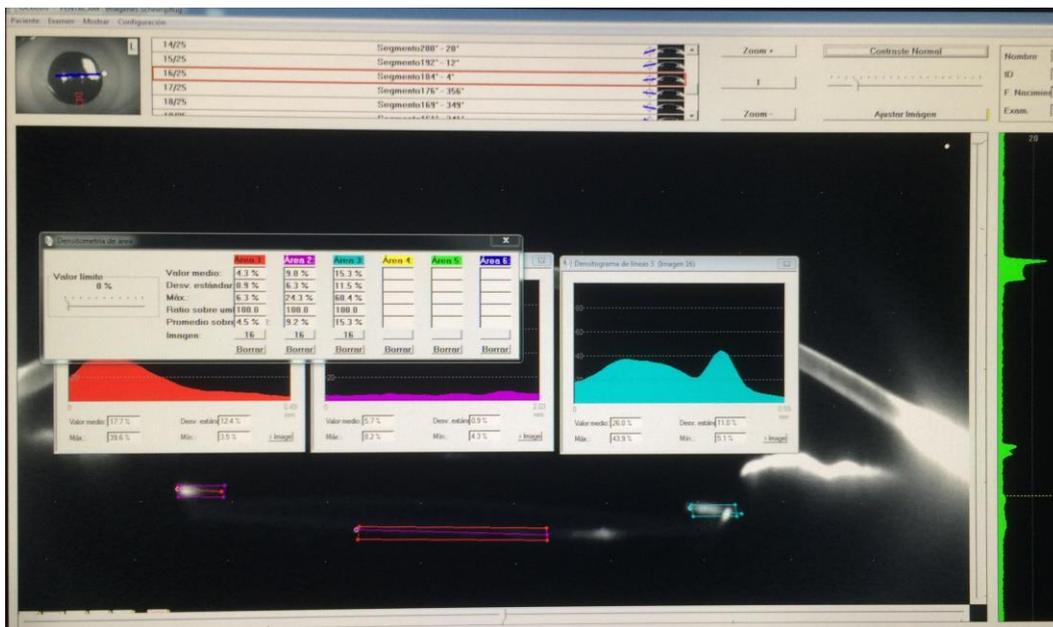


Figura 13. Sobre las cápsulas anteriores y sobre cápsula posterior se aprecian área y líneas de medición de Densitometría. Estas áreas y líneas se colocan manualmente. El valor Pico aparece a la derecha de la pantalla automáticamente.

Los valores de densitometría se expresan en unidades de escala de grises (GSU). La escala GSU viene ya calibrada en el software del dispositivo, que define una dispersión de luz mínima de 0 (transparencia máxima) y la dispersión de luz máxima de 100 (mínima transparencia).

El tamaño de la densitometría de área de cápsula anterior se fija como un área rectangular fija de 0,2 mm x 0,5 mm. Esta área especificada se coloca manualmente a ambos lados de la cápsula anterior en cada meridiano seleccionado de las imágenes Scheimpflug adquiridos; y los valores de la GSU se suministran al instante. A continuación una línea de 0,5 mm se coloca manualmente sobre ambos

lados de la cápsula anterior en cada meridiano seleccionado para calcular la densitometría lineal y los valores GSU se suministran al instante. figura 13.

El tamaño de la densitometría de área de cápsula posterior se fija como un área rectangular fija de 0,2 mm x 3 mm. Esta área especificada se coloca manualmente en posición centrada sobre la cápsula posterior en cada meridiano seleccionado de las imágenes Scheimpflug adquiridas; y los valores de la GSU se suministran al instante. A continuación una línea de 3mm mm se coloca manualmente sobre una posición central de la cápsula posterior en cada meridiano seleccionado para calcular la densitometría lineal y los valores GSU se suministran al instante. Figura 13.

El valor pico de la densitometría aparece automáticamente en el lado derecho de la pantalla mientras se analiza cada meridiano seleccionado utilizando imágenes Scheimpflug. Figura 13.

El valor GSU de la densitometría Pico es el punto en el que la densitometría es más alto en el densitograma a una determinada altura del escaneo.

Todas las mediciones se realizaron por tres técnicos de oftalmología que no tenían conocimiento previo de los objetivos del estudio.

Los resultados se expresan cómo una variable continua de 0 a 100.

3.4.3 MEDICIÓN OCA POR BAREMO SUBJETIVO CLÍNICO

La OCA es medida por puntuación subjetiva del oftalmólogo investigador clínico mediante exploración en lámpara de hendidura. Se realiza un test de puntuación subjetiva por parte del oftalmólogo investigador del grado de fibrosis de cápsula anterior (se puntúa en valores de 0 a 4) según la clasificación propuesta por Werner y colaboradores en 2001 (Werner L et al., 2001):

Grado 0: cápsula anterior transparente

Grado I: opacificación localizada en el borde de la capsulorrexis

Grado II: opacificación moderada y difusa, a veces con algún pliegue

Grado III: opacificación intensa, con áreas de pliegue capsular

Grado IV: fimosis/contracción de la capsulorrexis ($< \phi = 3,5\text{mm}$)

Para poder establecer una puntuación de grado IV es necesario medir el diámetro de la CCC en las visitas postoperatorias.

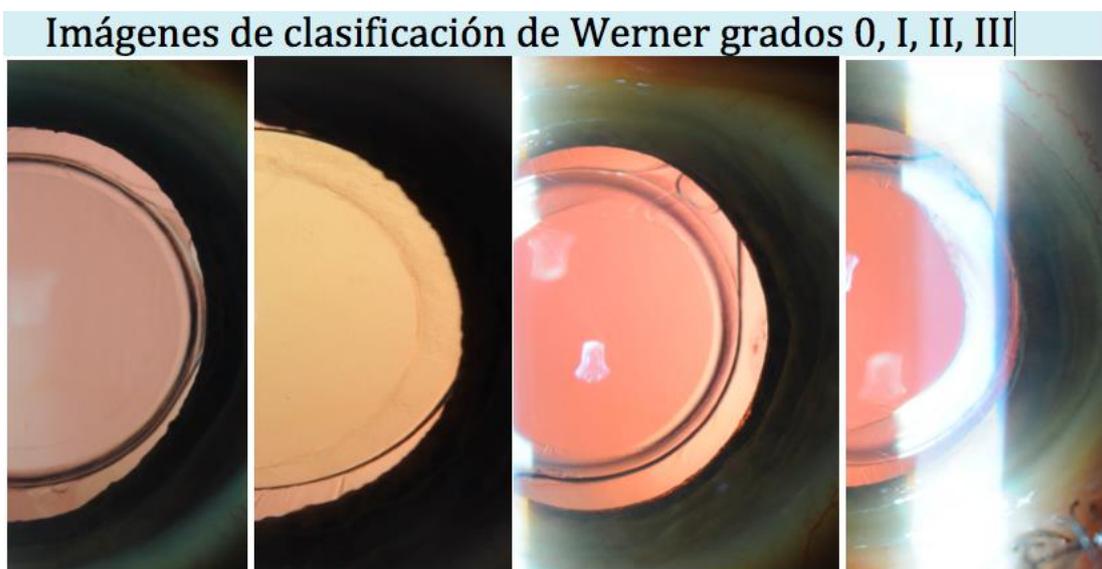


Figura 14. En estos pacientes del estudio se aprecian 4 diferentes grados OCA según la clasificación subjetiva clínica de Werner

3.4.4 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

3.4.4.1 Extracción de ARN de la cápsula anterior del cristalino

El ARN total se extrajo de muestras individuales de CECH usando el Micro Kit RNeasy después del tratamiento con ADNasa (Qiagen, Hilden, Alemania) de acuerdo con el protocolo del fabricante. La concentración de ARN total se determinó mediante espectrofotometría usando un Nanodrop (Thermo Fisher

Scientific) y el ADNc se sintetizó usando el kit de síntesis de ADNc de SuperScript VILO (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific).

3.4.4.2 Análisis de la expresión de genes candidatos implicados en la opacificación capsular a nivel de mRNA PCR cuantitativa en tiempo real.

Los genes candidatos se analizaron mediante RT-Q-PCR como se ha descrito en la literatura (Vallejo-Illarramendi A, 2006). En resumen, los cebadores que abarcan las uniones exón-exón se diseñaron utilizando el Software Primer Express (Applied Biosystems; véase la Tabla 2 complementaria) y la especificidad fue verificada por ePCR (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sutils/e-pcr/reverse.cgi>). Las Q-PCR se realizaron por triplicado usando el sistema CFX384 Fast Real-TimePCR (BioRad) siguiendo las instrucciones del fabricante. La expresión génica se calculó en capsulas versus muestras control usando el método de curva estándar. Los genes diana se normalizaron mediante un factor de normalización, basado en la media geométrica de tres genes de control interno. Este factor de normalización se calculó utilizando los niveles de expresión de los tres genes de mejor puntuación, que en nuestro caso fueron GAPDH; ACTB y TUBB. Los datos se expresan como el incremento en el cambio de la expresión de genes en cápsulas versus muestras de control.

Teniendo en cuenta que todos los cebadores empleados en el presente estudio fueron diseñados por nosotros, fue necesario realizar estudios de eficiencia para el establecimiento de parámetros que nos permitiese una normalización de las diferencias en la capacidad de amplificación de diferentes parejas de cebadores y determinar así con mayor exactitud la expresión de nuestros mRNA diana.

En los estudios de eficiencia de cebadores se realiza una qPCR en la cual se utilizan 7 muestras procedentes de una dilución seriada (1, 1/2, 1/10, 1/50, 1/100, 1/500 y 1/1000) de una muestra de cDNA con concentración conocida. Utilizamos el

SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, EE.UU.) para realizar la qPCR siguiendo el protocolo del fabricante. El SYBR green se trata de un fluorocromo que emite luz verde ($\lambda_{\text{max}} = 522 \text{ nm}$) tras ser excitado con luz azul ($\lambda_{\text{max}} = 488 \text{ nm}$) y que se une de manera inespecífica a la doble cadena de DNA, lo que permite la detección en tiempo real de la generación exponencial de ADN de doble cadena (Zipper et al., 2004). Teniendo en cuenta la concentración conocida de las muestras y el punto en el cual la reacción de amplificación da comienzo (C_q), se calcula la curva estándar (Figuras 17 y 18).

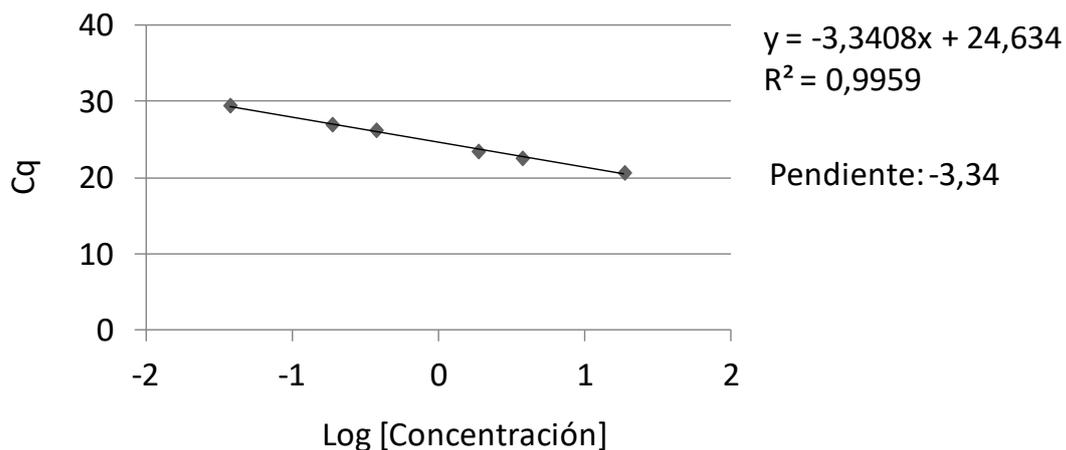


Figura 17. Cálculo de la curva estándar a partir de los C_q s obtenidos en la qPCR y de las concentraciones conocidas de las muestras de la dilución seriada.

La eficiencia se calcula a partir de la pendiente de la curva estándar.

$$\text{Eficiencia} = [10^{(-1/\text{pendiente})}] - 1$$

En este ejemplo, si la pendiente es $-3,34$ la eficiencia será del 95%.

$$\text{Eficiencia} = 10^{(-1/-3,34)} - 1 = 10^{0,30} - 1 = 1,995 - 1 = 0,995 = 99,5\%$$

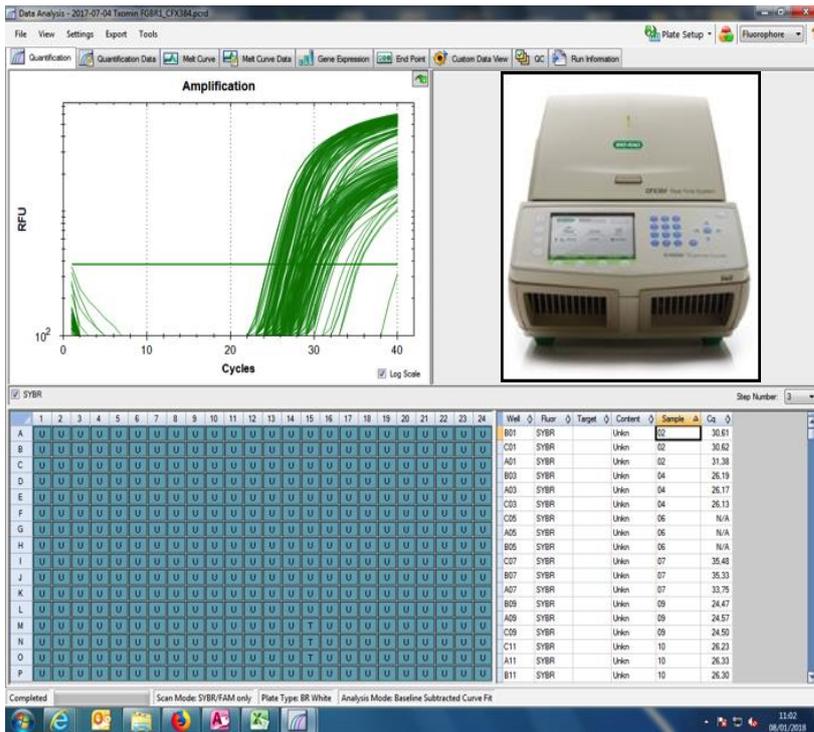


Figura 18. Ejemplo de amplificación del cDNA del gen FGFR1, utilizando el equipo de Biorad CFX384.

4. VARIABLES

Las distintas variables que se utilizan en cada objetivo son:

1) Expresión de genes candidatos implicados en la opacificación capsular a nivel de mRNA a partir de células epiteliales del cristalino. Ciclos umbrales de PCR

Los datos se expresan cómo cambio de pliegue de la expresión de genes en capsulas versus muestras de control.

2) Opacificación capsular. Se miden distintas variables en cada objetivo en cuatro visitas sucesivas:

A. La Opacidad de cápsula posterior (OCP) y (OCA) mediante OCULUS Pentacam^R HR: Se expresa cómo variable continua en un rango de 1 a 100 en unidades GSU (ejemplo GSU =22)

B. La Opacidad de cápsula anterior (OCA): Se expresa cómo una variable discreta con rango de 0 a 4 (método subjetivo)

C. La Retracción de la cápsula anterior: Se calcula en mm² mediante el programa Area Calculator Sketchandcalc y se expresa cómo porcentaje de disminución del área inicial que es de 19.63mm² (ejemplo: retracción del 17.5%)

5. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Análisis estadístico

El estudio de la normalidad de las variables se realiza mediante el test de Kolmogorov-Smirnov, estudio de la asimetría y mediante métodos gráficos. Estadística descriptiva con frecuencias, porcentajes, medias, desviación estándar, medianas y cuartiles.

Descripción de los valores continuos normales con media y desviación estandar.

Descripción de los valores continuos no normales con mediana y rango intercuantil

Los datos se compararon mediante el software SPSS, versión 22.0.

1. Se utilizó el coeficiente Rho de Spearman para analizar la correlación entre las medidas obtenidas por el método subjetivo y objetivo de cuantificación de OCA durante el estudio preliminar para la validación de sistemas de medida. Un valor de p menor de 0,05 fue considerado estadísticamente significativo
2. Para medir el cambio de los valores de densitometría de CA, de CP y del porcentaje de retracción de CCC a lo largo de las evaluaciones utilizamos el análisis de las medidas repetidas. Se utilizó la correlación de Pearson para ver la correlación entre los valores de densitometría de CA, de CP y los valores del porcentaje de reducción del área de CCC.
3. Para el estudio de correlación entre los valores de los genes estudiados y los valores de densitometría de CA, de CP y del porcentaje de reducción de área de CCC se utiliza la correlación de Pearson.

6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La mayor limitación es la obtención de suficiente material para poder extraer cantidades de RNAm suficientes, pero los estudios piloto que hemos llevado a cabo utilizando el kit de extracción anteriormente detallado nos ha ayudado a minimizar éste problema.

RESULTADOS

“Arian, arian, zehetzen da burnia”.

"Forjándolo, forjándolo, se doblega al hierro."

Proverbio vasco

1. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA OPACIFICACIÓN

1.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDIDA DE OPACIDAD CAPSULAR ANTERIOR

1.2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE DENSIDAD DE CÁPSULAS ANTERIORES y POSTERIORES PROPORCIONADOS POR LOS DOS DIFERENTES MÉTODOS DE DENSITOMETRÍA OCULUS PENTACAM® HR (ÁREA, LINEAL) Y EL PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL ÁREA DE CAPSULORREXIS.

2. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES

3. ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN ENTRE VALORES DE DENSITOMETRÍA ÁREA de OCA, OCP , RETRACCION DE CCC y EXPRESIÓN DE GENES

1. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA OPACIFICACIÓN

1.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDIDA DE OPACIDAD CAPSULAR ANTERIOR

Para este estudio de investigación hemos utilizando un nuevo software del Pentacam®HR que mide tres tipos de densitometría (área, lineal y pico) en la cápsula anterior y posterior del cristalino y proporciona valores continuos cuantitativos objetivos como una evaluación fácil, rápida y constante. Como validación de este método a nivel de cápsula anterior realizamos un estudio con 32 pacientes. Para ello realizamos un estudio de correlación de este método con el subjetivo clínico descrito por Werner en el 2001, que revisando la literatura, hemos constatado, es el método mas utilizado hasta la fecha para medir la OCA.

Los primeros resultados de éste estudio fueron expuestos en una comunicación oral por Txomin Alberdi en el 73º Congreso de la Asociación Oftalmológica de Norte en noviembre del 2015 con el título: “Correlación entre medidas de OCA tras femtofacioemulsificación obtenidas por baremo subjetivo clínico y las obtenidas mediante densitometría con Pentacam®HR”

Este mismo estudio fue publicado con el titulo: “Anterior capsule opacification after femtosecond laser-assisted cataract surgery: Clinical classification versus Scheimpflug device densitometry values” en el Journal of Cataract and refractive surgery (Alberdi T et al., 2016). El GR journal impact factor en 2016 de esta revista era de 2.06. Figura 1

Anterior capsule opacification after femtosecond laser-assisted cataract surgery: Clinical classification versus Scheimpflug device densitometry values



Txomin Alberdi, MD, Javier Mendicute, MD, PhD, Lucía Bascarán, MD, Nahia Goñi, MD, Olatz Barandika, BSc, Javier Ruiz-Ederra, BSc, PhD

Figura 1. Artículo publicado en el JCRS. (Alberdi T, 2016)

En este estudio publicado en el JCRS, fueron intervenidos 34 ojos de 34 pacientes. Para la última revisión al sexto mes del postoperatorio, un paciente había muerto y un paciente no apareció para el seguimiento debido a una enfermedad. Los datos de los treinta y dos (94,11%) pacientes restantes que, en consecuencia, completaron todas las visitas postoperatorias se consideraron para el análisis.

La edad media (desviación estándar) de los pacientes fue de 75,12 (SD 5,16) años, en un rango de edad de 65 a 83. Hubo 12 hombres y 20 mujeres.

Tabla 1. Versión original publicada en inglés. Esta primera tabla de resultados representan los valores de área de CCC y porcentaje de reducción de área de CCC en las sucesivas visitas del postoperatorio. Se presentan en esta tabla los datos recogidos durante los exámenes postoperatorios de 4 diferentes visitas. En la primera semana, primer, tercer y sexto mes del postoperatorio. Los valores no siguen una distribución normal por lo que los resultados no son expresados como media y desviación estándar de la media. Los resultados han sido representados por la mediana y el rango intercuantil (IQR).

	1st Week	1st month	3rd month	6th month
CCC AREA	(19.5 ; 0.6)	(18.5 ; 1.9)	(17.9 ; 2.3)	(17.7 ; 2.9)
CCC SHRINKAGE %	(0.7 % ; 3.2)	(5.8% ; 9.9)	(9.0% ; 11,5)	(9.9% ; 15.1)

Table 1. (Alberdi, 2016)

Values do not follow normal distributions, due to this, the results have been represented by the median values and interquantile range (IQR) values.

(M ; IQR) = (median value ; interquantile range value)

CCC Area value is expressed in square millimeters (sq mm)

CCC initial area is 19.635 sq mm, the shrinkage percentage of CCC

is expressed in relation to this initial value

En primer lugar, la tabla 1 muestra los valores medianos del área de CCC expresados en milímetros cuadrados y valores del intervalo intercuantil (IQR).

En segundo lugar, mostramos los valores de retracción del área de la capsulorrexis que se expresan como porcentajes de reducción del área de capsulorrexis. El área de la capsulorrexis guiada por láser femtosegundo inicial es de 19,635 mm² en todos los casos y el porcentaje de retracción de la capsulorrexis se expresa en relación con este valor inicial.

En todas las evaluaciones postoperatorias de OCA (en el primer, tercer y sexto mes) se encontró que los valores de densitometría de área y de densitometría lineal proporcionados por el software de densitometría Pentacam®HR mostraron una fuerte correlación positiva con respecto a los valores obtenidos mediante la clasificación subjetiva propuesta por Werner y colaboradores en 2001, (Werner L, 2001) mientras que los valores de densitometría de pico o peak mostraron una correlación muy débil con los valores obtenidos por ésta misma escala subjetiva después del análisis usando el test Rho de Spearman. Tabla 1, 2 y Figuras 2, 3 y 4. En sus versiones originales publicadas en inglés.

Table 2. (Alberdi, 2016)
 Correlation between values provided by the clinical subjective Classification method and density mean values provided by the three different Oculus Pentacam®HR densitometry methods (area, linear and peak) in the first, third and sixth months

	ACO Clinical Score	ACO Clinical Score	ACO Clinical Score
ACO AREA densitometry	(0,8 ; <0,0005) 1st month	(0,85 ; <0,0005) 3rd month	(0,78 ; <0,0005) 6th month
ACO LINEAR Densitometry	(0,8 ; <0,0005) 1st month	(0,82 ; <0,0005) 3rd month	(0,73 ; <0,0005) 6th month
ACO PEAK Densitometry	(-0,02 ; 0,9) 1st month	(-0,2 ; 0,2) 3rd month	(0,21 ; 0,2) 6th month

(Rho ; p) = (Spearman correlation coefficient, “p” or “rho” value; p value)

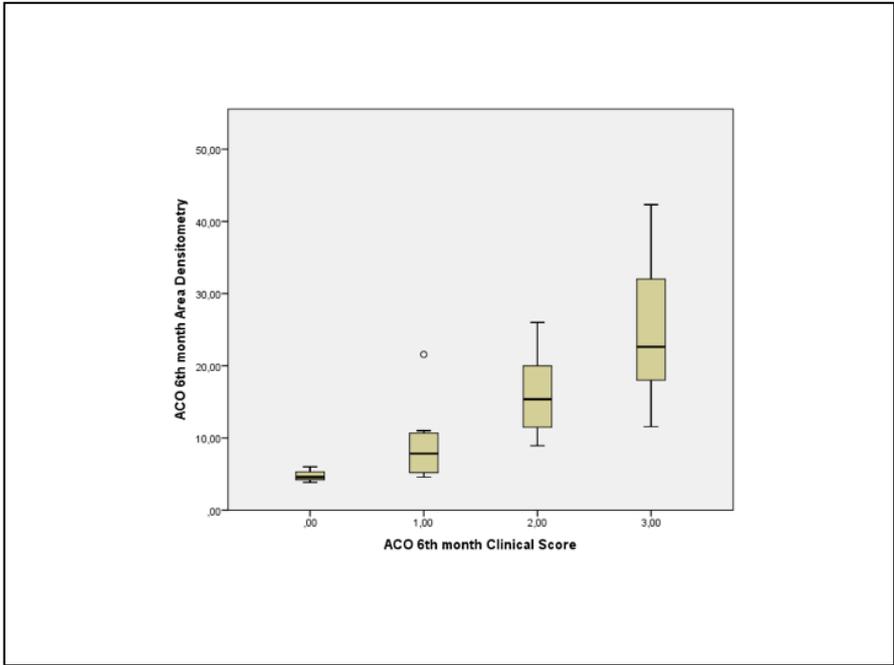


Figura 2. los valores de densitetría de área al sexto mes mostraron una fuerte correlación positiva con respecto a los valores obtenidos mediante la clasificación subjetiva.

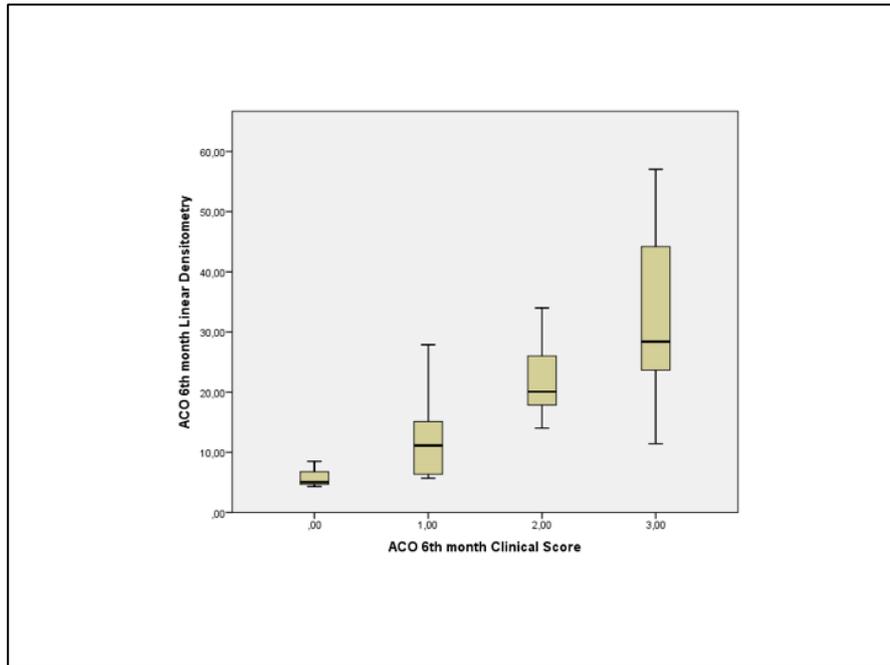


Figura 3. los valores de densitometría lineal al sexto mes mostraron una fuerte correlación positiva con respecto a los valores obtenidos mediante la clasificación subjetiva.

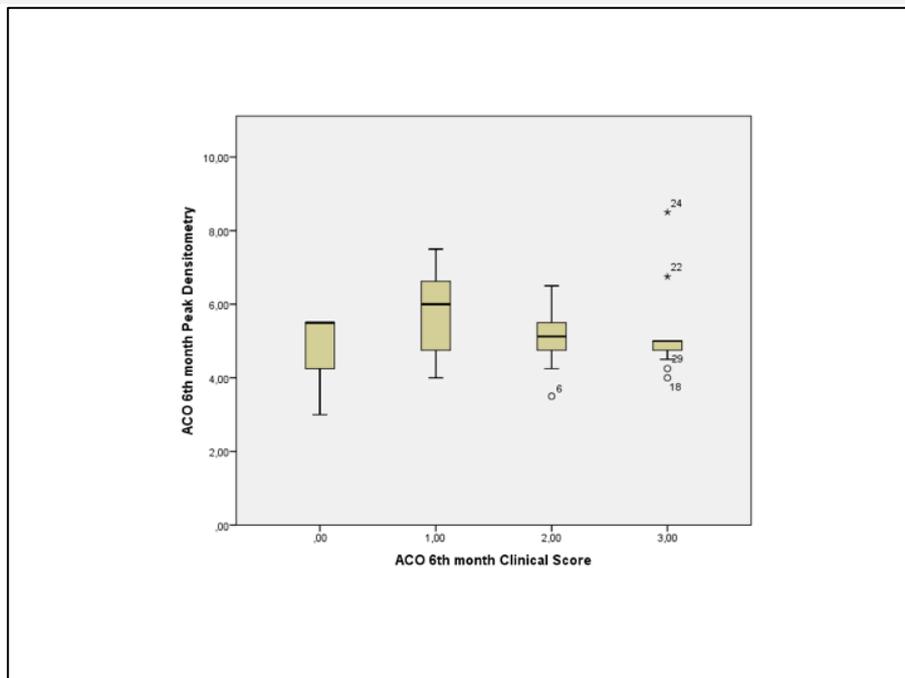


Figura 4. los valores de densitometría de pico al sexto mes mostraron una nula o muy débil correlación con respecto a los valores obtenidos mediante la clasificación subjetiva

Se llevó a cabo una ampliación de este estudio, siguiendo la misma metodología en el que se incrementó el número de muestras y el tiempo de seguimiento a 78 muestras procedente de 78 pacientes y a un año. Fue presentado por Txomin Alberdi como una comunicación de investigación en el 93 Congreso de la Sociedad Española de oftalmología en 2017 en Zaragoza con el título “Correlación entre valores de OCA tras femtofacio obtenidas por baremo subjetivo clínico y las obtenidas mediante Pentacam®HR”. Autores: Txomin Alberdi MD[®], Javier Mendicute, MD, PhD[®], Javier Ruiz-Ederra MD, PhD[®], Olatz Barandika MD[®], Luis Ansa[®], Alejandra Chamoun[®], Leire Juaristi[®]. Con una N mayor y con un seguimiento a un año en vez de a seis meses, los resultados fueron congruentes con los resultados del estudio preliminar, como se detallan a continuación:

12 meses después de la cirugía, un paciente había muerto y un paciente no apareció para el seguimiento. Los datos de los 78 pacientes restantes (97,5%) se consideraron para el análisis. La edad media (desviación estándar) de los pacientes fue de 72,927 (SD 5,059) años, en un rango de edad de 65 a 83. Hubo 32 hombres y 46 mujeres.

En todas las evaluaciones postoperatorias de OCA se encontró que los valores de densitometría de área y lineal proporcionados por el software de densitometría Pentacam® HR indicaban una fuerte correlación positiva, mientras que los valores de densitometría pico presentaban una correlación muy débil con los valores obtenidos por la escala subjetiva después del análisis usando el test Rho de Spearman. Tabla 3 y Figuras 5,6 y 7.

Tabla 3. Correlación entre los valores proporcionados por el método clínico de escala subjetiva y los valores medios de densidad proporcionados por los tres diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam®HR (área, lineal y pico) en el primer, tercer, sexto y duodécimo mes. N=78

	OCA escala subjetiva	OCA escala subjetiva	OCA escala subjetiva	OCA escala subjetiva
OCA AREA densitometría	(0,786; <0,0005) 1 ^{er} mes	(0,748; <0,0005) 3 ^{er} mes	(0,738; <0,0005) 6 ^o mes	(0,704; <0,0005) 1 ^{er} año
OCA LINEAL Densitometría	(0,786; <0,0005) 1 ^{er} mes	(0,749; <0,0005) 3 ^{er} mes	(0,726; <0,0005) 6 ^o mes	(0,711; <0,0005) 1 ^{er} año
OCA PICO Densitometría	(0,127; 0,272) 1 ^{er} mes	(0,033; 0,766) 3 ^{er} mes	(0,079; 0,489) 6 ^o mes	(0,024; <0,838) 1 ^{er} año

(Rho ; p) = (valor del Coeficiente de correlación de Spearman "ρ" "rho" ; valor de p)

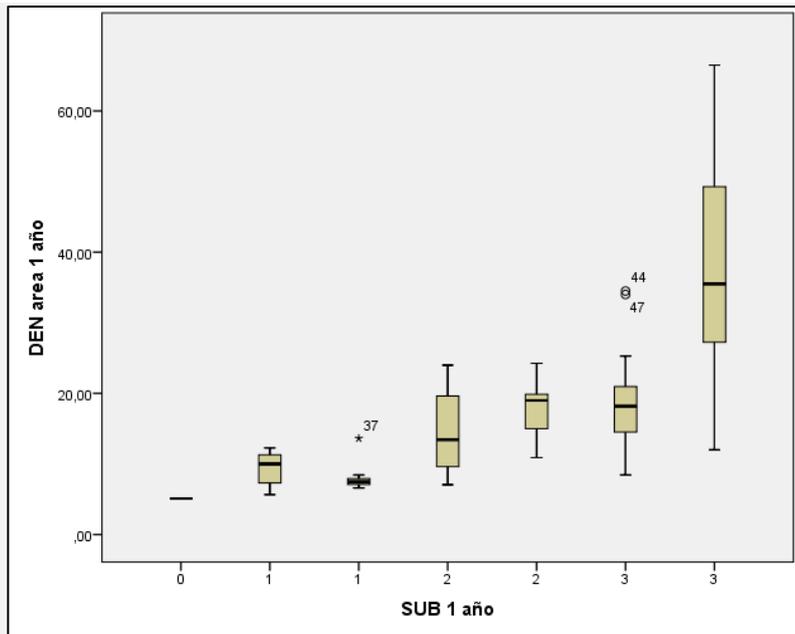


Figura 5. los valores de densitometría de área al año mostraron una fuerte correlación positiva con respecto a los valores obtenidos mediante la clasificación subjetiva.

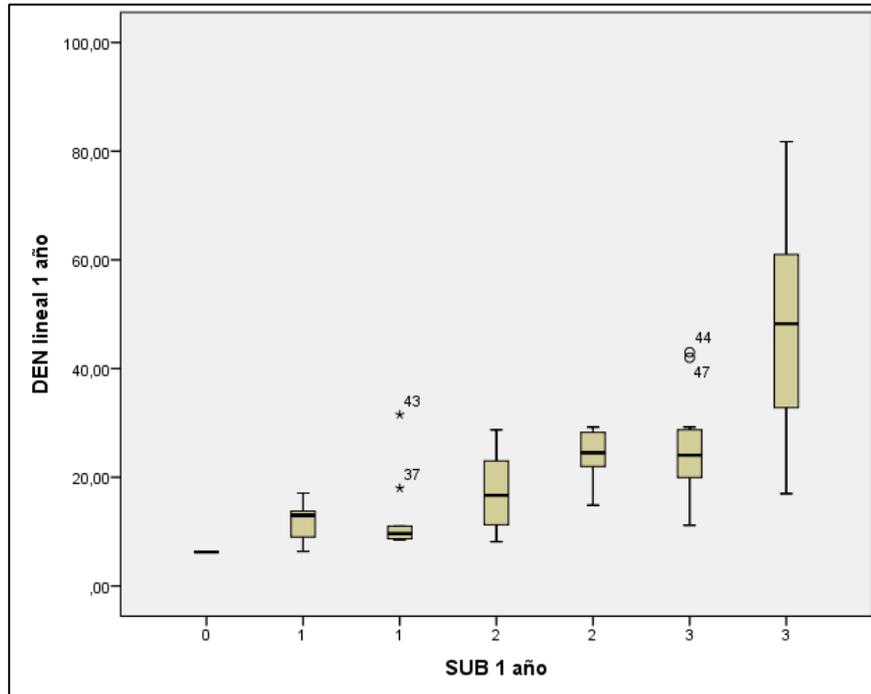


Figura 6. los valores de densitometría lineal al año mostraron una fuerte correlación positiva con respecto a los valores obtenidos por baremo subjetivo.

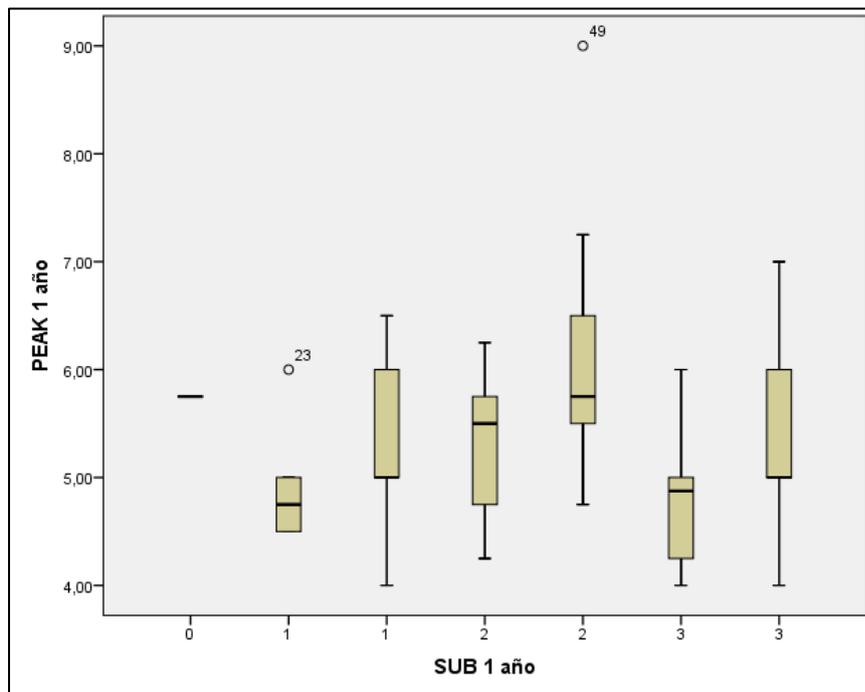


Figura 7. los valores de densitometría pico, al año mostraron una nula o muy débil correlación con respecto a los valores obtenidos mediante la clasificación subjetiva.

La siguiente tabla muestra el incremento de magnitudes del porcentaje de reducción del área de capsulorrexis en cada visita postoperatoria con respecto a la visita anterior. Tabla 4

Tabla 4: En relación al porcentaje de reducción del área de CCC: Incremento de magnitudes en cada visita respecto de la anterior		
De la 1^{era} semana al 1^{er} mes	5.083	P<0.0005
Del 1^{er} mes al 3^{er} mes	3,04	P<0.0005
Del 3^{er} mes al 6^o mes	1,371	P<0.0005
Del 6^o mes al 1^{er} año	0.374	P<0.0005

Estos resultados en el incremento de magnitudes en el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis muestran una tendencia muy decreciente entre la visita del sexto y duodécimo mes.

Esto contrasta con la tendencia marcadamente menos decreciente de los valores de densitometría de área y lineal de la OCA entre los meses sexto y duodécimo como se ve en la figura 8.

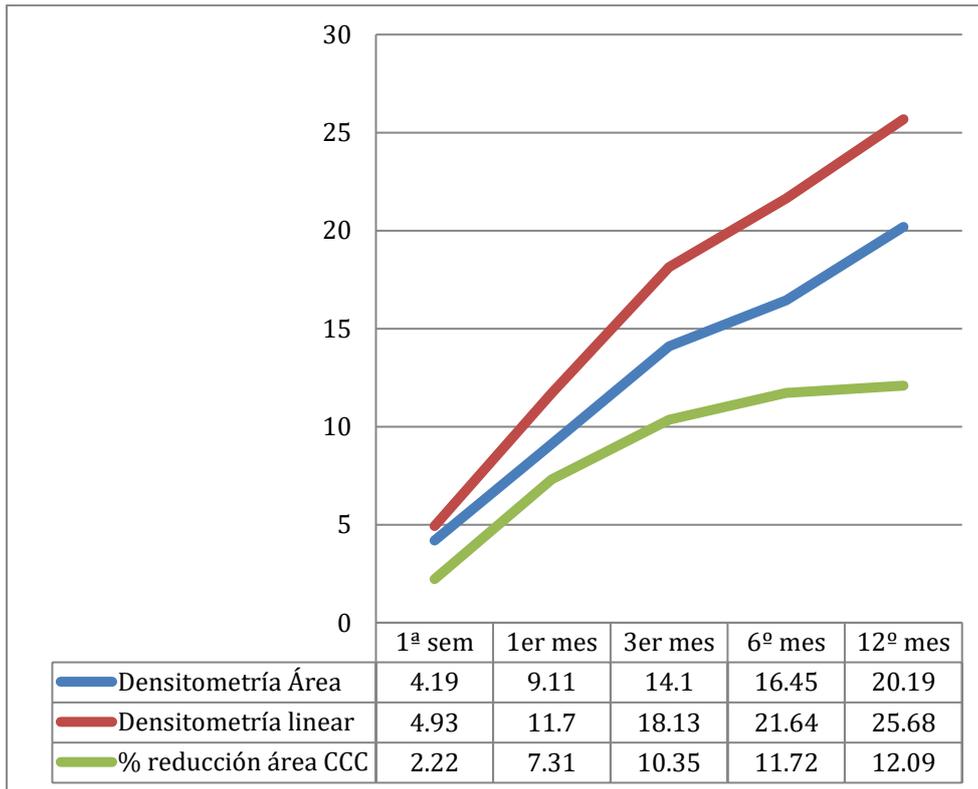


Figura 8. Entre el sexto mes y el año, la tendencia decreciente en el porcentaje de reducción del área de CCC, no se aprecia en los valores de densitometría lineal y área.

1.2. Resultados del análisis de correlación entre los niveles de densitometría de cápsulas anteriores y posteriores proporcionados por los dos diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam® HR (área, lineal) y el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis.

Este análisis lo realizamos para saber si la opacificación de cápsula anterior, la opacificación de la cápsula posterior y la retracción capsular pueden ser utilizadas como variables independientes. Este estudio ha sido enviado a una revista internacional y esta en segunda fase de revisión con el título: Artículo en revisión IJO-2017-0404-R1 “*Study of anterior and posterior capsule densitometry levels after femtosecond laser-assisted cataract surgery*”

Se intervinieron 71 ojos de 71 pacientes, de junio de 2014 a diciembre de 2015. Un año después de la cirugía, dos pacientes no completaron el seguimiento debido a razones personales. Se consideraron los datos de los 69 pacientes restantes (97,18%), que consecuentemente, completaron todos los exámenes postoperatorios. El promedio de edad y desviación estándar de los pacientes fue de 72,93 años (SD 5,06), en un rango de edad de 65 a 83. Había 31 hombres y 38 mujeres. Después del análisis de todas las evaluaciones postoperatorias de densitometría de la CA, de la CP y del porcentaje de reducción del área de CCC (primera semana, primer mes, tercer, sexto y duodécimo mes) encontramos los resultados que describimos a continuación: Tabla 5 figura 9

Tabla 5. (1) The densitometry values are expressed in gray scale units (GSU). 0 expresses maximum transparency and 100 expresses minimum transparency. (2) 19.635mm ² is considered to be 100% of the area and reduction ratio is calculated in every post-surgery evaluation						
N=69		1st week	1st month	3rd month	6th month	12th month
(1) AC AREA Densitometry	AVERAGE SD	4.21 0.59	9.21 5.95	14.33 9.87	16.74 10.52	20.80 13.53
(1) AC LINEAR Densitometry	AVERAGE SD	4.97 0.87	11.82 7.92	18.56 13.21	22.05 14.23	26.42 16.24
(2) CCC AREA Reduction ratio	AVERAGE SD	2.43 3.7	7.78 8.71	10.39 9.39	11.80 10.31	12.12 10.52
(1) PC AREA Densitometry	AVERAGE SD	4.00 0.4	4.05 0.56	4.20 0.68	4.56 1.07	5.95 1.18
(1) PC LINEAR Densitometry	AVERAGE SD	4.90 0.6	4.95 0.76	5.12 0.90	5.70 1.55	6.39 1.80

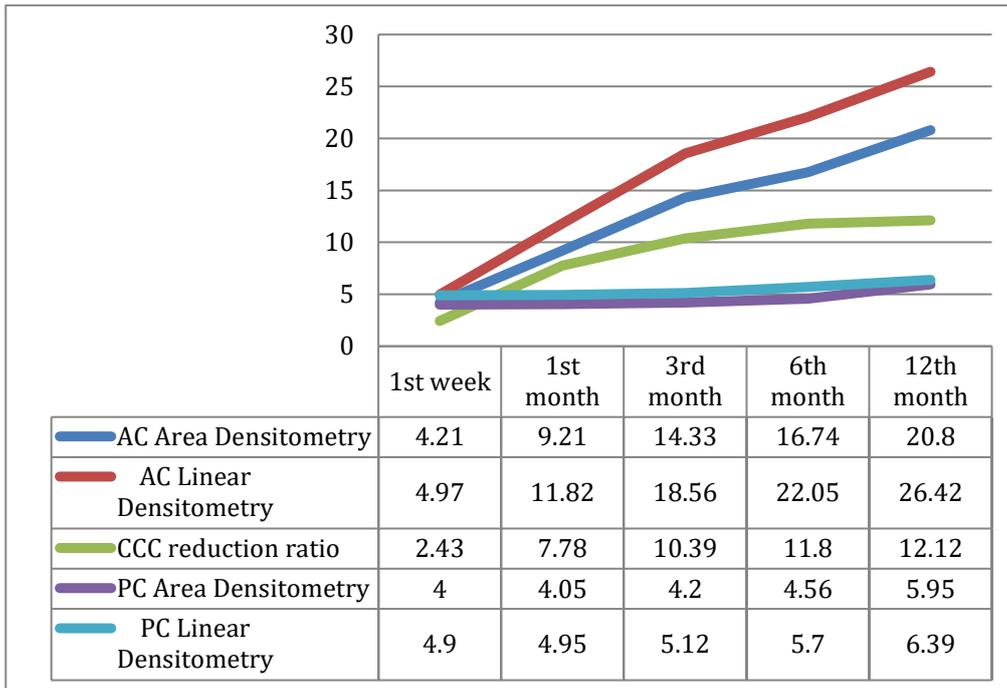


Figura 9. Entre 6^o mes y el año, tendencia decreciente en % de reducción del área de CCC que no se aprecia en los niveles de densitometría de área y lineal de OCA y OCP

El análisis de los valores de reducción del área de la capsulorrexis (primera semana, primer mes, tercer, sexto y duodécimo mes) revelan diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los exámenes sucesivos, pero entre las sucesivas visitas disminuye la magnitud del cambio. En el último período entre el examen de seis meses y el examen del primer año, la magnitud del cambio es muy baja. Tabla 6

From 1st week to 1st month	5.3	P<0.0005
From 1st month to 3rd month	2.6	P<0.0005
From 3rd month to 6th month	1.4	P<0.005
From 6th month to 1st year	0.3	P=0.007
Tabla 6. ANTERIOR CAPSULAR OPENING AREA REDUCTION RATIO: MAGNITUDE OF CHANGE OVER ALL EXAMINATIONS		

Sin embargo, en el caso de los valores de densitometría de área y lineal de la opacificación de cápsula anterior las magnitudes de cambio no siguen un patrón descendente en los exámenes posteriores.

Utilizando un modelo lineal general de mediciones repetidas, encontramos que los cambios en los niveles de opacificación de cápsula anterior obtenidos mediante densitometría lineal y de área son estadísticamente significativos ($p > 0,0005$) en todos los exámenes.

Utilizando el coeficiente de Pearson, se encontró una correlación positiva entre los valores de densitometría de área y lineal de la opacificación de la cápsula anterior ($PCC = 0,95$ y $P < 0,0005$) en el cambio de magnitudes desde el primer mes hasta el primer año. Encontramos también una correlación positiva entre los valores de densitometría de área y lineal de la opacificación de la cápsula posterior ($PCC = 0,9$ y $P < 0,0005$) en el cambio de magnitudes desde el primer mes hasta el primer año.

		CA area 1 año	CP area 1 año	%retrac 1 año
CA area 1 año	Correlación de Pearson	1	-,091	,485**
	Sig. (bilateral)		,459	,000
	N	69	69	69
CP area 1 año	Correlación de Pearson	-,091	1	,062
	Sig. (bilateral)	,459		,613
	N	69	69	69
%retrac 1 año	Correlación de Pearson	,485**	,062	1
	Sig. (bilateral)	,000	,613	
	N	69	69	69

Tabla 7

Existe una correlación entre los valores de densitometría de área de la cápsula anterior y los valores del porcentaje de reducción del área de capsulorrexix ($PCC =$

0,4 y $P < 0,001$) en el cambio de magnitudes entre el examen de la primera semana y el del primer año. Tabla 7

No se encontró correlación entre los niveles del porcentaje de reducción del tamaño de la capsulorrexis y los niveles de densidad de la cápsula anterior proporcionados por los dos diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam® HR (área, lineal), trabajando ambas como variables independientes en el cambio de valores del sexto al Duodécimo mes.

No hay correlación entre los niveles de densitometría lineal y de área de cápsula posterior y los valores del porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis en el cambio en las magnitudes entre el examen de la primera semana y el examen del primer año.

No hay correlación entre los valores de densitometría de área y lineal de la opacificación de la cápsula posterior y los valores de densitometría de área y lineal de la opacificación de la cápsula anterior en el cambio de magnitudes entre el examen de la primera semana y el examen del primer año.

No se encontró correlación entre los cambios en los valores de Densitometría de área de la OCA y los valores de la densitometría de área de OCP en el examen de doce meses usando Coeficiente de Correlación de Pearson (PCC o $r = 0,091$) (valor de $P = 0,46$). Tabla.8 Figura 10

		CA area 1 año	CP area 1 año
CA area 1 año	Correlación de Pearson	1	-,091
	Sig. (bilateral)		,459
	N	69	69
CP area 1 año	Correlación de Pearson	-,091	1
	Sig. (bilateral)	,459	
	N	69	69

Tabla 8.

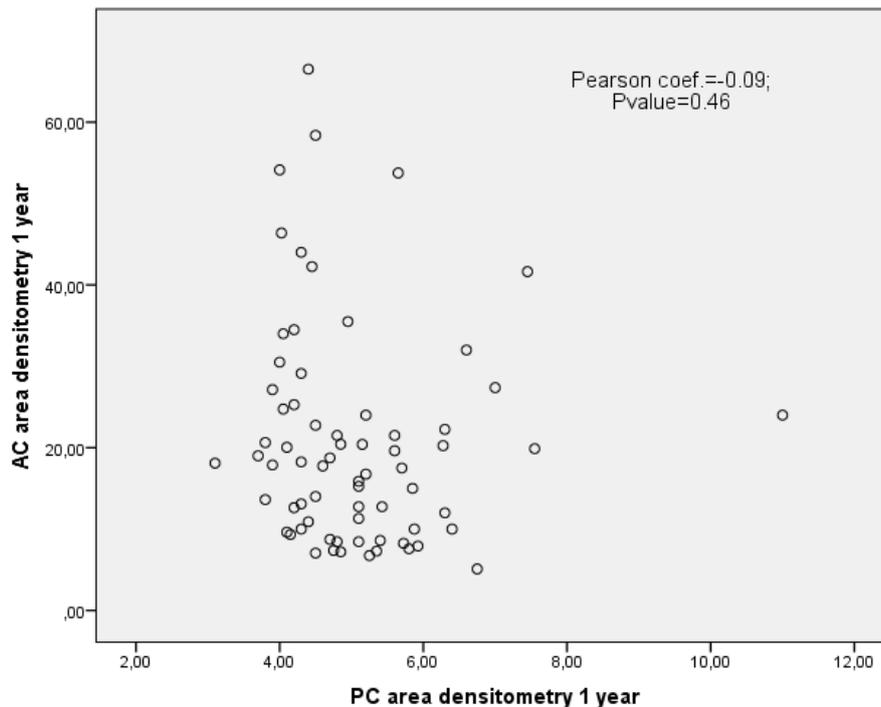


Figura 10

No se encontró correlación entre los cambios en los valores de Densitometría Lineal de la opacificación de cápsula anterior y los valores de densitometría lineal de opacificación de cápsula posterior, en la visita de doce meses utilizando Coeficiente de Correlación de Pearson, PCC ($r = 0,096$) (valor de $P = 0,43$). Tabla 9. Figura 11

		CA lineal 1 año	CP lin 1 año
CA lineal 1 año	Correlación de Pearson	1	-,096
	Sig. (bilateral)		,432
	N	69	69
CP lin 1 año	Correlación de Pearson	-,096	1
	Sig. (bilateral)	,432	
	N	69	69

Tabla 9

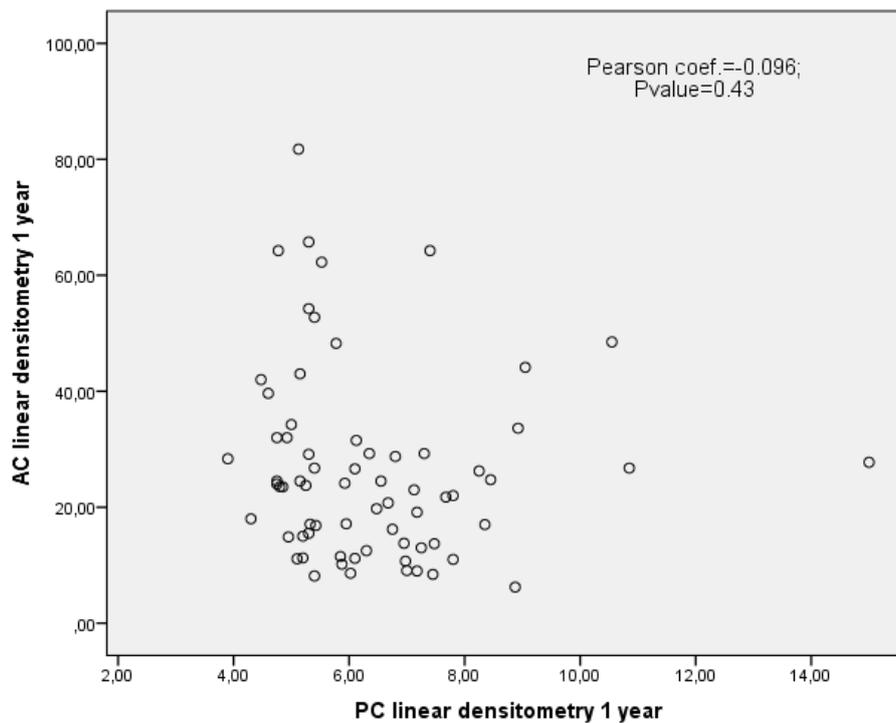


Figura 11

3. RESULTADOS ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES EN LAS CEACH

Intervenimos 78 ojos a 78 pacientes (47M, 32V) realizando capsulorrexis guiada por láser femtosegundo de 5 mm, empleando la plataforma de láser de femtosegundo

VICTUSTM desde el 26/06/2014 al 16/05/2016. La cápsulas anteriores se envían en el momento de la cirugía de cataratas al instituto Biodonostia para procesado para análisis genético. Se midió la expresión de genes en las células epiteliales de la cápsula anterior. Se midió el nivel de expresión de mRNA de los siguientes genes: rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB2, rTGFB3, rACTA2, rCTNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1. De los pacientes intervenidos 2 pacientes no completan el seguimiento por motivos personales, otros 2 fueron desechados para este estudio ya que las muestras de cápsula anterior fueron teñidas con azul tripán en la intervención de catarata. Seis pacientes son eliminados del estudio ya que fueron utilizados para estudios de validación y prueba.

La expresión génica se calculó entre las distintas cápsulas usando el método de curva estándar. Los genes diana se normalizaron mediante un factor de normalización, basado en la media geométrica de los niveles de expresión de tres genes con expresión constitutiva: Actina beta (ACTB), GAPDH y tubulina1b genes de control interno. Este factor de normalización se calculó utilizando los niveles de expresión de los tres genes con una expresión más estable y de mejor puntuación, de entre los 6 candidatos. Los datos se expresan como valores relativos de incremento de la expresión de genes en cada una de las 68 CEAC procedentes de cirugía de catarata.

La mayoría de genes con mayores niveles de expresión fueron aquellos que cumplen funciones propias de las células epiteliales. Así, de los 10 genes analizados, el gen con mayores niveles relativos de expresión fue el GJA1. Este gen codifica la conexina 43 que promueve la formación de uniones entre células (o *gap junctions*). La expresión para este gen representó en torno a un 36% de la expresión de los 10 genes analizados. El segundo gen con mayores niveles de expresión fue el TJP1, que codifica para la proteínas responsables de las zonas de unión estrecha, también

conocidas como uniones ocluyentes o *zonula occludens* tipo 1 (ZO-1). Su expresión relativa fue del 22% del total.

En tercer lugar se sitúa el gen *SPRY2*, que codifica para una proteína reguladora de diversos receptores de factores de crecimiento, como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). En su conjunto estos 3 genes representan aproximadamente un 70% de la expresión observada entre los 10 genes analizados (ver tabla 10 y figura 12).

Gen	Expresión relativa	% de contribución
rGJA1	50,75	36,45434013
rTJP1	30,42	21,85223191
rSPRY2	18,20	13,07035076
rCTNNB1	15,04	10,80389464
rSMAD4	8,60	6,176284329
rTGFB3	5,33	3,826152994
rACTA2	3,79	2,723481591
rSMAD2	2,77	1,991320648
rTGFB1	2,56	1,836165029
rSMAD3	1,76	1,265777975

Tabla 10.

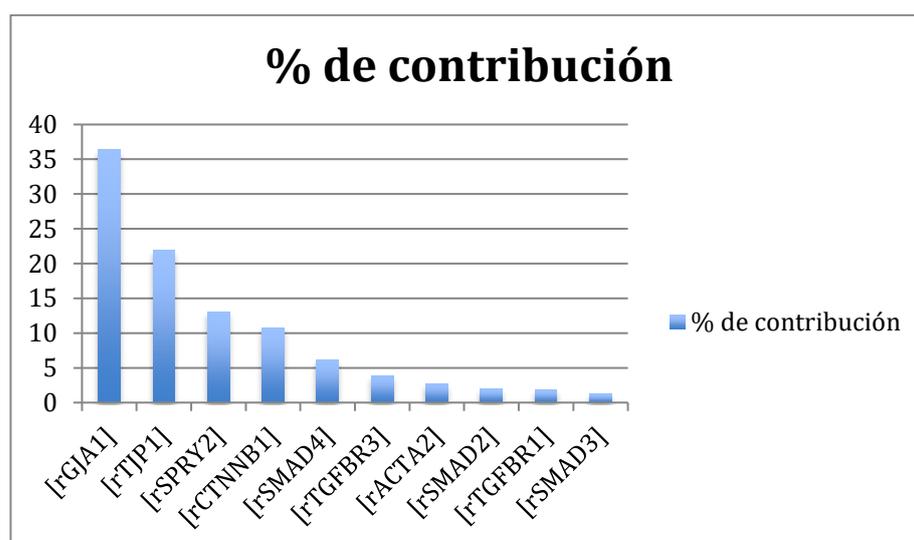


Figura 12.

Todos los genes estudiados están presentes en todas las cápsulas enviadas para análisis de los 68 pacientes intervenidos en diferentes niveles salvo el rTGFB2 y el rFSP1 que no tenían niveles de expresión suficientes para su análisis en ninguna de las muestras.

Los resultados de los niveles de expresión relativa de los 10 genes analizados a nivel de mRNA obtenida a partir de las muestras de células epiteliales anteriores de los 68 pacientes se muestran en la Tabla 11.

	rSMAD2	rSMAD3	rSMAD4	rTGFB1	rTGFB3	rACTA2	rCTNNB1	rGJA1	rSPRY2	rTJP1
1	12,6206	2,4654	27,2353	7,8226	5,4707	25,4136	70,0346	78,9908	57,6406	176,7931
2	1,5942	0,9915	3,4812	1,2837	3,6482	9,4501	6,2620	37,7914	5,9920	11,1126
3	4,6181	2,2783	7,0258	1,0820	4,1244	8,5092	12,6500	4,8283	8,7064	11,8280
4	1,6598	0,6485	3,9581	1,5774	4,7608	8,7376	7,1441	97,2207	13,1320	3,6705
5	1,7760	0,7049	3,3921	0,9956	3,4069	1,2703	5,9741	85,1790	8,5030	20,7385
6	1,3728	1,0306	17,8562	1,1592	2,4590	1,0222	7,9255	59,5193	13,7841	31,1266
7	1,8564	0,7527	5,2286	1,2780	2,4154	3,0749	6,5456	100,3610	10,5068	29,4489
8	4,6302	2,6400	9,1937	3,9024	0,4996	4,6257	17,7685	0,8008	1,0900	23,7815
9	3,2886	2,0221	13,1104	6,6994	6,9020	2,4016	20,0508	11,5128	1,1152	63,2756
10	0,7993	1,7576	5,0622	3,0008	2,8257	0,6894	7,5433	7,5619	3,6378	7,8151
11	1,8106	0,7769	6,3430	1,1055	2,8227	4,7683	7,8783	72,0260	8,1990	19,7194
12	4,7518	1,9036	17,8691	2,6051	6,1326	14,7582	21,6516	136,6105	11,7362	34,3267
13	2,1249	1,3387	4,2824	1,2306	2,7338	1,5207	6,7004	65,1013	14,8427	15,9743
14	4,9760	3,9726	8,8745	6,4208	6,3666	3,1543	28,0883	21,2115	7,0536	60,9540
15	2,0818	1,8443	9,3341	2,7048	7,5653	2,5531	11,1839	4,7946	8,6133	41,4363
16	3,8168	0,3368	15,7685	1,4397	11,7029	6,8723	20,1818	21,5020	2,5835	54,0340
17	4,1963	2,1672	10,7782	4,0555	7,9713	27,5716	25,7576	8,4729	32,4968	59,1314
18	1,7138	1,2515	5,3444	1,3846	4,9902	1,4607	8,3696	83,5251	14,2467	17,3858
19	1,0547	0,8442	3,2865	1,0319	2,4560	10,8982	8,4939	50,6017	43,5908	15,1280
20	2,4402	2,2114	7,3830	3,4151	10,4798	2,4825	13,1232	25,3891	12,0879	28,4646
21	2,1751	0,8188	5,7097	1,2700	3,0153	1,6002	7,5998	83,6052	11,2109	21,6973
22	2,6067	2,2161	0,2915	2,2096	5,9785	3,5936	11,9221	3,8640	9,7164	35,0914
23	6,4931	5,1725	27,1230	6,9330	9,1310	1,6728	40,7163	113,7908	7,0404	43,7527
24	1,8501	0,8303	3,1381	1,4374	2,8863	2,0999	6,6839	42,4198	15,6838	16,8082
25	1,4885	0,8103	4,0635	1,3314	3,0212	3,2045	7,3100	69,3500	13,3205	16,3362
26	2,1394	1,1801	3,8869	1,2736	2,9880	1,3417	8,7836	125,0255	11,6512	17,2409
27	1,7918	0,7659	2,9194	1,0507	2,2174	4,5618	5,1938	33,4689	3,7297	13,0756
28	1,6506	0,8795	2,8924	1,1993	3,6177	1,9377	6,7521	63,9147	6,1178	8,8400
29	2,8819	1,7694	8,4960	3,2933	2,1036	6,4684	12,4524	2,4605	6,4735	10,5227
30	2,4080	1,7379	0,2395	2,5860	7,0904	2,5434	16,8558	16,9783	6,7398	32,1168
31	0,7026	0,4549	2,8065	1,1903	1,3082	1,1390	5,4328	0,1911	0,4604	2,6660
32	1,6057	0,6317	8,7454	1,0736	4,8444	1,0855	9,3479	50,1854	3,9886	9,3498
33	1,4906	2,7151	19,3389	6,3072	12,5846	5,0850	29,2789	3,8442	10,8277	21,4562
34	0,5997	0,3742	6,0273	1,0738	3,8211	7,1951	6,4759	61,0823	10,6561	12,0162
35	3,5142	1,5019	4,5286	2,4427	4,3571	1,5472	12,1480	29,8988	29,2006	23,9615
36	6,3739	2,1822	7,3376	4,3202	7,8095	2,1247	17,7548	9,5963	18,5052	61,8277
37	2,0607	0,8025	3,7339	1,0437	4,4019	0,9301	7,0586	95,3294	23,3176	26,4552
38	2,4144	1,8148	9,3278	3,4361	7,9659	1,4886	14,4963	23,3250	12,1290	30,9176
39	1,8335	1,9343	8,6482	1,8303	9,8300		17,4703	1,7818	11,5707	16,7848
40	1,1140	2,0498	13,8053	2,7103	11,9514	1,3319	20,1785	43,7158	14,2897	15,4688
41	0,7554	1,0839	5,1415	2,7112	4,4002	0,2937	11,5378	14,3303	14,8962	12,3483
42	0,9724	0,4700	2,8718	1,0447	2,5702	2,0280	5,5467	37,3627	6,7391	8,8709
43	1,8231	0,7437	3,2201	1,1998	1,0084	0,5346	5,4166	64,8946	15,5813	16,2059
44	1,3886	4,7541	16,4435	4,3575	6,5395	4,9632	23,8417	29,6183	46,9186	16,5477

45	3,0398	1,9057	3,7051	2,0980	4,0681	0,6081	12,8436	19,9569	13,4162	33,5604
46	3,1073	2,0189	8,1488	2,8247	9,1828	1,6489	15,2854	36,5711	28,9096	39,8459
47	1,5126	0,8090	5,5739	1,4672	4,1735	1,5573	8,0521	68,7806	7,2792	16,7037
48	2,1226	0,6377	3,9725	1,3110	2,5391	1,5768	6,7949	73,6275	15,4250	7,0776
49	1,3687	0,8035	3,2722	1,0858	2,6654	6,0814	5,3881	34,9602	7,5134	11,4636
50	1,9667	0,7007	3,2928	1,3636	3,4810	2,0911	7,3472	70,4066	13,0634	16,7066
51	3,3928	2,2390	6,1792	4,9946	7,2510	3,2568	11,6297	45,0716	14,8315	41,4826
52	2,3018	2,2626	9,4208	3,0121	6,9010	0,8854	14,7365	50,5638	41,1631	13,7815
53	4,5191	2,5211	22,8182	2,2698	4,0998	1,4663	38,3702	277,9485	67,1429	59,6586
54	3,8153	1,7833	4,9582	4,0341	3,8207	0,4307	16,0569	88,2462	10,3777	45,5131
55	5,3310	7,7327	33,6554	2,6025	10,4475	1,6760	49,0172	0,6599	71,4873	107,6618
56	1,9448	0,3155	8,1545	3,2924	10,1030	4,2775	17,4332	0,1924	17,8137	21,8797
57	1,7822	0,9631	4,8570	1,5368	3,9650	1,2509	5,0191	51,7855	3,9463	13,1730
58	1,3722	2,0421	8,6797	5,2831	8,6600	1,9187	16,9360	0,5443	21,1303	30,1698
59	0,5471	0,1821	0,6070	0,3102	0,7682	0,1101	1,3582	0,0193	3,0118	4,2160
60	1,1867	1,4109	7,8320	3,2663	6,3732	0,5424	17,5136	20,0290	26,7926	36,1432
61	3,2679	1,4184	5,0273	2,2542	4,3679	2,1167	13,1374	33,6345	13,3044	28,3023
62	20,0686	7,1193	36,9936	5,0526	10,7454	6,5657	51,9704	374,3995	114,5343	153,1318
63	1,2570	0,7278	2,8781	0,9632	2,8369	0,3116	5,1436	19,3177	10,0717	10,3037
64	2,4740	1,9639	6,6972	3,0473	7,0265	4,4952	14,4737	14,2834	13,6012	26,1848
65	1,2374	0,5349	3,3988	1,5778	4,5487	1,2250	5,3015	104,5979	12,2793	13,4644
66	1,0828	1,5788	7,3677	1,6607	3,4465	4,5604	8,7758	1,4557	7,0614	10,4737
67	1,7281	0,5410	2,7099	1,2163	1,8246	2,1207	5,0973	65,8047	8,2910	12,1760
68		7,9847	28,9570	5,7828	13,7454	3,2584	51,5276	5,1949	104,5827	99,1465

Tabla11. Los valores están expresados en unidades (Fold-change)

Estos datos se comparan con los datos de densitometría de área de cápsula posterior, de cápsula anterior y de porcentaje de retracción de la CCC en las visitas del 1^{er} mes, 1^o, 3^o, 6^o y duodécimo meses, de los mismos 68 pacientes. Estos datos se muestran en tabla12

	Densit AREA CA 1 mes	Densit AREA CA 3 mes	Densit AREA CA 6 mes	Densit AREA CA 1 año	Densit AREA CP 1mes	Densit AREA CP 3 mes	Densit AREA CP 6 mes	Dens Area CP 1año	% retrac CC 1 mes	% retrac CCC 3 mes	% retrac CCC 6 mes	% retrac CCC 1 año
1	6,8	8	8,925	17,75	4,5	4,5	4,6	4,6	0,69	1,51	3,24	3,74
2	3,425	21	22,825	21,5	5,3	5,3	5,3	5,6	3,24	9,15	10,37	10,37
3	4,725	5,275	4,575	7,58	4,8	5	5,3	5,8	21	23	23,61	24,63
4	4,375	5,975	6	10	5,6	5,6	5,6	6,4	1,2	2,22	3,24	3,24
5	3,625	11,77 5	13,85	13,1	4,2	4,2	4,2	4,3	8,64	10,27	16,06	16,53
6	6,4	6,025	15,5	21,5	3,95	3,95	4	4,8	0,69	1,2	1,71	1,71
7	4,5	5,175	4,925	7,05	4,4	4,4	4,5	4,5	4,05	5,58	5,781	5,781
8	6	6,425	8,65	9,33	4,05	4,05	4,05	4,15	3,24	5,28	4,51	9,35
9	3,55	4,425	11,575	27,13	3,3	3,3	3,3	3,9	5,781	7,3	8,33	8,84
10	3,175	4	3,85	5,1	5,1	5,7	5,7	6,75	2,22	3,24	4,46	3
11	8,8	34,3	35,95	32	3,9	3,9	5,65	6,6	3,24	12,86	13,93	14,44
12	10,875	16,97 5	21,625	29,13	3,95	3,95	3,95	4,3	23,61	25,65	26,62	27,68
13	8,775	11,37 5	17,35	46,38	3,2	3,2	3,2	4,025	5,5	5,5	5,671	5,671
14	6,8	12	13,05	12	4,6	5,5	6	6,3	0,69	1,2	1,2	1,2
15	14,9	17,65	18,65	58,38	4,4	4,4	4,45	4,5	18,52	20,05	21,06	21,57
16	8,3	17	20	12,63	3,9	3,9	3,9	4,2	5,781	16,06	18,52	18,52
17	24,625	32,3	42,325	54,13	3,65	3,65	3,75	4	13,42	13,93	13,99	13,99
18	11,05	12,52 5	6	18,1	2,7	2,7	2,7	3,1	0,08	0,69	1,2	1,2
19	4,125	4,6	4,575	11,3	4,6	4,6	4,7	5,1	8,33	8,84	9,86	10,87
20	4,225	7,575	11,5	8,73	4,1	4,1	4,1	4,7	10,78	19,28	38,58	38,58
21	8,275	13	15,225	12,75	4,95	4,95	4,95	5,1	2,22	3,74	3,74	3,74
22	10,05	22,62 5	24,25	22,25	3,9	3,9	3,9	6,3	8,33	13,42	20,55	20,55
23	17,9	24	28,075	30,5	3,9	3,9	3,9	4	26	26	26,46	26,46
24	9,6	8,02	21,57	20,4	4,1	4,1	4,1	5,15	7,3	8,33	13,42	13,93
25	14,95	14,9	16,25	19,62 5	5,1	5,1	5,1	5,6	0,69	2,9	3,24	3,24
26	8,5	7,82	8,33	8,25	4,35	4,35	5	5,725	0,43	0,43	0,43	0,43
27	22,92	61,25	61,2	66,5	3,6	4,1	4,2	4,4	26,15	30,23	31,25	31,76
28	9,3	15,32	12,575	17,5	4,85	5,3	5,15	5,7	10,87	11,38	11,38	11,38
29	4,75	10,8	12,55	13,62 5	3,5	3,5	3,8	3,8	2,22	2,72	4,46	4,46
30	25,82	28,05	34,375	42,25	3,8	4,4	4,3	4,45	38,88	42,45	45,56	46,53
31	10,35	12,82	12,55	18,75	3,7	4,1	4,4	4,7	7,3	8,84	9,15	9,15
32	10,97	19,65	16,75	16,75	3,9	3,9	3,9	5,2	6,79	10,36	11,38	11,38
33	3,77	5	7,2	7,2	3,6	3,9	3,9	4,85	3,24	4,65	5,27	5,27
34	11,85	12,55	14,425	18,25	3,8	3,9	4,1	4,3	3,74	5,671	10,87	10,87
35	15,87	15,65	14,375	15	4	4	4	5,85	31,25	31,75	32,23	32,23
36	6,27	6,75	7,3	7,3	4,05	4,1	4,6	5,35	1,71	3,24	4	4,51
37	22,5	27,75	27,25	34,5	3,6	4	4,1	4,2	2,22	8,33	9,35	9,86
38	24	29,75	35,3	35,5	4,1	4,1	4,45	4,95	1,71	7,3	8,33	8,33
39	28,87	29,3	34,775	53,75	4,25	4,05	4,4	5,65	22,94	26,91	26,91	28,7
40	12,87	24	23,75	24,25	4,375	4,1	10,4	10,9	8,33	8,84	8,84	8,84
41	5,9	6,27	6,625	7,375	3,5	3,5	3,8	4,75	2,22	2,72	4	4,51
42	11	16,95	19,745	34	3,7	3,7	4	4,05	5,671	10,36	6,79	6,79
43	9,35	10,57	18,5	22,75	3,8	3,9	4,2	4,5	12,4	12,4	13,42	13,42

44	4,7	7,9	8	7,925	4,75	4,65	5,575	5,925	10,87	16,53	16,98	18,52
45	11,12	26,12 5	24,625	24,75	3,4	3,8	4,05	4,05	8,33	18,52	19,03	20,55
46	5,82	6,225	6,25	6,75	3,3	4	5,25	5,25	0,69	0,69	1,2	1,71
47	6,97	4,6	10	10	3,5	3,3	4,3	4,3	1,2	2,22	2,22	2,22
48	10,35	21,18	22,45	27,37 5	4,4	5,4	6,775	6,925	31,32	32,26	33,79	33,79
49	7,85	7,45	8,675	10	4,3	4,1	4,65	5,875	5,27	5,671	6,79	6,79
50	6	12,1	12,6	20,62 5	3,7	3,7	3,8	3,8	8,84	20,75	22,94	22,94
51	6,35	9,2	9,275	9,625	3,8	4,1	4,3	4,1	6,79	6,79	6,79	6,79
52	8,75	12,2	11,675	15,87 5	4,1	4,1	5,1	5,1	2,72	2,72	2,72	2,72
53	6,95	9,45	9,53	12,75	3,5	3,5	3,7	5,425	1,2	2,22	2,72	2,72
54	5,32	6,15	8,289	8,45	4	4	4,6	5,1	3,74	4	4	4
55	16,82	30,35	29	44	3,7	3,9	4,3	4,3	11,89	21,57	26,91	26,91
56	9,5	18,75	18,825	20,05	3,7	3,7	3,9	4,1	0,69	1,71	2,22	2,72
57	7,6	17,82 5	17,87	17,87 5	3,4	3,8	3,7	3,9	1,2	2,22	3,74	4
58	7,95	15,07 5	19,8	20,42 5	4	4	4,55	4,85	0	0	0	0,08
59	8,575	8,85	9,15	10,9	3,3	3,3	3,4	4,4	3,74	12,81	12,8	12,8
60	6,05	5,825	8,425	8,425	3,6	4,2	4,7	4,75	3,24	7,3	7,3	7,3
61	6,775	12,67 5	14,5	19	3,7	3,7	3,8	3,7	0,69	4,65	5,831	5,831
62	6,15	5,88	7,95	7,075	4,2	4,1	4,7	4,8	2,22	2,72	3,74	5,27
63	12,2	29,25	41,75	52,17 5	4,3	4,5	4,6	5,3	6,79	30,33	35,12	35,12
64	7,05	7,4	8,5	7,675	3,6	3,7	4	4,6	1,71	2,22	3,74	3,74
65	5,65	4,95	5,65	5,65	4	4,1	5,1	5,15	1,2	1,71	2,22	2,22
66	8,05	8,975	12,375	12,87 5	3,9	4,7	5,3	5,4	2,72	15,05	15,97	15,97
67	13,7	17,5	16,375	19,5	4,2	4,2	4,8	4,9	7,3	9,15	9,86	10,36
68	6,05	6,829	9,575	12,27 5	3,8	3,9	4,3	4,7	1,2	1,71	2,22	2,22

Tabla 12

3. ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN ENTRE VALORES DE DENSITOMETRIA

ÁREA Y EXPRESIÓN DE GENES

Los datos se analizaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson obteniéndose los resultados que se muestran en las siguientes tablas, en las que se muestran únicamente los datos correspondientes a las visitas del mes y del año. En el resto de las visitas los datos son equivalentes.

Como se describe en las siguientes tablas no fuimos capaces de establecer ningún tipo de correlación entre los niveles intraoperatorios de expresión de los 10 genes analizados a nivel de RNAm (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB3, rACTA2, rCTNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) con ninguno de los parámetros de densitometría ni con los valores de porcentaje de reducción del área de capsulorrexis.

TABLAS DE RESULTADOS DE CORRELACIONES

1 AÑO TABLA13		DENSITO AREA CA 1 AÑO	rSMAD2	rSMAD3	rSMAD4	rTGFB1	rTGFB3	rACTA2	rCTNN1	rGJA1	rSPRY2	rTJP1
DENSITO AREA CA 1 AÑO	COR PEARSON	1	-.078	-.018	-.017	-.131	.040	.132	-.018	.167	-.094	.002
	SIG. (BILAT)		.531	.887	.893	.289	.749	.289	.885	.174	.444	.989
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD2	COR PEARSON	-.078	1	.655**	.706**	.531**	.330**	.380**	.778**	.575**	.692**	.867**
	SIG. (BILAT)	.531		.000	.000	.000	.006	.002	.000	.000	.000	.000
	N	67	67	67	67	67	66	66	67	67	67	67
rSMAD3	COR PEARSON	-.018	.655**	1	.805**	.631**	.595**	.085	.797**	.173	.734**	.673**
	SIG. (BILAT)	.887	.000		.000	.000	.000	.492	.000	.159	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD4	COR PEARSON	-.017	.706**	.805**	1	.601**	.602**	.271*	.894**	.376**	.721**	.772**
	SIG. (BILAT)	.893	.000	.000		.000	.000	.026	.000	.002	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB1	COR PEARSON	-.131	.531**	.631**	.601**	1	.584**	.276*	.745**	-.015	.357**	.641**
	SIG. (BILAT)	.289	.000	.000	.000		.000	.024	.000	.904	.003	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB3	COR PEARSON	.040	.330**	.595**	.602**	.584**	1	.117	.605**	-.044	.426**	.478**
	SIG. (BILAT)	.749	.006	.000	.000	.000		.347	.000	.719	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rACTA2	COR PEARSON	.132	.380**	.085	.271*	.276*	.117	1	.408**	.040	.213	.410**
	SIG. (BILAT)	.289	.002	.492	.026	.024	.347		.001	.746	.083	.001
	N	67	66	67	67	67	67	67	67	67	67	67
rCTNN1	COR PEARSON	-.018	.778**	.797**	.894**	.745**	.605**	.408**	1	.272*	.732**	.888**
	SIG. (BILAT)	.885	.000	.000	.000	.000	.000	.001		.025	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rGJA1	COR PEARSON	-.167	.575**	.173	.376**	-.015	-.044	.040	.272*	1	.462**	.343**
	SIG. (BILAT)	.174	.000	.159	.002	.904	.719	.746	.025		.000	.004
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSPRY2	COR PEARSON	-.094	.692**	.734**	.721**	.357**	.426**	.213	.732**	.462**	1	.717**
	SIG. (BILAT)	.444	.000	.000	.000	.003	.000	.083	.000	.000		.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTJP1	COR PEARSON	.002	.867**	.673**	.772**	.641**	.478**	.410**	.888**	.343**	.717**	1
	SIG. (BILAT)	.989	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.000	.004	.000	
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

No hay correlación entre los niveles de mRNA de los genes analizados (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB3, rACTA2, rCTNN1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) y los valores de densitometría de área de CA en la visita del año (ver tabla 13).

1 AÑO TABLA 14		DENSI TO AREA CP	rSMAD2	rSMAD3	rSMAD4	rTGFB1	rTGFB3	rACTA2	rCTNB1	rGJA1	rSPRY2	rTJP1
DENSITO AREA CP	COR PEARSON	1	-.108	.003	-.048	-.068	.092	.078	-.040	.011	-.009	.151
	SIG. (BILAT)		.386	.978	.700	.583	.453	.529	.744	.931	.941	.218
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD2	COR PEARSON	-.108	1	.655**	.706**	.531**	.330**	.380**	.778**	.575**	.692**	.867**
	SIG. (BILAT)	.386		.000	.000	.000	.006	.002	.000	.000	.000	.000
	N	67	67	67	67	67	67	66	67	67	67	67
rSMAD3	COR PEARSON	.003	.655**	1	.805**	.631**	.595**	.085	.797**	.173	.734**	.673**
	SIG. (BILAT)	.978	.000		.000	.000	.000	.492	.000	.159	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD4	COR PEARSON	-.048	.706**	.805**	1	.601**	.602**	.271*	.894**	.376**	.721**	.772**
	SIG. (BILAT)	.700	.000	.000		.000	.000	.026	.000	.002	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB1	COR PEARSON	-.068	.531**	.631**	.601**	1	.584**	.276*	.745**	-.015	.357**	.641**
	SIG. (BILAT)	.583	.000	.000	.000		.000	.024	.000	.904	.003	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB3	COR PEARSON	.092	.330**	.595**	.602**	.584**	1	.117	.605**	-.044	.426**	.478**
	SIG. (BILAT)	.453	.006	.000	.000	.000		.347	.000	.719	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rACTA2	COR PEARSON	-.078	.380**	.085	.271*	.276*	.117	1	.408**	.040	.213	.410**
	SIG. (BILAT)	.529	.002	.492	.026	.024	.347		.001	.746	.083	.001
	N	67	66	67	67	67	67	67	67	67	67	67
rCTNB1	COR PEARSON	-.040	.778**	.797**	.894**	.745**	.605**	.408**	1	.272*	.732**	.888**
	SIG. (BILAT)	.744	.000	.000	.000	.000	.000	.001		.025	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rGJA1	COR PEARSON	.011	.575**	.173	.376**	-.015	-.044	.040	.272*	1	.462**	.343**
	SIG. (BILAT)	.931	.000	.159	.002	.904	.719	.746	.025		.000	.004
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSPRY2	COR PEARSON	-.009	.692**	.734**	.721**	.357**	.426**	.213	.732**	.462**	1	.717**
	SIG. (BILAT)	.941	.000	.000	.000	.003	.000	.083	.000	.000		.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTJP1	COR PEARSON	-.151	.867**	.673**	.772**	.641**	.478**	.410**	.888**	.343**	.717**	1
	SIG. (BILAT)	.218	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.000	.004	.000	
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

No hay correlación entre los niveles de mRNA de los genes analizados (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB3, rACTA2, rCTNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) y los valores de densitometría de área de la cápsula posterior en la visita del año (ver tabla 14).

1 AÑO TABLA 15		% RETRAC CCC	RSMAD2	RSMAD3	RSMAD4	RTGFBR1	RTGFBR3	RACTA2	RCTNNB1	RGJA1	RSPRY2	RTJP1
% RETRAC CCC	COR PEARSON	1	-.021	.041	-.065	-.159	.060	.024	-.039	.170	.128	.087
	SIG. (BILAT)		.864	.737	.601	.196	.624	.844	.755	.166	.297	.481
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RSMAD2	COR PEARSON	-.021	1	.655**	.706**	.531**	.330**	.380**	.778**	.575**	.692**	.867**
	SIG. (BILAT)	.864		.000	.000	.000	.006	.002	.000	.000	.000	.000
	N	67	67	67	67	67	66	67	67	67	67	67
RSMAD3	COR PEARSON	.041	.655**	1	.805**	.631**	.595**	.085	.797**	.173	.734**	.673**
	SIG. (BILAT)	.737	.000		.000	.000	.000	.492	.000	.159	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RSMAD4	COR PEARSON	-.065	.706**	.805**	1	.601**	.602**	.271*	.894**	.376**	.721**	.772**
	SIG. (BILAT)	.601	.000	.000		.000	.000	.026	.000	.002	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RTGFBR1	COR PEARSON	-.159	.531**	.631**	.601**	1	.584**	.276*	.745**	-.015	.357**	.641**
	SIG. (BILAT)	.196	.000	.000	.000		.000	.024	.000	.904	.003	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RTGFBR3	COR PEARSON	.060	.330**	.595**	.602**	.584**	1	.117	.605**	-.044	.426**	.478**
	SIG. (BILAT)	.624	.006	.000	.000	.000		.347	.000	.719	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RACTA2	COR PEARSON	.024	.380**	.085	.271*	.276*	.117	1	.408**	.040	.213	.410**
	SIG. (BILAT)	.844	.002	.492	.026	.024	.347		.001	.746	.083	.001
	N	67	66	67	67	67	67	67	67	67	67	67
RCTNNB1	COR PEARSON	-.039	.778**	.797**	.894**	.745**	.605**	.408**	1	.272*	.732**	.888**
	SIG. (BILAT)	.755	.000	.000	.000	.000	.000	.001		.025	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RGJA1	COR PEARSON	-.170	.575**	.173	.376**	-.015	-.044	.040	.272*	1	.462**	.343**
	SIG. (BILAT)	.166	.000	.159	.002	.904	.719	.746	.025		.000	.004
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RSPRY2	COR PEARSON	-.128	.692**	.734**	.721**	.357**	.426**	.213	.732**	.462**	1	.717**
	SIG. (BILAT)	.297	.000	.000	.000	.003	.000	.083	.000	.000		.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
RTJP1	COR DPEARSON	-.087	.867**	.673**	.772**	.641**	.478**	.410**	.888**	.343**	.717**	1
	SIG. (BILAT)	.481	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.000	.004	.000	
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

No hay correlación entre los niveles de mRNA de los genes analizados (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB3, rACTA2, rCTNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) y los valores del porcentaje de retracción del área de CCC en la visita del año (ver tabla 15).

1 MES TABLA 16		DENSITO AREA CA	rSMAD2	rSMAD3	rSMAD4	rTGFB1	rTGFB3	rACTA2	rCTNB1	rGJA1	rSPRY2	rTJP1
DENSITO AREA CA	COR	1	-	.007	-	-	.141	.083	.020	-	-	-
	PEARSON		.038	.958	.032	.117	.250	.505	.872	.110	.058	.016
	SIG. (BILAT)		.758	.68	.797	.342	.68	.67	.68	.374	.639	.896
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD2	COR	-.038	1	.655**	.706**	.531**	.330**	.380**	.778**	.575**	.692**	.867**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.758	.000	.000	.000	.006	.002	.000	.000	.000	.000
	N	67	67	67	67	67	67	66	67	67	67	67
rSMAD3	COR	.007	.655**	1	.805**	.631**	.595**	.085	.797**	.173	.734**	.673**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.958	.000	.000	.000	.000	.492	.000	.159	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD4	COR	-.032	.706**	.805**	1	.601**	.602**	.271*	.894**	.376**	.721**	.772**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.797	.000	.000	.000	.000	.026	.000	.002	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB1	COR	-.117	.531**	.631**	.601**	1	.584**	.276*	.745**	-.015	.357**	.641**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.342	.000	.000	.000	.000	.024	.000	.904	.003	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB3	COR	.141	.330**	.595**	.602**	.584**	1	.117	.605**	-.044	.426**	.478**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.250	.006	.000	.000	.000	.347	.000	.719	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rACTA2	COR	.083	.380**	.085	.271*	.276*	.117	1	.408**	.040	.213	.410**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.505	.002	.492	.026	.024	.347	.001	.746	.083	.001
	N	67	66	67	67	67	67	67	67	67	67	67
rCTNB1	COR	.020	.778**	.797**	.894**	.745**	.605**	.408**	1	.272*	.732**	.888**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.872	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.025	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rGJA1	COR	-.110	.575**	.173	.376**	-.015	-.044	.040	.272*	1	.462**	.343**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.374	.000	.159	.002	.904	.746	.025	.68	.000	.004
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSPRY2	COR	-.058	.692**	.734**	.721**	.357**	.426**	.213	.732**	.462**	1	.717**
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.639	.000	.000	.000	.003	.000	.083	.000	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTJP1	COR	-.016	.867**	.673**	.772**	.641**	.478**	.410**	.888**	.343**	.717**	1
	PEARSON											
	SIG. (BILAT)		.896	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.000	.004	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilater

No hay correlación entre los niveles de mRNA de los genes analizados (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB3, rACTA2, rCTNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) y los valores de densitometría de área de CA en la visita del mes (ver tabla 16).

1 MES TABLA 17		%RETRAC CCC	rSMA2	rSMA3	rSMA4	rTGFR1	rTGFR3	rACT2	rCTNB1	rGJA1	rSPR2	rTJP1
% RETRAC CCC	COR PEARSON	1	.013	.052	-.042	-.068	.044	.076	-.004	-.091	-.113	-.096
	SIG. (BILAT)											
	N	68	.916 67	.673 68	.732 68	.583 68	.720 68	.542 67	.976 68	.460 68	.360 68	.436 68
rSMAD2	COR PEARSON	.013	1	.655**	.706**	.531**	.330**	.380**	.778**	.575**	.692**	.867**
	SIG. (BILAT)	.916 67		.000 67	.000 67	.000 67	.006 67	.002 66	.000 67	.000 67	.000 67	.000 67
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD3	COR PEARSON	.052	.655**	1	.805**	.631**	.595**	.085	.797**	.173	.734**	.673**
	SIG. (BILAT)	.673	.000		.000	.000	.000	.492	.000	.159	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD4	COR PEARSON	-.042	.706**	.805**	1	.601**	.602**	.271*	.894**	.376**	.721**	.772**
	SIG. (BILAT)	.732 68	.000 67	.000 68		.000 68	.000 68	.026 67	.000 68	.002 68	.000 68	.000 68
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFR1	COR PEARSON	-.068	.531**	.631**	.601**	1	.584**	.276*	.745**	-.015	.357**	.641**
	SIG. (BILAT)	.583 68	.000 67	.000 68	.000 68		.000 68	.024 67	.000 68	.904 68	.003 68	.000 68
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFR3	COR PEARSON	.044	.330**	.595**	.602**	.584**	1	.117	.605**	-.044	.426**	.478**
	SIG. (BILAT)	.720 68	.006 67	.000 68	.000 68	.000 68		.347 67	.000 68	.719 68	.000 68	.000 68
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rACTA2	COR PEARSON	.076	.380**	.085	.271*	.276*	.117	1	.408**	.040	.213	.410**
	SIG. (BILAT)	.542 67	.002 66	.492 67	.026 67	.024 67	.347 67		.001 67	.746 67	.083 67	.001 67
	N	68	66	67	67	67	67	67	67	67	67	67
rCTNB1	COR PEARSON	-.004	.778**	.797**	.894**	.745**	.605**	.408**	1	.272*	.732**	.888**
	SIG. (BILAT)	.976 68	.000 67	.000 68	.000 68	.000 68	.000 68	.001 67		.025 68	.000 68	.000 68
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rGJA1	COR PEARSON	-.091	.575**	.173	.376**	-.015	-.044	.040	.272*	1	.462**	.343**
	SIG. (BILAT)	.460 68	.000 67	.159 68	.002 68	.904 68	.719 68	.746 67	.025 68		.000 68	.004 68
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSPRY2	COR PEARSON	-.113	.692**	.734**	.721**	.357**	.426**	.213	.732**	.462**	1	.717**
	SIG. (BILAT)	.360 68	.000 67	.000 68	.000 68	.003 68	.000 68	.083 67	.000 68	.000 68		.000 68
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTJP1	COR PEARSON	-.096	.867**	.673**	.772**	.641**	.478**	.410**	.888**	.343**	.717**	1
	SIG. (BILAT)	.436 68	.000 67	.000 68	.000 68	.000 68	.000 68	.001 67	.000 68	.004 68	.000 68	
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

No hay correlación entre los niveles de mRNA de los genes analizados (rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFR1, rTGFR3, rACTA2, rCTNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) y los valores de porcentaje de retracción del área de CCC en la visita del mes (ver tabla 17).

1 MES TABLA 18		DENSIT AREA CP	rSMAD2	rSMAD3	rSMAD4	rTGFB1	rTGFB3	rACTA2	rCTNNB1	rGJA1	rSPRY2	rTJP1
DENSITO AREA CP	PEARSON	1	.042	-.010	-.052	-.048	-.100	.197	-.035	.072	-.013	=
	SIG. BILAT	.738	.738	.933	.673	.699	.419	.111	.779	.560	.919	.057
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	.645 68
rSMAD2	PEARSON	.042	1	.655**	.706**	.531**	.330**	.380**	.778**	.575**	.692**	.867**
	SIG. BILAT	.738	.738	.000	.000	.000	.006	.002	.000	.000	.000	.000
	N	67	67	67	67	67	67	66	67	67	67	67
rSMAD3	PEARSON	-.010	.655**	1	.805**	.631**	.595**	.085	.797**	.173	.734**	.673**
	SIG. BILAT	.933	.000	.000	.000	.000	.000	.492	.000	.159	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSMAD4	PEARSON	-.052	.706**	.805**	1	.601**	.602**	.271*	.894**	.376**	.721**	.772**
	SIG. BILAT	.673	.000	.000	.000	.000	.000	.026	.000	.002	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB1	PEARSON	-.048	.531**	.631**	.601**	1	.584**	.276*	.745**	-.015	.357**	.641**
	SIG. BILAT	.699	.000	.000	.000	.000	.000	.024	.000	.904	.003	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTGFB3	PEARSON	-.100	.330**	.595**	.602**	.584**	1	.117	.605**	-.044	.426**	.478**
	SIG. BILAT	.419	.006	.000	.000	.000	.000	.347	.000	.719	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rACTA2	PEARSON	.197	.380**	.085	.271*	.276*	.117	1	.408**	.040	.213	.410**
	SIG. BILAT	.111	.002	.492	.026	.024	.347	.001	.746	.083	.001	.001
	N	67	66	67	67	67	67	67	67	67	67	67
rCTNNB1	PEARSON	-.035	.778**	.797**	.894**	.745**	.605**	.408**	1	.272*	.732**	.888**
	SIG. BILAT	.779	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.001	.025	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rGJA1	PEARSON	.072	.575**	.173	.376**	-.015	-.044	.040	.272*	1	.462**	.343**
	SIG. BILAT	.560	.000	.159	.002	.904	.719	.746	.025	.000	.000	.004
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rSPRY2	PEARSON	-.013	.692**	.734**	.721**	.357**	.426**	.213	.732**	.462**	1	.717**
	SIG. (BILAT)	.919	.000	.000	.000	.003	.000	.083	.000	.000	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68
rTJP1	PEARSON	-.057	.867**	.673**	.772**	.641**	.478**	.410**	.888**	.343**	.717**	1
	SIG. (BILAT)	.645	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.000	.004	.000	.000
	N	68	67	68	68	68	68	67	68	68	68	68

No hay correlación entre los niveles de mRNA de los genes analizados (rSMAD2, rSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB3, rACTA2, rCTNNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1) y los valores de densitometría de área de CP en la visita del mes (ver tabla 18).

DISCUSIÓN

“Eroriz ikasten da oinez”.

Proverbio vasco

"Cayendo se aprende a andar."

1. Métodos de medida de opacidad de cápsula anterior

2. Análisis de correlación entre los niveles de densidad de cápsulas anteriores y posteriores proporcionados por los dos diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam® HR (área y lineal) y el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis

3. Técnica quirúrgica

4. Correlación de niveles de densitometría de área de OCA y OCP con niveles de expresión de genes implicados en la transición epitelio-mesenquimal en las CEAC.

1. MÉTODO DE MEDIDA DE OPACIDAD CÁPSULA ANTERIOR

Después de revisar la literatura sobre el tema podemos concluir que el método subjetivo de cuantificación clínica es el utilizado con mayor frecuencia después de la cirugía de cataratas para medir la OCA (Sacu S, 2002), (Sacu S, 2004), (Keiichiro Minami, 2015). Esta clasificación clínica proporciona valores ordinales subjetivos. Lasa et al. demostraron en 1995 que los sistemas Scheimpflug podrían ser una herramienta útil para la evaluación futura de la opacificación de la cápsula posterior (Lasa MS, 1995). El sistema de fotografía Scheimpflug fue desarrollado por Hayashi en 1998 (Hayashi K 1998), (Hayashi H, 1998). En 2004, Hayashi et al., para la medición de la opacificación de la cápsula posterior, obtuvieron primero una imagen Scheimpflug de la cámara anterior en los meridianos 0°, 45°, 90° y 135°. La imagen de mayor calidad se transfirió a un ordenador de análisis de imágenes en línea. La densidad de luz de dispersión media del área central de 3,00 x 0,25 mm de la cápsula posterior se midió usando la densitometría axial del ordenador (Hayashi K, 2004).

Una década más tarde, el nuevo software Pentacam®HR mide tres tipos de densitometría en estructuras de segmento anterior (área, líneal y pico) y proporciona valores continuos cuantitativos objetivos en una evaluación fácil, rápida y repetible.

Se han realizado varios estudios para estandarizar la técnica de fotografía con lámpara de hendidura y análisis de imágenes (Sacu S, 2002), (Sacu S, 2004), (Keiichiro Minami, 2015). Muchos sistemas de clasificación fotográfica basados en lámparas de hendidura han sido desarrollados con éxito para la cuantificación de la opacificación de cápsula posterior y son ampliamente utilizados en ensayos, como EPCO, POCO, Pocomam, AQUA y OSCA (Bender L, 2004), (Findl O, 2003), (Praveen MR, 2014). En la mayoría de los casos, estos métodos se utilizan para medir la opacidad de la zona capsular que se encuentra dentro de la capsulorrexis. Sacu et al.

en 2002 utilizaron un análisis de imágenes obtenidas por lámpara de hendidura para la cuantificación de la OCA y encontraron variabilidad en la calidad de las fotografías y problemas con el método de análisis de imagen (Sacu S, 2002). Las fotografías se vieron afectadas por la reflexión de la luz que interfería con las imágenes. Desde entonces se han desarrollado algoritmos para reducir estos artefactos en cada imagen consistente en la eliminación de los reflejos de luz, el realce del contraste, el filtrado ... (Praveen MR, 2014). Otro aspecto que disminuye la objetividad de estos sistemas es la necesidad de intervención humana directa en varias etapas del análisis (Praveen MR, 2014).

Sin embargo, a pesar del desarrollo de nuevos métodos de análisis de imágenes, el análisis clínico sigue siendo el más utilizado en la cuantificación de la OCA hasta la fecha.

Los sistemas de clasificación fotográfica basados en lámparas de hendidura no discriminan qué grado de opacidad corresponde a la cápsula anterior o a la cápsula posterior que está detrás del área de la cápsula anterior. Hay varios autores que han propuesto que esta incapacidad a la hora de discriminar la cápsula anterior de la posterior va a seguir siendo una de las principales limitaciones de esta metodología, a pesar de los avances que se van produciendo en los métodos de análisis de imagen (Sacu S, 2002), (Alberdi T, 2016).

Por el contrario, la captura de la imagen mediante Pentacam®HR es simple de realizar, rápida y tiene una curva de aprendizaje más fácil en contraste con los sistemas de clasificación fotográfica de la OCA mediante lámpara de hendidura. Proporciona mediciones de densitometría de cápsula anterior como una evaluación fácil, rápida, objetiva y repetible.

En nuestro estudio recientemente publicado en el Journal of Cataract and Refractive Surgery (Alberdi T et al., 2016) se encontró que los valores proporcionados por densitometría de área y lineal tienen una fuerte correlación positiva con los valores obtenidos por la escala subjetiva después del análisis utilizando la prueba de Rho de Spearman.

Utilizando el mismo análisis, se encontró una correlación nula o muy débil entre la densitometría de pico y la escala subjetiva. Según este estudio, la densitometría de pico no es un buen método para la evaluación clínica de la opacificación de la cápsula anterior. Los valores de densitometría lineal y de área representan la densitometría media en una línea o en un área expresada como un porcentaje. El valor de densitometría de pico es el punto en el que la densitometría de la lente es más alta en el densitograma a ese nivel del la captura Scheimpflug. Por esta razón, la densitometría de pico tiene otras aplicaciones clínicas. Existe literatura sobre el uso del método de peak o pico para hallar cuerpos extraños intracristalinianos (Singh R, 2015)

También se ha descrito el alto potencial de la densitometría scheimpflug tipo pico en el diagnóstico de distrofias predesceméticas. En la distrofia puntiforme policromática dominante se describe un doble pico a nivel corneal característico. Malhotra y colaboradores describieron en 2015 una mayor cantidad de luz retrodispersada del estroma posterior con una relación posterior/anterior de 0,8 (Malhotra C, 2015).

También hemos publicado un artículo en el que hallamos una nueva utilidad para la densitometría pico en la valoración de roturas o muescas en la óptica de lentes producidas en el proceso de inyección de lentes intraoculares plegables (Alberdi T, 2017).



CASE REPORT

Role of Scheimpflug Imaging in the Diagnosis of Intraocular Lens Damage after Foldable Lens Implant: Case Report

Txomin Alberdi^{1*}, Javier Mendicutte¹, Lucía Bascarán¹, Juaristi L¹ and Javier Ruiz-Ederra²

¹Ophthalmology Department, Donostia University Hospital, Donostia-San Sebastian, Spain

²Biodonostia Health Research Institute, Donostia-San Sebastian, Spain

*Corresponding author: Prof. Txomin Alberdi, Ophthalmology Department, Donostia University Hospital, Donostia-San Sebastian, Paseo Dr. Beguiristain s/n, Donostia-San Sebastian, 20014, Spain, Tel: +34665729017, Fax: 943007452, E-mail: txotere@gmail.com

Abstract

To our knowledge, this is the only article that presents the Peak densitometry method of the Pentacam HR software as a tool for the diagnosis of intraocular lens damage after cataract surgery.

Keywords

Scheimpflug Imaging, Intraocular lens damage, Peak densitometry method

Introduction

In 2004, Hayashi, et al. first obtained a Scheimpflug image of the anterior chamber at the 0°, 45°, 90° and 135-degree meridians for posterior capsule opacification measuring. One decade later, the new Pentacam HR software provides a 3-Dimensional chamber analysis (angle, depth and volume), and its densitometry software that includes nucleus staging software and 3 densitometry methods (area, linear, and peak) to measure density of any anterior chamber structures (cornea, lens, anterior capsule, posterior capsule...), and provides objective quantitative continuous values in an easy, rapid, and repeatable manner [1,2]. 25 Scheimpflug images are acquired during each scan. A second front pupillary camera aligns the images and compensates for eye movement. The measurement process takes less than 2 seconds, and small eye-movements are captured and corrected simultaneously. The Scheimpflug device calculates a quality specification score that takes into account the area covered, alignment and eye movement.

This score helps users evaluate the validity of each test data [1].

Area and Linear densitometry methods are increasingly used methods to measure density of any structure of the anterior chamber. The peak densitometry value is the point at which the lens densitometry is highest on the densitogram. Therefore, it is not useful to measure the average density of structures of the anterior chamber; however, it has other utilities like the one we describe in this article.

The trend in cataract surgery has been to insert lenses through smaller incisions for faster recovery and to generate smaller magnitudes of astigmatism. This has been possible because the lenses have been folded or rolled up and then injected. Because of this increased manipulation, intraocular lenses are more prone to damage [3].

The aim of this article is to propose the density levels provided by Oculus Pentacam[®]HR densitometry Peak method as a diagnostic tool to evaluate lens damage after cataract surgery.

Case Report

A 70-year-old woman referred positive dysphotopias after cataract procedure. Ophthalmologic examination reveals a 20/20 visual acuity and showed a thin marked line on the intraocular lens and no other find of interest.



Citation: Alberdi T, Mendicutte J, Bascarán L, Juaristi L, Ruiz-Ederra J (2017) Role of Scheimpflug Imaging in the Diagnosis of Intraocular Lens Damage after Foldable Lens Implant: Case Report. Int J Ophthalmol Clin Res 4:072. doi.org/10.23937/2378-346X/1410072
Received: January 05, 2017; Accepted: May 31, 2017; Published: June 02, 2017
Copyright: © 2017 Alberdi T, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Existen estudios previos que compararon los valores obtenidos en la evaluación clínica con los valores proporcionados por el sistema Scheimpflug para medir la opacificación de la cápsula posterior. También existen estudios comparativos entre el sistema PNS de gradación de densidad de la catarata proporcionado por el Pentacam-HR y sistemas de medición subjetivos en lámpara de hendidura.

Hayashi K et al. mostraron en 1998 que el valor de la densidad de la opacificación de cápsula posterior obtenido por el sistema de fotografía Scheimpflug (EAS-1000) se correlacionaba bien con la agudeza visual del paciente y consideraron que esta medida era útil tanto en la investigación como en el manejo clínico de la OCP (Hayashi K, 1998), (Hayashi, 1998). Usando este método, se puede medir la densidad de la opacificación en el área central de la cápsula posterior. También confirmaron que este método tenía una excelente reproducibilidad intra e interobservador (Hayashi K, 1998), (Hayashi K, 2004). La reproducibilidad de este sistema se ha encontrado en otros estudios sobre córnea, lente o cápsula posterior (Magno BV, 2013), (Kirkwood BJ, 2009), (Datiles MB, 2013). En un estudio que evalúa la reproducibilidad y la validez de la densitometría del cristalino derivados del sistema de imagen Scheimpflug, los valores de densitometría de pico fueron los valores menos fiables (Kirkwood BJ, 2009). Esto coincide con nuestros resultados a nivel de cápsula cristaliniana.

Como hemos comentado anteriormente, existen estudios que analizan la correlación entre el método clínico subjetivo utilizando la lámpara de hendidura y la densitometría de Pentacam para la cuantificación de cataratas. El método clínico más utilizado para clasificar la catarata es el Sistema de clasificación de las opacidades de cristalino (LOCS III), basado en lámparas de hendidura e imágenes retroiluminadas y validado en 1993 (Chylack LT Jr, 2016), (Pei X, 2008). El LOCS III es ampliamente utilizado para los estudios clínicos y de investigación (Chylack LT Jr, 1993). Sin embargo, tiene algunas desventajas basadas en el sesgo del observador y en las cuestiones relativas a la fiabilidad intra e interobservador (Kirkwood BJ, 2009). Según los resultados de esos estudios Oculus Pentacam®HR proporciona una evaluación objetiva del segmento anterior del ojo (Pedreira F, 2011), (Kirkwood BJ, 2009), (Chylack LT Jr, 1993), (Pei X, 2008), (Hockwin O, 1986), (Tkachov SI, 2006), (Kashima K, 2009) y también una cuantificación objetiva de la densidad del cristalino en las cataratas nucleares. Los resultados de un estudio comparativo entre los métodos de Pentacam

de cuantificación de la densidad del cristalino (PNS y PLDP,) y el método subjetivo LOCS III (*opalescence score*) mostraron un coeficiente de correlación positiva entre ambas técnicas (Chylack LT Jr, 1993).

La utilización de un pequeño número de ejes de análisis para la medición de la opacificación de la cápsula posterior, también ha sido criticado como una limitación. Encontramos una fuerte correlación positiva entre los valores de densitometría de Pentacam® y las puntuaciones clínicas subjetivas en nuestro estudio utilizando cuatro meridianos (2 valores por meridiano correspondiente a cada lado de la cápsula anterior) en cada visita postoperatoria aplicando en nuestro estudio los consejos de Hayashi K y Hayashi H en sus estudios de OCP (Hayashi K, 1998), (Hayashi H, 1998).

Tanaka et al., en 2004, encontraron otra limitación debido a que el material de la lente intraocular influye significativamente en las mediciones de densitometría por la dispersión de la luz que se produce en cada tipo de lente intraocular utilizando el sistema de videofotografía Scheimpflug y por tanto, la intensidad de la OCP cuantificada por este sistema no puede compararse directamente con diferentes materiales ópticos sin restar el valor de densidad de dispersión de luz en cada lente intraocular a partir del valor medido en la cápsula posterior (Keiichiro Minami, 2015), (Tanaka Y, 2004), (Hayashi K, 1998), (Hayashi H, 1998). Las lentes intraoculares de color amarillo se diseñaron para absorber la luz azul-violeta, de modo que la transmitancia de la luz LED azul del sistema Scheimpflug es entre un 10% y un 20% menor que con lentes intraoculares no teñidas. En contraste, cuando la lente intraocular está en el saco capsular (como en nuestro estudio), la medición de la opacificación de la cápsula anterior no es perturbada por la dispersión de la luz causada por la naturaleza de la lente intraocular, ya que ésta está detrás de la cápsula anterior. Con el fin de evitar cualquier sesgo atribuido a las lentes intraoculares (LIOs) debido a diferentes intensidades de luz de dispersión de la superficie anterior de la LIO, en las mediciones de la densitometría de la cápsula posterior, hemos utilizado el

mismo tipo de LIO hidrofóbica acrílica no teñida con bordes cuadrados de diseño modificado C-Loop, la enVista™ (Modelo MX60) en todos los pacientes del estudio (Keiichiro Minami, 2015).

Como resultado, la clasificación clínica mediante lámpara de hendidura es un método subjetivo de cuantificación de opacificación de la cápsula anterior que proporciona valores ordinales cualitativos; tiene algunas desventajas ya que puede verse afectada por factores externos tales como dilatación insuficiente de la pupila, cambios en la iluminación de la lámpara de hendidura, variabilidad entre observadores, etc.

Una de las conclusiones de nuestra reciente publicación (Alberdi T, 2016) fue que las mediciones de densitometría de área y lineal proporcionadas por la Pentacam®HR son valores continuos cuantitativos objetivos que son más apropiados para su uso en ensayos. La adquisición de imágenes Pentacam® debe llevarse a cabo de acuerdo con procedimientos estandarizados para evitar la aparición de artefactos y permitir un análisis posterior. El análisis de la OCA puede ser imposible o ser afectado por factores externos tales como opacidades corneales o dilatación insuficiente de la pupila. El dispositivo calcula una puntuación de especificación de calidad (QS), que toma en cuenta el área cubierta, la alineación y el movimiento ocular. Esta puntuación ayuda a los usuarios a evaluar la validez de los datos en cada examen. En nuestra opinión, esta tecnología tiene un gran potencial para documentar la progresión de la opacificación de cápsula anterior en estudios longitudinales, así como para estudios epidemiológicos y ensayos clínicos (Alberdi T, 2016). No fue el objetivo de este artículo sacar conclusiones sobre la medición de la opacificación de cápsula posterior, sin embargo, en nuestra opinión esta tecnología también tiene un gran potencial en la documentación de su progresión (Alberdi T, 2016).

2. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE DENSIDAD DE CÁPSULAS ANTERIORES y POSTERIORES PROPORCIONADOS POR LOS DOS DIFERENTES MÉTODOS DE DENSITOMETRÍA OCULUS PENTACAM® HR (ÁREA, LINEAL) Y EL PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL ÁREA DE CAPSULORREXIS.

La capsulorrexis en la cápsula anterior se contrajo rápidamente durante el primer mes después de la implantación de la lente intraocular acrílica seguido por una reducción progresiva más lenta en los 6 meses siguientes, tal como describieron Kimura W. et al. en 1998 después de un estudio de seguimiento de 6 meses (Kimura W et al., 1998). En ésta publicación se demostró que la OCA se establece en el primer mes postoperatorio y continúa durante 6 meses y luego cesa.

Sin embargo, nuestros datos muestran un aumento en los niveles de densitometría Scheimpflug de la cápsula anterior del sexto al duodécimo mes. Tabla 5 y Figura 9 del apartado “Resultados”. También se encontró un aumento en los niveles del porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis del sexto al duodécimo mes; Sin embargo las diferencias eran cada vez más pequeñas en las sucesivas visitas. Usando un modelo lineal general de medidas repetidas, encontramos en ambos casos que los cambios son estadísticamente significativos ($p > 0,005$) durante todo el período de examen. Tabla 6 de “Resultados”

A partir de la experiencia adquirida en nuestra práctica clínica diaria, consideramos que los métodos que se han venido empleando para cuantificar la OCA no reúnen los criterios de precisión adecuados, que permitan una reproducibilidad de los resultados o de exploraciones sucesivas.

Los métodos subjetivos de cuantificación clínica y los sistemas de clasificación fotográfica basados en lámparas de hendidura no han sido capaces de detectar este aumento. Sin embargo, mediante el nuevo software de densitometría Scheimpflug (Área y Lineal) del Nuevo Oculus Pentacam®HR, hemos sido capaces de detectar dicho incremento.

Los sistemas de clasificación fotográfica basados en fotos utilizando la lámpara de hendidura no discriminan entre el grado de opacidad en la cápsula anterior y el grado de opacidad de la cápsula posterior situada detrás del área de la cápsula anterior. Los sistemas de clasificación fotográfica basados en lámparas de hendidura son métodos subjetivos de cuantificación de la OCA que proporcionan valores ordinales cualitativos y por consiguiente no son sistemas de medición precisos para establecer una relación entre OCA y OCP (Alberdi T, 2016), (Sacu S, 2002).

Por contra, los niveles de densitometría de área y los niveles de densitometría lineal proporcionados por la cámara Scheimpflug son valores objetivos cuantitativos continuos y tienen un gran potencial para documentar aumentos en OCA en estudios longitudinales, así como en estudios epidemiológicos y ensayos clínicos.

Marcantonio y Vrensen en estudios de biología celular demostraron que las células epiteliales anteriores (células A) que recubren la cara interna de la cápsula anterior son probablemente importantes en la patogénesis de la OCA y la de la OCP fibrosa, ya que el tipo primario de respuesta de estas células es sufrir una transdiferenciación epitelio-mesenquimal o metaplasia miofibroblástica (TEM) (Marcantonio JM, 1999). En la actualidad existe un consenso general de que la proliferación y transdiferenciación de las células A desempeñan un papel fundamental en la patogénesis de la OCA y la patogénesis de la opacificación de la cápsula posterior fibrosa, además de la importancia de las células ecuatoriales (células E) en la patogénesis de la opacificación de la cápsula posterior proliferativa resultante de la proliferación de estas células y la formación de Perlas de Elschnig (Mamuya FA, 2014), (Viveiros MM, 2015).

Después de una revisión exhaustiva de la literatura, no se encontraron reportes de asociación entre la OCA y el desarrollo de fibrosis en cápsula posterior. Hayashi et al demostraron que no había correlación entre el tamaño de la zona de apertura de la cápsula anterior un año después de la cirugía y el grado de opacificación de cápsula anterior un año después de la cirugía (coeficiente de correlación de Pearson $[r] = 0.041$, $P = 0.79$) (Hayashi Y, 2004). En este trabajo se demostró que el porcentaje de

reducción en el área de apertura de la cápsula anterior del día de la cirugía a un año después de la cirugía no se correlacionó con el grado de fibrosis de cápsula posterior PCO del día de la cirugía a un año después de la cirugía ($r = -0,08$; $P = 0,60$) (Hayashi Y, 2004). En su opinión, la contracción de la apertura de la cápsula anterior y la fibrosis de la cápsula posterior después de la cirugía de catarata no pueden ser explicadas por un mecanismo común (Hayashi Y, 2004). En este estudio se calculó la densidad de la cápsula posterior utilizando la altura de pico de la densitometría axial en los cuatro meridianos (Hayashi Y, 2004). En nuestra opinión, la densitometría pico no es un método apropiado para la evaluación clínica de la opacificación de la cápsula anterior ni de la opacificación de la cápsula posterior (Alberdi et al., 2016). Por lo que nosotros hemos realizado este análisis mediante los métodos de densitometría Scheimpflug de área y lineal.

Dado que el desarrollo de fibrosis en cápsula anterior y posterior parecen compartir mecanismos similares, podría haber una correlación significativa entre los niveles de densitometría de cápsula anterior y posterior (Alberdi et al., 2016), (Hayashi Y, 2004).

En nuestra opinión la exactitud de los métodos utilizados hasta la fecha para cuantificar el grado de OCA y OCP son cuestionables. Una medición más precisa de éstas es esencial para entender la relación de ambos procesos (Alberdi et al., 2016), (Hayashi Y, 2004). En nuestro segundo estudio proponemos los métodos de densitometría de área y lineal Scheimpflug para medir la opacificación de la cápsula anterior y posterior para establecer una correlación entre ambos procesos. Sin embargo, a pesar de utilizar nuevos métodos de medición, en este segundo estudio preliminar no se encontró correlación entre los niveles de densidad de cápsulas posteriores proporcionados por los dos diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam® HR (área, lineal) y la reducción del área de apertura capsular anterior en el cambio de magnitudes entre el primer mes y el primer año. En este segundo estudio preliminar no encontramos tampoco correlación entre los valores de densitometría de

área y lineal de cápsulas anterior y posterior en el cambio de magnitudes entre el primer mes y los exámenes del primer año.

3. TÉCNICA QUIRÚRGICA

Con el ánimo de disminuir factores que favoreciesen la aparición de opacificación capsular hemos escogido en nuestro estudio el láser femtosegundo y la lente enVista^R

LÁSER FEMTOSEGUNDO.

En un reciente meta análisis se asocia la cirugía de catarata mediante láser femtosegundo con una reducción significativa en la energía de facoemulsificación promedio y del tiempo de facoemulsificación efectivo (Chen X, 2015). Múltiples estudios han documentado que la cirugía de catarata asistida por láser puede aumentar la precisión y la reproducibilidad de la capsulotomía anterior (Kránitz K, 2011), (Nagy ZZ, 2011), reducir el tiempo efectivo de facoemulsificación (Nagy ZZ, 2011), (Abell RG, 2013), causar menos inflamación postoperatoria en la cámara anterior (Abell RG 2013) y potencialmente disminuir la pérdida endotelial inducida por la cirugía en comparación con la cirugía convencional mediante facoemulsificación (Conrad-Hengerer I, 2013).

LENTE INTRAOCULAR

En todas las cirugías se ha introducido la misma lente intraocular la enVistaTM modelo MX60 que es una lente acrílica hidrofóbica. Las lentes acrílicas hidrófobas son las que menos opacidad capsular producen según múltiples estudios (Werner L, et al., 2001), (Tognetto D et al., 2003), (Hayashi K et al., 2005) (Werner L et al., 2000), (Park TK et al., 2002). La lente enVista^R presenta una óptica de 6 mm de diámetro y esta diseñada para disminuir la aparición de opacificación capsular por sus hápticos *step-vaulted* y su barrera de 360° de borde cuadrado para evitar la migración de células epiteliales (Miyata K et al., 2007). El tamaño de la CCC es de 5 mm por lo que se consigue una aposición de 1mm entre la periferia anterior de la LIO y la CCC que debido a la alta

adhesibilidad de las lentes acrílicas hidrofóbicas (Oshinka T et al., 1998) impiden la migración de las CEAC y disminuye los niveles de OCP. Tanaka et al., en 2004, demuestran que el material de la lente intraocular influye significativamente en las mediciones de densitometría por la dispersión de luz que se produce en cada tipo de lente intraocular utilizando el sistema de videofotografía Scheimpflug y es debido a esto que nosotros en este estudio hemos utilizado siempre la misma lente enVista™ en todos los casos para evitar sesgos debidos a diferentes grados de reflexión de luz en caso de utilizar diferentes tipos de lentes (Keiichiro Minami, 2015), (Tanaka Y, 2004), (Hayashi K, 1998), (Hayashi H, 1998).

SELECCIÓN DE PACIENTES

En éste estudio hemos excluido a los pacientes con enfermedades que predispongan a la opacificación capsular y también hemos excluido a los pacientes de edad inferior a 65 años ya que la juventud es un factor de riesgo muy importante para la opacificación de la cápsula posterior.

Se excluyen por tanto los pacientes con enfermedades admitidas como factores de riesgo para desarrollar opacificación de cápsula anterior, que serían:

La Pseudoexfoliación, (Hayashi H, 1998), Retinosis pigmentosa (Hayashi K, 1998), Diabetes (Hayashi Y,2004), Uveítis, Miopia Magna, Distrofia Miotónica (Hansen SO, 1993).

Los factores de riesgo que predisponen a la opacificación de la cápsula posterior serían: la juventud y la pseudoexfoliación (Miyata K, 2007).

Ambos tipos de opacidad capsular son más frecuentes en pacientes con enfermedades asociadas a rotura de barrera hemato-acuosa previa a la cirugía, (pseudoexfoliación, uveítis, catarata traumática, vitrectomía...), por lo que estos enfermos fueron excluidos del estudio.

Evitando estos pacientes se pretende minimizar los sesgos en el análisis de resultados de la correlación de niveles de densitometría de OCA y OCP con niveles de expresión

de mRNA en las CEAC de la siguientes dianas rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFBR1, rTGFBR3, rACTA2, rCTNNB1, rGJA1, rSPRY2, rTJP1.

4. CORRELACIÓN DE DENSITOMETRÍA DE OCA y OCP CON NIVELES DE EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA TRANSICIÓN EPITELIO-MESEMQUIMAL EN LAS CEAC.

En nuestro estudio hemos analizado la correlación entre los valores de densitometría de las cápsulas anterior y posterior así como lo valores en las sucesivas visitas del postoperatorio de cirugía de catarata por femtofacemulsificación medidas mediante el software de densitometría de área del Oculus Pentacam®HR con los niveles de expresión de un grupo de mRNA en las CEAC que se extraen tras la capsulotomía guiada por láser femtosegundo el día de la intervención de cataratas.

Además hemos analizado la correlación entre los valores del porcentaje de reducción del área de capsulorrexis guiada por femtofacemulsificación que expresarían la retracción de la cápsula anterior con los niveles de expresión de un grupo mRNA en las CEAC que se extraen tras capsulotomía mediada por laser femtosegundo el día de la intervención de cataratas.

Para la selección de genes nos basamos en el papel de una serie de citoquinas que se han visto implicadas en el proceso de transición epitelio-mesenquimal en general y genes implicados de manera más específica con la opacificación capsular posterior. Partimos de la hipótesis de que ciertos genes habitualmente no expresados en células del epitelio del cristalino, o con niveles indetectables de expresión, modificaran sus niveles de expresión en las muestras de pacientes que meses después mostrarían signos de OCP, con respecto de aquellos pacientes sin signos de OCP, o con una progresión significativamente más ralentizada de ésta.

Para llevar a cabo el presente trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva de aquellas moléculas ampliamente relacionadas con el proceso de opacificación capsular, con el objeto de buscar marcadores candidatos que pudieran servir como biomarcadores de prognosis de la OCA y OCP. A pesar de ello, nuestro estudio no ha permitido establecer ninguna correlación entre los niveles de expresión de mRNA de las dianas analizadas en las células epiteliales anteriores del cristalino ni con los valores de densitometría de área de las cápsulas anterior y posterior ni con la reducción del área de capsulorrexis en las sucesivas visitas del postoperatorio de cirugía.

Hay varias causas que pueden estar detrás de esta falta de correlación.

Por un lado, en el presente trabajo, hemos realizado un análisis de únicamente 10 candidatos. Esto fue debido a la limitada cantidad de tejido de partida, ya que se trata de una monocapa de células epiteliales en un área de unos 20 mm² (área de la capsulotomía guiada por láser femtosegundo en este estudio) del que se obtiene una cantidad de mRNA de entorno a 120 nanogramos de RNA total, que únicamente nos permitió el estudio de unas 15 dianas moleculares, incluyendo los genes endógenos utilizados como normalizadores de la expresión. De estas 15 potenciales dianas, se excluyeron 3 genes normalizadores que mostraron menor estabilidad de expresión entre las distintas muestras, con respecto de los 3 finalmente seleccionados como genes normalizadores y 2 genes que han sido relacionados con el proceso de transición epitelio-mesenquimal como son el TGFBR2 y el FSP1, ya que no mostraron niveles de expresión suficientes que permitieran un análisis comparativo en nuestro tejido.

En relación con la limitación del número de dianas analizado en el presente trabajo, recientemente se han comercializado un sistema de *arrays* (Clarion, Affimetrix) que permiten el análisis de todo el transcriptoma a partir de cantidades de muestra muy reducidas (desde 0,5 nanogramos) ya que se basan en un paso de pre-amplificación del mRNA. Desafortunadamente dichos *arrays* no estaban disponibles en el momento

en que realizamos nuestro análisis, pero podrán ser utilizados en futuros estudios para buscar biomarcadores candidatos en más de 22.000 genes/muestra analizada, partiendo de la misma cantidad de células que en el presente trabajo.

Otra de las posibles causas de nuestro resultado negativo puede estar relacionado con el reducido tamaño del material analizado, que fue empleado en su totalidad para la extracción de mRNA, y no pudimos por tanto analizar la expresión a nivel de proteína.

En un trabajo publicado recientemente por nuestro grupo, describimos diferencias en los niveles de expresión de la aquaporina 1 a nivel de proteína en CECs procedentes de pacientes operados de catarata, con respecto de CECs obtenidas de cristalinos transparentes, procedentes de cirugía refractiva (Barandika et al. 2016).



Increased aquaporin 1 and 5 membrane expression in the lens epithelium of cataract patients



Olatz Barandika BSc^{a,1}, Maitane Ezquerro-Inchausti BSc^{a,1}, Ander Anasagasti BPharm^a, Aina Vallejo-Illarramendi PhD^a, Irantzu Larena^b, Lucia Bascaran MD^c, Txomin Alberdi MD^c, Giacomo De Benedetti MD^d, Javier Mendicuti MD, PhD^c, Javier Ruiz-Ederra PhD^{a,*}

Biochim Biophys Acta. 2016 Oct;1862(10):2015-21.doi:10.1016/j.bbadis.2016.08.001.

En dicho trabajo realizado también en el Instituto Biodonostia se empleó la misma metodología, tanto quirúrgica, como de envío de muestras quirúrgicas y de aislamiento y análisis de la expresión del mRNA en cápsulas anteriores, que en la presente tesis y las diferencias observadas a nivel de proteína no se vieron reflejadas a nivel de mRNA, donde, a pesar de observar cierta tendencia a unos mayores niveles de expresión de aquaporina1 en muestras de catarata, estas solo fueron estadísticamente significativas a nivel de proteína, pero no de mRNA (Barandika O et al., 2016). Es posible que, de forma similar a lo descrito en dicho estudio, los niveles de mRNA no mostraron diferencias significativas entre los distintos grupos analizados respecto a los

controles debido, al menos en parte, a que la regulación de los niveles de expresión de los marcadores analizados estén siendo probablemente regulados a nivel postraduccional, ya sea aumentando la síntesis de proteínas y/o inhibiendo su degradación. Con relación a esto, hay numerosos trabajos que muestran alteraciones en la ubiquitinación y en la estabilidad de diversas proteínas, como mecanismos que aumentan la estabilidad de las mismas. Se ha propuesto que la reducción de la ubiquitinación y el aumento de la estabilidad de la proteína en ciertas condiciones de estrés actúa para facilitar la preservación de ciertas proteínas en un momento en que la presión general sobre la célula es reducir la maquinaria de síntesis proteica (Barandika O, 2016).

Debido a que la metodología empleada para la extracción de mRNA fue incompatible con la extracción de microRNA, tampoco pudimos incluir en el análisis a este grupo de RNAs de pequeño tamaño y que en los últimos años se ha propuesto que juegan un papel como moduladores de la TEM (Wang Y, 2013), (Hoffmann A, 2012). La expresión diferencial de miRNAs a menudo se asocia con trastornos fisiopatológicos. Por lo tanto la OCP es probable que esté regulada por miRNAs (Hoffmann A, 2012). Para futuras ampliaciones de este estudio consideramos de interés la búsqueda e identificación de miRNAs que se expresen diferencialmente entre muestras de cápsulas no opacificadas y cápsulas opacificadas que pudieran ayudar a identificar miRNAs que estén involucrados en la opacificación cápsular y establecer la base para desentrañar sus roles patogénicos. Existe un número creciente de trabajos que apoyan el potencial de los microRNAs como biomarcadores de la prognosis (Karali M, 2017), (Wang FE, 2010), (Dong N, 2015) o incluso con potencial terapéutico, como es el caso del miR-204-5p, cuya modulación en la sobreexpresión se ha asociado a una preservación del fenotipo epitelial (Wang FE, 2010) y establecieron una correlación entre los niveles de expresión de miR-204 y el grado de opacificación de la cápsula en tejido humano (Wang Y, 2013) y murino, en el que además del miR-204 implicaron al miR-184 en este proceso (Hoffmann A, 2012).

Además de la búsqueda de biomarcadores , este estudio surgió de la necesidad de realizar estudios en tejido humano ya que es probable que las citoquinas y los factores de crecimiento pueden tener diferentes efectos en los animales que en los humanos y consideramos, por tanto necesario avanzar en la investigación usando modelos humanos (Bito LZ, 1984), (Barandika, 2016). Sobre este tema, se han realizado, eso sí, varios estudios *in vivo* analizando humor acuoso en conejos (Wallentin N et al., 1998), y también en humanos (Chen H, 2015) tras aspiraciones de humor acuoso en días posteriores a la cirugía de catarata.

Otro valor añadido de nuestro estudio es que hemos analizado los niveles de mRNA de las dianas en las propias células epiteliales del cristalino al ser extraídas en la cirugía de cataratas tras la capsulotomía guiada por láser femtosegundo. Tras revisar la literatura hasta la fecha hemos constatado que los estudios que se han realizado en células epiteliales de humanos para estudiar en ellos la opacificación capsular se han realizado mayormente en modelos de líneas de CEC humanos cultivados (Bao X-L et al., 2012).

La elección de las dianas analizadas están basadas en el conocimiento de las vías de señalización que intervienen en la opacidad capsular según estudios realizados sobre todo en modelos animales e *in vitro*.

Tras la cirugía de catarata una serie de vías de señalización paralelas y convergentes que conducen a los diferentes fenotipos de transdiferenciación miofibroblástica o transdiferenciación epitelio-mesenquimal (TEM) que se dan en la opacificación capsular se activan en las células epiteliales anteriores y ecuatoriales del cristalino, principalmente la vía de señalización del TGF- β /SMAD. Además se acepta que otras varias rutas de señalización que están implicadas en la TEM se activan también tras la cirugía de catarata como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-II), el

factor de crecimiento hepatocítico (HGF) (Tognetto, 2003), (Reyntjens, 2004), (Kruger, 2001).

Es aceptado que la vía de señalización TGF- β /SMAD es la vía central de señalización o vía canónica en la patología fibrótica asociada a la opacidad capsular, en ella las Smad2, Smad3 y Smad4 son componentes principales en la cascada de señalización. (Miyamoto T et al., 2002), (Medvedovic M, 2006), (Saika S, 2001). Además, el TGF- β puede activar la vía de señalización de la familia de las quinasas como las reguladas por señal extracelular/quinasa de adhesión focal (SFK / FAK) (Walker JL, 2007), la vía de señalización de la proteasoma ubiquitina (Awasthi N, 2008), la cascada TAK1/p38, la cascada TAK1/JNK/JUN, la Cascada RAS/RAF/MEK/ERK, la cascada Rho-like GTPasa/ROCK y la Jagged / Notch como vías no canónicas para inducir la TEM (Derynck R, 2003), (Massague J, 1998), (Chen XF, 2012), (Zhang YE, 2009).

Como ya hemos señalado anteriormente la vía de señalización TGF- β /SMAD es la vía central o canónica en la patología fibrótica de la opacificación capsular (Dawes LJ, 2009). Hay tres isoformas de TGF- β en los mamíferos.

Hay tres isoformas de TGF- β en los mamíferos. TGF- β 2 es la forma principal en el humor acuoso, y se regula significativamente al alza después de la cirugía y durante la inflamación. Es por ello que distintos autores consideran la inhibición de la TEM inducida por TGF- β 2 como una estrategia terapéutica prometedora (Lovicu FJ, 2002), (Sun CB 2014). Estos resultados son en medidas de TGF- β 2 obtenidas en humor acuoso. En nuestro estudio hemos realizado el análisis de los niveles de expresión de mRNA de rTGF- β 2 en las células de CEAC. Sin embargo, en contra de lo esperado, no hemos detectado niveles suficientes de expresión de mRNA de esta diana para incluirlo en el estudio en ninguna de las 68 muestras de cápsula anterior analizadas.

Dentro de vía de señalización TGF- β /SMAD, a su vez los Smad4, Smad3 y Smad2 son componentes principales en su cascada de señalización.

En estudios anteriores al nuestro, esta demostrada la presencia de muchas moléculas implicadas en el desarrollo de TEM en las CEAC. Así Shigemitsu T. y colaboradores

demonstraron en 1999, la presencia de las siguientes sustancias en las CEACH recogidas en el momento de la cirugía de catarata: EGF-R, EGF, FGF, FGF-R, TGF- β , TGF- β -RII, IGF-II, IL-6, IL-1-RII, PGE2, TNF- α , fibronectina, laminina, queratina y colágeno tipo IV. Estos resultados demuestran que existen muchos tipos de moléculas y proteínas implicados en procesos de señalización que favorecen la TEM y la aparición de opacificación capsular (Shigemitsu T et al., 1999). Además demostraron que las siguientes moléculas señalizadoras estaban presentes en la fibrosis capsular posterior y anterior de la catarata secundaria: FGF, FGF-R, TGF- β , TGF- β -RII, EGF, EGF-R, IGF-II, PDGF-AB, PAI-1, IL-6, IL-1RII, TNF- α , PGE2, α -SMA, queratina, fibronectina, laminina, colágeno de tipo I, colágeno de tipo II y VI.

Sabiendo de la existencia de todas estas moléculas señalizadoras en las células epiteliales anteriores del cristalino y teniendo en cuenta el papel que estas desempeñan en el proceso de OCP, elegimos una serie de moléculas señalizadoras candidatas para nuestro estudio, que se vio reducido a 10 dianas por limitaciones técnicas, según se ha descrito anteriormente. De manera que en el estudio se hizo un análisis comparativo de los niveles de expresión a nivel de mRNA de los siguientes genes: rSMAD2, sSMAD3, rSMAD4, rTGFB1, rTGFB3, rACTA2, rCTNB1, rGJA1, rSPRY2 y rTJP1.

Para explicar este resultado negativo hemos sugerido anteriormente que quizá sea necesario analizar otros genes no incluidos en el presente trabajo, o realizar un análisis de expresión a nivel de proteína, o que quizá otros elementos reguladores como los microRNAs, no analizados en el presente trabajo, pudieran estar participando en el proceso.

Está aceptado que las cascada de señalización mediada por Smads son ampliamente consideradas como centrales para la transducción de las señales del TGF- β y han sido implicadas en numerosas enfermedades fibróticas (Flanders K., 2004). Sin embargo, hay una creciente evidencia de que el TGF- β puede activar vías independientes de la cascada Smad (Derynck R, 2003) que pudieran explicar la falta de correlación en los

resultados al analizar dianas de la vía canónica del TGF-beta como los rSMAD2, sSMAD3 y rSMAD4. Hay crecientes evidencias obtenidas en los últimos años que sugieren que el TGF- β puede señalizar vías alternativas (no Smad) que pueden interactuar con la cascada de señalización Smad o ser independiente de ella (Derynck R., 2003).

Dawes LJ, en 2017 observó que en la regulación del gen de la fibronectina, la expresión parecía ser dependiente de Smad4. Pero demostraron también que el TGF- β presenta una regulación independiente de Smad4 para la fibronectina. Esto demostró, la interacción de vías dependientes e independientes de Smad4 en la regulación de la expresión de fibronectina en células FHL 124. Esto hace que el estudio de la TEM en la opacificación cápsular sea mas complicado de lo que inicialmente se pensaba ya que interactúan diferentes factores de crecimiento, diferentes citoquinas y múltiples cascadas de señalización (Dawes LJ, 2017).

En nuestro estudio hemos medido el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis que se realizó intraoperatoriamente guiada por láser femtosegundo que expresan la retracción de la cápsula anterior. Nos interesaba comparar estos valores con niveles de mRNA dianas relacionados con la contracción de la matriz extracelular presentes en las CEAC que extrajimos tras capsulotomía guiada por láser femtosegundo el día de la intervención de cataratas. En este estudio hemos elegido la medición de los niveles de expresión de mRNA de rACTA2, ya que el *α -smooth muscle actin* o α -SMA esta codificado por el gen ACTA2.

Una explicación de que no encontráramos correlación entre el análisis de contracción de CCC y la expresión de dianas de la vía de señalización TGF- β /SMAD es que existen evidencias que sugieren que además de la vía canónica TGF- β /SMAD también las vías de señalización independientes de Smad pueden regular la contracción de la matriz. Por ejemplo, las vías no Smad de la cascada Rho, la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina (MLCPPase) y la quinasa de la cadena ligera de la miosina (Borbiev T, 2004), (Petrich BG, 2004).

Según la literatura una de las principales vías moleculares involucradas en la inducción de TEM junto a la vía de señalización TGF- β /Smad es la vía de señalización Wnt / β -catenina. (Guarino M, 2009).

La vía Wnt/ β -catenina ejerce un control notable sobre la proliferación celular, diferenciación, invasión y adhesión. (Nelson WJ, 2004), (Tan CW, 2012). En este estudio hemos elegido la medición de los niveles de rCTNNB1 ya que este gen promueve la formación de beta-catenina.

La pérdida de E-cadherina se considera un evento fundamental en el desarrollo de la TEM (Yang J, 2008). En un estudio, Bao X-L et al. demostraron que la sobreexpresión de Wnt3a dio como resultado una regulación negativa de E-cadherin y una regulación positiva de fibronectina en las CECHs (Bao X-L et al., 2012). Según los mismos autores, la formación de la opacificación capsular del cristalino es un proceso complicado que se modula por múltiples caminos de señalización, por lo que la elección de dianas terapéuticas no es tan sencillo como se creía hace unos años. (Bao X-L et al., 2012).

Existen otras conocidas proteínas que desarrollan un papel importante en el control de la motilidad y de la polaridad de la célula. En este estudio hemos elegido la medición de los niveles de rGJA1 ya que este gen promueve la formación de Gap junction alpha-1 protein (GJA1), también conocida como conexina 43 (Cx43). Además la GJA1 es la conexina más expresada de manera ubicua y se detecta en la mayoría de los tipos de células (Chevallier D, 2013). Además, los efectos citoprotectores de esta proteína pueden promover la supervivencia de células tumorales en tratamientos con radioterapia, mientras que silenciar su gen aumenta la radiosensibilidad. Como resultado, GJA1 puede servir como un agente terapéutico para mejorar el éxito del tratamiento radioterapéutico del cáncer. Como biomarcador, GJA1 también podría usarse para detectar el riesgo de cáncer de testículo en varones jóvenes. (Chevallier D, 2013). Es por estas razones por las que hemos elegido este gen para el estudio.

Existen también otras importantes moléculas involucradas en las cascadas de señalización de factores de crecimiento, los factores de la familia SPRY que juegan un papel importante en la migración celular y la diferenciación celular. Por su importancia en la literatura en estudios en animales y en estudios *in vitro*, los hemos elegido como dianas en este estudio. Se trata de los SPRY. Múltiples estudios destacan la importancia de Spry2 en el desarrollo de la cataratogénesis y formación de la opacificación capsular secundaria en ratones (Tan X, 2016). Hasta la fecha, se han identificado cuatro miembros mamíferos de Spry (Spry1-4). De ellos, Spry2 es la principal isoforma expresada en ratones maduros en las células del cristalino (Boros J, 2006). Es por esta razón por la que en este estudio hemos elegido la medición de los niveles de rSPRY2.

Se demostró que esta coexpresión de TGF- β y Spry1 promueve la transparencia de la lente, y el TGF β no estimula ninguna TEM o catarata en estos ratones (Shin et al., 2012), (Shin et al., 2015).

El Spry2 participa en fibrosis inducida por TGF β . De acuerdo con esto, Spry parece tener una relación inversa con TGF- β . Tan X et al., en 2016 abordan el papel regulador de Spry2 en la TEM inducida por TGF- β en células epiteliales del cristalino humano. Sus resultados demuestran que Spry2 suprime la TEM de CECH inhibiendo tanto la vía de Smad canónica como la ruta de ERK1 / 2 no canónica, lo que sugiere que Spry2 puede ser potencialmente una diana clave para la modulación de TEM inducida por TGF β en LEC humanos (Tan X, 2016).

En este estudio hemos elegido la medición de los niveles de rTJP1 (Lee SH, 2015). La Proteína de unión estrecha ZO-1- o Tight junction protein ZO-1 o *Zonula occludens protein 1*, en humanos está codificada por el gen TJP1. Este gen juega un papel importante en la regulación de la migración celular tan importante en la TEM.

Lee SH demostraron en 2015 que el TJP1 aumentó en respuesta a TGF- β a través de vías dependientes de Smad y de vías independientes de smad, y que contribuyó a la motilidad celular y migración en las células del cáncer de pulmón (Lee SH, 2015)

Lo comentado hasta ahora analiza lo complejo de los mecanismos que llevan a la TEM y la Opacificación capsular. Además, dado que la cirugía de cataratas causa un aumento transitorio de la inflamación postoperatoria, los efectos desencadenantes de los mediadores inflamatorios, como IL-1 e IL-6, pueden tener un efecto estimulante temprano en la formación de OCP. Sin embargo, no ha habido evidencia concluyente de que un antiinflamatorio, como el diclofenaco, sea beneficioso en prevenir opacificación capsular (Meacock WR, et al., 2000).

Para nuestro estudio elegimos la cirugía de catarata mediante femtofacoemulsificación para disminuir el impacto de la inflamación postquirúrgica en la aparición de la OCA y OCP. Chen H y colaboradores en 2015 encontraron que la IL-1ra y la IL-18 aumentaron significativamente en muestras de humor acuoso en pacientes intervenidos de cataratas mediante láser de femtosegundo en comparación con el grupo facoemulsificación manual convencional (Chen H, 2015). La IL-1ra es un citoquina antiinflamatoria natural que sirve como un modulador de las respuestas inmunes mediante la regulación de los efectos inflamatorios de la IL-1 (Arend WP, 1998).

Por lo tanto, la expresión significativamente más alta de IL-1ra en los humores acuosos de pacientes con láser de femtosegundo en el pretratamiento puede aumentar la inhibición de la señalización de IL-1 y hacer que los ojos sean menos susceptibles a la inflamación y a sus complicaciones relacionadas, como el síndrome de contracción capsular.

La cirugía de cataratas esta asociada con un mayor riesgo de formación y progresión de DMAE, el aumento en el nivel de IL-18 observado en el grupo de Femtofaco puede tener un papel en la protección de la AMD después de la cirugía de cataratas (Chew EY, 2009).

Con la llegada de kits que permiten analizar gran numero de dianas a partir de una muestra pequeña de cápsula anterior, nos permitirá en posteriores estudios incluir también a las Interleuquinas.

También podremos incluir componentes de matriz extracelular, metaloproteasas, integrinas y moléculas de adhesión celular. Se admite que un aspecto importante en la respuesta hacia la curación de las heridas es la producción de matriz extracelular por las CECs. El TGF-beta ha demostrado que regula la expresión de ciertos componentes de la matriz extracelular incluyendo proteoglicanos, fibronectina, y colágeno, así como los receptores de la superficie celular que se unen a las proteínas matriciales TGF-beta aumentó la expresión de condroitina y dermatán sulfato en fibroblastos hasta 20 veces (Bassols A, 1998).

En la opacidad capsular, el colágeno de la matriz extracelular es secretado por las células epiteliales (anteriores y ecuatoriales) y TGF-beta aumenta su secreción (Nishi O, 1996).

El balance en la matriz extracelular está determinada por el saldo entre las enzimas de degradación de la matriz extracelular, las metaloproteasas de la matriz (MMP), y los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz (TIMPs) que los suprimen. Las principales MMP incluyen: MMP-1 (colagenasa), MMP-2 (gelatinasa A), MMP-3 (estromelisina-1) y MMP-9 (gelatinasa B) .

La hiperplasia de las células epiteliales del cristalino depende de la unión firme a los componentes de la cápsula posterior. La adhesión celular está mediada por un conjunto de receptores de superficie celular llamados integrinas, que son también regulados por TGF-beta1. Las integrinas son una familia de glucoproteínas de membrana que interactúan con la actina y logran así unir la matriz extracelular con el citoesqueleto.

Las células epiteliales cristalinas humanas expresan integrina beta1 y otras moléculas de adhesión celular (CAM) como la I-CAM 1 (*intercelular adhesión molecul* 1) y CD44 (Hynes RO, 1987).

Las placas recubiertas con colágeno IV/laminina se inhibieron mediante la adición de anticuerpos monoclonales contra CAM que indican que las CEC utilizan los CAM para unirse a la laminina y colágeno IV. Como la laminina y el colágeno IV son los principales componentes de la cápsula del cristalino que promueven la adhesión de las CECs (Olivero DK, 1993) es probable que in vivo las CAM también sirvan para unir las células epiteliales a la cápsula.

Los estudios con Kits que permitan analizar numerosas dianas a la vez en nuestras pequeñas capsular nos permitirán a su vez analizar diversos factores de crecimiento diferentes al TGF- β .

Un estudio realizado por Chen H en 2015 investigó los perfiles de citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento liberados después de pretratamiento con láser de femtosegundo y para evaluar el grado de inflamación postoperatoria (Chen H, 2015). Comparado con el grupo manual, el grupo de tratamiento con láser de femtosegundo mostró niveles significativamente más altos en humor acuoso de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2), factor de necrosis tumoral (TNF) $-\alpha$, factor inhibidor de la leucemia (LIF), interleucina IL-1ra y IL-18, y niveles significativamente menores en humor acuoso de IL-9, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) -BB, eotaxina y TNF- β . (Chen H, 2015)

Se sabe que el FGF-2 juega un papel importante en la proliferación, la migración y la TEM de CEC normales (Tanaka T, 2004), pudiendo así contribuir a la OCP.

Inmediatamente después de la cirugía, la bajada de los niveles de TGF- β activo pueden permitir que el b-FGF estimule la proliferación de células epiteliales de la cápsula cristaliniiana (Meacock WR, et al., 2000). Cuando el TGF-beta activo vuelve a los niveles normales, aproximadamente 15 días tras la intervención de cataratas sirve como señal de parada para la proliferación pero, simultáneamente, como un estímulo para los otros cambios característicos de la opacificación capsular, como la TEM y la formación de matriz extracelular. Estudios histológicos han demostrado, sin embargo,

que estos eventos ocurren dentro de la primera semana postoperatoria, lo que indica que otras citoquinas deben estar involucradas (Meacock WR, et al., 2000).

Se ha demostrado que el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) se asocia con el desarrollo de OCP. Los niveles elevados de estas citoquinas y factores de crecimiento en el humor acuoso en la fase temprana después de la cirugía de cataratas podrían inducir proliferación, migración y TEM de las CECs en esta primera fase (Meacock WR, 2000). La expresión del gen TNF- α en CEC se encontró en las muestras de cápsulas anteriores extraídas tras la cirugía de cataratas y se cree que pueden inducir inflamación postoperatoria y proliferación de CEC (Prada J, 2000).

Comparado con el grupo manual, el grupo de tratamiento con láser de femtosegundo mostró niveles significativamente más altos en humor acuoso de factor inhibidor de la leucemia (LIF) (Chen H, 2015). Se demostró que el LIF ejerce respuestas regenerativas, proliferativas y también puede promover la proliferación celular (Cafferty WB, 2001).

De igual importancia, otras citoquinas inflamatorias, como el TNF- β , eotaxina y PDGF-BB, también disminuyeron en pacientes con tratamiento con láser de femtosegundo (Chen H, 2015). TNF- β está involucrado en la mediación de reacciones inflamatorias y función endotelial (Cheng X, 2014).

CONCLUSIONES

1. De los 12 genes analizados en el presente trabajo, se han detectado 10 con expresión robusta en todas las muestras analizadas.
2. Los genes con una mayor proporción relativa de expresión han sido los genes GJA1, TJP1 y SPRY2, representando en su conjunto un 70% de la expresión de los 10 genes analizados.
3. Las medidas de opacificación de las cápsulas anterior y posterior así como la retracción de la capsulorrexis funcionan como variables independientes.
4. Las medidas proporcionadas por las densitometrías de área y lineal del dispositivo Scheimpflug son valores objetivos, cuantitativos, continuos.
5. Los valores de la opacificación de la cápsula anterior obtenidos por densitometría de área y densitometría lineal mediante el sistema Scheimpflug están fuertemente correlacionados con las mediciones obtenidas mediante la clasificación subjetiva de Werner.
6. La densitometría de área mediante el sistema Scheimpflug tiene potencial para documentar la progresión de la opacificación capsular en estudios longitudinales, por tratarse de un método de medición objetivo.
7. Nuestros datos muestran un aumento marcado en los niveles de densitometría Scheimpflug de la cápsula anterior del sexto al duodécimo mes.
8. La retracción de la capsulorrexis presenta una progresión muy débil a partir del 6º mes.
9. Los valores de la retracción de la capsulorrexis, la opacificación de la cápsula anterior y la opacificación de la cápsula posterior funcionan como variables independientes entre sí.
10. No se ha podido establecer una correlación entre el grado de expresión de los 10 genes analizados y los distintos parámetros de progresión de opacificación ni retracción de las cápsulas procedentes de cirugía de catarata tras un año de seguimiento.

ANEXO 1

BIBLIOGRAFIA

Abell RG, Allen PL, Vote BJ. Anterior chamber flare after femtosecond laser-assisted cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2013;39(9):1321-6.

Abell RG, Kerr NM, Vote BJ. Femtosecond laser-assisted cataract surgery compared with conventional cataract surgery. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2013;41(5):455-62

Alberdi T, Mendicute J, Bascarán L, Goñi N, Barandika O, Ruiz-Ederra J. Anterior capsule opacification after femtosecond laser-assisted cataract surgery: Clinical classification versus Scheimpflug device densitometry values. *J Cataract Refract Surg.* 2016;42(6):826-32. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.03.037.

Alberdi T, Mendicute J, Bascarán L, Juaristi L, Ruiz-Ederra J. Role of Scheimpflug Imaging in the Diagnosis of Intraocular Lens damage after Foldable Lens Implant: Case Report. *Int J Ophthalmol Clin Res* 2017;4:72. DOI: 10.23937/2378-346X/1410072

Apple DJ, Salomon KD, Tezt MR, Assia EI, Holland EY, Legler UF, et al. Posterior capsule opacification. *Surv Ophthalmol* 1992;37:73-116.

Apple DJ, Peng Q, Visessook N, Werner L, Pandey SK, Escobar-Gomez M, Ram J. Eradication of posterior capsule opacification. Documentation of a marked decrease in Nd:YAG laser posterior capsulotomy rates noted in an analysis of 5416 pseudophakic human eyes obtained postmortem. *Ophthalmology* 2001;108:505-518.

Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, Gabay C. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annurev-immunol.* 1998;16:27-55.

Aslam TM, Dhillon B Werghi N, Taguri A, Wadood A. Systems of analysis of posterior capsule opacification. *Br J Ophthalmol* 2002;86:1181-1186.

Aslam TM, Patton N, Dhillon B: Assessment of systems of analyzing PCO. *J Cataract Refract Surg.* 2005;31:1270-1271.

Aslam TM, Patton N, Rose ChJ. OSCA: a comprehensive open-access system of analysis of posterior capsular opacification. *BMC Ophthalmology* 2006;6:30

Auffarth, Reddy KP, Ritter R, Holzer MP, Babsilver TM. Comparison of the maximum applicable stretch force after femtosecond laser-assisted and manual anterior capsulotomy. *J Cataract Refract Surg* 2013;39:105-109.

Auffarth GU, Nimsgern C, Tetz MR, Krastel H, Völcker HE. Increased cataract rate

and characteristics of Nd:YAG laser capsulotomy in retinitis pigmentosa. *Ophthalmologie*. 1997;94(11):791-5.

Awasthi N, Wang-Su ST, Wagner BJ. Downregulation of MMP-2 and -9 by proteasome inhibition: a possible mechanism to decrease LEC migration and prevent posterior capsular opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:1998–2003.

Barandika O, Ezquerro-Inchausti M, Anasagasti A, Vallejo-Illarramendi A, Llarena I, Bascaran L, Alberdi T, De Benedetti G, Mendicute J, Ruiz-Ederra J. Increased aquaporin 1 and 5 membrane expression in the lens epithelium of cataract patients. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(10):2015-21. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.08.001. Epub 2016 Aug 4.

Bassols A, Massague J. Transforming growth factor beta regulates the expression and structure of extracellular matrix chondroitin/dermatan sulfate proteoglycans. *J Biol Chem* 1988;263:3039–45.

Baumeister M, Neidhardt B, Strobel J, Kohnen T. Tilt and decentration of three-piece foldable high-refractive silicone and hydrophobic acrylic intraocular lenses with 6-mm optics in an intra-individual comparison. *Am. J. Ophthalmol*. 2005;140(6):105.

Baumgartner A, Hitzemberger CK, Sattmann H, Drexler W, Fercher AF. Signal and resolution enhancements in dual beam optical coherence tomography of the human eye. *J Biomed Opt*. 1998;3(1):45-54.

Bao X-L, Song H, Chen Z, Tang X. Wnt3a promotes epithelial–mesenchymal transition, migration, and proliferation of lens epithelial cells. *Mol Vis* 2012;18:1983–1990.

Bender L, Spalton DJ, Uyanonvara B, Boyce J, Heatley C, Jose R, Khan J. POComan: New system for quantifying posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:2058-2063

Bito LZ. Species differences in the responses of the eye to irritation and trauma: a hypothesis of divergence in ocular defense mechanisms, and the choice of experimental animals for eye research. [Review] [103 refs] *Exp Eye Res* 1984;39:807–29.

Borbiev T, Birukova A, Liu F, et al. p38 MAP kinase-dependent regulation of endothelial cell permeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;287:911–918.

Boros J, Newitt P, Wang Q, McAvoy JW, Lovicu FJ. Sef and Sprouty expression in the developing ocular lens: implications for regulating lens cell proliferation and differentiation. *Semin. Cell Dev. Biol*. 2006;17:741–52.

Boyce JF, Bhermi GS, Spalton DJ, et al. Mathematical modeling of the forces between an intraocular lens and the capsule. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28(10):1853-9.

Buckley EG, Klombers LA, Seaber JH, *et al.* Management of the posterior capsule during pediatric intraocular lens implantation. *Am J Ophthalmol* 1993;115:722–8.

Cafferty WB, Gardiner NJ, Gavazzi I, Powell J, McMahon SB, Heath JK, *et al.* Leukemia inhibitory factor determines the growth status of injured adult sensory neurons. *J Neurosci* 2001;21(18):7161–70.

Chandler HL, Barden CA, Lu P, Kusewitt DF, Colitz CMH. Prevention of posterior capsular opacification through cyclooxygenase-2 inhibition. *Mol Vis.* 2007;30;13:677-91. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17563718>

Chen, X, Xiao W, Ye S, Chen W, Yizhi L. Efficacy and safety of femtosecond laser-assisted cataract surgery versus conventional phacoemulsification for cataract: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci. Rep.* 2015;5:13123; doi: 10.1038/srep13123

Chen H, Lin H, Zheng D, Liu Y, Cheng H. Expression of Cytokines, Chemokines and Growth Factors in Patients Undergoing Cataract Surgery with Femtosecond Laser Pretreatment. *Plos One* 2015; 2;10(9):e0137227. doi: 10.1371/journal.pone.0137227.

Cheng X, Shen Y, Li R. Targeting TNF: a therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Drug discov today.* 2014;19(11):1822–7. pmid:24998784.

Chen XF, Zhang HJ, Wang HB, Zhu J, Zhou WY, Zhang H, *et al.* Transforming growth factor-beta1 induces epithelial-to-mesenchymal transition in human lung cancer cells via PI3K/Akt and MEK/Erk1/2 signaling pathways. *Mol Biol Rep.* 2012;39:3549–56. doi: 10.1007/s11033-011-1128-0 PMID: 21713404.

Chevallier D, Carette D, Segretain D, Gilleron J, Pointis G. "Connexin 43 a check-point component of cell proliferation implicated in a wide range of human testis diseases". *Cell Mol Life Sci.* 2013;70(7):1207–20.

Chew EY, Sperduto RD, Milton RC, Clemons TE, Gensler GR, Bressler SB, *et al.* Risk of advanced age-related macular degeneration after cataract surgery in the Age-Related Eye Disease Study: AREDS report 25. *Ophthalmology.* 2009;116(2):297–303. pmid:19091420; PubMed Central PMCID: PMC3021282.

Chylack LT Jr, Wolfe JK, Singer DM, Leske MC, Bullimore MA, Bailey IL, Friend J, McCarthy D, Wu SY. The Lens Opacities Classification System III; the Longitudinal Study of Cataract Study Group. *Arch Ophthalmol* 1993;111:831–836

Conner-Spady BL, Sanmugasunderam S, Courtright P, McGurran JJ, Noseworthy TW and the Steering Committee of the Western Canada Waiting List Project. Determinants of patient satisfaction with cataract surgery and length of time on the waiting list. *Br J Ophthalmol.* 2004;88(10):1305–1309.

Conrad-Hengerer I, Juburi MA, Schultz T, et al. Corneal endothelial cell loss and corneal thickness in conventional compared with femtosecond laser-assisted cataract surgery: Three-month follow-up. *J Cataract Refract Surg*. 2013;39(9):1307-13.

Danying Zheng, Tingting Song, Xueying Zhongliu, Mingxing Wu, Jingli Liang, Yizhi Liu. Downregulation of transforming growth factor- β type II receptor prohibit epithelial-to-mesenchymal transition in lens epithelium. *Mol Vis* 2012;18:1238-1246.

Datiles MB, Edward PA, Trus BL, Green SB. In vivo studies on cataracts using the Scheimpflug slit lamp camera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987;28:1707–1710. Available at: <http://www.iovs.org/cgi/reprint/28/10/1707>.

Derynck R, Zhang Y. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature*. 2003;425:577–584.

Dong N, Tang X, Xu B. miRNA-181a inhibits the proliferation, migration, and epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015; 56:993–1001.

Elgohary MA, Chauhan DS, Dowler JG. Optical coherence tomography of intraocular lens implants and their relations- hip to the posterior capsule: a pilot study comparing a hydro-phobic acrylic to a plate-haptic silicone type. *Ophthalmic Res* 2006;38:116-124.

Fernández V, Fragoso MA, Brillote C, Lamar P, Orozco MA, Dubovy S, Willcox M, Parel JM. Efficacy of various drugs in the prevention of posterior capsule opacification: experimental study of rabbit eyes. *J. Cataract Refract Surg* 2004;30:2598-2605

Findl O, Buehl W, Menapace R, Georgopoulos M, Rainer G Siegel H, Kaider A, Pinz A. Comparison of 4 methods for quantifying posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:106-111

Findl O, Menapace R, Sacu S, Buehl W, Rainer G. Effect of optic material on posterior capsule opacification in intraocular lenses with sharp-edge optics: randomized clinical trial. *Ophthalmology* 2005;112:67-72

Findl O, Buehl W, Siegl H, Pinz A. Removal of reflections in the photographic assessment of PCO by fusion of digital retroillumination images. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(1):275-80.

Flanders K. Smad3 as a mediator of the fibrotic response. *Int J Exp Pathol*. 2004; 85:47–64.

Font RL, Brwnstein S. A lighth and electron microscopic study of anterior subcapsular cataracts. *Am J Ophthalmol* 1974;78: 972-984.

Friedman NJ, Palanker DV, Schuelve G., et al. Femtosecond laser capsulotomy. *J Cataract Refract Surg* 2011;37(7):1189-1198.

Friedman N et al. J Cataract Refract Surg 2011; 37:1189-1198)(Krueger et al. First safety study of femtosecond laser photodisruption in animal lenses: tissue morphology and cataractogenesis. J Cataract Refract Surg. 2005;31(12): 2386-2394.

Gallagher SP, Pavilack MA. Risk factors for anterior capsule contraction syndrome with polypropylene or poly(methyl methacrylate) haptics. J Cataract Refract Surg 1999; 25:1356-1361.

Garrott HM, Walland MJ, O'Day J. Recurrent posterior capsular opacification and capsulorhexis contracture after cataract surgery in myotonic dystrophy. Clin Exp Ophthalmol. 2004;32(6):653-5.

Gimbel HV, Neuhann T. Development, advantages and methods of the continuous circular capsulorhexis technique. J Cataract Refract Surg 1990;16:31-37

Gimbel H, Neuhann T. Continuous curvilinear capsulorhexis. J Cataract Refract Surg 1991;17(1):110-1.

Grewal D, Jain R, Brar GS, Grewal SPS. Pentacam tomograms: a novel method for quantification of posterior capsule opacification. Invest Ophthalmol Vis Sci 2008; 49:2004–2008

Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M. Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: epithelial-mesenchymal transition. Hum Pathol. 2009;40:1365–76.

Hansen SO, Crandall AS, Olson RJ. Progressive constriction of the anterior capsular opening following intact capsulorhexis. J Cataract Refract Surg 1993;19:77-82

Hayashi Y, Kato S, Fukushima H, Numaga J, Kaiya T, Tamaki Y, Oshika T. Relationship between anterior capsule contraction and posterior capsule opacification after cataract surgery in patients with diabetes mellitus. J Cataract Refract Surg. 2004; 30:1517-1520

Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, Hayashi F. In vivo quantitative measurement of posterior capsule opacification after extracapsular cataract surgery. Am J Ophthalmol. 1998;125:837- 843

Hayashi K, Hayashi H. Intraocular lens factors that may affect anterior capsule contraction. Ophthalmology 2005;112: 286-292

Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, Hayashi F. Anterior capsule contraction and intraocular lens dislocation after implant surgery in eyes with retinitis pigmentosa. Ophthalmol 1998;105:1239-1243

Hayashi K, Yoshida M, Hayashi H. Posterior capsule opacification in myopic eyes. J Cataract Refract Surg 2006;32:634-638

Hayashi H, Hayashi K, Nakao F, Hayashi F. Anterior capsule contraction and intraocular lens dislocation in eyes with pseudoexfoliation syndrome. Br J Ophthalmol 1998;1429-1434.

Hayashi H, Hayashi K, Nakao F, Hayashi F. Quantitative comparison of posterior capsule opacification after polymethylmethacrylate, silicone, and soft acrylic intraocular lens implantation. *Arch Ophthalmol* 1998;116(12):1579–82.

Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, et al. Reproducibility of posterior capsule opacification measurement using Scheimpflug videophotography. *J Cataract Refract Surg*. 1998;24:1632–5.

Hayashi K, Hayashi H. Posterior capsule opacification after implantation of a hydrogel intraocular lens. *Br J Ophthalmol* 2004;88(2):182–5.

Harsum S, S Mann, I Clatworthy, J Lewin and B Little- An investigation of intraocular lens damage and foreign bodies using an injectable hydrophilic acrylic lens implant. *Eye*. 2010;24:152–157. doi:10.1038/eye.2009.3.

Hernández I, Nuñez Y, Fernández Y, Veitía Roviroso Z, Pérez E, Padilla C. Cuantificación objetiva de la opacidad de la cápsula posterior mediante tomogramas Scheimpflug del Pentacam. *Rev Cubana Oftamol*. 2011;24(2):208-19.

Hirnschall N, Crnej A, Gangwani V, Findl O. Comparison of methods to quantify posterior capsule opacification using forward and backward light scattering. *J Cataract Refract Surg*. 2014;40(5):728-35.

Hockwin O, Laser H, Wegener A. Investigations on rat eyes with diabetic cataract and naphthalene cataract by Zeiss-Scheimpflug measuring system SLC. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1986;224:502–506

Hoffmann A, Huang Y, Suetsugu-Maki R, et al. Implication of the miR-184 and miR-204 competitive RNA network in control of mouse secondary cataract. *Mol Med*. 2012;18:528–538.

Holladay JT, Piers PA, Koranyi G, Van der Mooren M, ; Sverker Norrby NE. A new intraocular lens design to reduce spherical aberration of pseudophakic eyes. *J Refract Surg* 2002;18:683-691.

Hunenko O, MD, Jagajan Karmacharya, MD, Grace Ong, BS, Richard E. Kirschner, MD. Toward an Understanding of Nonsyndromic Craniosynostosis: Altered Patterns of TGF- β Receptor and FGF Receptor Expression Induced by Intrauterine Head Constraint . *Annals of Plastic Surgery*. 2001;46:5

Hunenko, O., Karmacharya, J., Ong, G., and Kirschner, R.E. Toward an understanding of non-syndromic craniosynostosis: altered patterns of TGF- β _receptor-1, TGF- β _receptor-2, and FGF receptor-2 expression induced by intrauterine head constraint. *Ann. Plast. Surg*. 2001; 46:546-554.

Hynes RO. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 1987;48:549–54.

Inan UU, Oztürk F, KaynaK S, Kurt E, Emiro Lu L, Ozer E, Ilker SS, Güler C. Prevention of posterior capsule opacification by intraoperative single-dose pharmacologic agents. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:1079-1087.

Jin-Wei Cheng, Rui-Li Wei, Cai JP, Gui-Lin Xi,, Huang Zhu,, You Li,, Xiao-Ye Ma,. Efficacy of Different Intraocular Lens Materials and Optic Edge in preventing posterior capsula opacification. A Meta-analysis. *Am J Ophthalmol*. 2007;143(3):428–436.

Karali M, Peluso I, Marigo V, Banfi S. Identification and characterization of microRNAs expressed in the mouse eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:509–515.

Kashima K, Trus BL, Unser M, Edwards PA, Datiles MB. Aging studies on normal lens using the Scheimpflug slit-lamp camera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:263–269. Available at: [http:// www.iovs.org/cgi/reprint/34/1/263.pdf](http://www.iovs.org/cgi/reprint/34/1/263.pdf).

Kato S, Suzuki T, Hayashi Y, Numaga J, Hattori T, Yuuchi T, Kaiya T, Oshika T. Risk factors for contraction of the anterior capsule opening after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28:109-112.

Keiichiro Minami, Masato Honbo, Yosai Mori, Yasushi Kataoka, Kazunori Miyata. Area densitometry using rotating Scheimpflug photography for posterior capsule opacification and surface light scattering analyses. *J Cataract Refract Surg* 2015;41:2444–2449.

Kelman CD. Phacoemulsification and aspiration: A new technique of cataract extraction. *Am J Ophthalmol* 1967;64:23-25.

Kimura W, Yamanishi S, Kimura T, Sawada T, Ohte A. Measuring the anterior capsule opening after cataract surgery to assess capsule shrinkage. *J Cataract Refract Surg*. 1998;24:1235-1238

Kirkwood BJ, Hendicott PL, Read SA, Pesudovs K. Repeatability and validity of lens densitometry measured with Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg*. 2009;35:1210–1215

Kirkwood BJ1, Hendicott PL, Read SI, Pesudovs K. Repeatability and validity of lens densitometry measured with Scheimpflug imagin. *J Cataract Refract Surg*. 2009;35(7):1210-5. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.0

Kovacs I, Kranitz K, Sandor GL, Knorz MC, Donnenfeld ED, Nuijts RM, et al. The effect of femtosecond laser capsulotomy on the development of posterior capsule opacification. *J Refract surg*. 2014;30(3):154–8. pmid:24763719.

Kránitz K, Takacs A, Miháltz K, et al. Femtosecond laser capsulotomy and manual continuous curvilinear capsulorhexis parameters and their effects on intraocular lens centration. *J Refract Surg*. 2011;27(8):558-63.

Kránitz K, Miháltz K, Sándor GL, Takacs A, Knorz MC, Nagy ZZ. Intraocular lens tilt and decentration measured by Scheimpflug camera following manual or femtosecond laser-created continuous circular capsulotomy. *J Refract Surg*. 2012;28(4):259-63.

Kruger AJ, Amon M, Abela-Formanek C, Schild G, Kolodjaschna, Schauersberger J. Postoperative inflammation after lens epithelial cell removal: 2 year results. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:1380-1385

Küchle M, Amberg A, Martus P, Nguyen NX, Naumann GO. Pseudoexfoliation syndrome and secondary cataract. *Br J Ophthalmology* 1997;81:862-866.

Lasa MS, Datiles MB 3rd, Magno BV, et al. Scheimpflug photography and postcataract surgery posterior capsule opacification. *Ophthalmic Surg* 1995;26:110–3.

Lee SH, Paek AR, Yoon K, Kim SH, Lee SY, You HJ. Tight junction protein 1 is regulated by transforming growth factor- β and contributes to cell motility in NSCLC cells. *BMB Rep.* 2015;48(2):115-120.

Levy L, Hill CS. Smad4 dependency defines two classes of transforming growth factor b (TGF-b) target genes and distinguishes TGF-induced epithelial-mesenchymal transition from its antiproliferative and migratory responses. *Mol Cell Biol.* 2005;25:8108–8125

Lovicu FJ, Schulz MW, Hales AM, Vincent LN, Overbeek PA, Chamberlain CG, et al. TGFbeta induces morphological and molecular changes similar to human anterior subcapsular cataract. *Br J ophthalmol.* 2002;86:220–6.

Lovicu FJ, McAvoy JW. Growth factor regulation of lens development. *Developmental Biology.* 2005;280:114.

Magno BV, Freidlin V, Datiles MB III. Reproducibility of the NEI Scheimpflug Cataract Imaging System. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3078–3084. Available at: <http://www.iovs.org/cgi/reprint/35/7/3078.pdf>.

Malecaze F, Lubsen NH, Serre B, Decha A, Duboue M, Penary M, Berg D, Arnaud JD, Titeux M, Kremer EJ, Couderc B. Lens cell targeting for gene therapy of prevention of posterior capsule opacification. *Gene Ther.* 2006;13(19):1422-9.

Malhotra C, Jain AK, Dwivedi S, Chakma P, Rohilla V, Sachdeva K. Characteristics of Pre-Descemet Membrane Corneal Dystrophy by Three Different Imaging Modalities-In Vivo Confocal Microscopy, Anterior Segment Optical Coherence Tomography, and Scheimpflug Corneal Densitometry Analysis. *Cornea.* 2015;34(7):829-32.

Marcantonio JM, Vrensen GF. Cell biology of posterior capsule opacification. *Eye* 1999;13:484-488

Masket S. Postoperative complications of capsulorhexis. *J Cataract Refract Surg* 1993;19:721-724.

Massague J., TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 1998;67:753–791.

McDonnell PJ. Posterior capsule opacification. An in Vitro model. *Arch Ophthalmol* 1985;103:1378-1381.

Meacock, WR; Spalton, D J; Hollick, E J; Boyce, J F; Barman, S; Sanguinetti, G; Double-masked prospective ocular safety study of a lens epithelial cell antibody to prevent posterior capsule opacification. *J Cataract and Refract Surg.* 2000;26(5):716-21.

Meacock WR, D J Spalton, M R Stanford. Role of cytokines in the pathogenesis of posterior capsule opacification. *Br J Ophthalmol* 2000;84:332–336

Medvedovic M, Tomlinson CR, Call MK, Grogg M, Tsonis PA. Gene expression and discovery during lens regeneration in mouse: regulation of epithelial to mesenchymal transition and lens differentiation. *Mol Vis.* 2006;12:422–440.

Meng Q, Guo H, XIAO L, Cui Y, Guo R, Xiao D, Huang Y. mTOR regulates TGF- β -induced epithelial–mesenchymal transition in cultured human lens epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2013;251(10):2363–2370.

Miyamoto T, Ishida I, et al. TGF β -Smad signalling in postoperative human lens epithelial cells. *Br J Ophthalmol.* 2002;86:1428–1433.

Miyata K, Kato S, Nejima R, Miyai T, Honbo M, Ohtani S. Influences of optic edge designs on posterior capsule opacification and anterior capsule opacification. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85: 99-102.

Moreno-Montañés J, Alvarez A, Maldonado MJ. Objective quantification of posterior capsule opacification after cataract surgery, with optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3999-4006.

Moreno-Montañés J, Alvarez A, Bes-Rastrollo M, García-Layana A. Optical coherence tomography evaluation of posterior capsule opacification related to intraocular lens design. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:643-650.

Nagy ZZ, et al. Initial Clinical Evaluation of an intraocular femtosecond laser in cataract surgery. *J Refract Surg.* 2009;25(12):1053-1060.

Nagy ZZ, Kránitz K, Takacs AI, et al. Comparison of intraocular lens decentration parameters after femtosecond laser in cataract surgery. *J Refract Surg.* 2011;27(8):564-9.

Nagamoto T, Hara E. Lens epithelial cell migration onto the posterior capsule in vitro. *J Cataract Refract Surg.* 1996;22:841-846

Nalluri SM, O'Connor JW, Gomez EW. Cytoskeletal signaling in TGF β -induced epithelial-mesenchymal transition. *Cytoskeleton.* 2015. doi: 10.1002/cm.21263 PMID: 26543012.

Nekolová J, Pozlerová J, Jirásková N, Rozsival P, Kadlecová J. Comparison of posterior capsule opacification after two different surgical methods of cataract extraction. *Am J Ophthalmol.* 2008;145(3):493-498.

Nishi O, Nishi K, Fujiwara T, et al. Effects of the cytokines on the proliferation of and collagen synthesis by human cataract lens epithelial cells. *Br J Ophthalmol* 1996;80:63–8.

Okihiro N, Kayo N, Kaori W, Yasukazu O. Expression of transforming growth factor (TGF)- α , TGF- β 2 and interleukin 8 messenger RNA in postsurgical and cultured lens epithelial cells obtained from patients with senile cataracts. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 1999;237:806-811.

Olivero DK, Furcht LT. Type IV collagen, laminin, and fibronectin promote the adhesion and migration of rabbit lens epithelial cells in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:2825–34.

Oshinka T, Nagata T, Ishii Y. Adhesion of lens capsule to intraocular lenses of polymethylmethacrylate, silicone, and acrylic foldable materials: an experimental study. *Br J Ophthalmol* 1998;82:549-553.

Panley SK, Ram J, Werner L, Jain A, Barar GS, Gupta A. A visual results and postoperative complications of capsular bag versus sulcus fixation of posterior chamber intraocular lenses for traumatic cataract in children. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:1576-1584.

Park TK, Chung SK, Baek NH. Changes in the area of the anterior capsule opening after intraocular lens implantation. *J Cataract Refract Surg* 2002;28:1613-1617.

Pei X, Bao Y, Chen Y, Li X. Correlation of lens density measured using the Pentacam Scheimpflug system with the Lens Opacities Classification System III grading score and visual acuity in age-related nuclear cataract. *Br J Ophthalmol* 2008;92:1471–1475.

Pedreira F, Fiod E, Cariello AJ, Buchele E Hofling-Lima AL. Comparative analysis of the nuclear lens opalescence by the Lens Opacities Classification System III with nuclear density values provided by Oculus Pentacam: a cross-section study using Pentacam Nucleus Staging software. *Arq Bras Oftalmol*. 2011;74(2):110-3.

Petrich BG, Wang Y. Stress-activated MAP kinases in cardiac remodeling and heart failure; new insights from transgenic studies. *Trends Cardiovasc Med*. 2004;14:50–55.

Pfaff MW, Tichopad A, Prgomet CH, Neuvians TP. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper – Excel-based tool using pair-wise correlations *Biotechnology Letters*. 2005;26:509-515.

Power WJ, Neylan D, Colum LMT. Daunorubicin as an inhibitor of human lens epithelial cell proliferation in culture. *J Cataract Refract Surg* 1994;20:287-290

Prada J, Ngo-Tu T, Baatz H, Hartmann C, Pleyer U. Detection of tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 alpha gene expression in human lens epithelial cells. *J cataract refract surg*. 2000;26(1):114–7. pmid:10646157.

Praveen MR, Vasavada AR, Shah GD, Shah AR, Khamar BM Dave KH. A prospective evaluation of posterior capsule opacification in eyes with diabetes Mellitus: a case-control study. *Eye* 2014;28:720-727

Prosdocimo G, Tassinari G, Sala M, Di Biase A, Toschi PG, Gismondi M, Corbanese U. Posterior capsule opacification after phacoemulsification: silicone CeeOn Edge versus acrylate AcrySof intraocular lens. *J Cataract Refract Surg*.2003;29(8):1551-5.

Rabsilber TM, Khoramnia R, Auffarth GU. Anterior chamber measurements using Pentacam rotating Scheimpflug camera. *J Cataract Refract Surg* 2006;32:456–459

Raj SM, Vasavada AR, Kaid Joar SR. Post-Operative Capsular Opacification: A Review. *Int J Biomed Sci*. 2007;3(4):237–250.

Reyntjens B, Tassignon MJ, Van Marck E, Capsular peeling in anterior capsule contraction syndrome: surgical approach and histopathological aspects. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:908-912

Sacu S, Menapace R, Buehl W, Rainer GF, et al. Effect of intraocular lens optic edge design and material on fibrotic capsule opacification and capsulorhexis contraction. *J. Cataract Refract Surg*. 2004 Sep;30(9):1875.

Sacu S, Findl O, Menapace R, Georgopoulos M, Buehl W, Rainer G. Assessment of anterior capsule opacification: photographic technique and quantification. *J Cataract Refract Surg*. 2002 Feb;28(2):271-5.

Saika S, Okada Y, Miyamoto T, Ohnishi Y, Ooshima A, McAvoy JW. Smad translocation and growth suppression in lens epithelial cells by endogenous TGFbeta2 during wound repair. *Exp Eye Res*. 2001;72:679–686.

Saxby L, Rosen E, Bulton M. Lens epithelial cell proliferation, migration, and metaplasia following capsulorhexis. *Br J Ophthalmol* 1998;82:945–952.

Schaumberg DA, Dana MR, Christen WG, Glynn RJ. A systemic overview of the incidence of posterior capsule opacification. *Ophthalmology* 1998;105:1213-1221.

Shankar H, Taranath D, Santhirathelagan CT, Pesudovs K. Anterior segment biometry with the Pentacam: comprehensive assessment of repeatability of automated measurements. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:103–113

Shankar H, Taranath D, Santhirathelagan CT, Pesudovs K. J Repeatability of corneal first-surface wavefront aberrations measured with Pentacam corneal topography. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:727–734

Sharma N, Pushker N, Dada T, Vajpayee RB, Dada VK. Complications of pediatric cataract surgery and intraocular lens implantation. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:1585-1588

Shin DH, Kim YY, Ren J, Weatherwax AL, Pearlman RB, Kim C, Glover KB, Muenk SB. Decrease of capsular opacification with adjunctive mitomycin C in combined glaucoma and cataract surgery. *Ophthalmology* 1998;105:1222-1226.

Shin EH, Basson MA, Robinson ML, McAvoy JW, Lovicu FJ. Sprouty is a negative regulator of transforming growth factor β induced epithelial-to-mesenchymal transition and cataract. *Mol Med* 2012;18:861-73.

Shin EH, Zhao G, Wang Q, Lovicu FJ. Sprouty gain of function disrupts lens cellular processes and growth by restricting RTK signaling. *Developmental biology*. 2015;406:129–46. doi:10.1016/j.ydbio.2015.09.005 PMID: 26375880.

Shigemitsu T, Ishiguro K, Shimizu Y, Horiguchi M, Kasahara M, Saori Arakaki S. Immunocytochemical features of lens after cataract tissue – signalling molecules (growth factors, cytokines, other signalling molecules), cytoskeleton proteins, cellular and extracellular matrix proteins. *International Ophthalmology* 1999;23(3):137–144

Singh R, Ram J, Gupta R. Use of Scheimpflug imaging in the management of intra-lenticular foreign body. *Nepal J Ophthalmol*. 2015;7(13):82-4. doi:10.3126/nepjoph.v7i1.13176.

Steinberg EP, Javitt JC, Sharkey PD, et al. The content and cost of cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1041–9.

Sun CB, Teng WQ, Cui JT, Huang XJ, Yao K. The effect of anti-TGF-beta2 antibody functionalized intraocular lens on lens epithelial cell migration and epithelial-mesenchymal transition. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*. 2014;113:33–42.

Tan CW, Gardiner BS, Hirokawa Y, Layton MJ, Smith DW, Burgess AW. Wnt signalling pathway parameters for Mammalian cells. *PLoS ONE*. 2012;7:e31882.

Tan X, Zhu Y, Chen C, Chen X, Qin Y, Qu B. Sprouty2 Suppresses Epithelial-Mesenchymal Transition of Human Lens Epithelial Cells through Blockade of Smad2 and ERK1/2 Pathways. *PLoS ONE* . 2016;11(7):e0159275. doi:10.1371/ journal.pone.0159275

Tanaka Y, Kato S, Miyata K, Honbo M, Nejima R, Kitano S, Amano S, Oshika T. Limitation of Scheimpflug videophotography system in quantifying posterior capsule opacification after intraocular lens implantation. *Am J Ophthalmol*. 2004;137(4):732-5.

Tetz MR, Auffarth GU, Sperker M, Blum M, Völcker HE. Photographic image analysis system of posterior capsule pacification. *J Cataract Refract Surg* 1997;23:1515-1520.

Thiery JP et al. Epithelial–mesenchymal transitions in development and pathologies. *Cur Opin Cell Biol* 2003;15:740–746.

Tkachov SI, Lautenschläger C, Ehrich D, Struck HG Changes in the lens epithelium with respect to cataractogenesis dlight microscopic and Scheimpflug densitometric

analysis of the cataractous and the clear lens of diabetics and non-diabetics. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244:596–602.

Tognetto D, Toto L, Sanguinetti G, Gecchini P, Vattovani O, Filacorda S, Ravalico G. Lens epithelial cell reaction after implantation of different intraocular lens materials: two years results of a randomized prospective trial. *Ophthalmology* 2003;110:1935-1941.

Vallejo-Illarramendi A, Domercq M, Pérez-Cerda F, Ravid R, Matute C. Aumentado expresión y función de los transportadores de glutamato en la esclerosis múltiple, *Neurobiol. Dis.* 2006;21:154-164.

Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F (2002) Accurate normalisation of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Gen. Biol.* 2002;3:1–12.

Varma SD, K. R. Hegde, and S. Kovtun, “Attenuation and delay of diabetic cataracts by antioxidants: effectiveness of pyruvate after onset of cataract,” *Ophthalmologica*, 2005;219(5):309–315.

Walker JL, Wolff IM, Zhang L, Menko AS. Activation of SRC kinases signals induction of posterior capsule opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:2214–2223.

Wallentin N, Wickstorm K, Lundberg C. Effect of cataract surgery on aqueous TGF-beta and lens epithelial cell proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:1410-1418.

Wang FE, Zhang C, Maminishkis A, et al. MicroRNA-204/211 alters epithelial physiology. *FASEB J.* 2010;24:1552–1571.

Wang Y, Li W, Zang X, Chen N, Liu T, Panagiotis A MicroRNA-204-5p Regulates Epithelial-to-Mesenchymal Transition during Human Posterior Capsule Opacification by Targeting SMAD4. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(1):323-332. doi:10.1167/iovs.12-10904.

Werner L, Pandey SK, Escobar-Gomez M, Visessook N, Peng Q, Apple DJ. Anterior capsule opacification: A histological study comparing different IOL styles. *Ophthalmology* 2000;107:463-67.

Werner L, Pandey SK, Apple DJ, Escobar-Gomez M, et al. Anterior capsule opacification: correlation of pathologic findings with clinical sequelae. *Ophthalmology.* 2001;108(9):1675.

Werner L, Pandey SK, Escobar-Gomez M, Visessook N, Peng Q, Apple DJ. Anterior capsule opacification: A histological study comparing different IOL styles. *Ophthalmology* 2000;107:463-67.

Werner L, Panley SK, Apple DJ, Escolar-Gomez M, Mclendon L, Macky TA. Anterior capsule opacification: correlation of pathologic findings with clinical sequelae. *Ophthalmology* 2001;108:1675-1681.

Yang J, Weinberg RA. "Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis". *Dev Cell*. 2008;14(6):818–829

Zaczek A, Zetterstrom C. Posterior capsule pacification after phacoemulsification in patients with diabetes mellitus. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:233-237.

Zheng D, Tingting Song, Xueying Zhongliu, Mingxing Wu, Jingli Liang, Yizhi Liu. Downregulation of transforming growth factor- β type II receptor prohibit epithelial-to-mesenchymal transition in lens epithelium. *Mol. Vision* 2012;18:1238-1246
<http://www.molvis.org/molvis/v18/a129>

Zipper, H. et al. Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. *Nucleic Acids Res*. 2004;32:e103. PMID 15249599

ANEXO 2.

**PUBLICACIONES, MANUSCRITOS ENVIADOS EN
REVISIÓN, COMUNICACIONES EN CONGRESOS**



Anterior capsule opacification after femtosecond laser–assisted cataract surgery: Clinical classification versus Scheimpflug device densitometry values

Txomin Alberdi, MD, Javier Mendicute, MD, PhD, Lucía Bascarán, MD, Nahia Goñi, MD, Olatz Barandika, BSc, Javier Ruiz-Ederra, BSc, PhD

PURPOSE: To compare the clinical classification of anterior capsule opacification (ACO) after femtosecond laser–assisted cataract surgery with the mean density values of ACO provided by rotating Scheimpflug device (Pentacam HR) densitometry software and to determine which densitometry method correlates best with the clinical classification.

SETTING: Ophthalmology Department, Donostia University Hospital, Donostia-San Sebastian, Spain.

DESIGN: Prospective comparative study.

METHODS: Femtosecond laser–assisted cataract surgery was performed using the Victus platform between June 2014 and March 2015. Inclusion criteria were age between 55 years and 85 years, a pupil diameter larger than 6.0 mm in full mydriasis, no intraoperative complications, a curvilinear anterior capsulotomy without tears, and an intraocular lens in the correct intracapsular position at the end surgery. The ACO was measured by a clinical classification ranging from 0 to 4. In addition, ACO density was measured with the Scheimpflug device using 3 densitometry methods (area, linear, and peak).

RESULTS: The study comprised 32 eyes of 32 patients. Area and linear densitometry values provided by the Scheimpflug device had a strong correlation with the values obtained by clinical classification, whereas peak densitometry values had a very weak correlation at 6 months (area densitometry: Spearman $r = 0.78$; $P < .0005$; linear densitometry: $r = 0.73$; $P < .0005$; peak densitometry $r = 0.21$; $P = .2$).

CONCLUSION: The Scheimpflug device provided an objective measurement of ACO after cataract surgery.

Financial Disclosure: None of the authors has a financial or proprietary interest in any material or method mentioned.

J Cataract Refract Surg 2016; 42:826–832 Q 2016 ASCRS and ESCRS

Removing a cataract using phacoemulsification is the most frequently performed ophthalmic surgical procedure, and posterior capsule opacification (PCO) remains the most common postoperative cause of impaired visual acuity. Anterior capsule opacification (ACO) develops by the first postoperative month and continues until 6 months. Anterior capsule opacification and capsulorhexis contraction could impede examination of the peripheral fundus. Decreasing this ACO is important to avoid secondary intraocular

lens (IOL) optic tilt and decentration. With multifocal IOLs now being used, it is crucial to maintain good IOL centration to achieve a good visual outcome. Studies have sought to determine how to prevent and treat ACO and PCO, and several risk factors that predispose to the development of ACO and PCO have been identified.¹⁻³

Because of the clinical importance of both types of capsule opacification, objective quantification of ACO^{3,4} and PCO⁵⁻⁹ is of utmost importance in

assessing the efficacy of different methods of evaluation. After reviewing the literature we concluded that at present, clinical quantification^{2,9} is the most common method used to measure ACO after cataract surgery. Several studies³⁻⁵ have been performed to standardize the technique of slitlamp photography and image analysis. Many image-analysis systems have been successfully developed for quantification of PCO and are widely used in such studies. These systems include Evaluation of the Posterior Capsule Opacification (EPCO) software, posterior capsule opacity (POCO) software, POComan, Automated Quantification of After-Cataract (AQUA), and the Open-Access Systematic Capsule Assessment (OSCA) system.^{6,7} In most cases, these methods are used to measure the opacity of the capsule area within the capsulorhexis. Few studies have used them to analyze ACO.⁹

However, despite the development of new-image analysis methods, clinical analysis remains the most widely used method of quantifying ACO. Scheimpflug imaging, such as with the Pentacam HR system (Oculus Optikgeräte GmbH), is simple to perform and fast and has an easier learning curve than slitlamp-based photographic ACO grading systems. It provides objective and repeatable ACO densitometry measurements.

We have been involved in a project to evaluate the risk factors for capsule opacification in the cells of the anterior epithelium of the lens after femtosecond laser-assisted cataract surgery. To complete our research, we performed a study to assess the most appropriate method for quantifying ACO. To our knowledge, this is the only study to prospectively compare ACO values provided by the clinical subjective classification method with mean density values provided by 3 Pentacam HR Scheimpflug densitometry methods to validate the latter method.

PATIENTS AND METHODS

This study included eyes that had femtosecond laser-assisted cataract surgery at Donostia University Hospital, Spain, between June 2014 and March 2015. The Ethics Committee, Health Area of Gipuzkoa, approved this project. All patients

gave written informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki.

Patient Selection

The inclusion criteria were age between 55 years and 85 years, a pupil diameter greater than 6.0 mm with full pharmacologic mydriasis, no intraoperative complications, a curvilinear anterior capsulotomy without tears, and an IOL in the correct intracapsular position at the end of surgery. The exclusion criteria were corneal opacities and insufficient pharmacologic full mydriasis (≤ 6.0 mm), history of ocular disease, corneal endothelial dystrophies and degeneration, risk for intraoperative floppy-iris syndrome, pseudoexfoliation syndrome, uveitis, glaucoma or pigment retinitis, history of ocular surgical procedures, intraocular tumors, unfavorable capsular bag conditions for the IOL implantation, intraoperative or early postoperative complications, and a history of systemic connective disease or rheumatic diseases. Also excluded were chronically ill patients taking corticosteroids, anti-inflammatory, immunosuppressive, or immunomodulatory medications.

Preoperative Assessment

Before cataract surgery, patients completed an extensive questionnaire about their clinical history and had a thorough ophthalmologic examination, including biometry and keratometry measured with a partial coherence interferometry system (IOLMaster 500, Carl Zeiss Meditec AG). A slitlamp evaluation, applanation tonometry, and ophthalmoscopy were also performed through dilated pupils.

Surgical Technique

Femtosecond laser-assisted cataract surgery was performed using the Victus femtosecond laser platform (Bausch & Lomb). A 5.0 mm capsulotomy using 7.0 mJ energy was performed in all the eyes. Lens fragmentation was performed with an outer circular diameter of 2.0 mm and 3 radial cuts using 8.4 mJ of energy. After hydrodissection was complete, endocapsular phacoemulsification of the nucleus, cortical aspiration, and anterior capsule polishing were performed. Next, the lens capsule was inflated with hyaluronate sodium 1.0% and an untinted square-edged hydrophobic acrylic IOL with a 6.0 mm optic (enVista model MX60, Bausch & Lomb) was implanted in the capsular bag. Finally, the surgeon confirmed that the IOLs were accurately implanted in the lens capsule.¹⁻³ The same IOL was used in all patients to prevent bias resulting from different light-scatter intensities from the anterior surface of different IOL models.^{5,10}

Postoperative Assessment

Postoperative evaluation of ACO was performed at 1, 3, and 6 months.

Slitlamp Grading of Anterior Capsule Opacification The ACO was measured using the following scale proposed by Werner et al.²: grade 0 Z clear (transparent) anterior capsule; grade I Z opacification localized at the edge of the capsulotomy; grade II Z moderate, diffuse opacification, sometimes with areas of capsule folding; grade III Z intense opacification with areas of capsule folding; grade IV Z constriction (phimosis) of the capsulotomy opening (capsulotomy diameter %3.5 mm/capsulotomy area %9.62 mm²).

Submitted: January 11, 2016.

Final revision submitted: February 26, 2016.

Accepted: March 2, 2016.

From the Ophthalmology Department (Alberdi, Mendicute, Bascarán, Goñi), Donostia University Hospital, and the Biodonostia Health Research Institute (Barandika, Ruiz Ederria), Donostia-San Sebastian, Spain.

Corresponding author: Txomin Alberdi, MD, Donostia University Hospital, Paseo Dr. Beguiristain s/n, Donostia-San Sebastian, 20014, Spain. E-mail: txotere@gmail.com.

To maximize accuracy, the ACO was measured in 4 quadrants (nasal, inferior, temporal, and superior). The ACO values of the 4 quadrants were then averaged and considered to represent the ACO value.

At every postsurgical evaluation, digital images were obtained with full mydriasis using a slitlamp photographic device and saved using ImageNet 5 software (both Topcon Medical Systems, Inc.). On the digital images the capsulotomy area was measured in millimeters squared using a Sketchandcalc area calculator (Icalc, Inc.).

Anterior Capsule Opacification Measurement with the Scheimpflug Device Measurements of the anterior capsule were taken using Pentacam HR densitometry software. Twenty-five Scheimpflug images were acquired during 1 scan. A second frontal pupillary camera aligned the images and compensated for ocular movement. The measurement process lasted fewer than 2 seconds, and minute eye movements were captured and corrected simultaneously.

Image acquisition was performed in a darkened, windowless, clinical assessment room with a luminance level of 1 candela/m² or less as measured by the Starlite 2 meter (Gossen Foto- und Lichtmesstechnik GmbH). The Scheimpflug device calculates a quality specification score that takes into account the area covered, alignment, and ocular motion. This score helps users assess the validity of the data of each examination. Only images with a quality score greater than 95 were included.

The images are detected and processed to a 3-dimensional (3-D) model of the anterior eye segment. The Scheimpflug device provides 3-D chamber analysis (depth, angle, and volume), and its densitometry software that includes nucleus staging software¹¹⁻¹⁸ and 3 densitometry methods (area, linear, and peak) for measuring the lens capsule (Figure 1).

The study included the 3 existing methods used by the Scheimpflug device (area densitometry, linear densitometry, and peak densitometry) to avoid the assumption that 1

method is better than the others. At all postoperative visits, the ACO values were calculated from Scheimpflug images at 4 meridians: 0 to 180 degrees, 45 to 225 degrees, 90 to 270 degrees, and 135 to 315 degrees.¹⁹⁻²³ The ACO values of the 2 sides of the anterior capsule from each of the 4 meridians were then averaged and considered to represent the true ACO value.²⁰⁻²³

With the device, the densitometry values are expressed in grayscale units (GSU). The GSU scale is calibrated by proprietary software that defines a minimum light scatter of 0 (maximum transparency) and maximum light scatter of 100 (minimum transparency). The size of the area densitometry is set as a fixed rectangular area of 0.2 mm × 0.5 mm. This area is located manually on both sides of the anterior capsule in each selected meridian from the acquired Scheimpflug images; the GSU values are instantly supplied. A line of 0.5 mm is drawn through both sides of the anterior capsule in each selected meridian using Scheimpflug imaging to calculate the linear densitometry; again, the GSU values are instantly supplied. The peak densitometry value appears automatically on the right side of the screen while each selected meridian is analyzed using Scheimpflug imaging. The peak densitometry GSU value is the point at which the lens densitometry is highest on the densitogram. Two ophthalmic technicians who had no knowledge of the aims of the study performed all measurements.

Statistical Analysis

The data were compared using SPSS software (version 22.0, SPSS, Inc.). The Spearman rho coefficient (r) was used to analyze the correlation between measurements obtained by various methods of quantification of ACO postoperatively. The Spearman r test is used to measure the degree of association between 2 variables, where the value $r \geq 1$ means a perfect positive correlation and a value $r \leq -1$ means a perfect negative correlation. A P value less than 0.05 was considered statistically significant.



Figure 1. Assessment of area, linear, and peak densitometry measurement at a selected meridian using the Scheimpflug device software. The peak densitometry value appears automatically on the right side of the screen.

Table 1. Postoperative CCC area and shrinkage.*

Parameter	1 Week		1 Month		3 Months		6 Months	
	Median	IQR	Median	IQR	Median	IQR	Median	IQR
CCC area (mm ²) [†]	19.5	0.6	18.5	1.9	17.9	2.3	17.7	2.9
CCC shrinkage (%) [‡]	0.7	3.2	5.8	9.9	9.0	11.5	9.9	15.1

CCC Z continuous curvilinear capsulorhexis; IQR Z interquartile range value

*Because values did not follow normal distributions, the results are shown the median and interquartile range values.

[†]The initial CCC area was 19.635 mm².

[‡]The CCC shrinkage percentage is expressed in relation to the initial CCC value.

RESULTS

By 6 months after surgery, 1 patient had died and 1 patient did not appear for follow-up because of illness. Data from the 32 (94.11%) remaining patients who completed all postoperative visits were considered for analysis. The mean age of the 12 men and 20 women was 75.12 years G 5.16 (SD) (range 65 to 83 years).

Table 1 shows the median postoperative CCC area and shrinkage. No patient had a postoperative capsulotomy area of less than 9.62 mm.²

At all postoperative evaluations of ACO, the area and linear density values provided by the Scheimpflug device densitometry software indicated a strong positive correlation. However, the peak densitometry values had very weak correlation with the values obtained by the subjective scale according to the Spearman r testing (Table 2).

DISCUSSION

Subjective clinical quantification has been the most frequently method to measure ACO after cataract surgery.^{3,5} Clinical classification provides subjective qualitative ordinal values. In 1995, Lasa et al.¹⁹ showed that Scheimpflug imaging could be a useful tool for future

assessment of PCO. The Scheimpflug photography system was further developed by Hayashi et al. in 1998.^{20,22} In 2004, Hayashi and Hayashi²³ first obtained a Scheimpflug image of the anterior chamber at the 0-degree, 45-degree, 90-degree, and 135-degree meridians for PCO measuring. The highest quality image was transferred to an online image-analysis computer. The mean scattering light density in the central 3.00 mm Ø.25 mm area of the posterior capsule was measured using the axial densitometry component of the computer. One decade later, the new Pentacam HR software became available. It measures 3 types of lens capsule densitometry (area, linear, and peak) and provides objective quantitative continuous values in an easy, rapid, and repeatable manner.

Several studies^{3,5} have attempted to standardize the technique of slitlamp photography and image analysis. Many slitlamp-based photographic grading systems were developed to quantify PCO and are widely used in trials; these include the EPCO, POCO, POComan, AQUA, and OSCA methods.^{6,7,9} In most cases, these systems are used to measure the opacity of the capsule area within the capsulorhexis. In 2002, Sacu et al.⁴ used analysis of images obtained by the slitlamp for ACO quantification and found variability in the photographs and problems with the image-analysis method. The photographs were affected by light reflection that interfered with the images. Since then, algorithms have been developed to reduce the artifacts in each image; the algorithms remove the Purkinje light reflexes and provide contrast enhancement and filtering. Another aspect that diminishes the objectivity of these systems is the need for direct human intervention during several steps of the analysis.⁴ However, despite the development of new image-analysis methods, clinical analysis remains the most widely used in the quantification of ACO.

Slitlamp-based photographic grading systems do not discriminate the degree to which the opacity corresponds to the anterior capsule or to the posterior capsule that is behind the anterior capsule area. Unlike what others have stated, we believe this will remain

Table 2. Correlation between values by the clinical subjective classification method and density mean values by 3 Scheimpflug imaging densitometry methods over time.

	ACO Clinical Score					
	1 Month Postop		3 Months Postop		5 Months Postop	
	r	P	r	P	r	P
Densitometry Value* Value*						
ACO area	0.89	‡.0005	0.85	‡.0005	0.78	‡.0005
ACO linear	0.89	‡.0005	0.82	‡.0005	0.73	‡.0005
ACO peak	−0.02	.9	−0.26	.2	0.21	.2

ACO Z anterior capsule opacification

*Spearman correlation coefficient

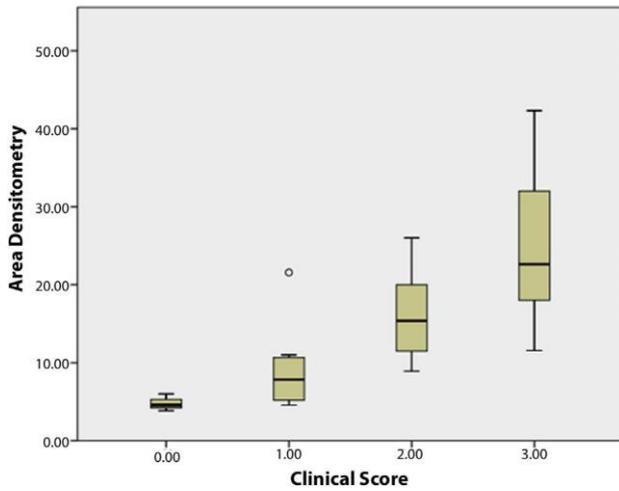


Figure 2. Area densitometry measurements and clinical classification of ACO at 6 months ($r Z 0.78, P \leq .0005$).

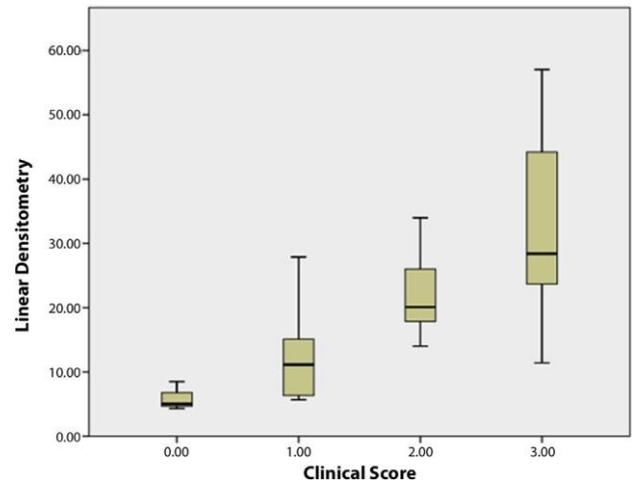


Figure 3. Linear densitometry measurements and clinical classification of ACO at 6 months ($r Z 0.73, P \leq .0005$).

unsolved even with the more elaborate image-analysis methods being used.⁵ In contrast, Scheimpflug device imaging has a shorter learning curve than slitlamp-based photographic ACO grading systems. It provides ACO densitometry measurements that are objective and repeatable (Figures 2 to 4).

We found that values provided by area and linear densitometry had a strong positive correlation with the values obtained by the subjective scale after analysis using Spearman r testing. Using the same analysis, we found no or a very weak correlation between peak densitometry and the subjective scale. Based on the results in our study, peak densitometry is not a good method for the clinical evaluation of ACO. Linear and area densitometry values represent the mean densitometry on a line or in an area expressed as a percentage. The peak densitometry value

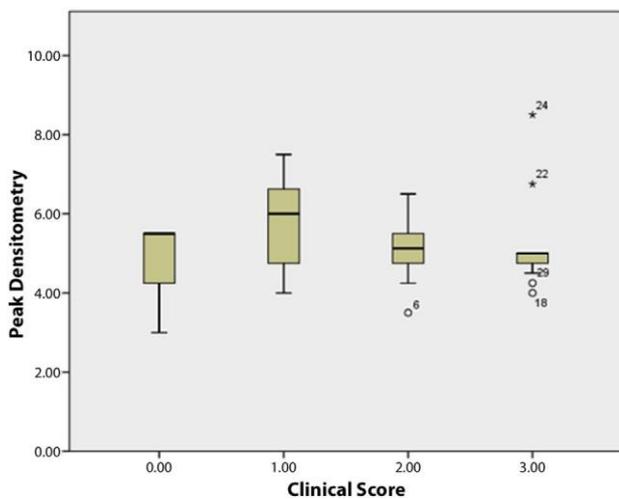


Figure 4. Peak densitometry measurements and clinical classification of ACO at 6 months ($r Z 0.21, P Z .2$).

is the point at which lens densitometry is highest on the densitogram. For this reason, peak densitometry has other clinical applications, for example for finding intralenticular foreign bodies.²⁴

Previous studies have compared values obtained by clinical evaluation with values provided by a Scheimpflug system to measure PCO or cataracts. In a 1998 paper, Hayashi et al.^{20,21} reported that opacification density values obtained with a Scheimpflug photography system (EAS-1000, Nidek) correlated well with the patient's visual acuity and considered that this measurement was useful in research and in the clinical management of PCO. This method can measure the opacification density in the central posterior capsule area. Hayashi et al. also reported that this method had excellent intraobserver and interobserver reproducibility. Reproducibility of this system has been found in other studies of the cornea, lens, or posterior capsule.²⁵⁻²⁸ In a study that assessed the repeatability and validity of lens densitometry derived from Scheimpflug imaging, the peak densitometry values were the least reliable metric.¹³

Studies have examined the correlation between the clinical method and Pentacam densitometry for quantification of cataracts. The most frequently used clinical method to classify cataract is the Lens Opacities Classification System III (LOCS III),¹⁴ which is based on slitlamp and retroillumination images and was validated in 1993. The LOCS III is widely used for clinical and research study; however, it has disadvantages in terms of observer bias and there are questions about its intraobserver and interobserver reliability.¹³ The Scheimpflug device provides objective evaluation of the anterior eye segment, including lens densitometry,¹²⁻¹⁸ as well as objective quantification of nuclear lens density on nuclear cataracts. Results in a

comparative study of Scheimpflug methods of lens density quantification (Pentacam nucleus staging software and the Pentacam lens densitometry program, mean value) and LOCS III nuclear opalescence scores showed a positive correlation coefficient between the 2 techniques.¹⁴

The small number of analysis axes used for the measurement of PCO has also been cited as a limitation. We found a strong positive correlation between the Scheimpflug device densitometry values and subjective clinical scores in our study using 4 meridians (2 values per meridian, corresponding to each side of the anterior capsule)^{20,21} at each postoperative visit.

Tanaka et al.¹⁰ found another limitation; that is, that the IOL material significantly influenced light-scatter density measurements of a Scheimpflug videophotography system; thus, the intensity of PCO quantified by this system cannot be directly compared with the intensity in IOLs of different optic materials without subtracting the light-scatter density in the IOL from the measured value in the posterior capsule.^{5,10,20,21} Yellow-tinted IOLs were designed to absorb violet to blue light so that the transmittance of blue light-emitting diode light of the Scheimpflug system is 10% to 20% less than with untinted IOLs.⁵ In contrast, when the IOL is in the capsule (as in our study), the measurement of ACO is not affected by light scatterings caused by the nature of the IOL because the IOL is behind the ACO.

As a result, the subjective slitlamp clinical classification provides qualitative ordinal values for ACO. Disadvantages include that results can be affected by external factors such as insufficient pupil dilation, changes in slitlamp illumination, and interobserver variability.

Area and linear densitometry measurements provided by the Pentacam HR Scheimpflug device are objective quantitative continuous values that are more appropriate for use in studies. With the device, image acquisition must be conducted according to standard procedures to prevent the appearance of artifacts and enable subsequent analysis. Anterior capsule opacification analysis might be impossible or be affected by external factors such as corneal opacities or insufficient pupil dilation. The device calculates a quality specification score, which takes into account the area covered, alignment, and ocular motion. This score helps users assess the validity of the data from each examination. We believe this technology has great potential for documenting the progression of ACO in longitudinal studies as well in epidemiologic studies and clinical trials. It was not the aim of this study to draw conclusions about PCO measurement; however, in our opinion this technology also has great potential for documenting the progression of PCO.

In conclusion, area and linear densitometry measurements were strongly correlated with the qualitative ordinal measurements obtained by clinical classification. Measurements provided by the area and linear densitometry of the Pentacam HR Scheimpflug device are objective, quantitative, continuous values, which we believe makes the technique a better way than clinical classification for analyzing the degree of ACO.

WHAT WAS KNOWN

- Studies have examined the correlation between the clinical method and Scheimpflug device densitometry for the quantification of cataracts and PCO.

WHAT THIS PAPER ADDS

- This prospective comparison of ACO values measured by the clinical classification method and the mean density values measured by 3 Scheimpflug device densitometry methods (area, linear, and peak) found that the area and linear density quantitative continuous values provided by the Scheimpflug device densitometry software had a strong positive correlation with qualitative ordinal values obtained by clinical classification at every postoperative evaluation.

REFERENCES

1. Werner L, Pandey SK, Escobar-Gomez M, Visessook N, Peng Q, Apple DJ. Anterior capsule opacification; a histopathological study comparing different IOL styles. *Ophthalmology* 2000; 107:463–471
2. Werner L, Pandey SK, Apple DJ, Escobar-Gomez M, McLendon L, Macky TA. Anterior capsule opacification; correlation of pathologic findings with clinical sequelae. *Ophthalmology* 2001; 108:1675–1681
3. Sacu S, Menapace R, Buehl W, Rainer G, Findl O. Effect of intraocular lens optic edge design and material on fibrotic capsule opacification and capsulorhexis contraction. *J Cataract Refract Surg* 2004; 30:1875–1882
4. Sacu S, Findl O, Menapace R, Georgopoulos M, Buehl W, Rainer G. Assessment of anterior capsule opacification: photographic technique and quantification. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28:271–275
5. Minami K, Honbo M, Mori Y, Kataoka Y, Miyata K. Area densitometry using rotating Scheimpflug photography for posterior capsule opacification and surface light scattering analyses. *J Cataract Refract Surg* 2015; 41:2444–2449
6. Bender L, Spalton DJ, Uyanonvara B, Boyce J, Heatley C, Jose R, Khan J. POComan: new system for quantifying posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2004; 30:2058–2063
7. Findl O, Buehl W, Menapace R, Georgopoulos M, Rainer G, Siegl H, Kaider A, Pinz A. Comparison of 4 methods for quantifying posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29:106–111
8. Grewal D, Jain R, Brar GS, Grewal SPS. Pentacam tomograms: a novel method for quantification of posterior capsule opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49:2004–2008. Available

- at: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleidZ2125533>. Accessed April 6, 2017
9. Praveen MR, Vasavada AR, Shah GD, Shah AR, Khamar BM, Dave KH. A prospective evaluation of posterior capsule opacification in eyes with diabetes mellitus: a case-control study. *Eye* 2014; 28:720–727. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4058623/pdf/eye201460a.pdf>. Accessed April 6, 2016
 10. Tanaka Y, Kato S, Miyata K, Honbo M, Mejima R, Kitano S, Amano S, Oshika T. Limitation of Scheimpflug videophotography system in quantifying posterior capsule opacification after intraocular lens implantation. *Am J Ophthalmol* 2004; 137:732–735
 11. Rabsilber TM, Khoramnia R, Auffarth GU. Anterior chamber measurements using Pentacam rotating Scheimpflug camera. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32:456–459
 12. Magalhães FP, Costa EF, Cariello AJ, Rodrigues EB, Hofling-Lima AL. Comparative analysis of the nuclear lens opalescence by the Lens Opacities Classification System III with nuclear density values provided by Oculus Pentacam: a cross-section study using Pentacam Nucleus Staging software. *Arq Bras Oftalmol* 2011; 74:110–113. Available at: <http://www.readcube.com/articles/10.1590/S0004-27492011000200008>. Accessed April 6, 2016
 13. Kirkwood BJ, Hendicott PL, Read SA, Pesudovs K. Repeatability and validity of lens densitometry measured with Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35:1210–2015
 14. Chylack LT Jr, Wolfe JK, Singer DM, Leske MC, Bullimore MA, Bailey IL, Friend J, McCarthy D, Wu S-Y; for the Longitudinal Study of Cataract Study Group. The Lens Opacities Classification System III. *Arch Ophthalmol* 1993; 111:831–836; erratum 1506 Available at: http://www.chylackinc.com/LOCS_III/LOCS_III_Certification_files/LOCS_III_Reprint_pdf.pdf. Accessed April 6, 2016
 15. Pei X, Bao Y, Chen Y, Li X. Correlation of lens density measured using the Pentacam Scheimpflug system with the Lens Opacities Classification System III grading score and visual acuity in age-related nuclear cataract. *Br J Ophthalmol* 2008; 92:1471–1475
 16. Hockwin O, Laser H, Wegener A. Investigations on rat eyes with diabetic cataract and naphthalene cataract by Zeiss-Scheimpflug measuring system SLC. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1986; 224:502–506
 17. Tkachov SI, Lautenschläger C, Ehrlich D, Struck HG. Changes in the lens epithelium with respect to cataractogenesis: light microscopic and Scheimpflug densitometric analysis of the cataractous and the clear lens of diabetics and non-diabetics. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006; 244:596–602
 18. Kashima K, Trus BL, Unser M, Edwards PA, Datiles MB. Aging studies on normal lens using the Scheimpflug slit-lamp camera. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 1993; 34:263–269. Available at: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleidZ2179196>. Accessed April 6, 2016
 19. Lasa MSM, Datiles MB III, Magno BV, Mahurkar A. Scheimpflug photography and postcataract surgery posterior capsule opacification. *Ophthalmic Surg* 1995; 26:110–113
 20. Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, Hayashi F. In vivo quantitative measurement of posterior capsule opacification after extracapsular cataract surgery. *Am J Ophthalmol* 1998; 125:837–843
 21. Hayashi H, Hayashi K, Nakao F, Hayashi F. Quantitative comparison of posterior capsule opacification after polymethylmethacrylate, silicone, and soft acrylic intraocular lens implantation. *Arch Ophthalmol* 1998; 116:1579–1582. Available at: <http://archophth.jamanetwork.com/article.aspx?articleidZ264513>. Accessed April 6, 2016
 22. Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, Hayashi F. Reproducibility of posterior capsule opacification measurement using Scheimpflug videophotography. *J Cataract Refract Surg* 1998; 24:1632–1635
 23. Hayashi K, Hayashi H. Posterior capsule opacification after implantation of a hydrogel intraocular lens. *Br J Ophthalmol* 2004; 88:182–185. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1771981/pdf/bjo08800182.pdf>. Accessed April 6, 2016
 24. Arora R, Mehta S, Goyal JL, Pahuja S, Gupta D, Gupta R. Pattern of Scheimpflug imaging in anterior segment foreign bodies [letter]. *Eye* 2010; 24:1304–1306. Available at: <http://www.nature.com/eye/journal/v24/n7/pdf/eye2009302a.pdf>. Accessed April 6, 2016
 25. Shankar H, Taranath D, Santhirathelagan CT, Pesudovs KJ. Repeatability of corneal first-surface wavefront aberrations measured with Pentacam corneal topography. *Cataract Refract Surg* 2008; 34:727–734
 26. Shankar H, Taranath D, Santhirathelagan CT, Pesudovs K. Anterior segment biometry with the Pentacam: comprehensive assessment of repeatability of automated measurements. *J Cataract Refract Surg* 2008; 34:103–113
 27. Magno BV, Freidlin V, Datiles MB III. Reproducibility of the NEI Scheimpflug Cataract Imaging System. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:3078–3084. Available at: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleidZ2179797>. Accessed April 6, 2016
 28. Datiles MB, Edwards PA, Trus BL, Green SB. In vivo studies on cataracts using the Scheimpflug slit lamp camera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987; 28:1707–1710. Available at: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleidZ2160046>. Accessed April 6, 2016



CASE REPORT

Role of Scheimpflug Imaging in the Diagnosis of Intraocular Lens Damage after Foldable Lens Implant: Case Report

Txomin Alberdi^{1*}, Javier Mendicute¹, Lucía Bascarán¹, Juaristi L¹ and Javier Ruiz-Ederra²

¹Ophthalmology Department, Donostia University Hospital, Donostia-San Sebastian, Spain

²Biodonostia Health Research Institute, Donostia-San Sebastian, Spain

***Corresponding author:** Prof. Txomin Alberdi, Ophthalmology Department, Donostia University Hospital, Donostia-San Sebastian, Paseo Dr. Beguiristain s/n, Donostia-San Sebastian, 20014, Spain, Tel: +34665729017, Fax: 943007452, E-mail: txotere@gmail.com

Abstract

To our knowledge, this is the only article that presents the Peak densitometry method of the Pentacam HR software as a tool for the diagnosis of intraocular lens damage after cataract surgery.

Keywords

Scheimpflug Imaging, Intraocular lens damage, Peak densitometry method

This score helps users evaluate the validity of each test data [1].

Area and Linear densitometry methods are increasingly used methods to measure density of any structure of the anterior segment. The peak densitometry value is the point at which the lens densitometry is highest on the densitogram. Therefore, it is not useful to measure the average density of structures of the anterior segment; however, it has other utilities like the one we describe in this article.

The trend in cataract surgery has been to insert lenses through smaller incisions for faster recovery and to generate smaller magnitudes of astigmatism. This has been possible because the lenses have been folded or rolled up and then injected. Because of this increased manipulation, intraocular lenses are more prone to damage [3].

The aim of this article is to propose the density levels provided by Oculus Pentacam® HR densitometry Peak method as a diagnostic tool to evaluate lens damage after cataract surgery.

Case Report

A 70-year-old woman referred positive dysphotopsias after cataract procedure. Ophthalmologic examination reveals a 20/20 visual acuity and showed a thin marked line on the intraocular lens and no other find of interest.

Introduction

In 2004, Hayashi, et al. first obtained a Scheimpflug image of the anterior segment at the 0°, 45°, 90° and 135-degree meridians for posterior capsule opacification measuring. One decade later, the new Pentacam HR software provides a 3-Dimensional segment analysis (angle, depth and volume), and its densitometry software that includes nucleus staging software and 3 densitometry methods (area, linear, and peak) to measure density of any anterior chamber structures (cornea, lens, anterior capsule, posterior capsule...), and provides objective quantitative continuous values in an easy, rapid, and repeatable manner [1,2]. 25 Scheimpflug images are acquired during each scan. A second front pupillary camera aligns the images and compensates for eye movement. The measurement process takes less than 2 seconds, and small eye-movements are captured and corrected simultaneously. The Scheimpflug device calculates a quality specification score that takes into account the area covered, alignment and eye movement.

Citation: Alberdi T, Mendicute J, Bascarán L, Juaristi L, Ruiz-Ederra J (2017) Role of Scheimpflug Imaging in the Diagnosis of Intraocular Lens Damage after Foldable Lens Implant: Case Report. Int J Ophthalmol Clin Res 4:072. doi.org/10.23937/2378-346X/1410072

Received: January 05, 2017; **Accepted:** May 31, 2017; **Published:** June 02, 2017

Copyright: © 2017 Alberdi T, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

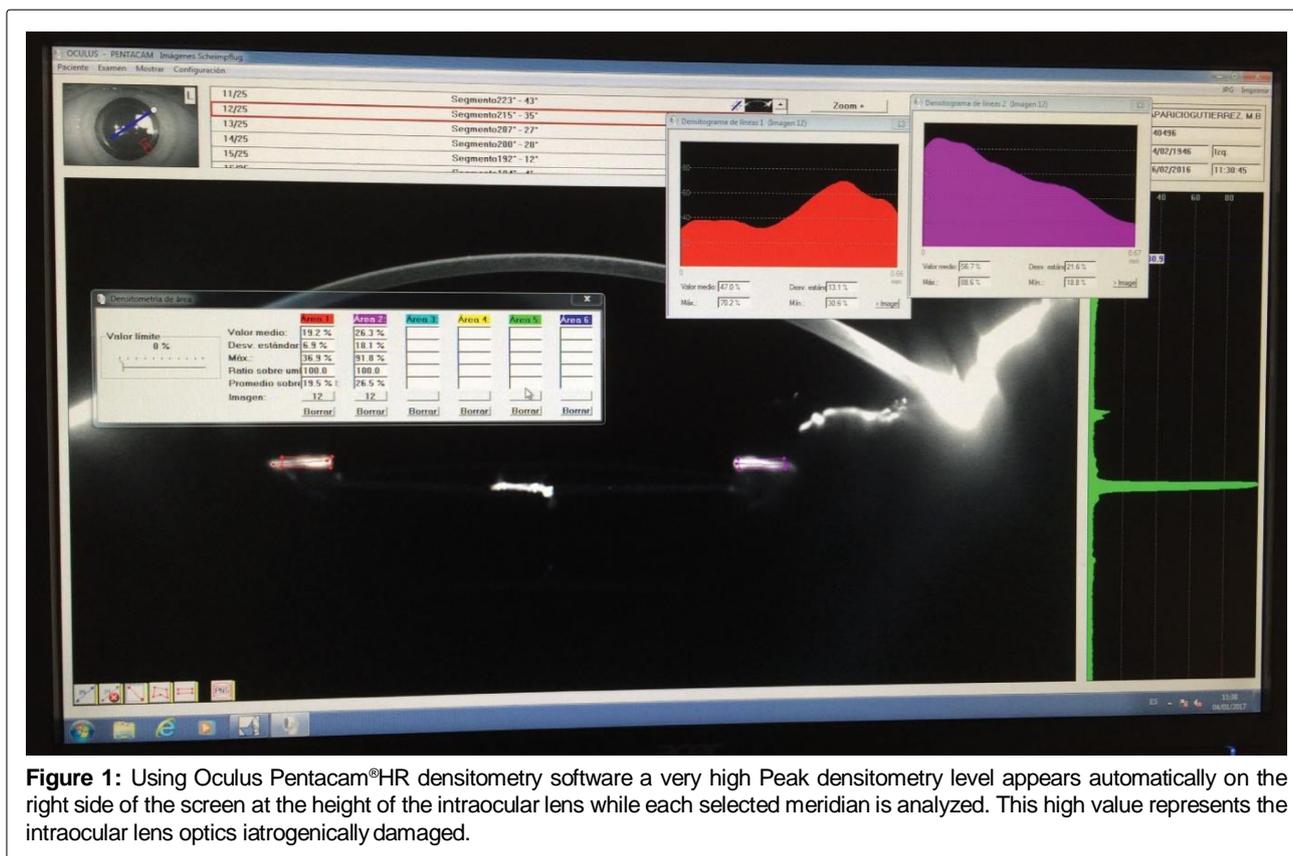


Figure 1: Using Oculus Pentacam®HR densitometry software a very high Peak densitometry level appears automatically on the right side of the screen at the height of the intraocular lens while each selected meridian is analyzed. This high value represents the intraocular lens optics iatrogenically damaged.

Using Oculus Pentacam®HR densitometry software a very high Peak densitometry level appears automatically on the right side of the screen at the height of the damaged intraocular lens while each selected meridian is analyzed (Figure 1).

The patient referred progressive diminution of the dysphotopsias and in the third month examination informed us of the resolution of these symptoms.

Discussion

The Pentacam®HR software calculates three types of lens capsule densitometry (area, linear and peak) and provides density levels as an easy, rapid, repeatable assessment. In 2016 Alberdi, et al. measuring anterior capsule opacification found that the density values provided by area and linear densitometry methods have a strong positive correlation with the levels obtained by the Slit-lamp based photographic subjective scale [4]. In the same study, they found a little or no correlation between peak densitometry and the subjective photographic scale based on the slit lamp [4]. According to this study, peak densitometry is not an appropriate method for clinical evaluation of anterior capsule opacification [4].

Area and Linear densitometry methods are increasingly used methods to measure density of any structure of the anterior chamber.

While each selected meridian is analyzed using Scheimpflug imaging the peak densitometry level ap-

pears automatically on the right side of the screen. The peak densitometry value is the point at which the lens densitometry is highest on the densitogram. Therefore, it is not useful to measure the average density of structures of the anterior chamber. For this reason, peak densitometry has other clinical applications, for example for finding intralenticular foreign bodies [5,6] (Figure 2).

In this article, we propose the density levels provided by Oculus Pentacam®HR densitometry Peak method as a diagnostic tool to evaluate lens damage after cataract surgery.

The acquisition of Scheimpflug images must be performed according to standard procedures to avoid the appearance of artifacts and to perform an error-free analysis. Densitometry measurements of anterior chamber structures may be impossible or distorted by external factors such as insufficient mydriasis or corneal opacities. The device provides a quality specification score that takes into account the area of exploration, alignment and eye movements. This quality specification score helps users evaluate the validity of each image acquisition [1].

Ethical Statement

The authors of this paper have no financial or proprietary interest in any of the products mentioned in this article nor have they received financial support from any of the following multinational companies:

- Oculus (Pentacam®HR) Wetzlar-Germany

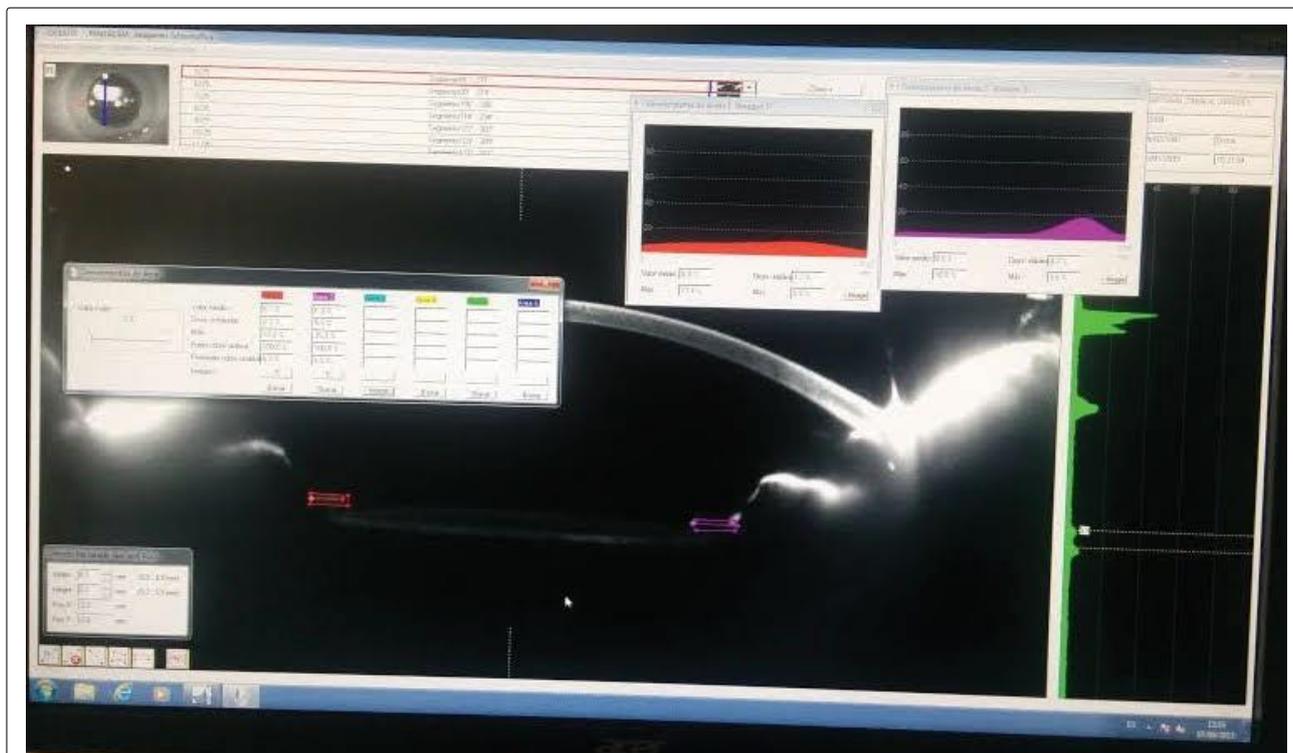


Figure 2: In this other figure we can see an intraocular lens without damage in its optic so a small elevation corresponding to the anterior edge of the intraocular lens and a small elevation that corresponds to the posterior edge of the optic appears on the right side of the screen (Peak densitometry values). In this case the opacification of the anterior capsule does not generate elevation in this zone.

References

1. Rabsilber TM, Khoramnia R, Auffarth GU (2006) Anterior chamber measurements using Pentacam rotating Scheimpflug camera. *J Cataract Refract Surg* 32: 456-459.
2. Kirkwood BJ, Hendicott PL, Read SA, Pesudovs K (2009) Repeatability and validity of lens densitometry measured with Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg* 35: 1210-1215.
3. S Harsum, S Mann, I Clatworthy, J Lewin, B Little (2010) An investigation of intraocular lens damage and foreign bodies using an injectable hydrophilic acrylic lens implant. *Eye* 24: 152-157.
- 4.
5. Alberdi T, Mendicutte J, Bascarán L, Goñi N, Barandika O, et al. (2016) Anterior capsule opacification after femtosecond laser-assisted cataract surgery: Clinical classification versus Scheimpflug device densitometry values. *J Cataract Refract Surg* 42: 826-832.
6. Singh R, Ram J, Gupta R (2015) Use of Scheimpflug imaging in the management of intra-lenticular foreign body. *Nepal J Ophthalmol* 7: 82-84.
7. Grewal SPS, Jain R, Gupta R, Grewal D (2006) Role of Scheimpflug Imaging in Traumatic Intralenticular Foreign Body. *Am J Ophthalmol* 142: 675-676.

Study of anterior and posterior capsule densitometry levels after femtosecond laser-assisted cataract surgery

Running title: Capsule densitometry after femto cataract surgery

Txomin Alberdi¹, Javier Mendicutel¹, Lucía Bascarán¹, Olatz Barandika², Javier Ruiz Ederra²

Alberdi T¹, Mendicutel J¹, Bascarán L¹, Barandika O², Ruiz-Ederra J²

1-Ophthalmology department, Donostia University Hospital, Donostia-San Sebastian, Spain. Postcode 20014

2-Biodonostia Health Research Institute, Donostia-San Sebastian, Spain.

Correspondence to: Txomin Alberdi Ibarloza. Donostia University Hospital, Paseo Dr. Beguiristain s/n. Donostia - San Sebastian, postcode 20014, Spain, txotere@gmail.com

Abstract

Aim: To analyze and compare five different variables over one year follow-up (1 week, 1, 3, 6 and 12 months): anterior capsule area densitometry values, posterior capsule area densitometry values, anterior capsule linear densitometry values, posterior capsule linear densitometry (provided by Oculus Pentacam®HR densitometry software) and anterior capsular opening area reduction ratio after Femtosecond laser-assisted cataract surgery.

Methods: This is a prospective comparative study. Setting: Ophthalmology Department, Donostia University Hospital, Spain. 71 patients underwent femtosecond laser-assisted cataract surgery on single eyes between June 2014 and December 2015. A 5.0 mm diameter laser assisted anterior capsulotomy was performed on all eyes. In every post-surgery evaluation, Anterior Capsule opacification (ACO) and Posterior Capsule opacification (PCO) density levels were provided by Oculus Pentacam®HR using Area and Linear densitometry methods. Digital images were captured with a slit-lamp Topcon photographic camera and IMAGEnet® 5 software. The anterior capsule opening area on the digital images was measured using the Sketchandcalc area calculator and converted to Reduction Ratio levels.

Results: Using Pearson Correlation Coefficient (PCC) we found no correlation (PCC or $r = 0.091$) (p value = 0.46) in the twelfth month assessment between the evolution of ACO Area Densitometry values and PCO Area densitometry values considered as independent variables. We found no correlation, using PCC ($r = 0.096$) (p value = 0.43) between the evolution of ACO Linear Densitometry values and PCO linear densitometry values, in the twelfth month visit, working both as independent variables.

AC Linear densitometry levels and AC Area densitometry levels continued to grow strongly from sixth to twelfth months. Analysis of the values of anterior capsular opening area reduction ratio (1 week, 1, 3, 6, 12 months) revealed statistically significant differences between the values of successive examinations but the magnitude of the change decreased. In the final period of monitoring between six and twelve months the magnitude of change was low.

Conclusion: Our results show strong increases of Scheimpflug ACO densitometry values from the sixth to the twelfth month while Capsulorhexis area Reduction Ratio levels displayed a considerable decrease. We found no correlation between ACO Area and linear Densitometry values and PCO Area and linear densitometry values, in the twelfth month examination, working as independent variables

Keywords: Anterior capsule (AC), Anterior capsule opacification (ACO); anterior capsule shrinkage; Area densitometry; femtosecond laser-assisted cataract surgery; Linear densitometry; Pentacam®HR Scheimpflug; posterior capsule opacification (PCO)

INTRODUCTION

Posterior capsule opacification (PCO) remains the most common postoperative cause of impaired visual acuity after removing a cataract using phacoemulsification. Until recently the primary clinical importance of anterior capsule opacification (ACO) and Capsulorhexis contraction was that they could be an impediment during examination of the peripheral fundus. It has been recognized that the retraction of the anterior capsule might increase the shrink-wrap effect of the capsular bag, which in turn might reduce the PCO development. It was debatable whether it was indeed desirable to reduce the risk for PCO at the expense of a higher ACO rate and anterior capsular opening shrinkage. Only in case of infrequent severe Anterior Capsule Opacification Syndrome (ACOS) was ACO associated with pseudo-phacodonesis and occasionally lens dislocation.

A new category of intraocular lenses (IOLs) was introduced in 2003 when the Food and Drug Administration approved multifocal lenses for use in the United States. Nowadays, the increased use of multifocal and toric intraocular lenses requires good centration of these IOLs to achieve good visual outcomes. Decreasing ACO is especially important to avoid a secondary IOL optic tilt and decentration. These tilts and decentrations are generally asymptomatic with monofocal lenses but more frequently symptomatic when multifocal and toric lenses have been implanted.

Many research studies have been conducted into the treatment and prevention of PCO and ACO and several risk factors have been identified for predisposing the development of PCO and ACO^(1,2,3). These studies are based on

measurements of ACO with subjective scales. Due to the clinical significance of the two types of capsule opacification an objective quantification of ACO^(3,5) and PCO^(4,6,7,8,9) is highly important in assessing the effectiveness of trials.

Based on the results of a previous study we proposed area and linear densitometry measurements (continuous objective quantitative levels) provided by Pentacam®HR-Scheimpflug as a more appropriate method for use in trials than slit-lamp-based photographic ACO grading systems (subjective ordinal levels)⁽¹⁰⁾. This Scheimpflug imaging is fast, simple to perform, and has an easier learning curve compared with slit-lamp-based photographic ACO grading systems. It provides ACO and PCO densitometry measurements as a rapid, objective, easy, and repeatable means of assessment.

To our knowledge, this is the only study which makes a prospective comparison of anterior capsule Scheimpflug densitometry levels and posterior capsule densitometry levels measured in a 1 year follow-up after Femtosecond laser-assisted cataract surgery. The results of the following prospective comparative study will be of great help in understanding the behavior of these variables during the first year after surgery.

The hypothesis of this study is that the anterior capsular opening area reduction ratio measured by area meters and the values of opacity of anterior capsule and posterior capsule after cataract surgery measured by Schempfug densitometry can show progression after 6 months

The aim of the study was to analyze and compare five different variables over one year follow-up (1 week, 1, 3, 6, 12 months): anterior capsule area densitometry, posterior capsule area densitometry, anterior capsule linear densitometry, posterior capsule linear densitometry⁽¹⁰⁾ provided by Oculus Pentacam®HR densitometry software and anterior capsular opening area reduction ratio^(11,12) after Femtosecond laser-assisted cataract surgery.

MATERIALS AND METHODS

This prospective comparative study looked at 71 eyes of 71, who underwent femtosecond laser-assisted cataract surgery at Donostia University Hospital, Spain, between June 2014 and December 2015.

The study conformed to the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the Health Area Ethics Committee of Donostia University Hospital. Informed consent was obtained from all patients prior to participation.

SURGICAL TECHNIQUE: We performed 71 Femtosecond laser-assisted cataract operations on 71 patients (32 men and 39 women) using the VICTUS™ femtosecond laser platform. A Femtosecond laser guided 5.0 mm capsulotomy and Lens fragmentation was performed on all eyes. After a conventional phacoemulsification an anterior capsule polishing was performed. Next a 6.0 mm optic IOL was inserted into a capsular bag inflated with 1% hyaluronate sodium. Finally, the surgeon confirmed that the IOLs were in the correct intrasacular position at the end of operation⁽³⁾. In order to avoid any bias ascribed to IOLs due to different scatter light intensities from the anterior IOL surface, the same type of acrylic hydrophobic non-tinted square edged IOL, the enVista™ (Model MX60), was implanted on all eyes^(4,13). Postoperatively, all patients received similar routine medication comprising topical of diclofenac sodium, tobramycin and dexamethasone 4 times daily for a week.

PATIENT SELECTION: Before cataract surgery all patients responded to an exhaustive questionnaire regarding their clinical history and a thorough ophthalmologic examination.

We also included applanation tonometry, slit lamp evaluation and ophthalmoscopy through dilated pupils.

Every patient involved in the study gave prior consent in writing and was fully aware of the nature of the trials.

Every patient met the following inclusion criteria; none displayed any of the exclusion criteria.

Inclusion criteria

- Aged between 65 and 85 with a pupillary diameter of more than 6.0 mm after complete pharmacological mydriasis; eyes that have undergone femtosecond laser-assisted cataract surgery without any intraoperative complication; no tears in the circular anterior capsulotomy and enVista® IOL in the correct intracapsular position at the end of operation.

Exclusion Criteria

Insufficient pharmacological pupil dilation (less than 6.0 mm measured by Haab's pupillometer) and corneal opacities - both could alter the post-surgery evaluation; history of previous ocular disease; risk of intraoperative floppy iris syndrome; uveitis, glaucoma, pseudoexfoliation syndrome or pigment retinitis; corneal endothelial dystrophies and degeneration; intraocular tumors; history of ocular surgical procedures; surgical intraoperative and early postoperative complications related to surgery in this study; unfavorable capsular bag conditions for the implementation of an IOL, history of rheumatic disease and systemic connective disease; we also excluded chronically-ill patients taking immunomodulators, immunosuppressive drugs, corticosteroids or anti-inflammatory drugs.

POST SURGERY EVALUATIONS

Post-surgery evaluation of patients was performed in the first week, the first and the third, sixth and twelfth months. During these examinations anterior capsular opening area reduction ratios were quantified and ACO and PCO densitometry levels (Area and Linear) were measured.

1. POSTOPERATIVE ANTERIOR CAPSULAR OPENING SIZE REDUCTION RATIO LEVELS: measured on trans-illumination digital images acquired from dilated pupils. The CCC area on the digital images was measured in mm² using the Sketchandcalc area calculator (<https://www.sketchandcalc.com/>)⁽¹⁰⁾.

In all operations a 5.0 mm capsulotomy was performed using the VICTUS™ femtosecond laser platform corresponding to an initial area of 19.635 mm². Digital images were obtained on dilated pupil eyes in every post-surgery evaluation and acquired with a slit lamp Topcon photographic device and saved by IMAGENet® 5 software. On the digital images the CCC area was measured in mm² using the Sketchandcalc area calculator (<https://www.sketchandcalc.com/>). A 5.0 mm capsulotomy has 19.635mm². This initial anterior capsular opening area was considered to be 100% of the area for all patients. We obtained anterior capsular opening area and calculate reduction ratio levels in every post-surgery evaluation^(11,12).

2. ACO and PCO DENSITOMETRY LEVELS (PENTACAM®HR DENSITOMETRY SOFTWARE)

Densitometry levels of the anterior capsule and posterior capsule were taken using the new Pentacam®HR densitometry software. Twenty-five Scheimpflug images were acquired during one scan. A second frontal pupillary camera aligned the images and compensated for ocular movement. The measurement process lasted less than two seconds and minute eye-movements were captured and corrected simultaneously.

Imaging was performed in a darkened clinical assessment room with a luminance level = or < 1 cd/m² in all cases, measured by a Gossen Starlite 2 meter. The Pentacam®HR calculates a quality specification score (QS). Only images captured with a Quality Score of over 95 were accepted for the study.

Pentacam®HR provides densitometry software including lens densitometry using the new Pentacam nucleus staging software (PNS) and three densitometry methods (area, linear and peak) available for measuring lens capsules^(14,15).

In our study we used two densitometry methods provided by the new Oculus Pentacam®HR densitometry software (area densitometry, linear densitometry). In all post-surgery examinations we measured the ACO and PCO densitometry levels taken from Scheimpflug images at four meridians: 0°, 45°, 90°, 135°^(16,17,18,19,20). The true ACO level was considered to be the average of the ACO densitometry levels on both sides of the anterior capsule at each of the four meridians^(16,17,18,19,20). The true PCO level was considered to be the average of the densitometry levels at each of the four meridians.

The densitometry measurements are expressed in grayscale units (GSU). The GSU scale is calibrated by proprietary software, which establishes a minimum light scatter of 0 (maximum transparency) and maximum light scatter of 100 (minimum transparency). In our study anterior capsule area densitometry is measured on a fixed rectangular area of 0.2mm x 0.5mm. This specified area is located manually on both sides of the anterior capsule in each of the four selected meridians from the Scheimpflug images; the GSU levels appear on the screen instantly. Scheimpflug imaging is used to calculate the anterior capsule linear densitometry as follows: a line of 0.5 mm is drawn through both sides of the anterior capsule on each of the selected meridians and GSU levels; the GSU levels appear on the screen instantly.

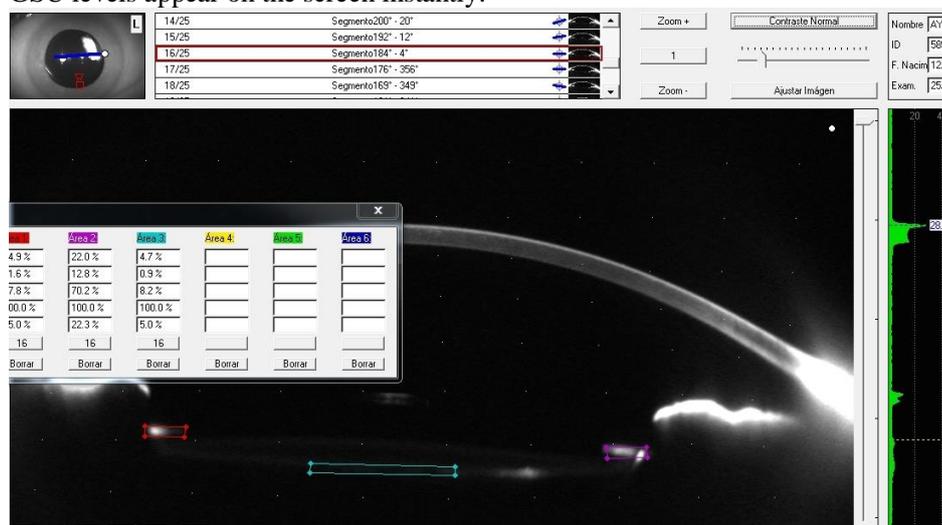


Figure 1

In our study posterior capsule area densitometry is measured on a fixed rectangular area of 0.2mm x 2mm. This specified area is located manually on the central posterior capsule in each of the four selected meridians from the Scheimpflug images; the GSU levels appear on the screen instantly. Scheimpflug imaging is used to calculate the posterior capsule linear densitometry as follows: a 2 mm line is drawn on the posterior capsule in each of the four selected meridians and GSU levels appear on the screen instantly. All measurements were performed by two optometrists who had no prior knowledge of the aims of this study.

Statistical Analysis

The data was compared using the 22.0 version of the SPSS software.

We used Pearson's coefficient to analyze the correlation between the different variables under study.

RESULTS

One year after surgery two patients failed to complete follow-up due to personal reasons. Data from the sixty-nine (97.18%) remaining patients who consequently completed all postoperative examinations were considered for analysis.

The average age and standard deviation of the patients was 72.93 years (SD 5.06), in an age range of 65 to 83. There were 31 men and 38 women.

After analysis of all ACO and PCO post-surgery evaluations (first week, first month, third, sixth and twelfth months) we found the results appearing below:

Table 1

(1) The densitometry values are expressed in gray scale units (GSU). 0 expresses maximum transparency and 100 expresses minimum transparency. (2) 19.635mm ² is considered to be 100% of the area and reduction ratio is calculated in every post-surgery evaluation						
N=69		1st week	1st month	3rd month	6th month	12th month
(1) AC AREA Densitometry mean value	AVERAGE SD	4.21 0.59	9.21 5.95	14.33 9.87	16.74 10.52	20.80 13.53
(1) AC LINEAR Densitometry mean value	AVERAGE SD	4.97 0.87	11.82 7.92	18.56 13.21	22.05 14.23	26.42 16.24
(2) CCC AREA Reduction ratio	AVERAGE SD	2.43 3.7	7.78 8.71	10.39 9.39	11.80 10.31	12.12 10.52
(1) PC AREA Densitometry mean value	AVERAGE SD	4.00 0.4	4.05 0.56	4.20 0.68	4.56 1.07	5.95 1.18
(1)PC LINEAR Densitometry mean value	AVERAGE SD	4.90 0.6	4.95 0.76	5.12 0.90	5.70 1.55	6.39 1.80

AC Linear densitometry levels and AC Area densitometry levels continue to grow strongly from the sixth to the twelfth month. Analysis of the values of anterior capsular opening area reduction ratio (first week, first month, third, sixth and twelfth months) reveals statistically significant differences between the values of successive examinations but the magnitude of the change decreases. In the last period between the sixth month examination and the first year examination the magnitude of the change is very low.

Table 2

From 1st week to 1st month	5.3	P<0.0005	
From 1st month to 3rd month	2.6	P<0.0005	
From 3rd month to 6th month	1.4	P<0.005	
From 6th month to 1st year	0.3	P=0.007	
Anterior capsular opening area reduction ratio: Magnitude of change over all examinations			

However in the case of ACO Area and linear densitometry levels the magnitudes of change did not follow a downward pattern in subsequent examinations.

Using a general linear model of repeated measurements, we found that the changes in the ACO Area and linear densitometry levels are statistically significant (p> 0.0005) over all the examinations.

Using Pearson's coefficient we found a positive correlation between area and linear densitometry values of anterior capsule opacification (PCC = 0.95 and p value <0.0005) in the change of magnitudes from the first month examination to the first year examination. We found a positive correlation between area and linear densitometry values of posterior capsule opacification (PCC = 0.9 and p value <0.0005) in the change of magnitudes from the first month examination and the first year examination.

There is a correlation between anterior capsule area densitometry values and anterior capsular opening area reduction ratio (PCC = 0.4 and p value <0.001) in the change of magnitudes between the first week examination and the first year examination

We found no correlation between anterior capsule opening size reduction ratio levels and anterior capsule density levels provided by the two different Oculus Pentacam@HR densitometry methods (area, linear), working both as independent variables, in the changes of values from the sixth to the twelfth month.

There is no correlation between posterior capsule area and linear densitometry values and anterior capsular opening area reduction ratio in the change in magnitudes between the first week examination and the first year examination.

There is no correlation between posterior capsule area and linear densitometry values and anterior capsule area and linear densitometry values in the change of magnitudes between the first week examination and the first year examination.

We found no correlation between the changes in ACO Area Densitometry values and PCO Area densitometry values in the twelfth month examination using Pearson Correlation Coefficient (PCC or r = 0.091) (P value=

0.46). We found no correlation between the changes in ACO Linear Densitometry values and PCO linear densitometry values, in the twelfth month visit using Pearson Correlation Coefficient, PCC ($r = 0.096$) (P value=0.43)

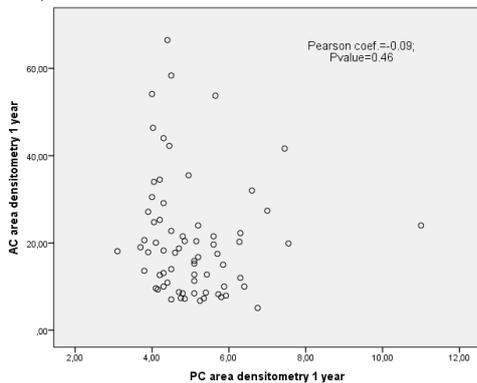


Figure 2

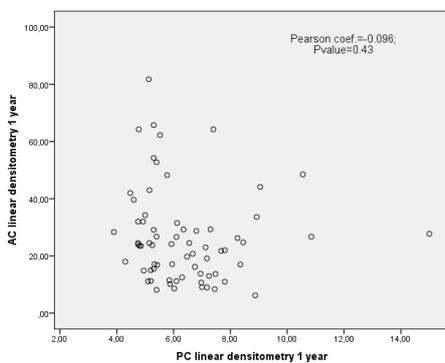


Figure 3

DISCUSSION

Our data shows an increase in ACO Scheimpflug densitometry levels from the sixth to the twelfth month. We also found an increase in anterior capsule opening size reduction ratio levels; however the differences were increasingly smaller. Using a general linear model of repeated measurements, we found in both cases that the changes are statistically significant ($p > 0.005$) in both cases over the entire examination period.

After a 6 month follow-up, Kimura W et al ⁽¹¹⁾ described in 1998 that the anterior capsule opening shrank rapidly during the first month after acrylic IOL implantation followed by a slower progressive reduction in the subsequent 6 months. This publication demonstrated that ACO sets in by the first postoperative month and continues for 6 months and then ceases.

In our opinion subjective clinical quantification methods and Slit-lamp based photographic grading systems have not been able to detect the increase of capsule opacification from six to twelfth months; in our study, however, the new Oculus Pentacam®HR Scheimpflug densitometry (Area and Linear) software has detected this increase. Slit-lamp based photographic grading systems do not discriminate between the degree of opacity in the anterior capsule and the degree in the posterior capsule located behind the anterior capsule area. Slit-lamp based photographic grading systems are subjective ACO quantification methods that provide qualitative ordinal values and consequently are not accurate measurement systems for establishing a relationship between ACO and PCO ^(5, 10).

The Pentacam®HR software calculates three types of lens capsule densitometry (area, linear and peak) and provides density levels as an easy, rapid and repeatable assessment. In 2016 Alberdi et al ⁽¹⁰⁾ found that the density levels provided by area and linear densitometry methods have a strong positive correlation with the values obtained by the Slit-lamp based photographic subjective scale after analysis using Spearman's Rho testing ⁽¹⁰⁾. Using the same analysis they found no correlation between peak densitometry and the Slit-lamp based photographic subjective scale ⁽¹⁰⁾. According to this study Peak densitometry is not an appropriate method for the clinical evaluation of anterior capsule opacification ⁽¹⁰⁾.

In our opinion area and linear densitometry levels provided by Scheimpflug camera are quantitative continuous objective values and have great potential in documenting increases in ACO in longitudinal studies as well as for epidemiologic studies and clinical trials ⁽¹⁰⁾.

Scheimpflug image acquisition must be performed according to standard procedures to avoid the appearance of artefacts and enable subsequent analysis. ACO densitometry measurements may be impossible or distorted by external factors such as insufficient mydriasis or corneal opacities. The device provides a quality specification score which takes into account the alignment, area covered, and ocular motion. This quality specification score helps users assess the validity of each image acquisition.

Marcantonio and Vrensen⁽²¹⁾ studied cell biology and demonstrated that the anterior epithelial cells (A-cells) that line the anterior capsule are probably important in the pathogenesis of ACO and fibrous PCO, since the primary type of response of these cells is to undergo fibrous metaplasia⁽²¹⁾. Nowadays there is uniform consensus that A-cell proliferation and trans-differentiation play a fundamental role in the pathogenesis of ACO and fibrous PCO, besides the importance of Equatorial cells (E cells) lining the equatorial zone in the pathogenesis of proliferative PCO resulting from Elschnig Pearls proliferation^(22,23).

After an exhaustive review of the literature we could not find any reports of an association between anterior capsule opening opacification and fibrous PCO development. Hayashi et al⁽²⁴⁾ demonstrated in 2004 that there was no correlation between the size of the anterior capsule opening area one day after surgery and the degree of PCO one year after surgery (Pearson correlation coefficient [r] = 0.041; p = 0.79). They demonstrated that the percentage reduction in the anterior capsule opening area from one day to one year after surgery did not correlate with the degree of PCO one year after surgery (r = -0.08; p = 0.60)⁽²⁴⁾. In their opinion the contraction of the anterior capsule opening and PCO after cataract surgery can not be explained by a common mechanism⁽²⁴⁾. In this previous study the density of the posterior capsule was calculated using the Peak height of the axial densitometry on the four meridians⁽²⁴⁾. In our opinion Peak densitometry is not an appropriate method for the clinical evaluation of anterior capsule opacification nor posterior capsule opacification⁽¹⁰⁾.

Since fibrous PCO development and ACO seem to share similar mechanisms, there could be a significant correlation between the postoperative ACO densitometry levels and the fibrous PCO severity^(10,24).

In our opinion the accuracy of methods used to date to quantify the degree of ACO and PCO opacification is questionable.

A more precise measurement of ACO different variables and PCO different types is essential to understand the relationship of both processes^(10,24).

In our study we propose Area and Linear Scheimpflug densitometry methods for measuring anterior and posterior capsule opacification to establish a correlation between both processes.

However despite using new methods of measurement we found no correlation between posterior capsule density levels provided by the two different Oculus Pentacam®HR densitometry methods (area, linear) and anterior capsular opening area reduction ratio in the change in magnitudes between the first month and the first year examinations

There is no correlation between posterior capsule area and linear densitometry values and anterior capsule area and linear densitometry values in the change in magnitudes between the first month and the first year examinations

CONCLUSIONS

1. The data shows a strong increase in anterior capsule Scheimpflug densitometry levels from the sixth to the twelfth month while the anterior capsular opening size reduction ratio levels CCC decrease markedly.
2. There is no correlation between posterior capsule area and linear densitometry values and anterior capsule area and linear densitometry values in the change in magnitudes between the first month and the first year examinations.

REFERENCES

- (1) Vasavada AR, Praveen MR, Tassignon MJ *et al.* Posterior capsule management in congenital cataract surgery. *J. Cataract Refract Surg.* 2011;37(1): 173–193.
- (2) Vasavada AR, Raj SM, Shah GD, MA Nanavaty. Posterior Capsule Opacification After Lens Implantation. *Expert Rev Ophthalmol.* 2013; 8(2):141-149.
- (3) Sacu S, Menapace R, Buehl W, Rainer GF, et al. Effect of intraocular lens optic edge design and material on fibrotic capsule opacification and capsulorhexis contraction. *J. Cataract Refract Surg.* 2004 Sep; 30(9): 1875.
- (4) Keiichiro Minami, PhD, Masato Honbo, Yosai Mori, MD, Yasushi Kataoka, MD, Kazunori Miyata, MD, PhD. Area densitometry using rotating Scheimpflug photography for posterior capsule opacification and surface light scattering analyses. *J Cataract Refract Surg* 2015; 41:2444–2449 Q 2015 ASCRS and ESCRS
- (5) Sacu S, Findl O, Menapace R, Georgopoulos M, Buehl W, Rainer G. Assessment of anterior capsule opacification: photographic technique and quantification. *J Cataract Refract Surg.* 2002 Feb; 28(2):271-5.
- (6) Prinz A, Vecsei-Marlovits PV, Sonderhof D, Paul Irsigler P, Findl O, Weingessel B Comparison of posterior capsule opacification between a 1-piece and a 3-piece microincision intraocular lens. *Br J Ophthalmol* 2013;97:18–22. doi:10.1136/bjophthalmol-2012-301899
- (7) Findl O, Buehl W, Menapace R, Georgopoulos M, Rainer G Siegel H, Kaider A, Pinz A. Comparison of 4 methods for quantifying posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29:106-111

- (8) Grewal D, Jain R, Brar GS, Grewal SPS. Pentacam tomograms: a novel method for quantification of posterior capsule opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49:2004–2008
- (9) Praveen MR, Vasavada AR, Shah GD, Shah AR, Khamar BM, Dave KH. A prospective evaluation of posterior capsule opacification in eyes with diabetes Mellitus: a case-control study. *Eye* 2014; 28: 720-727
- (10) Alberdi T, Mendicute J, Bascarán L, Goñi N, Barandika O, Ruiz-Ederra J. Anterior capsule opacification after femtosecond laser-assisted cataract surgery: Clinical classification versus Scheimpflug device densitometry values. *J Cataract Refract Surg.* 2016 Jun; 42(6): 826-32. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.03.037.
- (11) Kimura W, Yamanishi S, Kimura T, Sawada T, Ohte A. Measuring the anterior capsule opening after cataract surgery to assess capsule shrinkage. *J Cataract Refract Surg.* 1998 sept vol 24, 1235-1238
- (12) Kato S, Suzuki T, Hayashi Y, Numaga J, Hattori T, Yuuchi T, Kaiya T, Oshika T. Risk factors for contraction of the anterior capsule opening after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2002; 28: 109-112.
- (13) Tanaka Y1, Kato S, Miyata K, Honbo M, Nejima R, Kitano S, Amano S, Oshika T. Limitation of Scheimpflug videophotography system in quantifying posterior capsule opacification after intraocular lens implantation. *Am J Ophthalmol.* 2004 Apr; 137(4): 732-5.
- (14) Rabsilber TM, Khoramnia R, Auffarth GU. Anterior chamber measurements using Pentacam rotating Scheimpflug camera. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32:456–459
- (15) Kirkwood BJ1, Hendicott PL, Read SA, Pesudovs K. Repeatability and validity of lens densitometry measured with Scheimpflug imagin. *J Cataract Refract Surg.* 2009 Jul; 35(7): 1210-5. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.0
- (16) Lasa MS, Datiles MB 3rd, Magno BV, et al. Scheimpflug photography and postcataract surgery posterior capsule opacification. *Ophthalmic Surg* 1995; 26: 110–3.
- (17) Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, Hayashi F In vivo quantitative measurement of posterior capsule opacification after extracapsular cataract surgery. *Am J Ophthalmol.* 1998; 125, issue 6:837- 843
- (18) Hayashi H, Hayashi K, Nakao F, Hayashi F. Quantitative comparison of posterior capsule opacification after polymethylmethacrylate, silicone, and soft acrylic intraocular lens implantation. *Arch Ophthalmol* 1998; 116(12):1579–82.
- (19) Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, et al. Reproducibility of posterior capsule opacification measurement using Scheimpflug videophotography. *J Cataract Refract Surg* 1998; 24:1632–5.
- (20) Hayashi K, Hayashi H. Posterior capsule opacification after implantation of a hydrogel intraocular lens. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(2): 182–5.
- (21) Marcantonio JM, Vrensen GF. Cell biology of posterior capsule opacification. *Eye.* 13:484-488
- (22) Mamuya FA, Wang Y, Roop VH, Scheiblin DA, Zajac JC, Duncan MK . The roles of α integrins in lens EMT and posterior capsular opacification *J. Cell. Mol. Med.* 2014; Vol 18, No 4: 656-670
- (23) Viveiros MM, Soares RT, Omodei MS, Rainho CA, Padovani CR, Cruz N, Schellini SA, Rodrigues AC . Adhesion study of cultured human lens capsule cells on hydrophilic intraocular lenses coated with polyethyleneglycol. *J Cataract Refract Surg.* 2015 Jul;41(7):1478-83. doi: 10.1016/j.jcrs.2014.11.047. Epub 2015 Jul 23.
- (24) Hayashi Y, Kato S, Fukushima H, Numaga J, Kaiya T, Tamaki Y, Oshika T. Relationship between anterior capsule contraction and posterior capsule opacification after cataract surgery in patients with diabetes mellitus. *J Cataract Refract Surg.* 2004; 30:1517-1520

MANUSCRITO PARA COMUNICACIÓN DE INVESTIGACIÓN

93 CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OFTALMOLOGÍA

VIERNES 22 DE SEPTIEMBRE, ZARAGOZA

TÍTULO: Correlación entre valores de opacidad de cápsula anterior: obtenidas por baremo clínico y obtenidas mediante PentacamHR tras femtofacó.

TITLE: Correlation between values of anterior capsule opacity: obtained by clinical scale and those obtained by PentacamHR after femtofacó.

SUMMARY

PURPOSE: To evaluate the correlation between the classical subjective method of measuring anterior capsule opacification with the 3 densitometry methods of Pentacam®HR (area, linear and Peak).

METHOD: 78 patients underwent femtosecond laser-assisted cataract surgery on single eyes between June 2014 and June 2016. A 5.0 mm diameter laser assisted anterior capsulotomy was performed on all eyes. Digital images were captured with a slit-lamp photographic camera and IMAGEnet® 5 software. The anterior capsule opening area on the digital images was measured using the Sketchandcalc area calculator. Evaluation is made at the first month, 3th, 6th and 12th months. The anterior capsule opacification is measured by subjective scale proposed by Werner. In addition, measurements of area, linear and Peak densitometry are taken using Pentacam®HR. We used the Spearman correlation coefficient to analyze the results.

RESULTS : The measurements of area and linear densitometry are highly correlated with the measurements obtained by the subjective scale after analysis with

Spearman's Rho. Correlation to the 12th month for the subjective scale / area densitometry (Rho Sp = 0.704, p = 0.000), for subjective scale / linear densitometry (Rho Sp = 0.711, p = 0.000), for subjective scale / Peak densitometry = 0.024, p = 0.838). The correlations for the month, the 3rd month and the 6th month are homologable

CONCLUSIONS: The measurements of area and linear densitometry are highly correlated with the measurements obtained by the subjective scale. We propose Pentacam® HR as a more suitable and objective method to analyze the degree of anterior capsule opacification.

RESUMEN

PROPÓSITO: Valorar la correlación entre el método subjetivo clásico de medida de opacificación de cápsula anterior con los 3 métodos de densitometría del Pentacam®HR (área, lineal y Pico).

MÉTODO: Estudio aprobado por el Comité de Ética del Área sanitaria de Gipuzkoa. Hemos intervenido 78 ojos a 78 pacientes (47M, 32V) de catarata con lente intraocular Envista® y capsulorexis de 5 mm, empleando la plataforma de láser de femtosegundo VICTUS™ desde el 26/06/2014 al 16/05/2016. Se evalúa al mes, 3^{er}, 6^o y duodécimo meses. Se mide la opacificación de cápsula anterior por baremo subjetivo propuesto por Werner en Grados de 0 a IV. Además se toman medidas de densitometría de área, lineal y Pico utilizando el Pentacam®HR. Utilizamos el coeficiente de correlación de Spearman para analizar los resultados.

RESULTADOS: Las medidas de densitometría de área y lineal están muy correlacionadas con las medidas obtenidas por la escala subjetiva tras análisis con Rho de Spearman

Correlación al año para la escala subjetiva/ densitometría área (Rho Sp= 0,704, $p=0.000$), para la escala subjetiva/ densitometría lineal (Rho Sp= 0,711, $p=0,000$), para la escala subjetiva/ densitometría Peak (Rho Sp= 0,024, $p=0,838$). Las correlaciones para el mes, 3^{er} mes y 6^o mes son homologables

CONCLUSIONES: Las medidas de densitometría de área y lineal están muy correlacionadas con las medidas obtenidas por la escala ordinal subjetiva. Creemos que el Pentacam®HR es un método mas idóneo para analizar el grado de opacificación de cápsula anterior por ser mas objetivo.

KEY WORDS: Anterior capsule opacification; anterior capsule shrinkage; FLACS; Pentacam®HR Scheimpflug densitometry.

PALABRAS CLAVE: Opacificación de la cápsula anterior; retracción capsulorrexis; FLACS; Densitometría Scheimpflug Pentacam®HR.

TEXTO

INTRODUCCION

A pesar de la identificación de múltiples factores que favorecen la opacificación capsular del cristalino tras la cirugía del cristalino y el desarrollo de técnicas menos inflamógenas, lentes intraoculares más biocompatibles, diseños de Lentes intraoculares que disminuyen la migración de las células epiteliales de la cápsula cristalina..., los niveles de opacificación capsular siguen siendo mas elevados que lo que cabría esperar tras tantos avances. Hasta hace unos años, la importancia clínica primaria de la opacificación anterior de la cápsula (ACO) y de la contracción de Capsulorrexis se debía a que podían ser un impedimento durante el examen del fundus periférico tanto en consulta como en quirófano. En la actualidad, el aumento del uso de lentes intraoculares multifocales y tóricas requiere un buen centrado de estas lentes para evitar una inclinación y descentramiento óptico secundaria de la lente.

Se han realizado muchos estudios de investigación sobre el tratamiento y la prevención de la OCA.(1-2) Estos estudios se basan en mediciones de opacidad de cápsula anterior con escalas subjetivas. La mas utilizada hasta la fecha es la propuesta por Werner y colaboradores. (3) Debido a la importancia clínica de los dos

tipos de opacificación de la cápsula, una cuantificación objetiva de OCA (2)(3)(4)(5) y opacificación de la cápsula posterior (OCP), es muy importante para evaluar la eficacia de los ensayos.

Este es el único estudio que hace una comparación prospectiva a un año cuyo objetivo es evaluar la correlación entre los valores proporcionados por el método de clasificación clínica subjetiva realizada por el oftalmólogo evaluador mediante la escala subjetiva de 0 a IV propuesta por Werner y colaboradores, (3) y los valores medios de densidad proporcionados por los tres diferentes métodos de densitometría del Oculus Pentacam® HR (área, lineal y pico) para así validar los métodos de densitometría. Los resultados serán de gran ayuda en la elección del método más apropiado para cuantificar la opacificación de cápsula anterior para ensayos.

MATERIAL Y METODO

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Área sanitaria de Gipuzkoa Código de Protocolo: JMB-CCC-2014-03. Antes de la cirugía de cataratas todos los pacientes respondieron a un cuestionario exhaustivo sobre su historia clínica y un examen oftalmológico completo.

Las enfermedades en estudio son la opacidad de cápsula anterior de cristalino y la retracción de cápsula anterior de cristalino postfemtofacoemulsificación.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN: Edad del paciente: entre 65 y 85 años. Ojos sanos intervenidos de catarata mediante femtofacoemulsificación. Capsulorrexis íntegra y lente intraocular enVista™ (Modelo MX60) de borde cuadrado en posición correcta intrasacular al finalizar la intervención

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN: Opacidades o distrofias corneales y midriasis menor de 6 mm ya que ambas situaciones podrían alterar la evaluación fotográfica y la medición mediante Pentacam®HR de los niveles de densitometría de las cápsulas en el postoperatorio. El síndrome de pseudoexfoliación, uveitis o cualquier otra enfermedad que altere la barrera hemato-acuosa. Historia previa de procedimientos quirúrgicos oculares. Una condición del saco capsular que contraindique la implantación de una lente intraocular (LIO). También criterios de exclusión fueron la *historia de enfermedad sistémica* como Diabetes Mellitus no controlada o con retinopatía, conectivopatías y enfermedades reumatológicas, excluyéndose además los pacientes que toman de forma crónica corticoides, antiinflamatorios, inmunosupresores o inmunomoduladores.

TÉCNICA QUIRÚRGICA

Mediante la plataforma de láser femtosegundo VICTUS™ de Bausch & Lomb se realizaron 78 operaciones de catarata en 78 pacientes (32 hombres y 46 mujeres). En todos los pacientes se realiza una capsulotomía de 5.0 mm utilizando una energía de 7,0 mJ. Se realizó la fragmentación de la lente con diámetro exterior circular de 2,0 mm y 3 cortes radiales utilizando 8,4 mJ de energía. Después de la hidrodissección se completó una Facoemulsificación endosacular. A continuación, se insertó mediante inyector una LIO plegable con óptica de 6,0 mm en saco capsular. Con el fin de evitar cualquier sesgo atribuido a las lentes intraoculares debido a diferentes intensidades de luz de dispersión de la superficie anterior del LIO, el mismo tipo de lente hidrofóbica acrílica no teñida con bordes cuadrados, el enVista™ (Modelo MX60) fue implantado en todos los ojos. (4)

EVALUACIONES POSTERIORES A LA CIRUGÍA

La evaluación postquirúrgica de los pacientes se realizó en la primera semana, primer mes, tercer, sexto y duodécimo mes. Durante estas visitas se cuantificaron los niveles de densitometría de cápsula anterior, además de la medición de opacificación de cápsula anterior mediante escala subjetiva y el área de capsulorrexis anterior.

El oftalmólogo investigador medirá la opacificación capsular anterior por examen directo, en nuestro caso con lámpara de hendidura Topcon IS-600 mediante un test de puntuación subjetiva utilizando la clasificación propuesta por Werner y colaboradores que se puntúa en valores de 0 a 4: (3)

Grado 0 : cápsula anterior transparente; Grado I : opacificación localizada en el borde de la capsulorrexis circular; Grado II: opacificación moderada y difusa, a veces con algún pliegue; Grado III : opacificación intensa, con áreas de pliegue capsular; Grado IV : fimosis/contracción de la apertura de la CCC ($\phi = 3,5\text{mm}$)

Para poder establecer una puntuación de grado IV es necesario medir el diámetro de la CCC en las visitas postoperatorias.

Para la medición de la retracción de la cápsula anterior se mide el área de CCC a través de fotografías digitales en las sucesivas visitas postoperatorias mediante el programa Area calculator SketchandCalc. En todos los pacientes se realiza una CCC de 5 mm de diámetro guiado por laser femtosegundo, siendo por tanto el área inicial ($\text{área} = 3.1416 \times 2.5^2$) de $19,63 \text{ mm}^2$. A partir de este valor inicial se calcula el porcentaje de reducción del área de CCC en las sucesivas visitas. La escala para la medición del área se obtiene del diámetro de la óptica de la lente enVista^R que es de 6 mm).

Los niveles de densitometría de la cápsula anterior se midieron mediante el nuevo

software de densitometría Pentacam® HR que proporciona tres métodos de densitometría (área, lineal y pico) disponibles para medir la densidad de estructuras de segmento anterior y que hemos utilizado para medir densidad de la capsular.

El proceso de medición dura menos de dos segundos. La imagen se capturó en una sala oscurecida con un nivel de luminancia = o $<1 \text{ cd / m}^2$, medida por Gossen Starlite 2 light meter. El Pentacam® HR calcula la calidad de la captura con el Quality specification (QS). Se aceptaron capturas con una calidad de más de 95.

Se midieron los niveles de densitometría de la cápsula anterior obtenidos de las imágenes de Scheimpflug en cuatro meridianos: 0° , 45° , 90° , 135° (6). Los valores de ACO de los dos lados de la cápsula anterior de cada uno de los cuatro meridianos fueron entonces promediados y considerados como representativos del verdadero valor de OCA. (6)

Los valores de densitometría se expresan en unidades de escala de grises (GSU). La escala GSU es calibrado por el software del propietario, que define una dispersión de luz mínima de 0 (transparencia máxima) y la dispersión de luz máxima de 100 (mínima transparencia).

En este estudio el tamaño de la densitometría de área se fija como un área rectangular fija de $0,2 \text{ mm} \times 0,5 \text{ mm}$ y el de densitometría lineal como una línea de $0,5 \text{ mm}$. Esta área y línea especificadas se colocan manualmente a ambos lados y sobre la cápsula anterior en cada meridiano seleccionado de las imágenes Scheimpflug adquiridos; y los valores de la GSU se suministran al instante. El valor pico de la densitometría aparece automáticamente en el lado derecho de la pantalla mientras se analiza cada meridiano seleccionado utilizando imágenes Scheimpflug.

Análisis estadístico: Los datos se compararon mediante el software SPSS, versión 22.0. Se utilizó el coeficiente Rho de Spearman para analizar la correlación entre las medidas obtenidas por diferentes métodos de cuantificación de OCA

RESULTADOS

12 meses después de la cirugía, un paciente había muerto y un paciente no apareció para el seguimiento. Los datos de los 78 pacientes restantes (97,5%) se consideraron para el análisis. La edad media (desviación estándar) de los pacientes fue de 72,927 (SD 5,059) años, en un rango de edad de 65 a 83. Hubo 32 hombres y 46 mujeres.

En todas las evaluaciones postoperatorias de opacificación de cápsula anterior se encontró que los valores de densitometría de área y lineal proporcionados por el software de densitometría Pentacam® HR indicaban una fuerte correlación positiva, mientras que los valores de densitometría pico presentaban una correlación muy débil con los valores obtenidos por la escala subjetiva después del análisis usando el test Rho de Spearman. (Tabla 1) (Tabla 2)

DISCUSIÓN

En 1998 después de un estudio de seguimiento de 6 meses Kimura W y col. demostraron que la opacificación de la cápsula anterior se establece en el primer mes postoperatorio y continúa durante 6 meses. (7)

Sin embargo, nuestros datos tras un seguimiento a 1 año muestran un aumento en los niveles de densitometría de ACO Scheimpflug desde el sexto al duodécimo mes. También se encontró un pequeño aumento en el porcentaje de reducción del área de capsulorrexis del sexto mes al año, así como en los valores clínicos

subjetivos aunque con una clara tendencia descendente en ambos casos, siendo el incremento de magnitudes del sexto mes al año menor en ambos casos que los obtenidos por densitometría de área y lineal. Utilizando un modelo lineal general de mediciones repetidas, encontramos que los valores obtenidos mediante todos los sistemas de medición presentan aumentos estadísticamente significativos ($p > 0,005$) durante todo el período de exámenes. (figura 1)

Hayashi K et al mostraron en 1998 (6)(8) que el valor de la densidad de opacificación de cápsula posterior obtenido por el sistema de fotografía Scheimpflug (EAS-1000) se correlacionaba bien con la agudeza visual del paciente y también confirmaron que este método tenía una excelente reproducibilidad intra e interobservador (8).

Sabemos que la luz a su paso por distintos materiales de lentes intraoculares produce diferentes dispersiones de luz que influyen en las mediciones de densitometría Scheimpflug a nivel de cápsula posterior. Los valores obtenidos no pueden compararse entre diferentes materiales ópticos sin restar el valor de densidad de dispersión de luz en cada lente.(4). En contraste, la medición de opacificación de la cápsula anterior no es perturbada por el material de la lente, ya que ésta está detrás de la cápsula anterior, aun así en nuestro estudio todos los pacientes tienen la misma lente.

El software Pentacam®HR calcula tres tipos de densitometría de cápsula de lente (área, lineal y pico) y proporciona niveles de densidad como una evaluación fácil, rápida y repetible. En 2016, Alberdi y col en un estudio de 32 pacientes y un seguimiento a 6 meses encontraron que los niveles de densidad proporcionados por los métodos de densitometría de área y lineal tienen una fuerte correlación positiva con los valores obtenidos usando la escala subjetiva basada en examen directo en

lámpara de hendidura después del análisis usando la prueba Rho de Spearman.(9)
En 2016, Alberdi et Utilizando el mismo análisis, no encontraron correlación entre la densitometría de pico y la escala subjetiva basada en lámpara de hendidura.(9)

Actualmente nuestro estudio con un seguimiento a 78 paciente durante 1 año confirma que los niveles de densitometría de área y lineal proporcionados por la cámara de Scheimpflug presentan una fuerte correlación positiva, mientras que los valores de densitometría pico presentaban una correlación muy débil. (Figura 2), (figura 3), (Figura 4). Estos resultados concuerdan con un estudio realizado por Kirkwood y colaboradores que evalúa la repetibilidad y la validez de los valores de densitometría del cristalino mediante Scheimpflug Pentacam, en él los valores de densitometría de pico fueron los valores menos fiables (10)

Alberdi T y colaboradores en 2017 describe la utilidad de la densitometría pico en la valoración de rotura o muescas en la óptica de lentes producidas en el proceso de inyección de lentes intraoculares plegables (11) Además se ha descrito por Singh R en 2015 su utilidad en el manejo diagnóstico de los cuerpos intracristalinianos metálicos.(12) También se ha descrito el alto potencial de la densitometría scheimpflug tipo pico en el diagnóstico de distrofias predesceméticas, así en la distrofia puntiforme policromática dominante se describe un doble pico a nivel corneal característico. Malhotra y colaboradores describieron en 2015 una mayor cantidad de luz retrodispersada del estroma posterior con una relación posterior / anterior de 0,8. (13)

Después de revisar la literatura sobre el tema podemos concluir que el método subjetivo de cuantificación clínica es el utilizado con mayor frecuencia después de la cirugía de cataratas para medir la opacificación de la cápsula anterior.(2-5). Esta

clasificación clínica proporciona valores cualitativos ordinales subjetivos. Por el contrario, la captura de la imagen mediante Pentacam®HR es simple de realizar, rápida y tiene una curva de aprendizaje más fácil en contraste con los sistemas de clasificación clínica directa o fotográfica de la opacificación de cápsula anterior mediante lámpara de hendidura. Proporciona mediciones de densitometría de opacificación de cápsula anterior como una evaluación fácil, rápida, objetiva y repetible.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Werner L, Pandey SK, Escobar-Gomez M, Visessook N, Peng Q, Apple DJ. Anterior capsule opacification: A histological study comparing different IOL styles. *Ophthalmology* 2000; 107:463-67
- (2) Sacu S, Menapace R, Buehl W, Rainer GF, et al. Effect of intraocular lens optic edge design and material on fibrotic capsule opacification and capsulorhexis contraction. *J. Cataract Refract Surg.* 2004; 30(9): 1875.
- (3) Werner L, Pandey SK, Apple DJ, Escobar-Gomez M, et al. Anterior capsule opacification: correlation of pathologic findings with clinical sequelae. *Ophthalmology.* 2001 Sep; 108(9):1675.
- (4) Keiichiro Minami, PhD, Masato Honbo, Yosai Mori, MD, Yasushi Kataoka, MD, Kazunori Miyata, MD, PhD Area densitometry using rotating Scheimpflug photography for posterior capsule opacification and surface light scattering analyses. *J Cataract Refract Surg* 2015; 41:2444–2449 Q

- (5) Sacu S, Findl O, Menapace R, Georgopoulos M, Buehl W, Rainer G. Assessment of anterior capsule opacification: photographic technique and quantification. *J Cataract Refract Surg.* 2002;28(2):271-5.
- (6) Hayashi H, Hayashi K, Nakao F, Hayashi F. Quantitative comparison of posterior capsule opacification after polymethylmethacrylate, silicone, and soft acrylic intraocular lens implantation. *Arch Ophthalmol* 1998;116(12):1579–82.
- (7) Kimura W, Yamanishi S, Kimura T, Sawada T, Ohte A. Measuring the anterior capsule opening after cataract surgery to assess capsule shrinkage. *J Cataract Refract Surg.* 1998; 24:1235-1238
- (8) Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, et al. Reproducibility of posterior capsule opacification measurement using Scheimpflug videophotography. *J Cataract Refract Surg* 1998;24:1632–5.
- (9) Alberdi T, Mendicute J, Bascarán L, Goñi N, Barandika O, Ruiz-Ederra J. Anterior capsule opacification after femtosecond laser-assisted cataract surgery: Clinical classification versus Scheimpflug device densitometry values. *J Cataract Refract Surg.* 2016; 42(6): 826-32. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.03.037.
- (10) Kirkwood BJ, Hendicott PL, Read SA, Pesudovs K. Repeatability and validity of lens densitometry measured with Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35(7):1210-5. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.0
- (11) Alberdi T, Mendicute J, Bascaran L, Juaristi L, Ruiz-Ederra J. Role of Scheimpflug Imaging in the Diagnosis of Intraocular Lens Damage after Foldable Lens Implant: Case Report. *Int J Ophthalmol Clin Res.* 2017; 4(2):072 DOI: 10.23937/2378-346X/1410072.
- (12) Singh R, Ram J, Gupta R. Use of Scheimpflug imaging in the management of

intra-lenticular foreign body. Nepal J Ophthalmol. 2015; 7(13):82-4. doi: 10.3126/nepjoph.v7i1.13176.

- (13) Malhotra C, Jain AK, Dwivedi S, Chakma P, Rohilla V, Sachdeva K. Characteristics of Pre-Descemet Membrane Corneal Dystrophy by Three Different Imaging Modalities-In Vivo Confocal Microscopy, Anterior Segment Optical Coherence Tomography, and Scheimpflug Corneal Densitometry Analysis. Cornea. 2015;34(7):829-32. doi: 10.1097/ICO.0000000000000454.

PIE DE ILUSTRACIONES

Figura 1: Los niveles de densitometría lineal (en rojo) y de densitometría de área (en azul) continúan creciendo fuertemente desde el sexto al duodécimo mes, sin embargo, los niveles de porcentaje de reducción de capsulorrexis (en verde) tienden a una progresión decreciente

Figura 2: muestra que las mediciones de Densitometría de Área están fuertemente correlacionadas con las mediciones obtenidas por la clasificación clínica a los 12 meses (Rho Spearman 0,704; $p < 0,0005$)

Figura 3. muestra que las mediciones de Densitometría Lineal están fuertemente correlacionadas con las mediciones obtenidas por la clasificación clínica en los 12 meses (Rho Spearman 0,711; $p < 0,0005$)

Figura 4: muestra que las mediciones de Densitometría de Pico no están o están débilmente correlacionadas con las mediciones obtenidas por la clasificación clínica en los 12 meses (Rho Spearman 0,024; $p = 0,838$)

ILUSTRACIONES

Tabla 1. Correlación entre los valores proporcionados por el método clínico de escala subjetiva y los valores medios de densidad proporcionados por los tres diferentes métodos de densitometría Oculus Pentacam®HR (área, lineal y pico) en el primer, tercer, sexto y duodécimo mes. N=78				
	OCA escala subjetiva	OCA escala subjetiva	OCA escala subjetiva	OCA escala subjetiva
OCA AREA densitometría	(0,786 ; <0,0005) 1^{er} mes	(0,748 ; <0,0005) 3^{er} mes	(0,738 ; <0,0005) 6^o mes	(0,704 ; <0,0005) 1^{er} año
OCA LINEAL Densitometría	(0,786 ; <0,0005) 1^{er} mes	(0,749 ; <0,0005) 3^{er} mes	(0,726 ; <0,0005) 6^o mes	(0,711 ; <0,0005) 1^{er} año
OCA PICO Densitometría	(0,127 ; 0,272) 1^{er} mes	(0,033 ; 0,766) 3^{er} mes	(0,079 ; 0,489) 6^o mes	(0,024 ; <0,838) 1^{er} año
(Rho ; p) = (valor del Coeficiente de correlación de Spearman "ρ" "rho" ; valor de p)				

Tabla 1

De la 1 ^{era} semana al 1 ^{er} mes	5.083	P<0.0005	
Del 1 ^{er} mes al 3 ^{er} mes	3,04	P<0.0005	
Del 3 ^{er} mes al 6 ^o mes	1,371	P<0.0005	
Del 6 ^o mes al 1 ^{er} año	0.374	P<0.0005	
Table 2: Porcentaje de reducción del área de la capsulorrexis anterior: Incremento de magnitudes en cada exploración respecto de la anterior.			

Tabla 2

COMUNICACIÓN LIBRE
37º CONGRESO de la ASOCIACIÓN OFTALMOLOGICA DEL NORTE
BILBAO 28 de Noviembre de 2015

Autores

Txomin Alberdi Ibarloza
Javier Mendicute Del Barrio
Javier Ruiz Ederra
Luis Ansa Echegaray

TITULO

Correlación entre medidas de opacidad de cápsula anterior tras Femtofacoemulsificación obtenidas por baremo subjetivo clínico y las obtenidas mediante densitometría con Pentacam®HR

OBJETIVO

Los métodos de cuantificación clínicos subjetivos son los más utilizados para cuantificar tras cirugía de cristalino la opacidad de la cápsula anterior. En este estudio analizamos la opacidad de CA en sucesivas visitas postoperatorias en 32 ojos utilizando un método subjetivo y además utilizamos la densitometría de área, lineal y Peak de la cámara Scheimpflug Pentacam®HR. El objetivo del estudio es valorar la correlación entre el método subjetivo clásico con los 3 métodos de densitometría del Pentacam®HR a nivel de cápsula anterior

MATERIAL y METODOS

Nuestro proyecto "Estudio de expresión de factores de riesgo de opacificación capsular en células del epitelio anterior del cristalino tras cirugía de catarata con láser Femtosegundo". Código de Protocolo: JMB-CCC-2014-03 ha sido aprobado por el Comité de Ética del Área sanitaria de Gipuzkoa.

En el Hospital Donostia hemos intervenido 32 ojos a 32 pacientes (20M,12V) de catarata con lente intraocular Envista® y capsulorexis de 5 mm, empleando la plataforma de láser de femtosegundo VICTUS™ desde el 26/06/2014 al 16/03/2015, Tras las cirugías se realizan evaluaciones al mes, 3 meses y 6 meses. Se mide la opacificación de cápsula anterior por baremo subjetivo según la clasificación: Grado 0 : CA trasparente, Grado I : opacificación localizada en borde de CCC, Grado II: opacificación moderada y difusa, Grado III : opacificación intensa, con áreas de pliegue capsular, Grado IV : fimosis/contracción de la capsulorrexis (<math> < 0 = 3,5\text{mm}</math>). Además se toman medidas de densitometría de área, lineal y Peak utilizando el novedoso software del Pentacam®HR. Los valores de densitometría de cápsula anterior de área (en un área 0,2mm X 0,5mm) , lineal (0,5mm) y peak son en todas las visitas la media de las medidas obtenidas en las imágenes Scheimpflug a 0º y 180º, 45º y 225º, 90º y 270º y 135º y 315º.

Utilizamos el coeficiente de correlación de Spearman para analizar la correlación de medidas obtenidas por los distintos métodos de la opacificación de la cápsula anterior del cristalino postfemtofacoemulsificación a lo largo del seguimiento

RESULTADOS

Las medidas de densitometría de área y lineal están muy correlacionadas con las medidas obtenidas por la escala subjetiva tras análisis con Rho de Spearman

1 mes :	escala subjetiva/ densitometría área	(Rho Sp= 0,844, p= 0.000)
	escala subjetiva/ densitometría lineal	(Rho Sp= 0,847, p= 0.000)
	escala subjetiva / densitometría Peak	(Rho Sp= 0,075, p=0,685)
3 mes :	escala subjetiva/ densitometría área	(Rho Sp = 0,850, p= 0,000)
	escala subjetiva/ densitometría lineal	(Rho Sp = 0,824, p= 0,000)
	escala subjetiva/ densitometría Peak	(Rho Sp = 0,192, p= 0,293)
6 mes :	escala subjetiva/ densitometría área	(Rho Sp= 0,671, p=0.000)
	escala subjetiva/ densitometría lineal	(Rho Sp= 0,757, p=0,000)
	escala subjetiva/ densitometría Peak	(Rho Sp= 0,240, p=0,219)

Las tres medidas área, lineal y peak aumentan de forma lineal y son estadísticamente significativas

CONCLUSIONES

Las medidas de densitometría de área y lineal están muy correlacionadas con las medidas obtenidas por la escala ordinal subjetiva. Dado que el análisis de la opacidad de cápsula anterior con el Pentacam®HR es mas objetivo y que los valores obtenidos son mas cuantitativos creemos que este es un método mas idóneo para analizar el grado de opacificación de cápsula anterior.

