

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA
Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



TESIS DOCTORAL

**Efecto de la ortoqueratología nocturna en la morfología del
epitelio corneal y su relación con la sensibilidad corneal**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

María Nombela Palomo

Directora

Amelia Nieto Bona

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



**EFFECTO DE LA ORTOQUERATOLOGÍA NOCTURNA EN LA
MORFOLOGÍA DEL EPITELIO CORNEAL Y SU RELACIÓN CON LA
SENSIBILIDAD CORNEAL**

TESIS DOCTORAL

MARÍA NOMBELA PALOMO

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



**EFFECTO DE LA ORTOQUERATOLOGÍA NOCTURNA EN LA
MORFOLOGÍA DEL EPITELIO CORNEAL Y SU RELACIÓN CON LA
SENSIBILIDAD CORNEAL**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por

MARÍA NOMBELA PALOMO

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



**EFFECTO DE LA ORTOQUERATOLOGÍA NOCTURNA EN LA
MORFOLOGÍA DEL EPITELIO CORNEAL Y SU RELACIÓN CON LA
SENSIBILIDAD CORNEAL**

MARÍA NOMBELA PALOMO

Directora: Dra. AMELIA NIETO BONA

A mi familia

*“Buena es la ciencia con herencia; y es la
excelencia de los que ven el sol”.*

(Eclesiastés 7:11)

INFORME DE LA DIRECTORA DE TESIS

INFORME DE LA DIRECTORA DE TESIS

Dña. AMELIA NIETO BONA, Profesora Titular de Universidad de la Facultad de Óptica y Optometría de la Universidad Complutense de Madrid, en calidad de directora.

CERTIFICA:

Que la presente memoria titulada **“EFECTO DE LA ORTOQUERATOLOGÍA NOCTURNA EN LA MORFOLOGÍA DEL EPITELIO CORNEAL Y SU RELACIÓN CON LA SENSIBILIDAD CORNEAL”** resume el trabajo realizado por **Dña. MARÍA NOMBELA PALOMO**, Máster en Óptica, Optometría y Visión bajo su dirección en el Departamento de Óptica II (Optometría y Visión). Constituyendo de esta forma su Tesis para optar al Grado de Doctor en Óptica y Optometría y Visión.

Y para que así conste, y en cumplimiento de la legislación vigente, firmo el presente certificado en Madrid, a 3 de Abril de 2017.



Fdo. Amelia Nieto Bona

ÍNDICE

ÍNDICE

PREFACIO	7
AGRADECIMIENTOS	9
DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	11
• PUBLICACIONES	11
• CONGRESOS	11
• PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.....	12
RESUMEN DE LA TESIS.....	13
SUMMARY.....	17
LISTADOS	21
LISTADO DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS	23
LISTADO DE FIGURAS	24
LISTADO DE TABLAS	26
ESTRUCTURA DE LA TESIS	27
ESTRUCTURA DE LA TESIS	29
1. JUSTIFICACIÓN	31
1.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	33
1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	37
2. INTRODUCCIÓN	39
2.1. MORFOLOGÍA DE LA CÓRNEA	41
2.1.1. Endotelio.....	42
2.1.2. Membrana de Descemet.	43
2.1.3. Capa Dúa.	44
2.1.4. Estroma.	44
2.1.5. Membrana de Bowman.	45
2.1.6. Epitelio.....	46
2.2. SISTEMA SENSORIAL DE LA CÓRNEA	47
2.2.1. Plexo Nervioso Sub-Basal.....	48
2.2.2. Sensibilidad Corneal.....	49
2.2.3. Células de Langerhans.....	51
2.3. MÉTODOS DE EVALUACIÓN.....	52
2.3.1. Estesiómetro Corneal.....	52
2.3.2. Microscopía Confocal.....	53
2.4. MÉTODOS DE COMPENSACIÓN ÓPTICA	56
2.4.1. Ortoqueratología Nocturna	57
2.4.1.1. Orígenes.....	57
2.4.1.2. Primeros avances.....	58

2.4.1.3. Desarrollo.....	59
2.4.1.4. Actualidad.....	60
3. METODOLOGÍA.....	63
3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	65
3.1.1. Criterios de inclusión.....	66
3.1.2. Criterios de exclusión.....	66
3.1.3. Protocolo de actuación.....	66
3.1.4. Cálculo estadístico de la muestra.....	67
3.1.5. Sujetos.....	67
3.2. MATERIALES.....	68
3.2.1. Adaptación de lentes.....	69
3.3. PROCEDIMIENTO INSTRUMENTAL.....	72
3.3.1. Estesiómetro corneal.....	72
3.3.1.1. Montaje Instrumental.....	73
3.3.2. Microscopio confocal in vivo.....	73
3.3.2.1. Adquisición de las imágenes.....	75
3.3.2.2. Análisis de las imágenes.....	77
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	85
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	87
4.1. ESTUDIO 1.....	89
4.1.1. Datos preliminares.....	89
4.1.2. Sensibilidad corneal.....	92
4.1.3. Espesores corneales.....	94
4.1.4. Densidad celular epitelial.....	99
4.1.5. Morfología del plexo sub-basal.....	103
4.1.5.1. Datos reflectantes.....	103
4.1.5.2. Datos geométricos.....	105
4.1.5.3. Densidades.....	107
4.1.5.4. Tortuosidad.....	112
4.1.6. Comparativa entre LC.....	114
4.1.7. Correlaciones.....	125
4.2. ESTUDIO 2.....	128
4.2.1. Análisis a más largo plazo (3 años).....	128
4.3. RECAPITULACIÓN.....	131
4.3.1. Limitaciones del estudio.....	132
5. CONCLUSIONES.....	133
6. REFERENCIAS.....	137
7. ANEXOS.....	155
ANEXO 1. INFORME DEL COMITÉ ÉTICO.....	157
ANEXO 2. CORREO ELECTRÓNICO INFORMATIVO.....	158
ANEXO 3a. CONSENTIMIENTO INFORMADO SOBRE EL ESTUDIO.....	159

ANEXO 3b. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMACIÓN SOBRE OK.....	160
ANEXO 4. HOJA DE ANAMNESIS.	162
ANEXO 5. HOJA DE ADAPTACIÓN DE LC DE OK.....	163
ANEXO 6. CÁLCULO DEL ÁNGULO ROTACIONAL DEL OJO EN LA TOMA DE MEDIDA PERIFÉRICA CON EL MICROSCOPIO CONFOCAL.....	164
ANEXO 7. PROGRAMA DE CÁLCULOS EN MATLAB PARA LA OBTENCIÓN DE LOS VALORES OBJETIVOS DE TORTUOSIDAD.....	166

PREFACIO

AGRADECIMIENTOS

Me siento afortunada de poder estar redactando estas líneas porque, después de mucho tiempo y esfuerzo, este trabajo llega a su fin. Tengo claro que no he llegado aquí sola, sino que ha sido fruto del apoyo de mucha gente que, de forma directa o indirecta, han formado parte de este proceso.

A mi directora de tesis, la Dra. Amelia Nieto Bona. Por su dedicación absoluta, sus valiosos consejos, su experiencia prestada y su amistad, que han impulsado mi desarrollo científico y personal.

A mi primer mentor, el Dr. Óscar Gómez Calderón, quién me ofreció la primera oportunidad de formar parte de un grupo de investigación y por su ayuda incondicional.

A todos los compañeros de la clínica de la Facultad de Óptica y Optometría de la UCM. En especial a Gema Felipe Márquez, compañera de fatigas.

A Interlenco S.A. y especialmente a Antonio Moreno por su apoyo y por el préstamo de las lentes de contacto Paragon CRT®.

A Conóptica S.L. y especialmente a Sergi Herrero y José L. Garrido por su apoyo y por el préstamo de las lentes de contacto Seefree®.

A Menicom S.L por el préstamo de los líquidos de limpieza de las lentes Menicare Plus® y Menicom Progent®, y a Avizor S.L. por el préstamo de la lágrima artificial Moisture Drops®.

Al personal de la clínica oftalmológica Vissum de Madrid, en especial al Dr. Miguel Teus por permitir el uso de las infraestructuras y al Dr. José L. Hernández por enseñarme los aspectos básicos del microscopio confocal.

A los participantes de la investigación por su paciencia y comprensión.

Como no, a toda mi familia y amigos, por ayudarme a superar los malos momentos y celebrar conmigo los buenos. Muy especialmente a mis padres y hermano, José A. Nombela, M^a José Palomo y Alberto Nombela. Por no permitirme tirar la toalla, por las horas interminables de dar formato al documento y por su apoyo incondicional siempre.

A mi pareja, Ignacio Rada. Por tus hojas de ruta, tu ayuda técnica, tus ánimos y tu paciencia infinita. Todo ha sido más fácil contigo a mi lado.

A todos vosotros, ¡Gracias!

DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

- PUBLICACIONES

Nombela-Palomo M, Felipe-Marquez G, Teus, MA, Hernandez-Verdejo JL, Nieto-Bona A. Long-term impacts of orthokeratology treatment on sub-basal nerve plexus and corneal sensitivity responses and their reversibility. *Eye Contact Lens* 2017 Apr 13.

Nombela-Palomo M, Felipe-Marquez G, Hernandez-Verdejo JL, Nieto-Bona A. Short-term effects of overnight orthokeratology on corneal sub-basal nerve plexus morphology and corneal sensitivity. *Eye Contact Lens* 2016 May 26.

Felipe-Marquez G, **Nombela-Palomo M**, Palomo-Alvarez C, Cacho I, Nieto-Bona A. Binocular function changes produced in response to overnight orthokeratology. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017; 255(1):179-188.

Nieto-Bona A, **Nombela-Palomo M**, Felipe-Marquez G, Teus MA. Tear film osmolarity in response to long-term orthokeratology treatment. *Eye Contact Lens* 2016 Nov 16.

Felipe-Marquez G, **Nombela-Palomo M**, Cacho I, Nieto-Bona A. Accommodative changes produced in response to overnight orthokeratology. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2015;253(4):619-626.

- CONGRESOS

AUTORES: **María Nombela Palomo** y Amelia Nieto Bona.

TITULO: Influencia de la ortoqueratología nocturna en el plexo nervioso sub-basal y la sensibilidad corneal.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Oral.

CONGRESO: XXIV Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica.

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, Abril 2016.

AUTORES: Amelia Nieto Bona, Gema Felipe Márquez y **María Nombela Palomo**.

TITULO: Cambios topográficos corneales inducidos tras ortoqueratología nocturna.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Oral.

CONGRESO: XXIV Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica.

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, Abril 2016.

AUTORES: Amelia Nieto Bona, **María Nombela Palomo**, Gema Felipe Márquez, Javier Cotanilla Cuenca y Maite Zanduetta Villanueva.

TITULO: Estudio comparativo de la osmolaridad lagrimal en usuarios de lentes de contacto hidrogel de silicona y de ortoqueratología nocturna.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster.

CONGRESO: XXIII Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica.

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, Abril 2014.

AUTORES: Amelia Nieto Bona, **María Nombela Palomo**, Gema Felipe Márquez, Javier Cotanilla Cuenca, Maite Zanduetta Villanueva.

TITULO: Topographical changes after OKN.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Oral.

CONGRESO: II Meeting Internacional de la European Academy of Orthokeratology.

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Bruselas, Junio 2013.

AUTORES: **María Nombela Palomo**, Gema Felipe Márquez, Amelia Nieto Bona.

TITULO: Changes in tear film osmolarity due to overnight orthokeratology.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Oral.

CONGRESO: I Meeting Internacional de la European Academy of Orthokeratology.

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, Junio 2012.

AUTORES: Gema Felipe Márquez, **María Nombela Palomo**, Amelia Nieto Bona.

TITULO: Binocular visión & overnight orthokeratology.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Oral.

CONGRESO: I Meeting Internacional de la European Academy of Orthokeratology.

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, Junio 2012.

• PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Cambios binoculares y acomodativos tras ortoqueratología nocturna. Acogido al artículo 83 de la LOU. Financiado por Interlenco S.A. (272/2011). Investigador principal: Amelia Nieto Bona y un total de tres participantes.

Convenio entre la Universidad Complutense de Madrid (Facultad de Óptica y Optometría-Prof. Amelia Nieto Bona) e Interlenco S.A.

Convenio entre la Universidad Complutense de Madrid (Facultad de Óptica y Optometría-Prof. Amelia Nieto Bona) y Conóptica SL.

RESUMEN DE LA TESIS

La **ortoqueratología** (OK) es un método para la reducción o eliminación temporal de los errores refractivos, que consiste en el empleo de lentes de contacto (LC) rígidas permeables a los gases (RGP) para moldear la zona central de la superficie corneal. Sus efectos en la topografía corneal, la agudeza visual, sensibilidad al contraste, calidad óptica del ojo y propiedades biomecánicas se han investigado ampliamente, pero sólo unos pocos estudios han examinado estos **efectos en la morfología** de la córnea humana. Al respecto, se han reportado cambios en la densidad celular y en el espesor del epitelio corneal, así como en el espesor del plexo nervioso que subyace bajo el epitelio y en el espesor de la membrana de Bowman. La irreversibilidad de los efectos producidos en el espesor del **plexo nervioso sub-basal** (PNSB) dio lugar a un estudio más profundo del mismo. Sin embargo, aún no se conocían todos los efectos a nivel del mismo.

El **origen de esta tesis** surgió de la necesidad de un estudio prospectivo que analizase cuantitativamente los cambios producidos en los diferentes estratos del epitelio corneal que, según la bibliografía actual, eran susceptibles de necesitar más investigación. Concretamente en el PNSB, donde se estudiaron los efectos de las lentes de OK en su morfología y en la densidad de las células de Langerhans, así como la posible relación de dichos efectos con una alteración sensorial. Por tanto, el **objetivo principal** de esta tesis fue cuantificar los cambios producidos en el epitelio corneal por un tratamiento de OK a largo plazo y la reversibilidad de los mismos tras el cese de las LC.

La investigación se dividió en dos estudios diferentes. El Estudio 1, o principal, fue diseñado de forma prospectiva y longitudinal. El Estudio 2 consistió en un diseño retrospectivo y transversal. Ambos estudios fueron realizados en un único centro y fueron aprobados por el Comité Ético del Hospital Carlos III (Madrid, España). Asimismo, siguió los principios de la Declaración de Helsinki.

El **Estudio 1** se diseñó para tener una duración de 13 meses, con el objetivo de evaluar los cambios generados por las lentes de OK a corto y largo plazo y su posible recuperación. Para este estudio la muestra final fue de 71 sujetos con edades comprendidas entre 18 y 30 años y una distribución homogénea respecto al género ($p > 0.05$, de χ^2). Dichos sujetos fueron aleatoriamente incluidos en 3 grupos diferentes: a) Grupo control, compuesto de 15 sujetos usuarios de gafas (60% hombres y 40%

mujeres), que nunca habían llevado LC RGP, y con una media de edad de $(25,6 \pm 3,3)$ años. b) Grupo CRT, compuesto de 35 sujetos (46% hombres y 54% mujeres), que fueron adaptados con lentes de OK Paragon CRT[®], con una media de edad de $(23,9 \pm 3,7)$ años. c) Grupo SF, compuesto de 21 sujetos (42% hombres y 58% mujeres), que fueron adaptados con lentes de OK Seefree[®], con una media de edad de $(25,8 \pm 4,1)$ años.

El **Estudio 2** se diseñó para verificar si los posibles cambios inducidos por el tratamiento de OK aumentaban, disminuían o se mantenían estables con más tiempo de uso de las LC (3 años). Para ello, se compararon las medidas de la visita de 1 año de los sujetos de OK de la fase principal con un grupo de 20 sujetos que llevaban más de 3 años con dicho tratamiento y que cumplían los mismos criterios de inclusión que los sujetos del Estudio 1.

Los sujetos del Estudio 1 fueron examinados en 4 visitas separadas, antes de comenzar el tratamiento, al mes y al año de comenzar el tratamiento y 1 mes después de acabar el primer año de tratamiento. Los sujetos del Estudio 2 fueron evaluados una sola vez, haciendo coincidir su visita con la revisión habitual contactológica de 6 meses. En cada visita, además de los exámenes preliminares (AV y examen con lámpara de hendidura), un clínico experimentado llevó a cabo **dos exámenes** entre 2 y 4 horas después de la retirada de LC: la sensibilidad corneal mediante el uso de un estesiómetro Cochet-Bonnet y la morfología del PNSB con el uso del microscopio confocal láser Heidelberg Retina Tomograph II y del módulo corneal Rostock.

En la presente investigación se llevaron a cabo un total de 992 videos en la córnea de 87 sujetos con el microscopio confocal. De las 39680 imágenes obtenidas de dichos videos, se evaluaron un total de 20832 pertenecientes al epitelio corneal, al PNSB y la membrana de Bowman. El análisis de dichas imágenes fue llevado a cabo por un único y experimentado profesional usando 3 tipos diferentes de software, (ImageJ, NeuronJ y Matlab) además del propio software del microscopio. Cada uno de estos 4 programas se usó para evaluar diferentes parámetros del epitelio corneal. El software del microscopio confocal se utilizó para analizar los espesores corneales. ImageJ se usó para calcular la densidad de células epiteliales y evaluar los cambios morfológicos en algunos de los parámetros del plexo nervioso, como la reflectividad global y local, anchura y orientación de los nervios y número de células de Langerhans. NeuronJ se usó para medir la reflectividad nerviosa, el número y longitud de los nervios y la densidad nerviosa y finalmente Matlab se destinó a calcular la tortuosidad nerviosa.

Del análisis de los **resultados** se observó que: **1)** La OK disminuyó la sensibilidad corneal central a corto plazo ($p_{\text{CRT}}=0.04$), y se estabilizó entre el mes y el año de tratamiento, recuperándose un mes después de retirar las LC ($p_{\text{CRT}}=0.04$, $p_{\text{SF}}=0.03$). **2)** Se produjo una redistribución de los espesores corneales. El espesor del epitelio celular disminuyó en córnea central ($p_{\text{CRT}}=0.04$) y aumentó en córnea periférica ($p_{\text{CRT}}=0.008$ y $p_{\text{SF}}=0.05$) tras 1 mes de uso de las lentes de OK; estas variaciones se mantuvieron durante todo el tratamiento en el centro ($p_{\text{CRT}}=0.03$ y $p_{\text{SF}}=0.01$) y periferia ($p_{\text{CRT}}=0.02$ y $p_{\text{SF}}=0.01$) de la córnea, y están asociados a un aumento de los espesores del PNSB ($p_{\text{CRT}}=0.05$) y de la membrana de Bowman ($p_{\text{CRT}}=0.002$) en córnea periférica tras 1 año de OK. Todos los cambios en los espesores de los estratos corneales evaluados se recuperaron tras la interrupción del tratamiento ortoqueratológico. **3)** La OK produjo una redistribución de la densidad celular del epitelio. Por un lado la densidad de células superficiales aumentó tras 1 mes de uso de las LC en córnea central ($p_{\text{CRT}}=0.04$) y periférica ($p_{\text{CRT}}=0.03$) y se mantuvo así hasta el año de tratamiento ($p_{\text{CRT}}=0.02$ y $p_{\text{CRT}}=0.01$, respectivamente). Por otro lado, la densidad de células intermedias aumentó en córnea central ($p_{\text{SF}}=0.001$) al año de tratamiento. El aumento de la densidad de células intermedias en córnea periférica empezó a notarse tras un mes de uso de las LC ($p_{\text{CRT}}=0.03$), y se mantuvo con valores aumentados al año de tratamiento ($p_{\text{CRT}}=0.002$). Adicionalmente, la densidad de células basales disminuyó a corto plazo en córnea central ($p_{\text{CRT}}=0.03$) y periférica ($p_{\text{CRT}}=0.02$), y se mantuvo disminuida hasta 1 año de tratamiento en córnea central ($p_{\text{CRT}}<0.001$ y $p_{\text{SF}}=0.04$) y periférica ($p_{\text{CRT}}<0.001$ y $p_{\text{SF}}=0.05$). Todos los efectos causados en la distribución de la densidad celular en las diferentes capas epiteliales revirtieron tras el cese de las LC. **4)** La densidad nerviosa del PNSB disminuyó en córnea central ($p_{\text{CRT}}=0.03$, $p_{\text{SF}}<0.01$) y periférica ($p_{\text{CRT}}=0.02$, $p_{\text{SF}}=0.05$) tras un año de tratamiento. Del mismo modo, la tortuosidad nerviosa central ($p_{\text{CRT}}=0.05$, $p_{\text{SF}}=0.008$) evaluada objetivamente se redujo tras un año de uso de las lentes de OK. Tanto la densidad nerviosa central ($p_{\text{CRT}}=0.04$, $p_{\text{SF}}=0.01$) y periférica ($p_{\text{CRT}}=0.001$, $p_{\text{SF}}=0.01$), como la tortuosidad periférica ($p_{\text{CRT}}=0.05$, $p_{\text{SF}}=0.049$) continuaron disminuidas tras la finalización del tratamiento de OK. Los cambios producidos en ambas variables se correlacionaron de forma inversamente lineal tanto en córnea central ($p<0.01$; $r=0.69$) como en córnea periférica ($p<0.01$; $r=0.76$). **5)** Con el uso de las lentes de ortoqueratología el estado inmune corneal se agudiza rápidamente, dado el aumento de la densidad de células de Langerhans al mes de tratamiento tanto en córnea central ($p=0.04$), como en córnea periférica ($p=0.05$). No obstante, dicho cambio se termina estabilizando a lo largo del tratamiento y la córnea recupera su estado inmune normal

tras la retirada de lentes. **6)** La disminución periférica encontrada en el espesor del PNSB correlacionó con la disminución periférica de la densidad nerviosa de forma lineal e inversa ($p=0.03$; $r= -0.44$).

La amplia muestra considerada en la presente investigación proporciona evidencia suficiente de que el uso de las lentes de OK altera varios parámetros corneales de forma cuantitativa. La mayoría de dichos parámetros recuperaron sus valores normales, sin embargo, algunos como la densidad nerviosa y la tortuosidad objetiva no volvieron a sus valores preliminares al retirar las LC durante un mes. Los cambios encontrados en las diferentes variables morfológicas, biométricas y reflectivas del epitelio corneal y de la membrana de Bowman permanecieron estables entre 1 y 3 años de tratamiento ortoqueratológico, es decir, que no se agudizaron con mayor tiempo de uso. Además, los dos diseños geométricos de las lentes de OK evaluadas en la presente investigación (Paragon CRT[®] y Seefree[®]) se comportan de manera similar e inducen los mismos efectos en la córnea.

SUMMARY

Overnight **orthokeratology** (OK) is a technique used for the temporary reduction of the refractive error, that consists in the use of rigid gas permeable (RPG) contact lenses (LC) to mold the central cornea. Its effects on corneal topography, visual acuity, contrast sensitivity, optical quality of the eye, and biomechanical properties have been widely investigated, though only a few studies have examined the **histological effects** of this technique on the morphology of the human cornea. Within these studies, changes have been reported changes in the cell density and thicknesses of the corneal epithelium, **sub-basal nerve plexus** (SBNP) and Bowman's layer. The irreversible thinning of the Bowman layer and SBNP prompted further study of these layers. However, little is still known about this subject.

The **origin of this thesis** arose from the need for a prospective study that quantitatively analyzed the changes produced in the different strata of the corneal epithelium that, according to the current literature, were likely to require further study. Specifically in the SBNP, where the effects of the OK lenses on its morphology and on the Langerhans cell density were studied, as well as the possible correlation of these effects to a sensorial alteration. Therefore, the main objective of this thesis was to quantify the changes produced in the corneal epithelium due to OK treatment in a long-term period and their reversibility after lens cessation.

This research was divided into two different studies. **Study 1**, or the main study, was designed prospectively and longitudinally. **Study 2** was designed retrospectively and transversally. Both studies were single-center and were approved by the Ethics Committee of the Hospital Carlos III (Madrid, Spain). Moreover, it followed the tenets of the Declaration of Helsinki.

Study 1 lasted 13 months and the objective was to evaluate the changes made by the OK lenses in the short and long-term period and their possible recovery. The final sample for this study was comprised of 71 subjects of 18-30 years old and an homogeneous distribution in terms of gender ($p > 0.05$, χ^2). These subjects were randomly assigned to 3 different groups: a) Control group, comprised of 15 subjects who wore glasses (60% male and 40% female) and had never worn RPG lenses, of mean age ($25,6 \pm 3,3$) years. b) CRT group, comprised of 35 subjects (46% male and 54% female), that were fitted with Paragon CRT[®] OK lenses, of mean age ($23,9 \pm 3,7$)

years. c) SF group comprised of 21 subjects (42% male and 58% female), that were fitted with Seefree[®] OK lenses, of mean age ($25,8 \pm 4,1$) years .

Study 2 was designed to verify if the possible changes induced by OK worsen, normalize or remain steady in a longer term of use (3 years). To do this, the measurements obtained at the 1-year visit of the main study were compared with 20 subjects that had been wearing OK lenses for more than 3 years consecutively and were matched by the same inclusion criteria than the subjects from Study 1.

Subjects from Study 1 were examined in 4 separate visits, at baseline, at 1 and 12 months after starting the treatment and 1 month post-OK. Subjects from Study 2 were examined only once, matching this visit with their usual lens revision (every 6 months). In each visit, **2 tests** were performed by a single experienced clinician between 2 and 4h after removing the lenses: corneal sensitivity using a Cochet-Bonnet esthesiometer and corneal morphology using the corneal module Rostock Corneal Module of the Heidelberg Retina Tomograph II.

In this research, a total of 992 videos were performed on the cornea of 87 healthy subjects with the use of the confocal microscope. From the 39680 images obtained, a total of 20832 belonging to the corneal epithelium, SBNP and Bowman's layer were evaluated. The analysis of these images was carried out by a single experienced examiner using 3 different software packages, apart from the microscope's software: ImageJ, NeuronJ and Matlab. The 4 programs were used to objectively assess all possible SBNP parameters: the microscope's software was used to evaluate the changes made in the corneal thicknesses. ImageJ was used to calculate the epithelial cell densities, and to evaluate the changes made in some of the parameters of the SBNP morphology, like the total and local reflectivity, nerve width and nerve orientation, and Langerhans cells density; NeuronJ was used to measure the number of nerves, nerve reflectivity, length nerve and nerve density; and MatLab was used to calculate nerve tortuosity.

From the **results** analysis it was observed that: **1)** Corneal sensitivity decreased in the short-term period ($p_{\text{CRT}}=0.04$), become steady from 1 month to 1 year of OK treatment and recovered the baseline values after lens cessation ($p_{\text{CRT}}=0.04$, $p_{\text{SF}}=0.03$). **2)** There was a redistribution of the corneal thicknesses. Cellular epithelium decreased in the central cornea ($p_{\text{CRT}}=0.04$) and increased in the mid-peripheral cornea ($p_{\text{CRT}}=0.008$ y $p_{\text{SF}}=0.05$) after 1 month of OK lens wearing. These changes remained steady over the 1-year treatment in the central ($p_{\text{CRT}}=0.03$ y $p_{\text{SF}}=0.01$) and mid-peripheral ($p_{\text{CRT}}=0.02$ y

$p_{SF}=0.01$) cornea and they were associated to a rise of the SBNP ($p_{CRT}=0.05$) and Bowman's layer ($p_{CRT}=0.002$) thicknesses in the mid-periphery after 1 year of OK. Every change produced in the corneal thicknesses was recovered 1 month after removing the lenses. **3) OK produced a redistribution in the epithelial cell density.** On one hand, superficial cells density increased after 1 month of OK lens wear in central ($p_{CRT}=0.04$) and mid-peripheral ($p_{CRT}=0.03$) cornea and remained in that way until the 1-year visit ($p_{CRT}=0.02$ y $p_{CRT}=0.01$, respectively). On the other hand, wing cell density increased in the central cornea after 1 year of treatment ($p_{SF}=0.001$). This change was noted firstly at the 1-month visit in the mid-peripheral cornea ($p_{CRT}=0.03$), and remained increased at the 1-year visit ($p_{CRT}=0.002$). Moreover, basal cell density decreased in the short-term period in the central ($p_{CRT}=0.03$) and mid-peripheral ($p_{CRT}=0.02$) cornea and remained decreased after 1 year of OK treatment in the central ($p_{CRT}<0.001$ y $p_{SF}=0.04$) and mid-peripheral ($p_{CRT}<0.001$ y $p_{SF}=0.05$) cornea. Every effect produced in the cell density of the epithelium was recovered after lens cessation.

4) SBNP nerve density decreased in the central ($p_{CRT}=0.03$, $p_{SF}<0.01$) and mid-peripheral ($p_{CRT}=0.02$, $p_{SF}=0.05$) cornea after 1 year of OK treatment. Likewise, objective nerve tortuosity decreased after 1 year of OK treatment in the mid-periphery ($p_{CRT}=0.05$, $p_{SF}=0.008$). Both, SBNP nerve density, in the central ($p_{CRT}=0.04$, $p_{SF}=0.01$) and mid-peripheral ($p_{CRT}=0.001$, $p_{SF}=0.01$) cornea, and objective nerve tortuosity in the mid-peripheral cornea ($p_{CRT}=0.05$, $p_{SF}=0.049$) did not recover their baseline values. Long term OK treatment led to reduced SBNP nerve density and this was directly correlated with corneal tortuosity in the central ($p<0.01$; $r=0.69$) and mid-peripheral ($p<0.01$; $r=0.76$) cornea. **5) OK exacerbated the corneal immune status,** given the rise in the Langerhans cell density in the central ($p=0.04$) and mid-peripheral ($p=0.05$) cornea after 1 month of OK wearing. However, this effect stabilized throughout the treatment and the cornea recovered its normal immune status after 1 month of lens cessation.

6) The reduction found in the mid-peripheral SBNP thickness correlated with the reduction found in the mid-peripheral nerve density ($p=0.03$; $r=-0.44$). The large sample considered here provides evidence that overnight OK lens wear alters quantitatively some parameters observed in healthy eyes. Most of the parameters measured in this research recovered their baseline values, though some of them, like nerve density and objective tortuosity, did not recover after 1 month of lens cessation. The effects found in the morphological, biometrics and reflective variables of the corneal epithelium and Bowman's layer remained steady between 1 and 3 years of OK treatment, which means that these effects did not worsen in the long

term. Moreover, both OK lens designs evaluated here (Paragon CRT[®] and Seefree[®]) showed the same behavior and induced the same effects in the cornea.

LISTADOS

LISTADO DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

AV	Agudeza visual.
MAVC	Mejor agudeza visual compensada.
cm	Centímetros.
CRT	Corneal Refractive Therapy, tipo de lentes de ortoqueratología comercializadas con el nombre Paragon CRT.
CTO	Coeficiente de tortuosidad objetivo.
CTS	Coeficiente de tortuosidad subjetivo.
D	Dioptrías.
Δ	Variación (usado generalmente en las tablas de resultados para destacar la variación producida entre las diferentes visitas).
Φ	Diámetro.
HRT	Heidelberg Retina Tomograph (en el texto puede encontrarse como referencia al tipo de microscopio confocal usado).
LC	Lentes de contacto.
MC	Microscopía confocal.
mm ²	Milímetros cuadrados.
μm	Micras.
OD	Ojos derechos.
OI	Ojos izquierdos.
OK	Ortoqueratología.
PNSB	Plexo nervioso sub-basal.
RGP	Rígidas permeables a los gases.
ρ	Densidad.
SF	Seefree, tipo de lentes de ortoqueratología.
°	Grados.

LISTADO DE FIGURAS

Figura 2.1. Corte histológico de la córnea.....	42
Figura 2.2. Sección transversal de la capa del endotelio obtenida con el microscopio confocal.....	43
Figura 2.3. Sección transversal de la capa del estroma anterior obtenida con el microscopio confocal	45
Figura 2.4. Sección transversal de la membrana de Bowman obtenida con el microscopio confocal	45
Figura 2.5. Secciones transversales de las capas del epitelio obtenidas con el microscopio confocal. a) Células superficiales, b) células intermedias y c) células basales.....	47
Figura 2.6. Sección transversal de la capa de plexo nervioso obtenida con el microscopio	49
Figura 2.7. Sección transversal de la capa de plexo nervioso obtenida con el microscopio (células de Langerhans).....	51
Figura 2.8. Estesiómetro corneal Cochet-Bonnet.....	53
Figura 2.9. Esquema de funcionamiento de un microscopio confocal láser	54
Figura 2.10. Fluorograma de una LC de OK	56
Figura 3.1. Diseño geométrico de las lentes de OK utilizadas en el estudio.....	70
Figura 3.2. a) Regla de cálculo para las lentes CRT® y b) módulo informático de cálculo para las lentes Seefree®	71
Figura 3.3. Realización de topografías con el topógrafo Atlas9000.....	71
Figura 3.4. Montaje experimental del estesiómetro corneal sobre lámpara de hendidura	73
Figura 3.5. Microscopio confocal láser HRT II. Detalle de la posición del paciente y del software donde se muestra la capa analizada (PNSB) y una vista lateral de córnea ..	75
Figura 3.6. Sección transversal de las diferentes capas corneales evaluadas con microscopio confocal	76
Figura 3.7. Grupo de imágenes perteneciente a las capas del epitelio, membrana de Bowman y estroma.....	77
Figura 3.8. Perfil de intensidad luminosa de la córnea central	78
Figura 3.9. Recuento celular con ImageJ.....	80
Figura 3.10. a) Medida de la orientación y b) de las células de Langerhans usando ImageJ.....	82
Figura 3.11. Trazado de nervios con el uso de NeuronJ	82
Figura 3.12. Trazado de nervios en grupo con NeuronJ	83
Figura 3.13. Trazado de nervios por puntos de control con NeuronJ	84
Figura 3.14. Cálculo de la tortuosidad objetiva mediante el uso de Matlab.	85

Figura 4.1. Cambio topográfico de los radios corneales producidos por las 2 lentes de OK a lo largo de los meridianos horizontal y vertical tras un mes de uso de las LC de OK.	111
Figura 4.2a. Evolución de la sensibilidad corneal entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar	115
Figura 4.2b. Evolución de la densidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar	115
Figura 4.2c. Evolución de la tortuosidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar	116
Figura 4.2d. Evolución de la densidad de células de Langerhans entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea medio-periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar	116
Figura 4.2e. Evolución de la densidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea medio-periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	117
Figura 4.2f. Evolución de la tortuosidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea medio-periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	117
Figura 4.3a. Comparativa de la sensibilidad corneal en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	119
Figura 4.3b. Comparativa de la sensibilidad corneal en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	119
Figura 4.3c. Comparativa de la densidad nerviosa en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	120
Figura 4.3d. Comparativa de la densidad nerviosa en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	120
Figura 4.3e. Comparativa del número de nervios en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	121
Figura 4.3f. Comparativa del número de nervios en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	121
Figura 4.3g. Comparativa de la densidad de células de Langerhans en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	122
Figura 4.3h. Comparativa de la densidad de células de Langerhans en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar.....	122
Figura 4.4a. Relación entre el cambio en la densidad nerviosa y el cambio en la tortuosidad en córnea central.....	126
Figura 4.4b. Relación entre el cambio en la densidad nerviosa y el cambio en la tortuosidad en córnea periférica.....	126
Figura 4.4c. Relación entre el cambio en la densidad nerviosa y el cambio en el espesor del PNSB en córnea periférica	127

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1.1. Estudios relevantes relacionados con el objetivo de la tesis.	36
Tabla 3.1. Exámenes realizados por visita.....	69
Tabla 3.2. Fases para el recuento celular	80
Tabla 4.1. Datos descriptivos de variables refractivas y corneales en la medida preliminar y comparativa entre grupos del Estudio 1 por análisis de varianza.....	90
Tabla 4.2. Cambio de la agudeza visual inducidos por ortoqueratología a lo largo del tiempo en el Estudio 1.	91
Tabla 4.3. Comparativa de la sensibilidad corneal a lo largo del tiempo por grupo y localización de la córnea en el Estudio 1.	92
Tabla 4.4a. Comparativa de los espesores corneales a lo largo del tiempo por grupo y localización de la córnea (epitelio corneal, plexo nervioso+membrana de Bowman) en el Estudio 1.....	95
Tabla 4.4b. Comparativa de los espesores corneales a lo largo del tiempo por grupo y localización de la córnea (epitelio celular, plexo nervioso y membrana de Bowman) en el Estudio 1.....	96
Tabla 4.5. Comparativa en la densidad celular epitelial por localización corneal y capas: superficial, intermedia y basal en el Estudio 1.	100
Tabla 4.6. Comparativa en la morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección I: reflectividad global, local y nerviosa.	104
Tabla 4.6. Comparativa en la morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección II: longitud, anchura y orientación de los nervios. ...	106
Tabla 4.6. Comparativa en la morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección III: número de nervios, densidad de nervios y densidad de células de Langerhans.....	108
Tabla 4.6. Morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección IV: coeficientes de tortuosidad objetiva y subjetiva.	113
Tabla 4.7a. Comparativa de los parámetros de las estructuras corneales (espesor de las capas corneales y densidad celular) en el grupo completo de OK por localización corneal.....	123
Tabla 4.7b. Comparativa de los parámetros (reflectividad, geometría y tortuosidad del plexo) en el grupo completo de OK por localización corneal.....	124
Tabla 4.8a. Comparativa entre usuarios de lentes de OK durante 1 y 3 años.....	129
Tabla 4.8b. Comparativa entre usuarios de lentes de OK durante 1 y 3 años.....	130

ESTRUCTURA DE LA TESIS

ESTRUCTURA DE LA TESIS

La tesis está configurada en 7 capítulos (justificación, introducción, metodología, resultados y discusión, conclusiones, referencias y anexos).

El primer capítulo es la justificación del estudio y se basa en el fundamento teórico a partir de una revisión bibliográfica que analiza los cambios epiteliales secundarios a las lentes de contacto. En este capítulo además, se incluyen los objetivos de esta investigación y la hipótesis de trabajo.

El segundo capítulo es la introducción del estudio y consta de 4 apartados. Se inicia el capítulo con una revisión de la morfología corneal y se continúa con el sistema sensorial de la misma. Posteriormente se revisan los métodos de evaluación de la morfología y la sensibilidad corneal, haciendo especial énfasis en los que se han utilizado en el estudio. Termina el capítulo con el análisis de los métodos de compensación óptica, profundizando en la ortoqueratología nocturna, por ser el factor causante de los posibles cambios que se analizaran en el estudio.

Los capítulos 3 (metodología), 4 (resultados y discusión) y 5 (conclusiones) siguen el formato habitual requerido para estas secciones: diseño del estudio, materiales, montaje experimental, análisis estadístico, presentación de los resultados y discusión de los mismos y conclusiones.

Finaliza el documento con los capítulos 6 y 7 donde se recogen las referencias bibliográficas y los anexos citados a lo largo del estudio.

1. JUSTIFICACIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En el 2010 se estimó que la miopía afecta a 108 millones de personas y es la segunda causa de ceguera mundial¹. Su prevalencia se está disparando especialmente en Asia², pero también en Europa³ y Norteamérica⁴. Recientemente se ha llevado a cabo un estudio donde se estima la progresión de la miopía alrededor del mundo, en base a los datos reportados hasta la fecha. Holden et al⁵ informaron de que en 2050 el 50% de la población mundial tendrá miopía, siendo un 10% miopías altas. Esto supone un aumento del 22% respecto a los datos de prevalencia del año 2000. Es importante mencionar que los valores miópicos elevados (por encima de -6.00D) están asociados a un mayor riesgo de desprendimiento de retina regmatógeno, glaucoma, catarata y degeneración macular⁶, que son las principales causas de ceguera. Ésta es la principal razón por la que durante décadas se han estudiado tratamientos efectivos para el control de la miopía.

Hasta ahora las soluciones que se han propuesto incluyen: 1) Tratamientos farmacológicos, que a pesar de los resultados prometedores en la progresión miópica se ha documentado un amplio abanico de efectos secundarios asociados a ellos^{7,8}. 2) Terapias alternativas, como la acupuntura, cuyos datos obtenidos fueron poco concluyentes en la progresión de la miopía⁹. 3) Tratamientos óptico-optométricos, que han resultado efectivos como la terapia visual^{10,11} en el caso de la pseudomiopía (miopía progresiva debido al estrés acomodativo), pero clínicamente no significativos en la disminución de la miopía con lentes progresivas¹². 4) Tratamientos contactológicos. En esta última categoría, por un lado están las LC blandas, cuya efectividad en la progresión miópica es nula con LC monofocales^{13,14} y sigue siendo un tema de discusión actual en el caso del desenfoque periférico producido en retina por las LC progresivas^{15,16}. Por otro lado, las LC rígidas permeables a los gases (RGP) también se han usado para combatir la progresión de la miopía mediante el aplanamiento o moldeo de la córnea. Esta técnica es conocida como ortoqueratología (OK).

Durante años, las técnicas de OK utilizaban las medidas queratométricas y la experiencia clínica para determinar el aplanamiento corneal. En la década de los 90, con el origen del topógrafo corneal y los nuevos materiales de LC RGP¹⁷, la OK comenzó a ser una opción de tratamiento más viable para la corrección de errores refractivos. Actualmente, la técnica de OK es una técnica muy depurada y eficaz en la

ralentización de la progresión miópica y la elongación axial, ya que se han reportado valores de reducción de entre 80.5% y 93.5%¹⁸⁻²². Habitualmente, los métodos terapéuticos se evalúan en animales en las fases iniciales de una investigación. Es decir, los estudios comienzan con el conocimiento de los factores biológicos implicados para conseguir un determinado efecto y posteriormente, ser aplicados en humanos. En el caso de los estudios llevados a cabo en personas, como en las LC, ocurre lo contrario. En la OK primero se han constatado los resultados de eficacia, predictibilidad y seguridad de la técnica²³ mediante la valoración de los efectos adversos durante el tratamiento y el estudio de la reversibilidad de los cambios refractivos y topográficos. Posteriormente, a medida que la tecnología ha ido aportando nuevas herramientas, tales como el microscopio confocal y la tomografía de coherencia óptica, se han llegado a las causas y mecanismos histológicos que justifican tales cambios. Hasta la fecha, se han estudiado ampliamente los efectos de la OK en la topografía corneal²⁴, la agudeza visual^{24,25}, en la sensibilidad al contraste^{25,26} en la calidad óptica del ojo^{26,27}, en la visión binocular²⁸, en la dispersión en los medios oculares²⁵, en el segmento anterior²⁹, en las propiedades biomecánicas del ojo^{30,31} y en las aberraciones oculares secundarias a dicho tratamiento³². Sin embargo, sólo unos pocos estudios han examinado los efectos de la OK en la morfología de la córnea humana. Nieto-Bona et al³³ realizaron un amplio estudio de la morfología en córneas sanas con tratamiento de OK, mediante microscopía confocal in vivo. Comprobaron que en periodos de tiempo corto existen cambios en la densidad celular, particularmente del epitelio corneal. Además, en su trabajo refieren que la OK mejora la agudeza visual de alto y bajo contraste mediante una disminución del error refractivo miópico, que a su vez se correlaciona bien con un aplanamiento de los meridianos topográficos. Asimismo observaron una disminución del espesor del epitelio central y un engrosamiento del mismo en la periferia de la córnea, que coincidió con la zona de porte de la LC de OK. El grupo asume que tanto esa remodelación topográfica como los cambios epiteliales pueden deberse a una redistribución de los tejidos corneales y de los fluidos en respuesta a la presión mecánica ejercida por las lentes de OK. Esta redistribución también vendría apoyada por el descubrimiento del patrón concéntrico de líneas fibrilares reportado por Cheung et al en un caso de OK³⁴. Los cambios reportados a corto plazo por Nieto-Bona et al también se produjeron en una muestra similar de pacientes estudiada a largo plazo³⁵. Además ambos estudios mostraron cambios anatómicos a nivel de las diferentes capas corneales, particularmente en la membrana de Bowman y el plexo nervioso. El mismo grupo de investigación estudió la reversión de estos cambios un 1 mes

después de la interrupción del tratamiento, concluyendo que el espesor de la membrana de Bowman y del plexo nervioso no recuperan su espesor preliminar y continúan disminuidos incluso después de haber finalizado todo el efecto del tratamiento de OK. Estos hallazgos dieron lugar al estudio en profundidad del plexo nervioso sub-basal en usuarios de OK. Lum et al³⁶ realizaron un mapeado del plexo nervioso sub-basal en dos pacientes de OK y lo compararon con un usuario de gafas. En los usuarios de OK, el patrón en espiral de fibras nerviosas reportado por Patel y McGhee³⁷ desapareció para dar paso a una reestructuración de las fibras, provocando una ligera despoblación en córnea central y una acumulación de fibras curvilíneas en su periferia. Sin embargo, los autores no estudiaron la reversibilidad de los cambios en el patrón de distribución de las fibras nerviosas tras el cese de las LC.

La redistribución de las fibras nerviosas se ha relacionado con los niveles aumentados de moléculas pro-inflamatorias³⁸. Por tanto, y teniendo en cuenta que la inflamación debido al uso de LC induce la migración de las células de Langerhans^{39,40}, es razonable pensar que la densidad de células de Langerhans variará con el uso de las LC de OK junto con un déficit en la función nerviosa corneal.

Además, Hiraoka et al⁴¹ informaron que las LC de OK comprometen la función nerviosa corneal. Varios autores han correlacionado la arquitectura del plexo nervioso sub-basal (PNSB) con la sensibilidad corneal⁴²⁻⁴⁶. Patel et al⁴⁷ correlacionaron la densidad de dicha estructura con la tortuosidad nerviosa y la sensibilidad corneal en una amplia población de usuarios que nunca habían usado LC. Recientemente, Lum et al han reportado una reducción de la sensibilidad corneal y la densidad nerviosa a corto⁴⁸ y medio⁴⁹ plazo de uso de OK. Sin embargo, los autores no han encontrado correlación entre ambos.

En la tabla 1.1 se ha compilado una selección de artículos relacionados con el objetivo de esta tesis. De los 12 estudios listados, 5 son transversales y el resto prospectivos. De los cuales sólo 3, que han sido citados anteriormente^{33,35,48}, se han realizado en pacientes de OK.

El origen de esta tesis surge de la necesidad de un estudio prospectivo que analice cuantitativamente los cambios producidos en los diferentes estratos del epitelio corneal que, según la bibliografía antes mencionada, son susceptibles de necesitar más investigación. Concretamente, la densidad de células de Langerhans y la morfología

del plexo nervioso sub-basal y su posible correlación con la sensibilidad corneal en una amplia población de usuarios de LC de OK a largo plazo y su recuperación.

Tabla 1.1. Estudios relevantes relacionados con el objetivo de la tesis.

1^{er} autor / año	n	D	Evaluación	M	Tratamiento	Tiempo	Tec
Oliveira-Soto, 2001	14	P	Ep, Es	N	C	1h	MC
Grupcheva, 2002	50	T	P	N	C	-	H
Kallinikos, 2004	20	P	Ep	N	LCH	2-72h	MC
Patel, 2005	3	P	P	N	C	1h	MC
Zhivov, 2007	130	T	Ep	C	LC/C	-	MC
Patel, 2009	60	T	Ep, P, B	N	C	-	MC
He, 2010	14	P	Ep, P, Es	N	C	25-47h	H
Nieto-Bona, 2011a	37	P	Ep, Es, En	N/C	OK/C	1m	MC
Nieto-Bona, 2011b	15	P	Ep, Es, En	N/C	OK	13m	MC
Lum, 2012	3	T	P	N	OK/LCH/C	-	MC
Lum, 2016a	54	T	P	N	OK	-	MC
Lum, 2016b	16	P	P	N	OK/RGP/C	3m	MC

n número de sujetos, D diseño del estudio (R retrospectivo, P prospectivo y T transversal), Evaluación de las estructuras corneales (Ep epitelio, P plexo, Es estroma, B Bowman, En Endotelio), M evaluación de la morfología (C celular y N nerviosa), Tratamiento evaluado en el estudio (C control, LC lentes de contacto, H hidrofílicas, RGP rígidas permeables al gas y OK ortoqueratología), Tiempo o duración del tratamiento (h horas, d días y m meses), Tec tecnología de evaluación en el estudio (MC microscopía confocal y H histología).

1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

1.2.1. Objetivo principal

El objetivo principal de esta tesis es cuantificar los cambios producidos en el epitelio corneal por un tratamiento de OK a largo plazo y la reversibilidad de los mismos.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Cuantificar la sensibilidad corneal central y medio-periférica.
2. Evaluar los cambios producidos por la OK en el espesor del epitelio, del plexo nervioso y de la membrana de Bowman en córnea central y medio-periférica.
3. Caracterizar los efectos de la OK en la morfología de la capa de células del epitelio corneal central y medio-periférico
4. Caracterizar los efectos de la OK en la morfología de la capa del plexo nervioso central y medio-periférico.
5. Correlacionar los cambios de la morfología del epitelio corneal con la sensibilidad corneal en centro y medio-periferia.
6. Comprobar todos los objetivos anteriores en dos diseños de LC de OK para confirmar si producen efectos similares en la córnea humana.

Adicionalmente se hará una comparación de los resultados obtenidos en los sujetos de OK con un grupo de sujetos control con el fin de evidenciar las posibles diferencias entre ellos.

Del mismo modo, se estudiarán los objetivos anteriores a corto plazo de uso de las LC (1 mes), a largo plazo (1 año) así como la reversibilidad de los posibles cambios tras la interrupción del tratamiento durante un mes (13 meses).

1.2.3. Hipótesis

La OK induce cambios anatómicos y morfológicos a nivel del plexo nervioso sub-basal que van acompañados de una alteración sensorial.

2. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El ojo es el elemento fundamental de la visión junto con el cerebro. Para que la visión se produzca, la luz ha de atravesar la córnea, la pupila, el cristalino y alcanzar la retina donde las señales son posteriormente enviadas al cerebro para ser procesadas. El contenido de la presente memoria se enfoca en la córnea, particularmente en el estudio de los posibles cambios en su epitelio y en el plexo nervioso sub-basal (PNSB) inducidos por OK nocturna, así como su relación con la sensibilidad corneal.

A lo largo de este capítulo se exponen en primer lugar los diferentes componentes de la morfología corneal, para, seguidamente, pasar a definirlos más detalladamente por capas. A continuación se explican los diferentes métodos de evaluación de la sensibilidad corneal y de la morfología de la córnea. Por último, se describen los posibles métodos de compensación óptica, profundizando en la técnica llevada a cabo en el estudio, la OK nocturna.

2.1. MORFOLOGÍA DE LA CÓRNEA

La córnea humana es un tejido conectivo transparente y avascular con forma de menisco que se sitúa en la región más anterior del ojo. Es la estructura con mayor poder dióptrico en el ojo y se comporta como una interfase óptica que permite refractar la luz. Adicionalmente la córnea proporciona protección al ojo frente a infecciones y estímulos de tracción mecánica. La córnea humana mide entre 12 y 13 milímetros en los meridianos horizontal y vertical, respectivamente⁵⁰. El espesor en córnea central varía entre 0.5⁵¹ y 0.627 milímetros⁵² y aumenta progresivamente en dirección a la esclera hasta alcanzar valores aproximados de 0.756 milímetros en la periferia⁵².

La estructura de la córnea está subdividida en 6 capas (Figura 2.1), cada una de ellas con una importante función: endotelio, membrana de Descemet, capa Dúa, estroma, membrana de Bowman y epitelio.

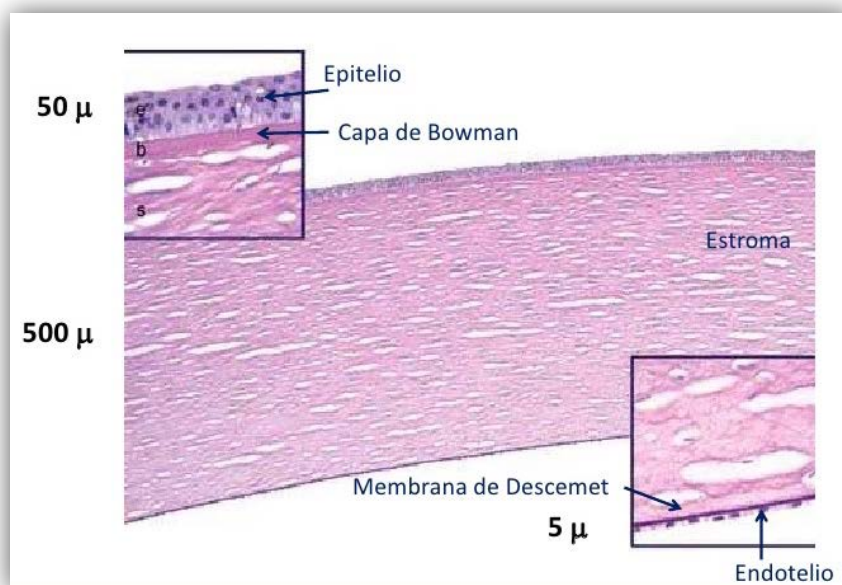


Figura 2.1. Corte histológico de la córnea. Fuente <http://es.slideshare.net/karinaso/crnea-3123241>.

A diferencia del resto de tejidos del cuerpo, no contiene vasos sanguíneos que lo nutran o protejan contra infecciones. En su lugar, la córnea se sustenta de la lágrima y el humor acuoso. Además posee una intrincada red de nervios que ayudan a mantener su integridad funcional. A continuación se describen más detalladamente las diferentes capas de la córnea.

2.1.1. Endotelio.

El endotelio es la capa más posterior de la córnea, por lo que se encuentra en contacto directo con el humor acuoso y la cámara anterior del ojo. Presenta un importantísimo rol en el mantenimiento de la transparencia corneal y la regulación de la hidratación corneal, proporcionando funciones de transporte y barrera⁵³. Está formado por una monocapa continua de células que mantiene su función barrera mediante 3 tipos de uniones: gap, estrechas y adherentes⁵³⁻⁵⁸. La forma primitiva de las células endoteliales es hexagonal (Figura 2.2) pues dicha forma permite cubrir completamente el plano endotelial. De esta manera, el espacio intercelular y el perímetro celular se mantienen optimizados⁵⁹. Su densidad celular en niños es de 3500-4000 células por mm^2 . Es decir, hay de 390000 a 520000 células en una córnea joven⁶⁰. Sin embargo, este valor disminuye con la edad^{61,62} y es dependiente de la raza⁶³. Al disminuir la densidad, las células restantes van perdiendo su forma

hexagonal para cubrir los huecos de las otras células. Este es un hecho importante pues la pérdida o daño de las células endoteliales inducen edema estromal y/o epitelial. Se estima que el número mínimo de células endoteliales para mantener la actividad de bombeo endotelial, y por tanto la transparencia corneal, es de 400 a 500 células por mm^2 . Valores por debajo de tales rangos se han asociado con queratopatía bullosa⁶⁴. Por otro lado, la membrana endotelial tiene un área aproximada de 130 mm^2 ⁶⁵, lo que representa una gran superficie para el intercambio de fluidos entre el segmento anterior y los tejidos corneales⁶⁶. Este intercambio de fluidos es de alta importancia para mantener la transparencia corneal: el endotelio se encarga de bombear agua fuera del estroma corneal contra un gradiente osmótico para mantener el estado de hidratación del 70% y prevenir el edema estromal⁶⁷. Este transporte activo de fluidos se equilibra energéticamente gracias a la bomba $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}_{\text{asas}}$ ⁶⁸⁻⁷⁰, que juega un papel importante en el mantenimiento del volumen celular.

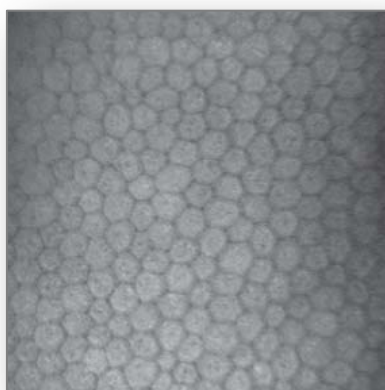


Figura 2.2. Sección transversal de la capa del endotelio obtenida con el microscopio confocal por María Nombela.

2.1.2. Membrana de Descemet.

Las células endoteliales generan una membrana basal especializada conocida como membrana de Descemet⁷¹. Como el resto de membranas basales⁷², la membrana de Descemet es una lámina compacta de biomoléculas que incluye proteínas y glicosaminoglicanos. Aunque su principal composición es el colágeno de tipo IV y VIII^{73,74}. Su espesor en humanos es en torno a 3 micras al nacer y ligeramente superior a 10 micras en la edad adulta⁷⁵. Por lo que, junto con la membrana de Bowman representa menos de un 4% del espesor de la córnea. Su principal función es

la de distribuir la tensión de manera uniforme a lo largo de los tejidos corneales e impedir deformaciones comprometidas de los mismos.

2.1.3. Capa Dúa.

La capa Dúa se ha descubierto recientemente⁷⁶, por lo que es un tema de discusión en desarrollo. Su descubridor la define como una capa acelular, delgada y firme de colágeno corneal. Se localiza anterior a la membrana de Descemet y mide 15 micras de espesor. Resiste hasta 2 bares de presión, lo que, desde un punto de vista clínico, podría tener repercusión en la cirugía de córnea posterior y en la compresión de la biomecánica de la córnea, así como en las patologías de córnea posterior como hidropesía aguda, descematocele y distrofias pre-Descemet⁷⁶.

2.1.4. Estroma.

El estroma comprende casi un 90% de la estructura corneal y está formado por tres componentes no acuosos: colágeno, proteoglicanos y células (Figura 2.3). Además contiene glicoproteínas⁷⁷⁻⁷⁹, y presenta iones que juegan un importante rol en la organización de su estructura⁸⁰⁻⁸², proporcionando soporte mecánico y propiedades bio-fisiológicas requeridas para la transparencia corneal⁸³. Por un lado, esto incluye el diámetro pequeño de las fibrillas de colágeno corneal. Estas fibrillas son más estrechas que en cualquier otro tejido conectivo, en torno a 25 nanómetros. Este es un factor muy importante para la transparencia de la estructura, pues se ha demostrado su relación con el diámetro de las fibras⁸⁴. Por otro lado, incluye el espaciado regular así como el empaquetamiento de las fibrillas de colágeno. Las fibrillas de colágeno suponen en torno a un 70% del estroma y se distribuyen en unas 300 capas, conocidas como lamelas, paralelas a la superficie corneal en la zona central de la córnea y unas 500 capas en zonas próximas al limbo⁸⁵. Sin embargo, a menudo las fibrillas de una capa se comunican con otras fibrillas de capas adyacentes formando lamelas en red⁸⁶. Este tipo de formaciones permiten una mayor resistencia a las fuerzas de tracción debidas a la presión intraocular y además protegen los tejidos internos de traumas externos⁸⁷.

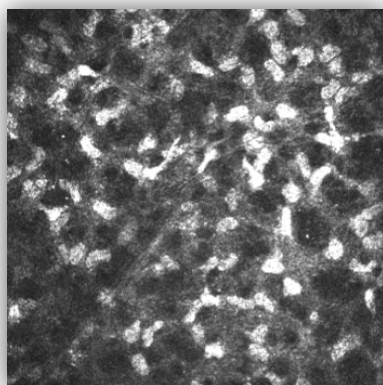


Figura 2.3. Sección transversal de la capa del estroma anterior obtenida con el microscopio confocal por María Nombela.

2.1.5. Membrana de Bowman.

La membrana de Bowman⁸⁸ es una matriz de tejido acelular que separa el estroma del epitelio corneal en humanos, pero que está ausente en todos los animales domésticos⁸⁹. No está considerada una membrana como tal, pues en realidad es el lugar de unión de las fibras de colágeno y proteoglicanos que conforman las estructuras K⁹⁰ (Figura 2.4). Su estructura amorfa de colágeno condensado mide en torno a las 15 micras de espesor. Esta membrana actúa como una barrera molecular que contribuye a la forma de la córnea⁹¹. Además, parece estar implicada en facilitar la cicatrización rápida de las lesiones del estroma, la recuperación asociada a la transparencia corneal anterior y la restauración de la inervación del epitelio tras sufrir un traumatismo⁹².

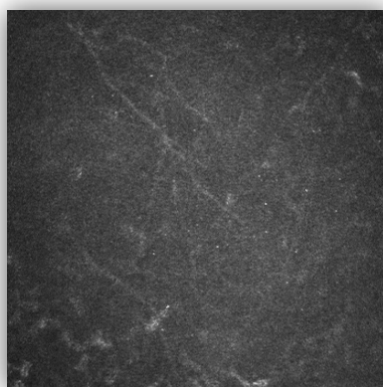


Figura 2.4. Sección transversal de la membrana de Bowman obtenida con el microscopio confocal por María Nombela.

2.1.6. Epitelio.

El epitelio corneal es escamoso, estratificado y no queratinizado y se encuentra en la zona más anterior de la córnea. Es uno de los tejidos más inervados en el cuerpo humano, mide unas 53 micras de grosor y representa un 10% del espesor corneal⁹³. Presenta de 4 a 6 capas de células que se encuentran dispuestas unas encima de otras⁹³. Esta estructura ha hecho que se las conozca como células columnares y se limitan a 3 tipos: basales, intermedias y superficiales (Figura 2.5). Las células basales están ancladas a la membrana anterior subyacente⁸⁹. Como cualquier otro epitelio en el cuerpo, el epitelio corneal está sometido a la continua renovación de sus capas⁹⁴. La proliferación en la capa de células basales junto con la diferenciación de las células existentes según se mueven hacia capas supra-basales hasta ser desechadas en las lágrimas permite esa renovación (Teoría XYZ de Thoft)⁹⁵. Además de las capas de células, el epitelio presenta una capa de nervios en su parte más interna que se conoce como plexo nervioso sub-basal (PNSB). Dada la importancia de esta capa en el objetivo de esta tesis, se destinará un apartado diferente para su análisis en profundidad.

En conjunto con la película lagrimal, el epitelio corneal presenta una suave interfaz en la zona anterior del ojo que permite la refracción coherente de la luz y su entrada en la córnea⁹⁶. Su otra función es la de actuar como barrera fisiológica, que se da como resultado de la alta resistencia de las uniones estrechas entre las células vecinas⁹⁷. Esta función ayuda a preservar la hidratación corneal y la transparencia⁹⁸. Dicha transparencia es el resultado de la homogeneidad de su índice de refracción y de las células que lo constituyen⁹⁹. Se necesita, por tanto, que la integridad funcional se mantenga de forma estricta durante la continua renovación celular para la preservación de las propiedades ópticas del tejido.

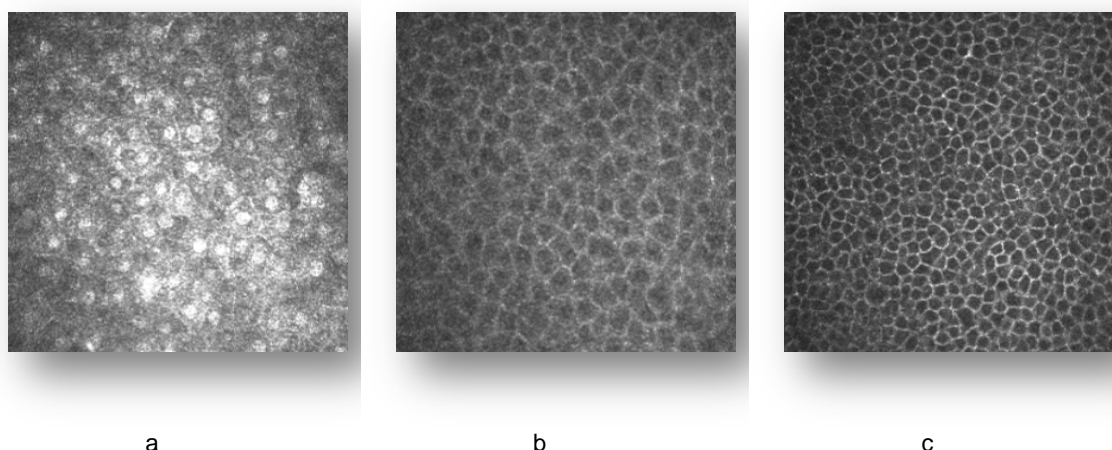


Figura 2.5. Secciones transversales de las capas del epitelio obtenidas con el microscopio confocal por María Nombela. a) Células superficiales, b) células intermedias y c) células basales.

2.2. SISTEMA SENSORIAL DE LA CÓRNEA

La córnea es el tejido más densamente inervado del cuerpo humano. Se calcula que en la córnea hay una inervación sensitiva que es 300 veces mayor que la de la piel y 80 veces mayor que la del tejido dentario. Además de su acción protectora, los nervios juegan un papel importante en la regulación de la integridad epitelial, proliferación y desinfección de heridas¹⁰⁰.

La inervación corneal se origina en la rama oftálmica del nervio trigémino. La córnea humana recibe la mayor parte de su inervación sensorial a partir de dos largos nervios ciliares que penetran el globo ocular por su zona posterior medial y lateral al nervio óptico y que avanzan por el espacio supra-coroidal en los meridianos nasal y temporal^{101,102}. Antes de alcanzar el limbo corneo-escleral, los nervios se ramifican repetidamente en haces más pequeños y se anastomosan ampliamente con ramas de los nervios ciliares cortos^{103,104} para formar 60-80 haces de nervios uniformemente distribuidos que se aproximan radialmente al limbo corneal desde todas las direcciones. Tras formar el plexo anular en el limbo, los nervios pierden sus vainas de mielina y se introducen en el estroma anterior, desde donde penetran en la membrana de Bowman hasta llegar al epitelio corneal, en donde se encuentran sus terminaciones¹⁰⁵. La concentración de estas terminaciones es de 20 a 40 veces mayor que la pulpa dental y entre 300 y 600 veces más que la piel¹⁰⁶, con mayor densidad en los dos tercios centrales de la córnea. Esto indicaría que la lesión de una sola célula epitelial sería suficiente para provocar dolor¹⁰⁷.

2.2.1. Plexo Nervioso Sub-Basal.

Entre el epitelio basal y la membrana de Bowman hay una rica red de nervios conocida como plexo sub-basal. Este paquete de nervios está compuesto de fibras rectas y con una especie de perlas situadas en la periferia. Las perlas o nódulos han sido identificados como terminales sensoriales eferentes¹⁰⁸, y se ha demostrado que son acumulaciones de glucógeno y mitocondria¹⁰⁷.

El plexo nervioso visto por microscopía confocal (Figura 2.6) aparece como un plexo denso neural caracterizado por fibras nerviosas finas y tortuosas, con una reflectividad homogénea y distinta del fondo. Los nervios están interconectados por numerosos elementos nerviosos. Patel y McGhee³⁷ realizaron un mapeado del plexo nervioso sub-basal mediante microscopía confocal in vivo en corneas sanas, informando de una distribución radial de las fibras nerviosas que convergían en una compleja espiral en la zona ínfero-central de la córnea. Dicho patrón en espiral podría deberse a la migración de las células, que estaría afectada por fuerzas de presión ejercidas por los párpados cuando se produce el parpadeo. Este patrón también fue observado por Misra et al¹⁰⁹ quienes además concluyeron que la inervación corneal no presenta la típica imagen en espejo entre el OD y el OI, sino que ambos patrones presentan una orientación anti-horaria con similar densidad nerviosa.

La densidad de las fibras nerviosas en el PNSB depende del instrumento utilizado para su valoración y de la interpretación espacial que se dé a las imágenes obtenidas. Por un lado, Oliveira-Soto y Efron¹⁰⁰ reportaron valores de 11101 ± 4290 micras por mm^2 , medidos con el microscopio Tomey Confoscan, en una población de 14 sujetos sanos frente a 14 portadores de LC de uso diurno y 10 portadores de LC de uso nocturno. Los datos reportados por Patel et al⁴⁷, fueron similares utilizando el microscopio Confoscan 2. Este grupo reportó una densidad media de 14713 ± 6056 micras por mm^2 en una población de 60 córneas sanas emparejadas por edades. Sin embargo, Grupcheva et al¹¹⁰ obtuvieron valores mucho menores utilizando el mismo microscopio que los anteriores autores en una muestra de 50 pacientes sanos. Los valores que reportaron fueron de 632 ± 287 micras por mm^2 en sujetos jóvenes y 582 ± 327 micras por mm^2 en población geriátrica de unos 70 años. El diámetro estimado de las fibras en esta capa es de $2,9 \pm 0,2$ micras¹⁰⁰ y existe una tendencia a la disminución del mismo con la edad¹¹⁰.

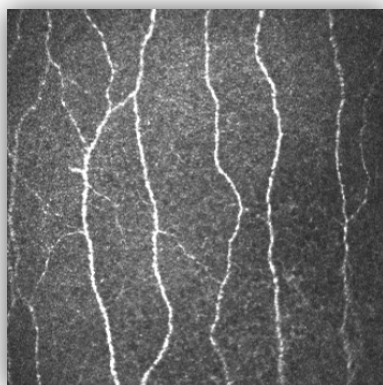


Figura 2.6. Sección transversal de la capa de plexo nervioso obtenida con el microscopio por María Nombela.

2.2.2. Sensibilidad Corneal.

La córnea es extremadamente sensible a los estímulos externos debido a su densa inervación corneal. La sensibilidad corneal normal es crucial para el buen mantenimiento de la secreción lagrimal y la fisiología corneal¹¹¹. La inervación alterada resulta en una disminución de la sensibilidad corneal que puede comprometer las propiedades epiteliales, afectando también a la respuesta de recuperación de la córnea¹¹². Es el caso de los pacientes operados con LASIK donde los umbrales sensoriales inicialmente disminuidos tras la cirugía, pueden volver casi a la normalidad tras un periodo de entre 6 y 12 meses¹¹³⁻¹¹⁵.

Respecto al efecto de la edad sobre la sensibilidad corneal existen opiniones divergentes. Draeger¹¹⁶ observó que la sensibilidad corneal central no se ve afectada significativamente por la edad, mientras que Millodot¹¹⁷ demostró un nivel relativamente uniforme de sensibilidad hasta la quinta década de vida, después de lo cual la sensibilidad corneal disminuye rápidamente. Por el contrario, estudios más recientes en los que se ha utilizado el estesiómetro corneal sin contacto ponen de manifiesto una reducción gradual de la sensibilidad corneal central con el aumento de la edad^{47,118}.

La sensibilidad corneal es importante en contactología ya que su reducción mejora la comodidad de uso de las lentes de contacto (LC). Este efecto podría incrementar el riesgo de no detectar un cuerpo extraño en la superficie ocular ya que la partícula ofensiva puede quedar atrapada bajo la lente, prolongando el período de daño

ocular¹¹⁹. Por lo tanto, es esencial que la función del nervio corneal este afectada mínimamente por el desgaste de las LC. Es por ello que en las últimas décadas, se ha estudiado ampliamente el efecto de las LC sobre la sensibilidad corneal. Millodot demostró que las LC rígidas afectan tanto a la sensibilidad como al espesor corneal de forma significativa a corto¹²⁰ y largo¹²¹ plazo. Aunque los valores de sensibilidad corneal vuelven a la normalidad tras la interrupción del porte de las LC durante 30 minutos y 4 meses respectivamente, lo que indicaría que el proceso es reversible. Años más tarde, Murphy et al¹¹⁹ demostraron que la duración del uso de las LC (rígidas o blandas) no influía en la pérdida de sensibilidad corneal, sino que tras la adaptación a la acción mecánica de las lentes y la reducción de la tasa metabólica, se crea un nuevo equilibrio entre las demandas de los nervios corneales y su función, produciendo una alteración de la sensibilidad corneal. Por otro lado, Polse¹²² concluyó que la disminución de la sensibilidad de la córnea que acompaña al uso de LC es independiente del edema de la córnea y es probablemente resultado de la adaptación sensorial a un estímulo mecánico. En el caso de usuarios de LC blandas, Patel et al⁴⁶ informaron que la disminución de la sensibilidad corneal no va acompañada de una disminución de la densidad del haz de fibras nerviosas y que el epitelio corneal en la zona temporal es más delgado que en aquellos sujetos no usuarios de LC. Por su parte, Stapleton et al^{123,124} descubrieron que la sensibilidad conjuntival se ve aumentada tras el uso de las LC, pero que el mecanismo que conduce a este incremento en la sensibilidad debido a estímulos mecánicos no está claro: la combinación de la fricción de la LC, debido al alto módulo de elasticidad, junto a los cambios en la estructura y la fisiología de la película lagrimal podrían conducir a un aumento de la información sensorial de la superficie ocular, lo que pondría de manifiesto el desequilibrio temporal entre los componentes de la unidad funcional. A un resultado similar llegaron Situ et al en 2010¹²⁵, quienes evaluaron los cambios en la sensibilidad de la superficie ocular producidos por el porte de LC de hidrogel de silicona (agente mecánico) y la solución de mantenimiento de las mismas (agente químico). Su estudio evidenció una alteración sensorial de la superficie ocular con una mayor sensibilidad química y una menor sensibilidad mecánica conjuntival. Teniendo en cuenta que la información sensorial que surge de la superficie ocular juega un papel fundamental en el mantenimiento del medio homeostático de la superficie ocular, las medidas de sensibilidad corneal pueden ser consideradas como un indicador de los cambios subclínicos inducidos por el uso de LC.

2.2.3. Células de Langerhans.

Existen unos corpúsculos brillantes que se encuentran entre los nervios del plexo nervioso sub-basal y que son conocidos como células de Langerhans¹²⁶⁻¹²⁸ (Figura 2.7). Estas células tienen un diámetro de unas 15 micras y aparecen de 3 formas distintas: sin dendritas, con pequeñas dendritas formando una pequeña red local y con largas dendritas inter-digitalizadas formando una estructura en forma de red cableada¹²⁷. En la córnea central hay menos densidad y además suelen presentar menos dendritas lo que, posiblemente, sean indicadores de un fenotipo inmaduro. La densidad media de las células de Langerhans es de 34 ± 3 células por mm^2 y de 98 ± 8 células por mm^2 en la periferia⁴⁰. Las células inmaduras de Langerhans están equipadas para capturar antígenos, mientras que las células maduras son capaces de activar a las células T a través de moléculas complejas que generan la secreción de interleucina-12 y de moléculas co-estimuladoras. Por tanto, las células de Langerhans representan una parte integral del sistema inmune¹²⁷. Algunos autores¹²⁸ reportaron la aparición de estas células en un 93% de pacientes con inflamación corneal frente al 20% en pacientes con córneas normales. Es por ello que se considera la aparición de las células de Langerhans como indicador de un estado inmune agudizado de la córnea.

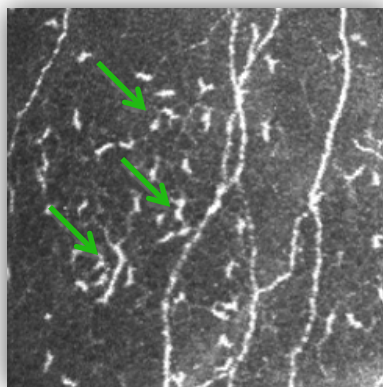


Figura 2.7. Sección transversal de la capa de plexo nervioso obtenida con el microscopio por María Nombela. Se pueden observar las células de Langerhans alrededor de los nervios (flechas).

2.3. MÉTODOS DE EVALUACIÓN

Como se ha puesto de manifiesto en el apartado anterior, la evaluación de la sensibilidad corneal así como el estudio de la morfología de la córnea son importantes para valorar la correcta funcionalidad de la córnea. El siguiente apartado pretende aportar información general sobre las técnicas disponibles para la medida de la sensibilidad corneal y la morfología de la córnea, así como profundizar en aquellas técnicas llevadas a cabo en este estudio.

En la actualidad, el único medio clínicamente eficaz para evaluar la función nerviosa es la medida de la sensibilidad corneal. El estudio de la sensibilidad corneal se realiza mediante el uso de un estesiómetro corneal, que puede ser de contacto (Cochet-Bonnet) o de no contacto (Belmonte). Tradicionalmente, el método más usado ha sido el estesiómetro de Cochet-Bonnet por su accesibilidad y facilidad de uso. Sin embargo, el uso del estesiómetro de gas desarrollado por Belmonte¹²⁹ se ha empezado a usar con regularidad los últimos años. Mientras que el primero es un instrumento habitual en la clínica, el segundo es más habitual encontrarlo en laboratorios de investigación.

Los métodos utilizados para evaluar la morfología corneal han sido tradicionalmente microscopía electrónica y de luz. Sin embargo, la más reciente introducción de la microscopía confocal in vivo ha demostrado ser especialmente útil para este propósito¹³⁰ debido a su naturaleza no invasiva. Los cambios en respuesta a factores como el envejecimiento, patologías, LC o cirugía han sido ampliamente estudiados ex vivo¹³¹⁻¹³⁵ e in vivo^{35,47,109,110,136} utilizando esta técnica.

2.3.1. Estesiómetro Corneal.

El estesiómetro Cochet-Bonnet (Figura 2.8) consta de un monofilamento de nylon de 0.12 mm de diámetro de longitud variable, de 0 a 60 mm, que aplica presión sobre la córnea entre 11 y 200 mg / 0.0113 mm. La medida comienza en la longitud máxima, aproximadamente 60 mm, que es la presión más baja. Cuando el filamento de nylon toca la córnea perpendicularmente, éste se curva (un 5% de su longitud libre) y nos da la medida objetiva del contacto. Si el paciente no siente el contacto del nylon a 60 mm, la longitud del filamento se reduce en 5 mm y se vuelve a analizar hasta que el paciente pueda sentir el nylon.



Figura 2.8. Estesiómetro corneal Cochet-Bonnet.

Fuente: <http://examenesdiagnosticos.com.co/posts/esthesiometro.jpg>

Aunque el estesiómetro Cochet-Bonnet es la prueba clínica estándar para la sensibilidad corneal, la respuesta positiva depende de la actitud y aprensión del sujeto. Por lo tanto, se deben tomar varias precauciones para garantizar que las medidas son fiables. Esto incluye la monitorización de la humedad, la temperatura y la iluminación de la sala con el fin de mantener condiciones análogas para cada medida, así como el montaje del instrumento en una lámpara de hendidura para que la aproximación al ojo esté cuidadosamente controlada. Además, se puede contrastar la fiabilidad de la prueba mediante fintas ocasionales.

2.3.2. Microscopía Confocal.

El origen de la microscopía confocal se remonta a 1957, cuando Minsky¹³⁷ patentó esta tecnología para estudiar redes neurales del tejido nervioso del cerebro en un sujeto vivo. Posteriormente, la teoría óptica del microscopio confocal fue formalmente más desarrollada y extendida durante la década de los 80¹³⁸ y los 90^{139,140}. El principio básico de un microscopio confocal se basa en eliminar la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. Para conseguirlo, se ilumina un punto de la muestra. Parte de la luz procedente de la fuente de iluminación atraviesa un primer diafragma, se refleja en un espejo dicróico y queda enfocada en un punto de la muestra mediante la lente de un objetivo. La luz reflejada por dicho punto vuelve por el mismo camino óptico, pasa a través del espejo dicróico y se enfoca en un detector que está precedido por un segundo diafragma, que evita los haces procedentes de la zona fuera de foco (Figura 2.9).

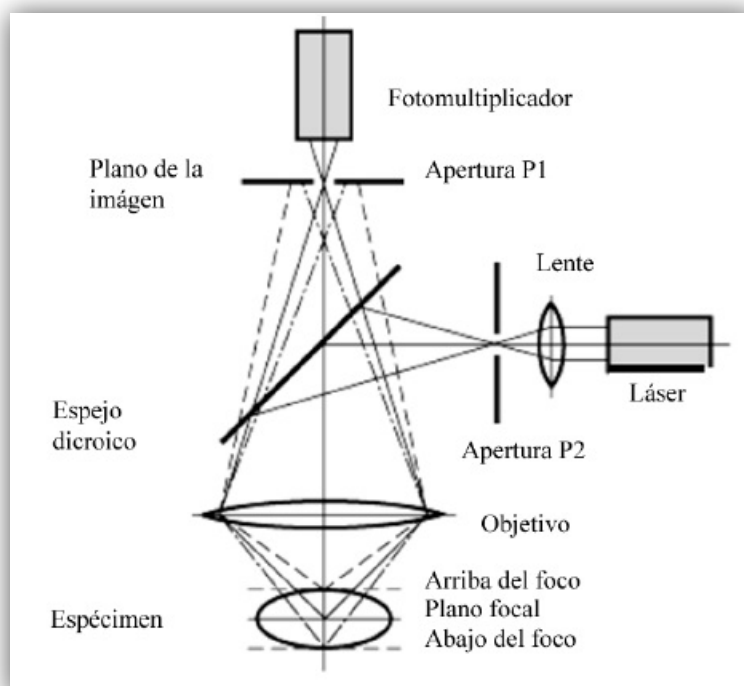


Figura 2.9. Esquema de funcionamiento de un microscopio confocal láser. Extraído de Baccallao y Stelzer, 1989.

El funcionamiento del microscopio confocal está basado en la perfecta alineación de los dos diafragmas (pinhole), situados uno entre la fuente de luz y el objetivo y el otro entre el objetivo y el detector (fotomultiplicador), para que el detector reciba sólo la luz procedente del plano focal¹⁴¹. El uso de un láser como fuente de luz permite focalizar la iluminación en una región muy pequeña de la muestra y con una gran intensidad. La imagen obtenida presenta una resolución muy alta pero prácticamente no tiene campo de visión debido a que existe un solo punto de iluminación y detección. Para poder visualizar la imagen se necesita un sistema de barrido que permita iluminar instantáneamente y sincrónicamente imágenes, es decir, que pueda escanear una pequeña región de tejido con miles de diminutos puntos de luz que se reconstruyen para crear un campo de visión útil con alta resolución y aumento¹⁴². El sistema de barrido puede ser de tipo *Beam Scanning* donde el haz del láser se desplaza por la muestra o *Stage Scanning* donde se desplaza la muestra mientras que el haz de luz permanece inmóvil¹⁴³. El más usado es el de primer tipo pues tiene mayor velocidad de barrido, y por tanto de formación de imagen. Además, como no es necesario que la muestra se mueva, es especialmente interesante para el estudio de células en vivo. Este tipo de microscopio confocal en el que el haz del láser barre la muestra también se conoce como Microscopía Confocal de Barrido Láser (LSCM en inglés).

En la actualidad existen tres tipos de microscopio confocal: el microscopio confocal láser de barrido, el microscopio confocal de disco giratorio y el microscopio de matriz programable (Programmable Array Microscope, PAM). Existen cuatro modelos de microscopios confocales para uso oftalmológico disponibles comercialmente: Confoscan P4 (Tomey Corporation, Cambridge, MA, EE.UU.), Confoscan 4 (Nidek Technologies, Gamagori, Japón), Microptal (Helmut Hund, Wetzlar, Alemania) y el dispositivo clínico más reciente es un microscopio confocal laser conocido como Heidelberg Retina Tomograph II, que se usa junto con el módulo corneal Rostock (HRT-II) (Heidelberg Engineering, GmbH, Alemania).

La principal ventaja de la microscopía confocal de barrido láser es la capacidad de producir en serie imágenes de capas delgadas de la córnea en tiempo real. La profundidad de foco mejoró notablemente cuando se cambiaron los sistemas que usaban ranuras (26 μm) por los que usan microscopía confocal láser (2 μm). Además, el tiempo de adquisición de imágenes con la microscopía confocal láser es muy rápido (0.024 segundos/imagen) lo que hace que esta técnica sea especialmente atractiva en la práctica clínica.

Dada su naturaleza no invasiva, el microscopio confocal ha sido ampliamente utilizado en la investigación de numerosas enfermedades corneales. Puede proporcionar una descripción morfológica cualitativa o puede usarse para cuantificar patologías tales como la forma y densidad de las células endoteliales y del nervio corneal o imágenes cinéticas tridimensionales de la córnea humana en vivo¹⁴⁴. Se ha demostrado ampliamente su utilidad en la detección precoz y el diagnóstico de varias afecciones, así como un medio para observar y monitorizar los efectos de dichas enfermedades^{100,144-149}. Especial progreso es el que se ha conseguido en el estudio en vivo del epitelio y del plexo nervioso sub-basal. Utilizando esta tecnología, ha sido posible evaluar estos cambios en las córneas de individuos sanos¹⁰⁹, usuarios de LC blandas^{47,136}, sujetos sometidos a cirugía corneal^{42,43}, pacientes con enfermedades sistémicas^{44,45} y pacientes que participaron en un tratamiento de OK^{35,36}.

En resumen, la microscopía confocal permite obtener de forma no invasiva imágenes en vivo de las diferentes capas corneales. Por lo que en general, y en particular para el presente estudio, resulta en una técnica potente en el análisis morfológico detallado de las estructuras corneales.

2.4. MÉTODOS DE COMPENSACIÓN ÓPTICA

En los apartados 2.1 y 2.2 se ha detallado el orden en el que están dispuestos los componentes morfológicos de la córnea. Sin embargo, esa perfecta distribución no siempre es suficiente para conseguir una visión ideal. Existe una alta variabilidad en los parámetros de cada uno de los elementos ópticos que contribuyen a la formación de la imagen, resultando en muchos casos que dicha imagen no se forme en la retina. Ese desenfoque en la retina es lo que causa la disminución de agudeza visual (AV) y nos hace susceptibles de necesitar ayudas para mejorar nuestra visión.

Para compensar la disminución de AV se suele recurrir inicialmente al uso de lentes oftálmicas y LC por ser soluciones eficaces. Sin embargo, aquellos usuarios que no quieren tener dependencia de la compensación óptica tienen otras dos opciones a su disposición: la cirugía refractiva y el tratamiento de OK nocturna. Por un lado, la cirugía refractiva corrige la miopía de forma definitiva mediante la ablación de la córnea. Sin embargo, es un proceso invasivo en un ojo sano con potenciales efectos secundarios como el ojo seco¹⁵⁰. En el caso de la OK la disminución de AV se compensa de forma reversible mediante la aplanación de la curvatura corneal¹⁵¹, reduciendo así su poder dióptrico, con lentes de contacto (LC) de uso nocturno (Figura 2.10). Por ser ésta la técnica utilizada en el presente estudio a continuación se compila información detallada referente a la misma para comprender las bases teóricas que han llevado a desarrollarla hasta el nivel en el que se encuentra actualmente.

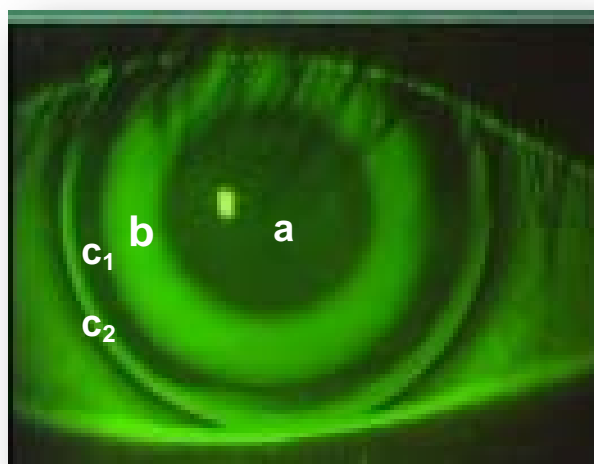


Figura 2.10. Fluorograma de una LC de OK, donde a) zona óptica de 4 mm, b) zona de retorno o reservorio lagrimal de unos 3-3.5 mm, c1) anillo de apoyo o de estabilización de la LC y c2) levantamiento de borde (estas 2 últimas constituyen la banda de alineamiento de unos 3-3.5 mm). Cortesía de A. Nieto.

2.4.1. Ortoqueratología Nocturna

La OK es un método para la reducción o eliminación temporal de los errores refractivos, que consiste en el empleo de LC rígidas permeables a los gases (RGP) para moldear la zona central de la superficie corneal. El uso de las LC para la terapia refractiva corneal (CRT), hasta 6D de miopía y 2 de astigmatismo, fue aprobado por la Food and Drug Administration (administración Americana encargada de proteger la salud pública) para su uso nocturno en Junio de 2002. Es un método predecible ya que la refracción corregida coincide con la que se pretende corregir, eficaz y seguro pues la mejor agudeza visual corregida tras la terapia es igual o superior a la mejor agudeza visual corregida antes de la terapia y estable siempre que se utilicen las LC regularmente en régimen nocturno¹⁵². Por ello y por constituir la única alternativa a la cirugía refractiva es un tema de gran interés actual.

2.4.1.1. Orígenes.

Su origen, aunque no confirmado, podría tener base en la antigua China, donde los miopes dormían con pequeñas piedras o sacos de arena sobre sus párpados para conseguir el aplanamiento deseado.

Sin embargo, según Villa y González-Meijomé¹⁵³ no fue hasta hace 300 años cuando se hizo la primera referencia a la modificación quirúrgica de la curvatura corneal. Por otro lado, Swabrick¹⁵⁴ realizó una revisión bibliográfica donde apuntaba al intento de hace más de un siglo de Eugene Kalt como origen de la OK. Este oftalmólogo intentó modificar la curvatura corneal en pacientes con queratocono usando lentes de ajuste plano que aplicaban presión contra el cono. Fue entonces cuando se empezó a considerar las LC para modificar el error refractivo.

En la década de 1960 se reportó el primer procedimiento de OK, cuando la técnica de ortofocus fue descrita por Jessen¹⁵⁵. Esta técnica utilizaba una lente de PMMA sin potencia, adaptada más plana que la curvatura corneal consiguiendo la reducción de la miopía gracias a la película lagrimal existente entre la córnea y la lente. La falta de permeabilidad de los materiales de las LC en aquella época hizo que la técnica cayera en desuso, ya que obligaba a trabajar con diámetros pequeños, lo cual ofrecía resultados pobres. Desde ese momento, pocos estudios controlados se realizaron en OK, aunque la técnica fue llevada a cabo por numerosos profesionales: May, Grant,

Neilson¹⁵⁶, Nolan¹⁵⁷, Ziff y Tabb¹⁵⁸ trataron de mejorarla introduciendo modificaciones en la lente que permitiera un mayor centrado y estabilidad de la misma. Estas lentes se utilizarían durante el día permitiendo periodos en los que sería posible prescindir de ellas, pero los resultados encontrados resultaban bastante variables e impredecibles y los cambios inducidos se producían de forma muy lenta sobre la córnea. Lo más interesante de todos estos estudios es que se había puesto de manifiesto el hecho de que adaptar lentes de contacto ligeramente más planas que la curvatura corneal inducía un aplanamiento de la córnea y una reducción de la miopía, siempre que se mantuviera un centrado correcto de las LC¹⁵⁷.

2.4.1.2. Primeros avances.

La primera gran investigación en OK fue llevada a cabo por Kerns¹⁵⁹⁻¹⁶¹, quién realizó una comparativa entre usuarios de OK, LC convencionales y gafas. Encontró una reducción modesta de la miopía en los grupos de OK (0.77 ± 0.91 D) y LC convencionales (0.23 ± 0.48 D) tras casi un año de uso de las lentes. A pesar de dicha reducción, el autor llegó a la conclusión de que el procedimiento era imprevisible e incontrolable debido al descentramiento e inestabilidad de la lente que producía astigmatismo inducido (0.42 D con la regla).

En 1980, Binder et al¹⁶² llegarían a una conclusión similar en su estudio de OK, ya que la reducción de la miopía producida por las LC era variable e impredecible. Asimismo concluyeron que los efectos refractivos y visuales producidos por la OK no eran permanentes y los valores pre-tratamiento se recuperaban rápido al cesar el uso de las LC.

Años más tarde, Brand et al¹⁶³ y Polse et al^{164,165} llevaron a cabo un riguroso estudio donde encontraron una reducción miópica más significativa en usuarios de lentes de OK (1.01 ± 0.87 D) que en usuarios de lentes convencionales (0.54 ± 0.58 D) tras 18 meses de uso. Además concluyeron que a pesar de que la OK tenía un efecto clínico limitado, el procedimiento era seguro. La etapa del nacimiento de la OK finaliza con el estudio de Coon¹⁵⁸ quien evaluó el método desarrollado por Tabb para adaptar LC ligeramente más planas que K (radio más plano de la córnea) mediante la manipulación del diámetro de zona óptica para conseguir un adelgazamiento corneal y una reducción miópica. Tras algo más de 18 meses de estudio, se encontraron reducciones por encima de las encontradas anteriormente en OK (1.30 ± 0.89 D).

Coon¹⁵⁸ concluyó que siguiendo esta filosofía de aplanar ligeramente sobre K, se mantenía un buen centrado, minimizando la inducción de astigmatismo corneal durante el tratamiento de OK. Sin embargo, teniendo en cuenta que el objetivo principal de la OK era una reducción permanente de la miopía y atendiendo a las conclusiones de los precursores, esta técnica cayó en desuso clínico y científico durante unos años.

2.4.1.3. Desarrollo.

Los inconvenientes encontrados hasta el momento fueron solventados con la aparición de las LC de geometría inversa. Aunque su diseño ya había sido anunciado por Jessen¹⁶⁶ en los 60 y Fontana¹⁶⁷ en los 70, su desarrollo no fue posible hasta finales de los 80.

Las LC de geometría inversa se idearon a partir de las investigaciones de Harris y Stoyan¹⁶⁸ y Wlodyga y Bryla¹⁶⁹, en la que se buscaron diseños de lentes que centrasen mejor sobre la córnea. El diseño de este tipo de lentes, comparado con el de las LC convencionales, se diferencia por el diseño de su cara interna, donde el radio más plano o central corresponde a la zona óptica que se encuentra rodeada de una zona intermedia, esférica o esférica, (dependiendo del efecto deseado) conocida como zona de reserva lagrimal y a continuación una curva periférica estándar. Este diseño mejora el centrado y la estabilidad de la lente sobre la córnea y se considera que conduce a resultados más predecibles y consistentes en la reducción de la miopía.

Paralelamente al diseño, los materiales de las LC fueron evolucionando. En un principio, el material que se usaba tradicionalmente era el PMMA. Dada su impermeabilidad al oxígeno, este material inducía hipoxia en la mayoría de los pacientes, incluso en aquellos que usaban las LC de OK en uso diurno. Holden y Mertz¹⁷⁰ descubrieron que el nivel límite de edema corneal que se produce normalmente durante las horas de sueño (4%) requiere el porte de una LC de, al menos, una transmisibilidad de 87 barrer/cm. El desarrollo de los materiales fluorados de última generación proporciona una transmisibilidad superior a dicho límite, por lo que se reduce al mínimo la hipoxia y el edema corneal con el uso de las LC durante la noche.

La aparición de las nuevas geometrías en las LC RGP junto al desarrollo de materiales de alta permeabilidad han alterado los procesos de OK hasta el punto que puede

decirse que se ha reinventado la técnica. Debido a que los cambios generados sobre la córnea se conseguían en un periodo de tiempo sustancialmente menor que con el diseño convencional la técnica pasó a conocerse como ortoqueratología acelerada.

2.4.1.4. Actualidad.

En la actualidad, la OK está siendo utilizada en todo el mundo para la corrección de miopías, hipermetropías y astigmatismos con diseños de lentes cada vez más adaptados a las necesidades del tratamiento: con una alta permeabilidad y en uso nocturno. Son muchos los estudios que han validado el uso de esta técnica de terapia refractiva corneal encontrando reducciones de hasta 3.33 dioptrías miópicas de media e incluso disminuciones individuales de hasta 5 D de miopía¹⁷¹.

El mecanismo ortoqueratológico, si bien se conocían sus efectos en la reducción de la miopía y en la mejora de la visión sin ayuda de compensación óptica, no ha sido esclarecido hasta años recientes, y todavía no se conoce todo su alcance a nivel celular y bioquímico. Habitualmente, los métodos terapéuticos comienzan con el conocimiento de los factores biológicos implicados para, posteriormente, ser aplicados y conseguir un determinado efecto. En el caso de la ortoqueratología, al igual que en la cirugía refractiva¹⁷², ha sucedido al contrario. Esto es, primero se han constatado los resultados de eficacia, predictibilidad y seguridad de la técnica mediante la valoración de los efectos adversos durante el tratamiento y el estudio de la reversibilidad de los cambios refractivos y topográficos. Posteriormente, a medida que la tecnología ha ido aportando nuevas herramientas se han introducido estudios sobre los efectos del tratamiento a nivel morfológico que analizan los mecanismos histológicos que justifican tales cambios.

En 1997, Mountford¹⁷³ reportó los cambios inducidos por la OK en el poder dióptrico apical y su correlación con los cambios en el error refractivo. En la misma línea, Swarbrick et al¹⁷⁴ descubrieron que la respuesta de la córnea a la presión mecánica ejercida por las lentes de contacto de OK se ponía de manifiesto al evaluar los cambios topográficos y paquimétricos. Descubrieron que, además del ya conocido cambio en la curvatura anterior, se producía un adelgazamiento en el centro del epitelio y a su vez un engrosamiento de la periferia del mismo. Sugiriendo así que la respuesta inicial de la córnea en el tratamiento de OK podía explicarse por esta

redistribución del tejido corneal. El inconveniente del estudio es que no evaluaba los cambios a largo plazo.

Años más tarde, fueron Matsubara et al¹⁷⁵ quienes llevaron a cabo un estudio sobre los cambios histológicos e histoquímicos surgidos tras la inserción de una LC de OK en ojos de conejos. En el estudio concluyeron que el espesor del epitelio corneal mostraba una variación topográfica a consecuencia del efecto de la OK, pero el resultado de los estudios histoquímicos sugiere que no hubo marcadas alteraciones en la función epitelial.

En 2008, Choo et al¹⁷⁶ realizaron un estudio sobre la secuencia de cambios morfológicos en el epitelio de gato después de 4, 8 y 14 días de ortoqueratología continuada. El tejido corneal se evaluó histológicamente tras sacrificar a los animales y se descubrió un adelgazamiento central junto a un engrosamiento periférico en los ojos miopes, y un patrón contrario se puso de manifiesto en los ojos hipermétropes. Este descubrimiento hizo razonable asumir que el epitelio parece desempeñar un papel determinante en los cambios inducidos por las lentes de OK.

Aunque los efectos de la OK en la topografía corneal, la agudeza visual, sensibilidad al contraste, calidad óptica del ojo y propiedades biomecánicas se han investigado ampliamente^{24,26-28,30,31,177}, sólo unos pocos estudios han examinado estos efectos en la morfología de la córnea humana. Al respecto, se han reportado cambios en la densidad celular y en el espesor del epitelio corneal, así como en el espesor del plexo nervioso que subyace bajo el epitelio^{33,35}. La irreversibilidad de los efectos producidos en el plexo nervioso dio lugar a un estudio más profundo del mismo^{36,48,49}. Sin embargo, aún no se conocen todos los efectos a nivel del plexo nervioso sub-basal.

Surge, por tanto, la necesidad de estudios prospectivos en los que estos efectos puedan ser controlados y cuantificados en largos períodos de tiempo en usuarios de LC de OK, así como su reversibilidad tras el cese de las LC. Del mismo modo, y puesto que se ha reportado una disminución de la sensibilidad corneal con el uso de las LC de OK⁴¹, se pretende estudiar la posible relación de dichos efectos con una alteración sensorial.

3. METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

La presente investigación consta de dos estudios diferentes. El Estudio 1, o principal, fue diseñado de forma prospectiva y longitudinal. El Estudio 2 consistió en un diseño retrospectivo y transversal. Ambos estudios fueron realizados en un único centro y fueron aprobados por el Comité Ético del Hospital Carlos III (Madrid, España) (Anexo 1). Asimismo, siguió los principios de la Declaración de Helsinki (<http://ohsr.od.nih.gov/guidelines/helsinki.html>).

El Estudio 1 se diseñó para tener una duración de 13 meses, con el objetivo de evaluar los cambios generados por las lentes de OK a corto plazo (1 mes), a largo plazo (12 meses) y su recuperación (1 mes tras la retirada de LC).

El Estudio 2 se diseñó para verificar si los posibles cambios inducidos por el tratamiento de OK aumentaban, disminuían o se mantenían estables con más tiempo de uso de las LC (3 años). Para ello, se compararon las medidas de la visita de 1 año de los sujetos de OK de la fase principal con un grupo de sujetos que llevaban más de 3 años con dicho tratamiento.

Antes de comenzar la investigación, se realizó una sesión informativa donde se comunicó verbalmente a los participantes los objetivos de la misma y los posibles riesgos que conlleva el uso de lentes de OK. Asimismo se preseleccionaron a los sujetos del Estudio 1 según los criterios de inclusión detallados más adelante. A lo largo del Estudio 1 se llevaron a cabo dos tipos de visita, las habituales para el seguimiento del comportamiento de las LC (1 noche, 15 días y 6 meses), y otras 4 visitas para el seguimiento del propio estudio (antes de comenzar el tratamiento, al mes y al año del comienzo del tratamiento y tras 1 mes de la retirada de las lentes).

Los sujetos fueron voluntarios y contactaron con el grupo de investigación mediante la web de acceso libre <http://ucm.es/accion-social> (Anexo 2).

Además, se contactó a los participantes del Estudio 2 mediante correo electrónico, dado que habían sido participantes de un estudio realizado por el mismo grupo de investigación^{33,35}. A estos sujetos se les informó del objetivo de este segundo estudio y se realizó una sola visita, haciéndola coincidir con la revisión para el seguimiento habitual de las LC cada 6 meses. Esta visita siguió el mismo protocolo de actuación que en el Estudio 1. Asimismo, los participantes del Estudio 2 cumplieron los mismos

criterios de inclusión que los del Estudio 1 antes de iniciar el tratamiento de OK, es decir 3 años antes.

3.1.1. Criterios de inclusión.

1. Sujetos entre 18 y 30 años sin distinción de sexo.
2. Rangos dióptricos para la potencia esférica entre -0.50D y -5.00D y para la potencia cilíndrica entre -0.25D y -1.25D. La estimación del estado refractivo fue llevada a cabo con el foróptero al comienzo del estudio.
3. Agudeza visual (AV) compensada de al menos 0.04 logMAR en cada ojo.
4. Usuarios de LC hidrofílicas que previamente se comprometieron a dejar de usarlas al menos durante las 4 semanas previas al comienzo del estudio.
5. Capacidad para acudir a consulta en las fechas acordadas para el seguimiento del estudio.

3.1.2. Criterios de exclusión.

1. Enfermedades sistémicas u oculares.
2. Usuarios de lentes de contacto semirrígidas.
3. Embarazadas o aquellas mujeres con intención de quedarse embarazadas a lo largo del estudio.
4. Evidencia de queratocono o irregularidad corneal.
5. Sujetos con historia de cirugía ocular.
6. Participantes de otros estudios clínicos.

3.1.3. Protocolo de actuación.

En la citada sesión informativa, y tras su inclusión en el estudio, los participantes fueron informados de que sus datos serían tratados para investigación médica y científica. Posteriormente se entregó a cada participante un documento destacando los

puntos más relevantes de dicha sesión y dieron su conformidad por escrito (Anexo 3a. y Anexo 3b).

3.1.4. Cálculo estadístico de la muestra.

Para obtener el tamaño de la muestra requerido para este estudio, se realizó una estimación poblacional en base a la densidad de nervios del plexo nervioso sub-basal⁴⁷ mediante el uso del programa estadístico Granmo 7.12 (<http://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/index.html>).

Considerando un 95% de nivel de confianza (α) y una potencia del 80% (β), y anticipando un 15% de abandonos, la muestra debía ser de 20 sujetos en el grupo de tratamiento y de 10 en el grupo control para detectar una diferencia estadísticamente significativa igual o mayor a $3366 \mu\text{m}/\text{mm}^2$ y un coeficiente de correlación entre las medidas inicial y final de 0,8.

3.1.5. Sujetos.

Estudio 1.

Un total de 161 sujetos fueron contactados por el grupo de investigación, firmaron el consentimiento informado y se sometieron a un examen preliminar para establecer su inclusión en el estudio. De éstos, 41 abandonaron por razones personales y 35 no cumplían los criterios de inclusión. Los 85 sujetos restantes fueron aleatoriamente incluidos en 3 grupos diferentes.

- Grupo control: 20 sujetos usuarios de gafas, que nunca habían llevado LC RGP.
- Grupo CRT: 40 sujetos que fueron adaptados con lentes de OK Paragon CRT[®] (Paragon Vision Sciences, Interlenco, Madrid, España).
- Grupo SF: 25 sujetos que fueron adaptados con lentes de OK Seefree[®] (Conóptica, Barcelona, España).

De estos 85 sujetos, 14 abandonaron el Estudio 1: 3 del grupo CRT y 2 del grupo SF debido a una mejora insuficiente de la AV y 2 de CRT y 1 de SF por la aparición de una queratitis superficial de grado 2 según la escala Efron. Además 1 componente del grupo SF y 5 del grupo control no pudieron atender a las visitas de seguimiento. Por lo

tanto, la muestra final de población para el Estudio 1 fue de 71 sujetos: 35 en el grupo CRT (46% hombres y 54% mujeres) con una media de edad de $(23,9 \pm 3,7)$ años, 21 en el grupo SF (42% hombres y 58% mujeres) con una media de edad de $(25,8 \pm 4,1)$ años y 15 en el grupo control (60% hombres y 40% mujeres) con una media de edad de $(25,6 \pm 3,3)$ años.

La mayoría de los sujetos atendieron a todas las visitas programadas. No obstante, en algunos casos no se pudieron obtener imágenes nítidas con el microscopio confocal, lo que supuso pérdidas en el número de sujetos evaluados, particularmente en la visita de un año. Sin embargo, estas pérdidas fueron recuperadas en la visita realizada al mes de la retirada de las lentes de OK.

Estudio 2.

En la visita de 1 año, paralelamente al grupo de tratamiento, se contactó a otro grupo de 20 usuarios de OK (55% mujeres y 45% hombres) que habían sido participantes de un estudio realizado por el mismo grupo de investigación^{33,35}. Estos sujetos habían estado usando lentes de OK durante al menos 3 años y fueron seleccionados bajo los mismos criterios de inclusión que en el presente estudio, por lo que los participantes de ambos estudios estaban emparejados en refracción y queratometría al comienzo del estudio. En este caso la media de edad fue de $(28,3 \pm 3,1)$ años. Se debe tener en cuenta que al comienzo del Estudio 2 los participantes eran 3 años más jóvenes, por lo que también estaban emparejados respecto a la edad con los participantes de la fase principal de la presente investigación.

3.2. MATERIALES

El estudio siguió un protocolo controlado. La adaptación de las LC, así como las pruebas para el seguimiento del comportamiento de las mismas (preliminar, 1 noche, 15 días, 6 meses y 12 meses) se llevaron a cabo en la clínica de la Facultad de Óptica y Optometría de la Universidad Complutense de Madrid. Las medidas para el seguimiento del propio estudio (antes de comenzar el tratamiento, al mes y al año del comienzo del tratamiento y tras 1 mes de la retirada de las lentes) fueron realizadas en la clínica oftalmológica Vissum de Madrid. La tabla 3.1. muestra los exámenes llevados a cabo en cada una de las visitas realizadas.

Tabla 3.1. Exámenes realizados por visita.

Análisis	Preliminar	1 día	15 días	1 mes	6 meses	1 año	13 meses	3 años
Topografía	X	X	X	X	X	X	X	X
AV	X	X	X	X	X	X	X	X
Refracción	X	X	X		X			
Biomicroscopía	X	X	X	X	X	X	X	X
Estesiometría	X			X		X	X	X
Confocal	X			X		X	X	X

Todas las pruebas se realizaron siguiendo las recomendaciones de los fabricantes de los instrumentos o de acuerdo a lo descrito en la bibliografía. Los exámenes preliminares fueron llevados a cabo por el mismo profesional para cada paciente y en el mismo orden: topografía corneal mediante el uso del topógrafo Atlas 9000 (Carl Zeiss, Jena, Alemania), AV LogMAR haciendo uso de las cartas EDTRS, refracción subjetiva y examen con lámpara de hendidura.

3.2.1. Adaptación de lentes.

Se utilizaron dos tipos de lentes de contacto de nueva generación de geometría inversa para el tratamiento de OKN:

- Diseño 1: Paragon CRT[®] (Figura 3.1a), cuya composición es HDS100 y tiene un diámetro de 10,5 mm (Paragon Vision Sciences, Interlenco, Madrid, España).
- Diseño 2: Seefree[®] (Figura 3.1b), cuya composición es Boston XO₂ y tiene un diámetro de 10,8 mm (Conóptica, Barcelona, España).

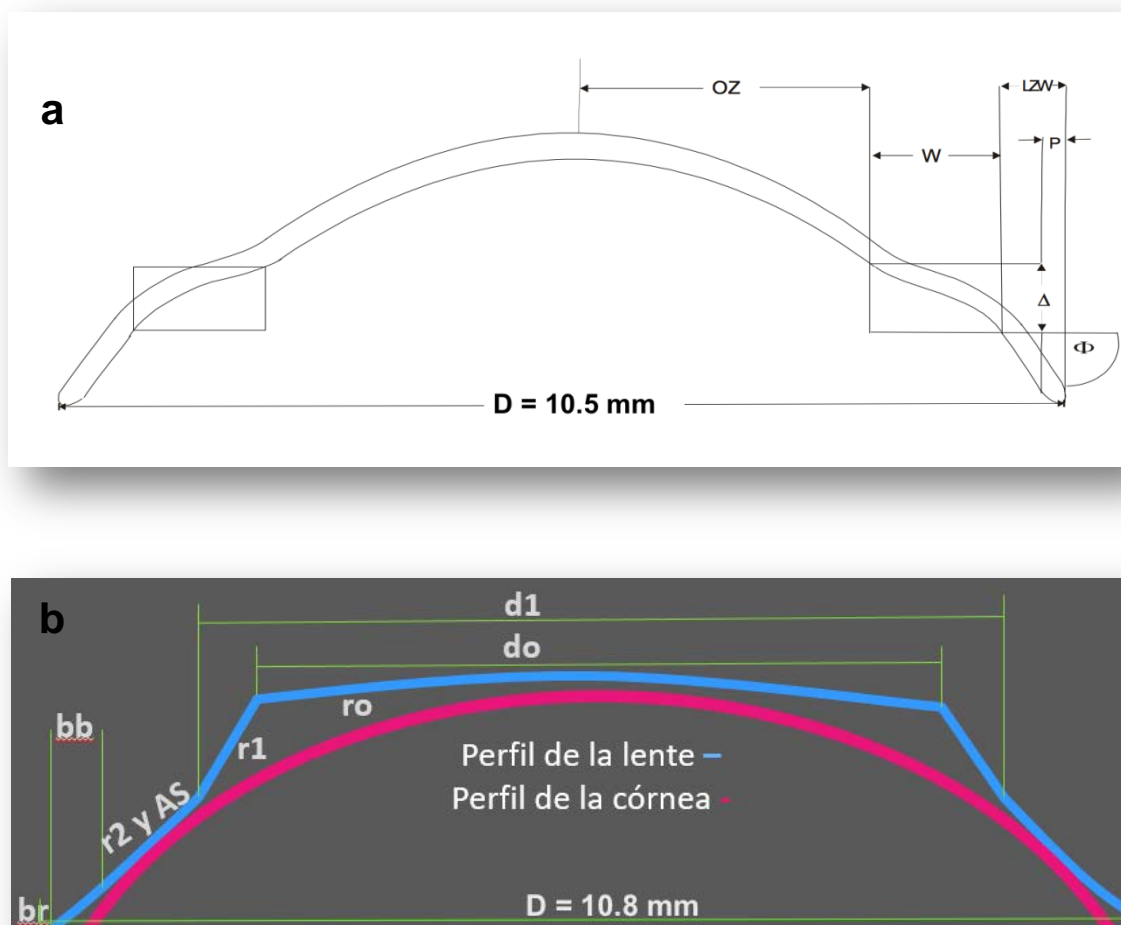


Figura 3.1. Diseño geométrico de las lentes de OK utilizadas en el estudio, donde a) Paragon CRT (fuente: <https://www.artoptical.com/storage/docs/ParagonCRTFittingGuide04-04.pdf>) y b) Seefree (cortesía de Conóptica).

La adaptación de las lentes (Anexo 4 y Anexo 5) fue llevada a cabo por dos contactólogos (MN y GF) de acuerdo a las especificaciones del proveedor. En el caso del Diseño 1, las especificaciones de las lentes fueron determinadas por la regla de cálculo provista por el proveedor de las lentes CRT (Figura 3.2a). Para el Diseño 2, las especificaciones de las lentes fueron calculadas con el módulo de cálculo informático (Figura 3.2b) del topógrafo Oculus Easygraph (Oculus Optikgeraete GMBH, Oculus, Conóptica, Barcelona, España).

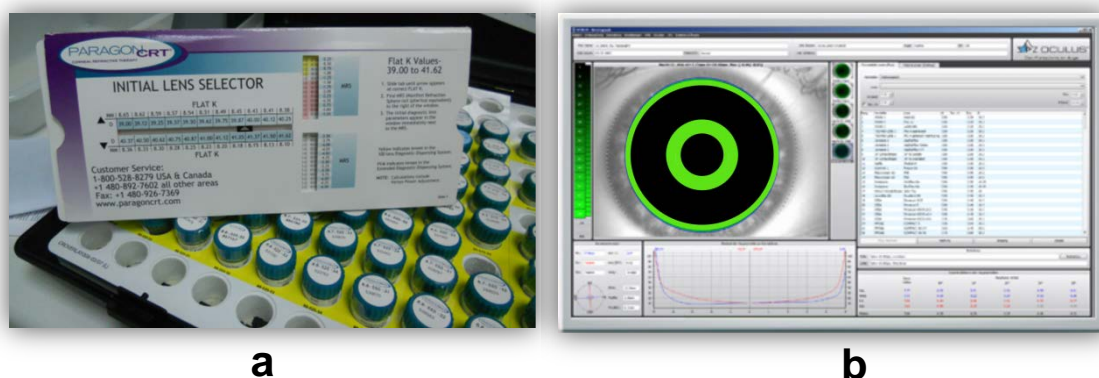


Figura 3.2. a) Regla de cálculo para las lentes CRT® y b) módulo informático de cálculo para las lentes Seefree®.

Los usuarios de las lentes de OK fueron instruidos en dormir un mínimo de 8h cada noche. Tras la primera noche de uso, se realizaron una serie de exámenes preliminares: AV, refracción y lámpara de hendidura, así como una topografía (Figura 3.3) para verificar los cambios topográficos y comprobar si el mapa diferencial correspondía con un patrón topográfico en forma de ojo de buey centrado. A los 15 días de tratamiento se procedió de igual modo para comprobar que la adaptación fuese óptima y así proceder al alta de la adaptación de las LC.



Figura 3.3. Realización de topografías con el topógrafo Atlas9000.

Además de las visitas planeadas, se realizaron evaluaciones individualizadas a aquellos participantes que así lo demandaron debido a cualquier signo o síntoma asociado a una posible complicación contactológica. El examen de la salud ocular fue realizado con lámpara de hendidura e incluyó la evaluación de la córnea, la conjuntiva y los anejos oculares para descartar cualquier anomalía que pudiera influir en los

resultados o contraindicar el tratamiento de OK, como por ejemplo blefaritis, conjuntivitis o disfunción de las glándulas de Meibomio. Para valorar la preservación de la superficie corneal anterior se realizó tinción con fluoresceína en todas las visitas de seguimiento.

Para el correcto uso y limpieza de las lentes, se proporcionaron instrucciones de forma verbal y escrita. Antes de insertar las lentes por la noche los participantes debían poner una gota de lágrima artificial Moisture Drops® (Avizor, Madrid, España) dentro de la lente de contacto. Del mismo modo, debían poner otra gota de lágrima artificial antes de retirarse las lentes cada mañana. Todos los participantes usaron el mismo tipo de lágrima artificial durante el estudio. Para la limpieza de las lentes, todos los participantes usaron diariamente solución multiuso MeniCare Plus® (Menicon Co., Ltd, Nagoya, Japón) todo en 1 y de forma quincenal realizaron una limpieza más profunda para eliminar proteínas con Menicon Progent® (Menicon Co., Ltd, Nagoya, Japón).

3.3. PROCEDIMIENTO INSTRUMENTAL.

Los sujetos fueron examinados en 4 visitas separadas, antes de comenzar el tratamiento, al mes y al año de comenzar el tratamiento y 1 mes después de acabar el primer año de tratamiento. En cada visita, además de los exámenes preliminares (AV y examen con lámpara de hendidura), un clínico experimentado llevó a cabo dos exámenes entre 2 y 4 horas después de la retirada de lentes: la sensibilidad corneal mediante el uso de un estesiómetro Cochet-Bonnet (Lunneau, París, Francia) y la morfología del plexo nervioso sub-basal con el uso conjunto del microscopio confocal láser Heidelberg Retina Tomograph II (HRT, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Alemania) y del módulo corneal Rostock (RCM).

3.3.1. Estesiómetro corneal.

El estesiómetro Cochet-Bonnet consiste en un monofilamento de nylon de 0,12 mm de diámetro con longitud variable (0-60 mm), que aplica una presión variable en la córnea entre 11 y 200 mg/0.0113 mm². Para la normalización de la presión aplicada se tomó como criterio el primer sesgo del filamento.

3.3.1.1. Montaje Instrumental.

Se tomaron 4 medidas de la sensibilidad, 2 en ápex corneal y otras 2 a 3 mm en zona temporal al ápex. El estesiómetro se montó sobre una lámpara de hendidura, como se ha descrito previamente¹⁷⁸ (Figura 3.4), para refinar la precisión del test. Para obtener la medida central, se les pidió a los participantes mirar fijamente un punto alineado con sus ejes visuales situado en el biomicroscopio. Para la medida medio-periférica los sujetos debían mirar fijamente un punto a 30 cm de sus ojos, con un ángulo de rotación de 0,6° nasal.



Figura 3.4. Montaje experimental del estesiómetro corneal sobre lámpara de hendidura. Donde M montaje, E estesiómetro y F filamento. Imágenes obtenidas por María Nombela.

3.3.2. Microscopio confocal in vivo.

El microscopio confocal utilizado para la evaluación morfológica del epitelio corneal fue el láser Heidelberg Retina Tomograph II (HRT, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Alemania) en conjunción con el módulo corneal Rostock (RCM), como se mencionó previamente.

El módulo RCM utiliza una radiación monocromática láser ($\lambda=670\text{nm}$) que evita las aberraciones cromáticas y proporciona imágenes extremadamente nítidas. Este módulo consta de una lente de alta potencia que proporciona un foco de láser inferior a 1 mm de diámetro. Esta lente, combinada con un mecanismo para el desplazamiento antero-posterior del foco (z-scan) permite cambiar el plano confocal dentro de la córnea y tomar imágenes a diferentes profundidades, sin perder nitidez.

Tras ensamblar el módulo sobre el microscopio, se colocó encima de éste un capuchón (TomoCap) de PMMA estéril, que proporcionó un área de contacto higiénica y mantuvo constante la distancia entre el microscopio y la córnea, aplanándola ligeramente.

El mantenimiento de la interfase óptica y la preservación de la córnea del sujeto se consigue mediante la aplicación de un carbómero en gel líquido, con una concentración de 2mg/g (Viscotears[®], Novartis Farmacéutica, Barcelona, España), en las dos caras del capuchón. Se introdujeron los datos del paciente en el sistema y se enfocó sobre la superficie del Tomocap. En los casos en los que fue necesario, se situó en cero la posición de paquimetría. Antes de realizar el examen, se explicó detalladamente a cada sujeto el procedimiento que se iba a llevar a cabo. Al ser una prueba de contacto, la colaboración del paciente es muy importante, por lo que para la realización de la misma se instiló una gota de anestésico tópico, cuyos principios activos comprendían tetracaína y nafazolina al 0,50% (Colircusi[®], Alcon Cusi, Barcelona, España), en el fórnix inferior del ojo del sujeto. Se instruyó al paciente como situarse en la mentonera y el punto de fijación que debían mantener (Figura 3.5).



Figura 3.5. Microscopio confocal láser HRT II. Detalle de la posición del paciente y del software donde se muestra la capa analizada (PNSB) y una vista lateral de córnea.

En el examen con el microscopio confocal in vivo se obtuvieron 4 videos por cada sujeto, los dos primeros de córnea central (ápex corneal) y los otros 2 de córnea medio periférica (6.20° rotación supero-nasal). Cada video incluía una secuencia de imágenes que abarcaba desde el epitelio superficial hasta el estroma anterior.

3.3.2.1. Adquisición de las imágenes.

El examen de microscopía confocal laser in vivo se realizó en el ojo derecho (OD) de cada participante mediante el uso del módulo corneal RCM. El montaje del instrumento se realizó siguiendo la técnica estándar^{37,109,179}, que ha sido explicada con anterioridad. Se instaló una cámara de video externa, que permitió controlar la fijación del paciente, el centrado y la presión que se ejerce sobre la córnea. De esta manera, el microscopio hace contacto sobre ella justamente en el eje óptico (controlando los reflejos del láser sobre la córnea) para, de esta manera, poder tomar imágenes en planos paralelos a la superficie corneal. Las imágenes tomadas fuera del eje óptico producen cortes sagitales a través de las diferentes capas corneales (Figura 3.6). Se tuvo cuidado también de no ejercer excesiva presión para evitar la formación de pliegues y mantener la integridad corneal, aunque es inevitable aplanarla ligeramente.

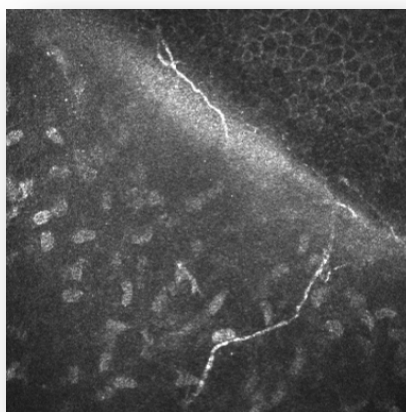


Figura 3.6. Sección transversal de las diferentes capas corneales evaluadas con microscopio confocal (estroma a la izquierda, plexo en el centro y epitelio en la esquina derecha). Imagen obtenida por María Nombela.

Durante el examen, se le pidió a cada sujeto que mirase fijamente a dos puntos diferentes, en dos disposiciones diferentes: en la primera, se evaluó la córnea central cuando fijaban un punto central en el instrumento. Para obtener la medida medio periférica, los participantes miraban a un punto localizado a 1 metro de distancia de sus ojos. En esta segunda configuración, la rotación del ojo fue de 6.20° supero-nasal y por consiguiente el centro de la sección corneal medida se encontraba a 2,4 mm inferior y 3,2 mm temporal al ápex corneal (Anexo 6).

En las visitas previa y posterior al tratamiento, todos los sujetos llevaron una LC (Proclear[®] 1 Day, Coopervision, Madrid, España) en el ojo contralateral (izquierdo) para permitirles enfocar adecuadamente el punto de fijación durante el examen, dado que en dichas revisiones presentaban toda su corrección refractiva, que no les permitía enfocar a 1 metro de distancia sin compensación óptica. En las visitas de un mes y un año los sujetos estaban emetropizados debido a la OK, por lo que el punto de fijación podía ser visto nítidamente sin necesidad de usar una LC en el ojo contralateral.

El RCM se configuró en “modo volumen”, también conocido como z-scan, para grabar un video de las diferentes capas de la córnea hasta una profundidad de 80 μm . Para que el test fuera válido, la dirección de mirada no podía cambiar durante el examen. Como se comentó anteriormente, el modo z-scan permite al operador identificar los cambios de mirada del sujeto, aumentando la fiabilidad de las medidas tomadas.

Cada examen llevó aproximadamente 6 segundos, lo que minimizó el número de videos descartados debido a los cambios de fijación. Los videos fueron transformados en una serie de 40 imágenes bidimensionales de 250x250 μm (Figura 3.7).

Los grupos de imágenes fueron codificadas numérica y aleatoriamente por una persona ajena al estudio, de forma que su posterior evaluación fuera enmascarada y no se viera influenciada por el investigador ni se produjera un sesgo en los resultados.

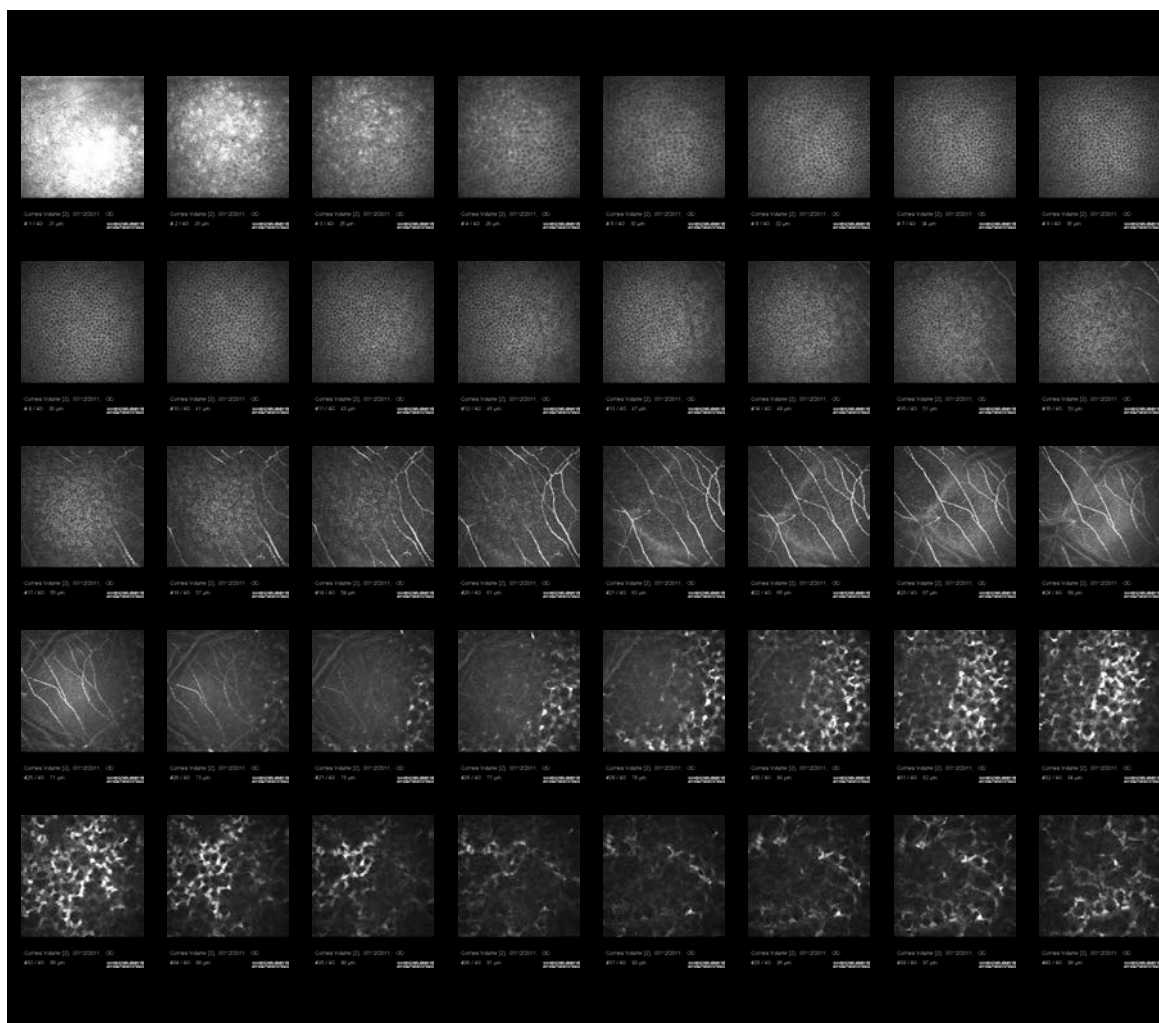


Figura 3.7. Grupo de imágenes perteneciente a las capas del epitelio, membrana de Bowman y estroma. Imágenes obtenidas con el microscopio confocal por María Nombela.

3.3.2.2. Análisis de las imágenes.

El análisis de las imágenes fue llevado a cabo por un único y experimentado profesional usando 3 tipos diferentes de software, además del propio software del microscopio:

- ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/> -U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, Estados Unidos)
- NeuronJ (<https://imagescience.org/meijering/software/neuronj/>) -University Medical Center, Róterdam, Países Bajos)
- Matlab (<https://es.mathworks.com/products/matlab.html> -MatLab; The Mathworks, Natick, Massachusetts, Estados Unidos).

Cada uno de estos 4 programas se usó para evaluar diferentes parámetros del epitelio corneal. El software del microscopio confocal se utilizó para analizar los espesores corneales. ImageJ se usó para calcular la densidad de células epiteliales y evaluar los cambios morfológicos en algunos de los parámetros del plexo nervioso, como la reflectividad global y local, anchura y orientación de los nervios y número de células de Langerhans. NeuronJ se usó para medir la reflectividad nerviosa, el número y longitud de los nervios y la densidad nerviosa y finalmente Matlab se destinó a calcular la tortuosidad nerviosa.

Tras el barrido continuo de la córnea con el microscopio confocal, el propio software aporta una gráfica bidimensional (Figura 3.8) donde se pueden observar las diferentes intensidades reflectivas (eje vertical) en función de la profundidad en la córnea (eje horizontal). De esta manera se pueden obtener los espesores de las diferentes estructuras corneales. La fiabilidad de esta técnica ha sido demostrada con anterioridad¹⁸⁰.

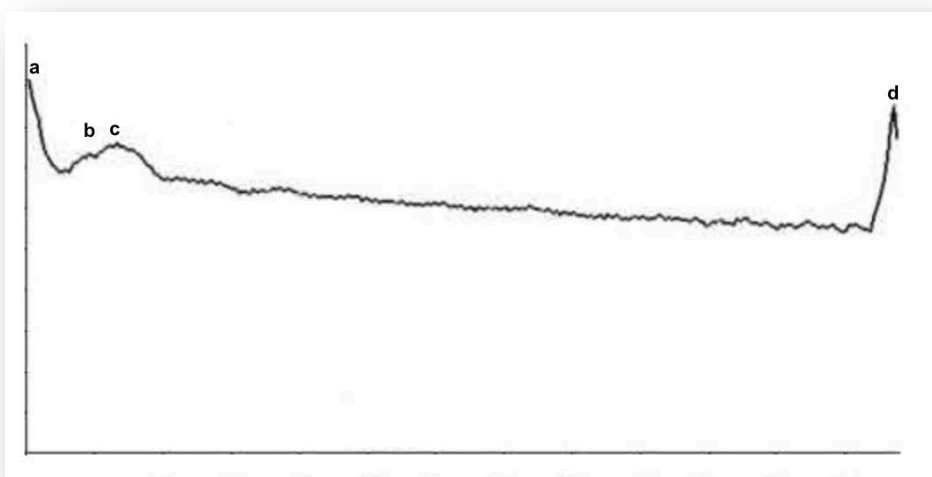


Figura 3.8. Perfil de intensidad luminosa de la córnea central. Los picos de intensidad representan a) epitelio superficial, b) plexo nervioso, c) estroma anterior y d) endotelio.

Los espesores fueron definidos como 1) epitelio corneal, distancia entre (a) y (b) y 2) PNSB-Bowman, distancia entre (b) y (c). Además, se realizó un reconocimiento visual de este segundo recorrido para diferenciar los espesores del plexo nervioso y de la membrana de Bowman, por separado. La división del PNSB se definió como la distancia entre (b) y la primera imagen donde no se observaba ninguna fibra nerviosa. Y desde esa imagen hasta (c) se consideró como el espesor de la membrana de Bowman. Esta distribución ha sido sugerida previamente^{35,181}.

La determinación de la densidad de las células epiteliales se realizó mediante el uso de ImageJ¹⁸¹, que es un programa del Instituto Nacional de Salud Americano basado en lenguaje Java. De cada evaluación llevada a cabo con el microscopio, se preseleccionaron 3 imágenes correspondientes a la capa de células superficiales, intermedias y basales, respectivamente. La imagen de células superficiales preseleccionada fue la primera imagen enfocada de estas células donde presentaban un tamaño mayor a 25 μm . El tamaño limitante fue elegido en base a investigaciones previas donde se ha determinado el tamaño medio de las células superficiales¹⁸². La imagen idónea para evaluar las células intermedias fue considerada como aquella situada 6 μm por detrás de la imagen considerada para evaluar las células superficiales, siempre que el tamaño fuera menor a 25 μm . La distancia de 6 μm fue escogida en base a la profundidad de foco del instrumento, que son 2 μm . Por lo que entre la imagen escogida de células superficiales e intermedias había una separación de 3 imágenes. Para la selección de la imagen de células basales se tomó como referencia el comienzo del plexo nervioso. Desde dicha imagen se eligió la tercera imagen contada en dirección al epitelio anterior, es decir, unas 6 μm de separación que permiten discriminar una imagen libre de nervios. A cada serie de 3 imágenes se le realizaron una serie de transformaciones con ImageJ, para obtener la densidad celular en cada una de las capas. Esta serie de transformaciones ha sido descrita previamente¹⁸² y consta de las siguientes fases que aparecen en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Fases para el recuento celular

Proceso	Función
Transformar imagen a 8 bit	Requisito para trabajar con las imágenes*
Homogeneizar	Ajusta el brillo para uniformar el campo
Umbral auto (70%)	Convierte en imagen binaria
Ruido	Elimina pequeños objetos
Analizar	Cuenta las células

*Las imágenes obtenidas con el HRT son por defecto en 8 bit por lo que este paso no fue necesario llevarlo a cabo.

La figura 3.9 muestra una imagen que ha sido procesada con ImageJ según las fases descritas en la tabla 3.2. El recuento de células del epitelio se obtiene de forma automática (en la imagen se observa un círculo rosa rodeando el número de células de dicha medida).

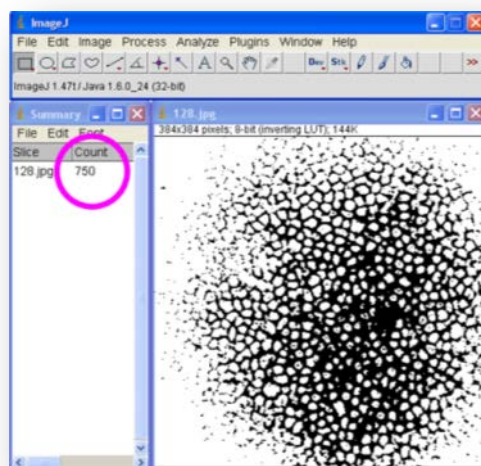


Figura 3.9. Recuento celular con ImageJ.

Las imágenes pertenecientes al PNSB fueron enlazadas en un video con ImageJ, mediante el uso de la función “concatenación”, para su análisis posterior. En primer lugar, se obtuvo la reflectividad total del plexo mediante el análisis del histograma de dichas imágenes. En segundo lugar, se utilizó la secuencia “live” del programa, que permite el desplazamiento por las diferentes imágenes concatenadas, para analizar el

histograma individual de cada una de las imágenes que componían el video del plexo nervioso. De esta forma, se midió la reflectividad local, que es aquella medida en cada una de las imágenes individuales. La imagen con mejor reflectividad fue seleccionada para evaluar los parámetros morfológicos del PNSB. Es necesario resaltar que el valor de reflectividad global y local con el programa ImageJ se genera en valores de gris, que es un número entre 0 y 255, donde 0 es el negro absoluto y 255 corresponde al blanco absoluto. Sin embargo, la reflectividad se mide en valores entre 0 y 1, donde 0 es negro y 1 blanco. Teniendo esta relación en cuenta, los datos obtenidos con ImageJ fueron post-procesados para obtener valores reales de reflectividad.

Además, utilizando ImageJ se obtuvieron las medidas de anchura y orientación de los nervios y la densidad de células de Langerhans, en la imagen mejor enfocada. Cada imagen evaluada representaba un área corneal de 62500 μm .

Para medir la anchura de los nervios se proporcionó un aumento de $M = 300\times$ a la imagen elegida. Se tomó una línea de calibración y se llevó a cabo la medida en 4 puntos equidistantes a lo largo del nervio para aumentar la fiabilidad de la misma. Este procedimiento ha sido llevado a cabo con anterioridad por otros autores¹³⁶. Para el cálculo de la orientación se eliminó el aumento de la imagen y se trazó otra línea de calibración entre los extremos del nervio. Al hacerlo, el sistema presenta un valor de ángulo con la horizontal (Figura 3.10a). Esta medida también fue realizada 4 veces por nervio para garantizar la fiabilidad de la medida. Sin embargo, para el tratamiento estadístico de los datos, se registraron los valores medios de cada variable.

Las células de Langerhans fueron contadas en cada imagen por un único observador experimentado de acuerdo al protocolo explicado con anterioridad para el recuento de células epiteliales (Figura 3.10b).

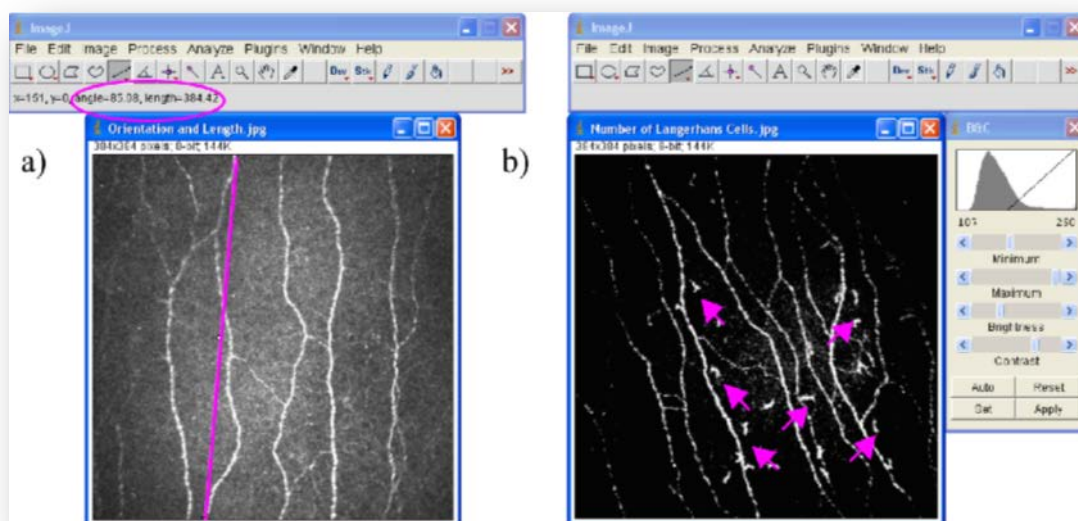


Figura 3.10. a) Medida de la orientación y b) de las células de Langerhans usando ImageJ.

La misma imagen en la que se realizó el análisis de los parámetros morfológicos del PNSB se evaluó con NeuronJ¹⁸³, que es una extensión creada para el software ImageJ. Su fiabilidad ha sido recientemente confirmada¹⁸⁴. Con esta extensión se determinó la reflectividad, el número y longitud de nervios así como la densidad nerviosa, en la imagen mejor enfocada de dicha estructura corneal. El programa tiene una acción de “añadir trazados” (Figura 3.11), que tras ser pulsado realiza una serie de operaciones de procesamiento de imágenes necesarias para el algoritmo de trazado.

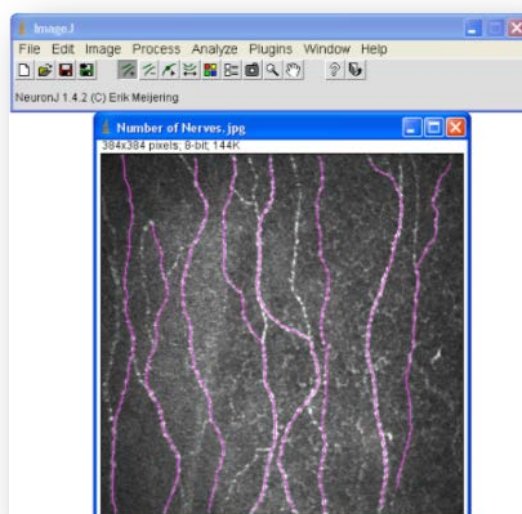


Figura 3.11. Trazado de nervios con el uso de NeuronJ.

El trazado se inicia al pulsar el botón izquierdo del ratón sobre la imagen y el propio programa calcula el recorrido del nervio hasta su fin, que concluye con la pulsación del tabulador del teclado. Para la colocación exacta del punto de partida, el programa lleva a cabo un avance informativo local. Esto significa que cuando se desplaza el ratón por encima de la imagen sin haberlo pulsado, el programa pre-calcula donde puede comenzar el nervio y lo indica mediante un cursor rojo. Este trazado se llevó a cabo en los nervios principales de la imagen, pero las bifurcaciones de los mismos no fueron incluidas en el recuento. Al finalizar el trazado de todos los nervios de la imagen, se seleccionó la acción “medida de trazados”. Se pueden llevar a cabo 3 tipos de medida: en grupo, por trazado y por puntos de control. Cada uno de ellos se presenta en un cuadro de diálogo diferente. Del trazado en grupo (Figura 3.12) se obtuvo el número de nervios, la longitud media y total de los mismos y el valor medio de la reflectividad nerviosa. Los valores de reflectividad medios, que son presentados por el programa en niveles de gris, fueron post-procesados igual que los valores de la reflectividad global y local.

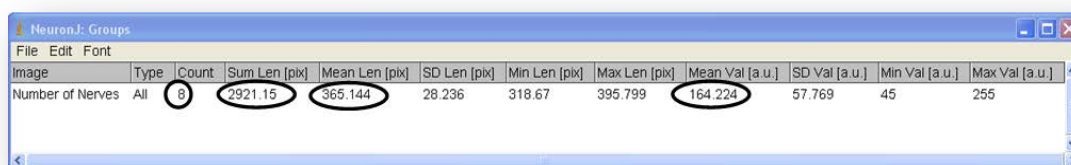


Image	Type	Count	Sum Len [pix]	Mean Len [pix]	SD Len [pix]	Min Len [pix]	Max Len [pix]	Mean Val [a.u.]	SD Val [a.u.]	Min Val [a.u.]	Max Val [a.u.]
Number of Nerves	All	8	2921.15	365.144	28.236	318.67	395.799	164.224	57.769	45	255

Figura 3.12. Trazado de nervios en grupo con NeuronJ.

En cada imagen los valores de longitud son dados en pixeles, por lo que fueron convertidos a micras (Ecuación 3.1).

$$L(\mu m) = L_n (pix) \times \frac{250^2 (\mu m)}{384^2 (pix)} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

El índice de densidad nerviosa fue definido como la longitud total expresado en micras por unidad de área medida en mm^2 (Ecuación 3.2).

$$\rho(L) \left(\frac{\mu m}{mm^2} \right) = Lt (\mu m) \times \frac{1}{0,0625 (mm^2)} \quad \text{Ecuación 3.2}$$

Donde L es la longitud calculada en micras (μm), L_n la longitud media de los nervios individuales medido en pixeles, L_t la longitud total en micras (que se obtiene cambiando L_n por el valor de la longitud total de los nervios en una imagen en la ecuación 3.1), n el número de nervios en dicha imagen y $\rho[L]$ el índice de densidad medido en micras por milímetro cuadrado ($\mu\text{m}/\text{mm}^2$).

Las coordenadas espaciales de cada uno de los nervios se obtuvieron del trazado por puntos de control (Figura 3.13).

Éstas coordenadas fueron grabadas en bases de Excel para ser post-procesadas posteriormente con Matlab, que es un software informático de programación.

Image	Tracing	Segment	Vertex	X [pix]	Y [pix]	Val [a.u.]
Number of Nerves	N1	1	64	172	63	184
Number of Nerves	N1	1	65	176	58	210
Number of Nerves	N1	1	66	178	53	212
Number of Nerves	N1	1	67	180	48	207
Number of Nerves	N1	1	68	181	43	235
Number of Nerves	N1	1	69	182	38	151
Number of Nerves	N1	1	70	181	33	199
Number of Nerves	N1	1	71	181	28	250
Number of Nerves	N1	1	72	181	23	95
Number of Nerves	N1	1	73	180	18	247
Number of Nerves	N1	1	74	180	13	177
Number of Nerves	N1	1	75	178	9	90
Number of Nerves	N2	1	1	14	382	110
Number of Nerves	N2	1	2	14	377	70
Number of Nerves	N2	1	3	12	372	95
Number of Nerves	N2	1	4	11	367	88
Number of Nerves	N2	1	5	11	362	90
Number of Nerves	N2	1	6	11	357	91
Number of Nerves	N2	1	7	11	352	83
Number of Nerves	N2	1	8	11	347	93
Number of Nerves	N2	1	9	11	342	143
Number of Nerves	N2	1	10	11	337	91
Number of Nerves	N2	1	11	12	332	122
Number of Nerves	N2	1	12	11	327	107

Figura 3.13. Trazado de nervios por puntos de control con NeuronJ. Los diferentes recuadros marcan la división de coordenadas entre un nervio y otro.

La medida de la tortuosidad fue programada con Matlab mediante una serie de cálculos descritos anteriormente¹⁴⁹ (Anexo 7). La figura 3.14. muestra las coordenadas de los nervios en una imagen y el valor de tortuosidad (rodeado con un círculo en la zona inferior izquierda). De forma paralela, las medidas de tortuosidad subjetiva fueron

obtenidas llevando a cabo el mismo procedimiento descrito por Oliveira-Soto y Efron¹³⁶, quienes al observar la imagen mejor enfocada del PNSB asignaban un determinado grado de tortuosidad a la misma.

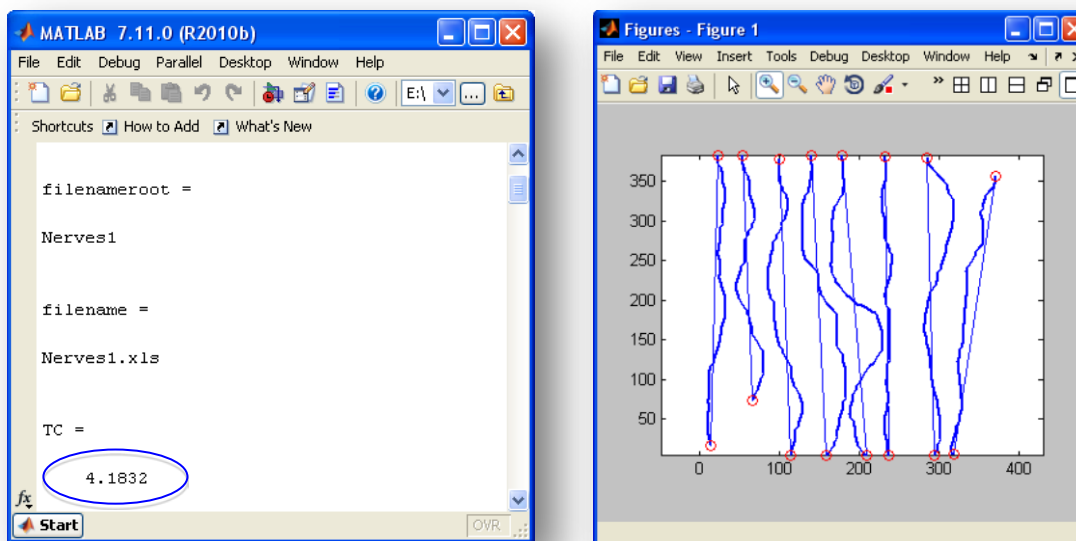


Figura 3.14. Cálculo de la tortuosidad objetiva mediante el uso de Matlab.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Como se comentó anteriormente, las medidas fueron realizadas en el OD de los sujetos. De esta forma, se pretendía disminuir la dependencia demostrada en las diferentes características entre los dos ojos de un mismo sujeto¹⁸⁵. Por tanto, el análisis estadístico se llevó a cabo en los datos concernientes a los OD de los sujetos. Los datos fueron grabados en Excel (2003, Microsoft) para su posterior análisis. Dicho análisis fue llevado a cabo mediante dos programas diferentes de tratamiento estadístico de datos, Statgraphics Centurion XVI versión 16.1.17 (Warrenton, Estados Unidos) y Sigmaplot versión 12 (Systat Software Inc, San José, Estados Unidos). Todas las variables mostraron una distribución Gaussiana de acuerdo al análisis de Kolmogorov-Smirnov, y todos los datos figuran como media \pm desviación estándar. El nivel de confianza se estableció en $p < 0,05$.

En los grupos del Estudio 1, se utilizó el análisis de varianza simple (ANOVA) para comprobar el emparejamiento entre las variables definidas en los criterios de inclusión

y también para comparar entre grupos el resto de las variables de estudio. Los cambios a lo largo del tiempo en cada grupo se estudiaron con el análisis de varianza de medidas repetidas unifactorial (ANOVA) con correcciones post-hoc de Bonferroni. Para aquellas variables que cambiaron significativamente a lo largo del tiempo, se compararon los dos subgrupos de tratamiento de OK con el análisis de varianza bifactorial (two way anova: grupo frente a tiempo) realizando un análisis post-hoc de muestras apareadas con corrección Bonferroni. Finalmente, en los análisis correspondientes al Estudio 2, donde se analizaron los efectos de la OK a más largo plazo, se compararon los resultados de las distintas variables entre los usuarios de 1 año (Estudio 1) y 3 años (Estudio 2) mediante el análisis de t-student para muestras independientes.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este capítulo está enfocado en la descripción y discusión detallada de los resultados obtenidos en el Estudio 1 y el Estudio 2, descritos en la sección de metodología. Dado que la presente investigación encierra un amplio abanico de parámetros evaluados, primeramente se expondrán los resultados del Estudio 1 por partes, a la vez que se irán discutiendo. Posteriormente y teniendo en cuenta que el Estudio 1 fue realizado con dos tipos de lentes de OK, se realizará una comparativa de las mismas y un cálculo de las posibles correlaciones entre parámetros. Concluye el capítulo con la exposición y discusión de los datos del Estudio 2 y su comparativa con los participantes del Estudio 1.

En la presente investigación se llevaron a cabo un total de 992 videos en la córnea de 87 sujetos con el microscopio confocal. De las 39680 imágenes obtenidas de dichos videos, se evaluaron un total de 20832 pertenecientes al epitelio corneal, al PNSB y la membrana de Bowman, para la recopilación de los datos que se expondrán a continuación.

4.1. ESTUDIO 1

4.1.1. Datos preliminares.

La muestra final de población fue de 71 sujetos, de los cuáles 35 constituyeron el grupo CRT, 21 el grupo SF y 15 el grupo control. Todos los sujetos tenían edades comprendidas entre 18 y 30 años y presentaron una distribución homogénea respecto al género ($p > 0.05$, prueba χ^2).

La tabla 4.1. muestra la distribución de las variables descriptivas, refractivas y topográficas para cada grupo antes de comenzar el tratamiento. En la tabla se observa que todas las variables estaban emparejadas ($p > 0.05$) según el análisis de varianza ANOVA simple.

Tabla 4.1. Datos descriptivos de variables refractivas y corneales en la medida preliminar y comparativa entre grupos del Estudio 1 por análisis de varianza.

Variable	p-valor	Grupo CRT	Grupo SF	Grupo Control
		(n=35)	(n=21)	(n=15)
		m ± DE		
Hombre/Mujer (n)	-	16/19	8/13	9/6
Edad (años)	0.53	23.90 ± 3.70	25.81 ± 4.14	25.60 ± 3.30
AV _{MC} (logMAR)	0.51	-0.06 ± 0.06	-0.12 ± 0.05	-0.08 ± 0.06
Ø corneal (mm)	0.39	12.40 ± 0.30	12.30 ± 0.30	12.40 ± 0.20
Esfera (D)	0.14	-2.10 ± 0.96	-2.11 ± 0.96	-2.89 ± 1.30
Cilindro (D)	0.17	-0.16 ± 0.26	-0.19 ± 0.28	-0.31 ± 0.41
Meridiano curvo (D)	0.56	43.27 ± 1.48	43.36 ± 1.32	43.03 ± 1.95
Meridiano plano (D)	0.43	44.02 ± 1.56	44.01 ± 1.43	43.63 ± 1.76

n número de sujetos por grupo, m media, DE desviación estándar, AV_{MC} Agudeza visual mejor compensada, Ø diámetro, mm milímetros y D dioptrías. p-valor corresponde con análisis de varianza simple.

En la tabla 4.2. se presentan los valores de AV obtenidos en las diferentes visitas de seguimiento. Se puede comprobar que la AV sin compensación medida durante el uso de las LC no cambió respecto a los valores basales en cada grupo. Asimismo, no se encontraron cambios tras retirar las LC en los grupos de tratamiento y tampoco se produjeron variaciones de esta variable en el grupo control a lo largo del tiempo. En esta misma línea, la progresión de los valores refractivos y topográficos durante el tratamiento de OK y tras la retirada de LC han sido estudiadas con anterioridad^{35,186,187}. Los cambios reportados incluían una disminución de la refracción hacia la emetropización de los sujetos y un aplanamiento de la potencia de los meridianos corneales en miopes, como también ha sucedido en este estudio. Además, la correlación entre el cambio en el meridiano más plano y la disminución del error refractivo ha sido establecida por varios grupos de investigación^{173,182,188}. Del mismo modo, también se ha comprobado que los cambios generados revierten tras el cese de las lentes^{41,182}. Dado el grado de establecimiento de dichos hallazgos, no es objeto de esta investigación evaluar dichos cambios. Sin embargo, para garantizar la calidad visual durante la OK se realizó la medida de la AV con la mejor compensación

(LogMAR) en todas las visitas de estudio. Lo interesante de la tabla 4.2. es que refleja la estabilidad de la AV a lo largo de todo el tratamiento, coincidiendo con otros estudios tal y como se comentó en capítulos anteriores. La evaluación de la fisiología ocular también fue llevada a cabo en todas las visitas y no se encontraron signos relevantes que pusiesen de manifiesto que la superficie corneal anterior estuviese comprometida durante el estudio.

Tabla 4.2. Cambio de la agudeza visual inducidos por ortoqueratología a lo largo del tiempo en el Estudio 1.

	p-valor	Preliminar	1 mes OK	1 año OK	Post-OK
MAVC		<i>m ± DE</i>			
LogMAR					
CRT	0.69	n = 35 -0.06 ± 0.06	n = 35 -0.08 ± 0.05	n = 31 -0.09 ± 0.05	n = 31 -0.07 ± 0.07
SF	0.86	n = 21 -0.12 ± 0.05	n = 21 -0.12 ± 0.04	n = 19 -0.14 ± 0.07	n = 19 -0.11 ± 0.06
Control	0.78	n = 15 -0.08 ± 0.06	n = 15 -0.09 ± 0.07	n = 15 -0.09 ± 0.06	-

n número de sujetos por visita, m media, DE desviación estándar, MAVC mejor agudeza visual compensada en visita preliminar y post-OK y sin compensación óptica en las visitas de 1 mes y 1 año. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas.

Un 75% de sujetos control no asistieron a la visita de 13 meses, por lo que la muestra se consideró insuficiente para realizar el análisis estadístico y por tanto los datos relativos a esta visita no han sido incluidos. Sin embargo, dado que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el periodo de un año para este grupo, se consideró poco probable que este dato pudiera afectar a las conclusiones del estudio.

Como muestra la tabla 4.2, la AV se mantuvo siempre en valores normales, los cuáles presentaron una alta concordancia con los reportados para usuarios de OK por Rah et al¹⁸⁹ tras un mes de tratamiento (0.02 ± 0.18), Hiraoka et al¹⁹⁰ después de un uso mínimo de las lentes de OK de 3 meses (-0.07 ± 0.10) y Nieto-Bona et al³⁵ tras 1 año de OK (-0.01 ± 0.07). A lo largo del estudio, no se encontraron cambios estadísticamente significativos cuando se compararon las medidas preliminares obtenidas con la mejor compensación y las medidas obtenidas a lo largo del tratamiento de OK sin compensación óptica. Esto, sumado al hecho de que un elevado porcentaje de sujetos continuó con el tratamiento tras la finalización del

estudio (89%), apuntan a que la OK mejora la calidad de vida de los sujetos miopes y su percepción sobre su dependencia visual, coincidiendo de esta forma con lo sugerido por Berntsen et al¹⁷¹ y Nieto-Bona¹⁸².

4.1.2. Sensibilidad corneal.

La tabla 4.3. muestra los valores de sensibilidad corneal medidos con el estesiómetro Cochet-Bonnet, que proporciona medidas en centímetros. Se han incluido los valores por grupo de tratamiento. Para analizar sus cambios a lo largo del tiempo se realizó el test de medidas repetidas 1-way ANOVA de análisis de varianza y para verificar entre qué visitas se produjeron diferencias significativas se realizó un post-hoc con corrección de Bonferroni.

Tabla 4.3. Comparativa de la sensibilidad corneal a lo largo del tiempo por grupo y localización de la córnea en el Estudio 1.

	p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
Sensibilidad corneal (cm)		m ± DE			
CRT		n = 35	n = 35	n = 31	n = 31
Central	<0.05	5.04 ± 0.72	-0.23 ± 0.66*	0.10 ± 0.90	0.30 ± 0.90 ^φ
Periférica	0.07	5.29 ± 0.67	-0.01 ± 0.08	-0.05 ± 0.96	0.38 ± 0.64
SF		n = 21	n = 21	n = 19	n = 19
Central	0.07	5.45 ± 0.50	-0.05 ± 0.67	-0.13 ± 0.58	0.39 ± 0.66 ^φ
Periférica	0.10	5.41 ± 0.51	-0.07 ± 0.33	-0.17 ± 0.59	0.32 ± 0.48
Control		n = 15	n = 15	n = 15	
Central	0.18	5.06 ± 0.35	0.06 ± 0.26	0.20 ± 0.30	-
Periférica	0.19	4.94 ± 0.42	-0.06 ± 0.18	-0.10 ± 0.11	

Δ diferencia respecto del valor basal, cm centímetros, m media, DE desviación estándar, n número de OD evaluados. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre 1 mes y basal para $p < 0.05$. (φ) diferencia entre 1 año y post-OK para $p < 0.05$.

Como se puede observar en la tabla, la sensibilidad corneal central disminuyó significativamente en el grupo CRT al mes del comienzo del tratamiento de OK ($p = 0.04$). Además se encontraron diferencias significativas entre las medidas post-tratamiento y preliminar en los dos grupos de tratamiento para córnea central ($p_{\text{CRT}}=0.04$, $p_{\text{SF}}=0.03$).

Los valores de sensibilidad corneal central medidos estaban dentro de los límites normales, aunque ligeramente por debajo de los reportados en pacientes de LC de hidrogel⁴⁶ y córneas sanas¹⁹¹. No se encontraron diferencias estadísticamente

significativas entre los grupos de tratamiento y control antes de comenzar el tratamiento. Sin embargo, se detectó una disminución significativa, aunque modesta, en la sensibilidad corneal central en el grupo de CRT al mes de tratamiento ($p=0.04$). Existe, por tanto, una discrepancia con el grupo SF al no encontrarse la misma disminución de la sensibilidad, aunque podría ser consecuencia del tamaño más pequeño de la muestra. Por otro lado, ninguno de los cambios producidos en córnea medio periférica fue significativo, lo que está en línea con los resultados reportados por Lum et al^{48,192}, quienes postularon que los cambios en la sensibilidad corneal en usuarios de LC de OK estarían limitados a la córnea central mientras que la sensibilidad corneal medio periférica no se vería afectada. Además, se ha propuesto que el cuadrante superior de la córnea en la zona medio periférica presenta una baja sensibilidad, posiblemente debido a una adaptación neuronal secundaria a la presión continua del párpado superior¹¹⁶. Durante el tratamiento de OK, la presión se ejerce sobre la córnea completa, por lo que la reducción de la sensibilidad corneal detectada al mes de tratamiento podría estar relacionada con una adaptación neuronal. Teniendo esto en cuenta y tras comprobar la estabilidad de los valores de sensibilidad corneal al año de tratamiento respecto a los valores preliminares, se propone que dicha adaptación podría tener lugar en un periodo de tiempo comprendido entre el mes y el año de tratamiento. En línea con esta idea, otros autores⁴⁸ han observado recientemente una recuperación de la sensibilidad corneal tras 3 meses sin tratamiento de OK, lo que estaría de acuerdo con el aumento significativo encontrado en la sensibilidad corneal central entre las visitas de un año de tratamiento y un mes tras la retirada de LC en ambos grupos de tratamiento ($p_{\text{CRT}}=0.04$, $p_{\text{SF}}=0.03$).

Aunque el estesiómetro Cochet-Bonnet se considera la prueba estándar para la medida objetiva de la sensibilidad corneal¹⁹¹, la actitud y aprensión del sujeto podrían generar cierto grado de desviación en la toma de medidas. De hecho, se deben tomar muchas precauciones para garantizar la fiabilidad de la medida. En este caso, se realizaron fintas ocasionales cuando se acercaba el monofilamento al sujeto para evitar falsos positivos. Por otro lado, los valores de sensibilidad corneal podrían haber sido óptimos usando el estesiómetro de no contacto, ya que se ha demostrado que es un instrumento más concluyente en la toma de esta medida¹⁹³. Sin embargo, no se pudo realizar con dicho instrumento por dificultades logísticas.

4.1.3. Espesores corneales.

Para configurar este apartado se midieron 3 estratos corneales diferentes: el epitelio celular, el plexo nervioso sub-basal y la membrana de Bowman. La variable nombrada epitelio celular hace referencia al espesor de las capas de las células del epitelio. Por otro lado, la variable epitelio corneal aúna el espesor del epitelio celular y del plexo nervioso. Adicionalmente se calculó una variable denominada Plexo+Bowman que engloba el espesor de ambos estratos. La tabla 4.4. muestra la progresión de los cambios producidos en todos los espesores citados [tabla 4.4a) estratos por sumatorio y tabla 4.4b) estratos únicos]. Los análisis que arrojaron valores p de ANOVA significativos fueron los referentes al plexo nervioso y la membrana de Bowman. Sin embargo, los valores p de ANOVA que comprendían el epitelio celular no fueron significativos, lo que podría encontrar explicación en las altas desviaciones estándar encontradas para éste parámetro. Por esta razón, la discusión de los espesores se realizará en porcentajes teniendo en cuenta los valores mostrados en la tabla de espesores.

Existe un adelgazamiento en el centro del espesor del epitelio corneal ($p=0.05$) y del epitelio celular ($p=0.04$) con el uso de lentes de OK a corto plazo en el grupo CRT, como puede observarse en las tablas 4.4a y 4.4b respectivamente. Además a corto plazo, se produjo un engrosamiento en la periferia del espesor del epitelio celular ($p_{\text{CRT}}=0.008$ y $p_{\text{SF}}=0.05$) y del epitelio corneal ($p_{\text{CRT}}=0.007$ y $p_{\text{SF}}=0.05$) en ambos grupos de tratamiento. Al año de tratamiento tanto el grupo CRT como el grupo SF seguían mostrando valores disminuidos de ambos parámetros en el centro ($p_{\text{CRT}}=0.03$ y $p_{\text{SF}}=0.01$) y valores aumentados en la periferia ($p_{\text{CRT}}=0.02$ y $p_{\text{SF}}=0.01$) del epitelio celular y en el centro ($p_{\text{CRT}}=0.05$ y $p_{\text{SF}}=0.02$) y periferia ($p_{\text{CRT}}=0.05$ y $p_{\text{SF}}=0.01$) del epitelio corneal. No obstante, al concluir el estudio se produjo una recuperación de los valores preliminares al tratamiento en el centro ($p_{\text{CRT}}=0.005$ y $p_{\text{SF}}=0.02$) y periferia ($p_{\text{CRT}}=0.02$ y $p_{\text{SF}}=0.03$) del epitelio celular y en el centro ($p_{\text{CRT}}=0.02$ y $p_{\text{SF}}=0.04$) y periferia ($p_{\text{CRT}}=0.01$ y $p_{\text{SF}}=0.03$) del epitelio corneal.

Acompañando a estos cambios, se produjo un aumento del espesor del plexo nervioso ($p=0.05$) y de la membrana de Bowman ($p=0.002$) en la periferia sólo en el grupo CRT al año de OK, como muestra la tabla 4.4b. Dichos cambios también revirtieron a valores preliminares al concluir el tratamiento ($p=0.04$ y $p=0.04$ respectivamente).

Por último, la tabla 4.4a pone de manifiesto un aumento de la variable denominada Plexo+Bowman en el grupo CRT en la periferia al año de tratamiento ($p=0.03$), que se recuperó tras la retirada de las lentes ($p=0.01$).

Tabla 4.4a. Comparativa de los espesores corneales a lo largo del tiempo por grupo y localización de la córnea (epitelio corneal, plexo nervioso+membrana de Bowman) en el Estudio 1.

Espesores (μm)		p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
Epitelio corneal			$m \pm DE$			
CRT	Central	0.38	n = 35 46.7 \pm 12.8	n = 35 -6.1 \pm 15.7*	n = 17 -7.5 \pm 14.5 [†]	n = 31 1.3 \pm 15.2 ^φ
	Periférica	0.27	47.5 \pm 9.5	9.0 \pm 12.6 [#]	7.4 \pm 12.9 [†]	2.5 \pm 11.3 ^φ
SF	Central	0.71	n = 21 47.5 \pm 8.9	n = 21 -4.76 \pm 12.9	n = 15 -5.2 \pm 11.9 [†]	n = 19 -0.2 \pm 8.5 ^φ
	Periférica	0.56	45.4 \pm 8.8	5.9 \pm 10.8*	7.3 \pm 15.7 [†]	2.0 \pm 14.6 ^φ
Control	Central	0.66	n = 15 42.4 \pm 8.6	n = 15 -2.3 \pm 11.3	n = 15 -2.1 \pm 12.5	-
	Periférica	-	-	-	-	-
Plexo+Bowman			$m \pm DE$			
CRT	Central	0.33	n = 35 18.4 \pm 3.5	n = 35 -0.6 \pm 5.9	n = 17 -2.3 \pm 6.5	n = 31 -0.5 \pm 5.1
	Periférica	0.09	20.6 \pm 5.1	1.5 \pm 6.2	5.9 \pm 7.5 [†]	-1.7 \pm 5.4 ^φ
SF	Central	0.45	n = 21 18.9 \pm 4.2	n = 21 -0.4 \pm 6.0	n = 15 -0.6 \pm 4.8	n = 19 -0.6 \pm 5.9
	Periférica	0.39	18.6 \pm 4.1	-0.5 \pm 5.9	2.4 \pm 3.7	1.2 \pm 4.2
Control	Central	0.64	n = 15 18.1 \pm 3.8	n = 15 -0.3 \pm 6.4	n = 15 -0.2 \pm 7.3	-
	Periférica	-	-	-	-	-

Δ diferencia respecto del valor preliminar, μm micras, m media, DE desviación estándar, n número de ojos derechos evaluados por visita. El signo negativo implica una disminución del parámetro con respecto al valor preliminar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes de OK y el valor preliminar para $p < 0.05$ (*) y $p < 0.01$ (#). Denota diferencia estadísticamente significativa entre 1 año de OK y el valor preliminar para $p < 0.05$ (†). Diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes post-OK y 1 año de OK para $p < 0.05$ (φ).

Tabla 4.4b. Comparativa de los espesores corneales a lo largo del tiempo por grupo y localización de la córnea (epitelio celular, plexo nervioso y membrana de Bowman) en el Estudio 1.

Espesores (μm)		p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
Epitelio Celular			$m \pm DE$			
CRT	Central	0.52	n = 35 38.2 \pm 8.9	n = 35 -5.4 \pm 13.0*	n = 17 -7.7 \pm 11.8 [†]	n = 31 0.7 \pm 12.7 ^λ
	Periférica	0.32	37.8 \pm 7.9	6.6 \pm 9.3 [#]	8.0 \pm 12.3 [†]	4.2 \pm 11.1 ^φ
SF	Central	0.64	n = 21 39.9 \pm 7.8	n = 21 -3.6 \pm 11.5	n = 15 -5.4 \pm 12.6 [†]	n = 19 -1.2 \pm 7.0 ^φ
	Periférica	0.60	36.8 \pm 6.9	4.8 \pm 11.4*	6.1 \pm 14.1 [†]	-1.7 \pm 10.3 ^φ
Control	Central	0.44	n = 15 33.6 \pm 7.7	n = 15 -1.4 \pm 10.1	n = 15 -3.0 \pm 11.6	-
	Periférica	-	-	-	-	-
Plexo			$m \pm DE$			
CRT	Central	0.84	n = 35 10.3 \pm 2.0	n = 35 -0.2 \pm 3.6	n = 17 -0.8 \pm 3.2	n = 31 -0.3 \pm 3.4
	Periférica	<0.05	12.1 \pm 4.4	2.5 \pm 5.3	3.2 \pm 6.2 [†]	-0.6 \pm 4.9 ^φ
SF	Central	0.33	n = 21 10.7 \pm 2.1	n = 21 -0.2 \pm 2.9	n = 15 -0.1 \pm 2.0	n = 19 0.8 \pm 4.2
	Periférica	0.72	10.8 \pm 1.7	-0.5 \pm 2.2	-0.5 \pm 2.6	0.1 \pm 2.9
Control	Central	0.29	n = 15 9.9 \pm 1.3	n = 15 0.4 \pm 1.1	n = 15 -2.0 \pm 3.1	-
	Periférica	-	-	-	-	-
Bowman			$m \pm DE$			
CRT	Central	0.45	n = 35 8.7 \pm 2.8	n = 35 -0.1 \pm 4.1	n = 17 -1.16 \pm 4.9	n = 31 -0.5 \pm 3.1
	Periférica	<0.05	9.6 \pm 2.4	-0.9 \pm 3.3	3.2 \pm 2.2 ^α	-2.2 \pm 3.3 ^φ
SF	Central	0.42	n = 21 8.8 \pm 1.9	n = 21 1.5 \pm 3.5	n = 15 -0.6 \pm 3.9	n = 19 0.3 \pm 3.3
	Periférica	0.53	8.7 \pm 2.9	0.6 \pm 3.5	1.0 \pm 3.4	1.0 \pm 2.5
Control	Central	0.65	n = 15 8.6 \pm 2.1	n = 15 0.2 \pm 2.9	n = 15 0.3 \pm 2.7	-
	Periférica	-	-	-	-	-

Δ diferencia respecto del valor preliminar, μm micras, m media, DE desviación estándar, n número de ojos derechos evaluados por visita. El signo negativo implica una disminución del parámetro con respecto al valor preliminar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes de OK y el valor preliminar para $p < 0.05$ (*) y $p < 0.01$ (#). Diferencia estadísticamente significativa entre 1 año de OK y el valor preliminar para $p < 0.05$ (†) y $p < 0.01$ (α). Diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes post-OK y 1 año de OK para $p < 0.05$ (φ) y $p < 0.01$ (λ).

El adelgazamiento del epitelio celular central fue del 14% al mes de comenzar el tratamiento y del 20% tras un año en el grupo CRT. El cambio se produjo con mayor impacto en la periferia, ya que el engrosamiento del epitelio celular fue del 17.5% al mes y del 21.1% al año de tratamiento. Este engrosamiento también se advirtió en el

grupo SF a partir del mes, pero solo en periferia (13%). Si tenemos en cuenta la proporción obtenida en el grupo CRT donde el número de pacientes fue mayor, esto podría explicar que el adelgazamiento del 9% del epitelio celular central observado en el grupo SF no fuera significativo. Al igual que en el grupo CRT, el epitelio celular se mantuvo adelgazado al año de tratamiento en córnea central (13.5%) y engrosado en córnea periférica (16.5%) en el grupo SF.

En el caso del epitelio corneal los porcentajes de cambio fueron similares a los del epitelio celular. En el grupo CRT se produjo un engrosamiento periférico del 13% al mes de comenzar el tratamiento que se mantuvo aumentado (15%) al año de tratamiento. Este cambio fue extensivo a córnea central al año de OK, donde se produjo un adelgazamiento del 16%. En el grupo SF el engrosamiento producido al mes de tratamiento fue del 12.9% en periferia. De nuevo, el porcentaje de cambio del 10% en el centro no fue suficiente para ser significativo. Además, tras un año de OK el valor en el grupo SF del espesor corneal central estaba disminuido (11%) y el del espesor corneal periférico estaba aumentado (16%).

No obstante, tanto los valores del epitelio celular como del epitelio corneal se recuperaron en ambas localizaciones tras un periodo de un mes sin usar las LC en los dos grupos de tratamiento. La reversión de los cambios producidos en el espesor del epitelio celular tras la retirada de lentes está en línea con los hallazgos reportados por Nieto-Bona et al³⁵.

El adelgazamiento del espesor epitelial central en conjunto con el engrosamiento periférico concuerda con los resultados aportados por la literatura^{151,176,186,194} en este área. Adicionalmente, los valores porcentuales reportados en esta investigación concuerdan con el 30% de adelgazamiento obtenido por Alharbi y Swarbrick¹⁵¹, el 12% encontrado por Haque et al¹⁹⁵ y los rangos reportados por Nieto-Bona et al de [13.5-25%] para un periodo corto de uso de las lentes de OK³³ y de [17-32%] para un periodo más prolongado de OK³⁵. Dada la variabilidad de respuestas porcentuales entre estudios y teniendo en cuenta que los sujetos de la presente investigación presentaron estados refractivos emparejados al comienzo del propio estudio, esto indicaría que cada córnea analizada responde de forma diferente al tratamiento de OK. Este concepto fue primeramente introducido por Lu et al¹⁹⁶ quienes postularon que la variabilidad de la respuesta del epitelio podría depender de la diferencia en la maleabilidad corneal de los individuos.

Por otro lado, los cambios en el plexo nervioso se manifestaron al año de tratamiento sólo en el grupo CRT en la periferia (26.4%), aunque primeramente se percibió una tendencia al engrosamiento de esta capa al mes de comenzar el estudio ($p=0.09$). Este engrosamiento ocurrió de igual forma en el espesor de la membrana de Bowman (33.3%) en la misma visita de seguimiento. Teniendo en cuenta estos cambios, era de esperar que la variable Plexo+Bowman arrojará valores similares a los de los estratos por separado, como así sucedió. El único cambio que se advirtió en esta variable coincidió en el tiempo y en la localización con los cambios producidos en el plexo y en la membrana de Bowman por separado, y fue de un engrosamiento del 28.6% en córnea periférica. Todos los cambios producidos en estas 3 variables también se recuperaron tras 1 mes de la retirada de lentes.

El impacto de la OK sobre el plexo nervioso y la membrana de Bowman es un tema de discusión en curso. Se ha reportado un adelgazamiento irreversible en las capas del plexo nervioso y la membrana de Bowman en córnea central tras un tratamiento de OK^{33,35}. No obstante, los autores instaron a la precaución cuando se tomaran en consideración tales declaraciones dado que la muestra utilizada resultó insuficiente para afirmarlo con rotundidad, concluyendo los autores que se necesitaban más estudios sobre el tema. Este fue uno de los motivos que dio lugar a la presente investigación. Por otro lado, en el presente estudio no se produjeron cambios en córnea central, aunque es interesante tener en cuenta que la tabla 4.4b refleja unos rangos porcentuales de disminución del plexo y la membrana de Bowman en córnea central al año de tratamiento de hasta el 7% y el 13% respectivamente. La disparidad encontrada entre los estudios podría venir dada porque el microscopio confocal utilizado en la presente investigación proporciona imágenes más nítidas y por tanto más susceptibles de ser diferenciadas entre sí.

Adicionalmente, el uso del microscopio confocal para la medida de los espesores genera discrepancias entre la comunidad científica. Por un lado, Ivarsen et al¹⁸⁰ demostraron su fiabilidad, aunque apuntaron que se precisaría una exploración bidireccional, es decir de dentro hacia fuera y viceversa, para la mejora de la precisión. Por otro lado, McLaren et al¹⁹⁷ reportaron valores mayores de espesor medidos con el microscopio confocal con respecto al paquímetro de ultrasonidos.

Al contrario que en córnea central, se produjo un engrosamiento de la membrana de Bowman en córnea periférica, lo que estaría en línea con los resultados expuestos por Frisani et al¹⁹⁴ para usuarios de OK. En contraste, Lian et al¹⁹⁸ no encontraron cambios

ni en el meridiano horizontal ni en el vertical de la membrana de Bowman en usuarios de OK, analizando la variable por tomografía de coherencia óptica. Adicionalmente, en nuestro estudio se produjo un engrosamiento del plexo nervioso periférico que hasta la fecha no ha sido reportado por otros autores en usuarios de OK, pero que estaría en línea con el engrosamiento periférico de la membrana de Bowman y del epitelio corneal.

La recuperación de los parámetros aquí citados tras un mes de la retirada de lentes pone de manifiesto la compatibilidad de la OK con las variables biométricas de la córnea.

4.1.4. Densidad celular epitelial.

La tabla 4.5 recoge los valores correspondientes a la densidad de las diferentes capas del epitelio: superficial, intermedia y basal.

La densidad de las células superficiales aumentó en el grupo CRT tras 1 mes de tratamiento en córnea central ($p=0.04$) y periférica ($p=0.03$) y siguió aumentada tras 1 año de tratamiento en ambas localizaciones ($p=0.02$ y $p=0.01$ respectivamente), para posteriormente disminuir tras la retirada de las mismas en córnea central ($p<0.001$) y periférica ($p<0.01$). A pesar de que no se produjeron cambios en la densidad de células superficiales en el grupo SF, se observó una tendencia al aumento en córnea central ($p=0.07$) y periférica ($p=0.06$) en la visita de 1 año.

Por otro lado, la densidad de células intermedias aumentó al año de comenzar el estudio en el grupo SF ($p=0.001$) en córnea central. Por el contrario, los cambios producidos en esta variable en córnea periférica al año de tratamiento no fueron significativos, pero si mostraron una fuerte tendencia al aumento ($p=0.06$). En ambas localizaciones, los valores de densidad celular intermedia se recuperaron tras la retirada de lentes ($p=0.01$ y $p=0.04$ respectivamente). En el caso del grupo CRT se produjo un aumento de la densidad de células intermedias al mes de tratamiento en córnea periférica ($p=0.03$) y se mantuvo aumentada al año de tratamiento ($p=0.002$). No obstante, no se produjo un aumento de esta variable en córnea central, aunque se observó una tendencia bastante marcada ($p=0.08$). Al igual que en el grupo SF, los valores de densidad celular intermedia se recuperaron tras la retirada de lentes en córnea central ($p=0.001$) y periférica ($p=0.04$).

La densidad de células basales disminuyó primeramente en el grupo CRT al mes de tratamiento en córnea central ($p=0.03$) y periférica ($p=0.02$). Tras un año de tratamiento, dicha disminución se observó en ambos grupos de tratamiento en córnea central ($p_{\text{CRT}}<0.001$ y $p_{\text{SF}}=0.04$) y periférica ($p_{\text{CRT}}<0.001$ y $p_{\text{SF}}=0.05$). Los valores preliminares de la densidad de células epiteliales basales estaban recuperados en la visita post-OK en córnea central ($p_{\text{CRT}}=0.01$ y $p_{\text{SF}}=0.05$) y periférica ($p_{\text{CRT}}=0.01$ y $p_{\text{SF}}=0.03$).

Tabla 4.5. Comparativa en la densidad celular epitelial por localización corneal y capas: superficial, intermedia y basal en el Estudio 1.

ρ Células epitelio (n/mm^2)	p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
ρ Superficial		$m \pm \text{DE}$			
CRT	Central	n = 35 339 \pm 110	n = 35 194 \pm 158*	n = 17 248 \pm 118 [†]	n = 31 -13 \pm 102 ^λ
	Periférica	<0.01 351 \pm 109	<0.01 181 \pm 145*	<0.01 221 \pm 183 [†]	<0.01 -34 \pm 126 ^λ
SF	Central	n = 21 309 \pm 99	n = 21 188 \pm 132	n = 15 223 \pm 184	n = 19 -19 \pm 144
	Periférica	<0.05 387 \pm 73	<0.05 176 \pm 121	<0.05 206 \pm 103	<0.05 -25 \pm 212
Control	Central	n = 15 413 \pm 146	n = 15 41 \pm 56	n = 15 52 \pm 73	-
	Periférica	0.50 -	-	-	-
ρ Intermedia		$m \pm \text{DE}$			
CRT	Central	n = 35 792 \pm 118	n = 35 52 \pm 132	n = 17 88 \pm 171	n = 31 -93 \pm 168 ^λ
	Periférica	<0.01 856 \pm 151	<0.01 122 \pm 100*	<0.01 158 \pm 183 ^α	<0.01 -66 \pm 190 ^λ
SF	Central	n = 21 874 \pm 133	n = 21 117 \pm 167	n = 15 147 \pm 180 ^α	n = 19 -57 \pm 143 ^φ
	Periférica	0.27 850 \pm 142	0.27 64 \pm 149	0.27 74 \pm 154	0.27 -87 \pm 139 ^φ
Control	Central	n = 15 908 \pm 113	n = 15 -13 \pm 89	n = 15 -21 \pm 113	-
	Periférica	0.70 -	-	-	-
ρ Basal		$m \pm \text{DE}$			
CRT	Central	n = 35 4712 \pm 930	n = 35 -976 \pm 902*	n = 17 -1109 \pm 916 ^α	n = 31 342 \pm 1005 ^φ
	Periférica	0.51 4300 \pm 574	0.51 -986 \pm 871*	0.51 -1155 \pm 911 ^α	0.51 353 \pm 1083 ^φ
SF	Central	n = 21 4365 \pm 575	n = 21 -150 \pm 433	n = 15 -354 \pm 601 [†]	n = 19 294 \pm 834 ^φ
	Periférica	0.17 4326 \pm 457	0.57 -150 \pm 532	0.57 -403 \pm 579 [†]	0.57 322 \pm 643 ^φ
Control	Central	n = 15 4538 \pm 365	n = 15 -19 \pm 54	n = 15 -21 \pm 86	-
	Periférica	0.62 -	-	-	-

El signo negativo implica una disminución del parámetro con respecto al valor preliminar. Δ diferencia respecto del valor preliminar, mm milímetros, m media, DE desviación estándar, n número de OD/ítems por visita, ρ densidad. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre 1 mes de OK y el valor basal para $p<0.05$. Diferencia entre 1 año de OK y el valor basal para $p<0.05$ (†) y $p<0.01$ (α). Diferencia entre 1 mes post-OK y 1 año de OK para $p<0.05$ (φ) y $p<0.01$ (λ).

Los valores de densidad celular obtenidos en este estudio (tabla 4.5) concuerdan con los reportados para usuarios de LC RGP^{199,200} y LC de OK^{33,35,186}. La literatura existente pone de manifiesto los cambios que se producen en las células epiteliales con el uso de las LC de OK. Según Choo et al¹⁷⁶ los primeros cambios en las células epiteliales inducidos por OK suelen ser de compresión y deformación. Compresión de las células centrales y elongación de las células adyacentes en medio-periferia en pacientes miopes. Estos autores sugieren que se produce una transferencia de contenido intracelular. Además si se aumenta el tiempo de uso de las LC, parece que existen otros factores que afectan a la densidad celular como la mitosis celular¹⁷⁵, apoptosis (muerte programada), exfoliación celular y redistribución celular²⁰¹. Los datos de la tabla 4.5. registran una redistribución de las capas del epitelio a lo largo del tratamiento. A continuación se discutirán dichos cambios por niveles: superficial, intermedio y basal.

Ladage et al. demostraron que el uso de LC RGP²⁰⁰ y de LC de uso nocturno²⁰² provocan una disminución de la muerte celular que alarga el proceso de exfoliación celular. Esto se traduce en un aumento de la densidad de células superficiales con este tipo de LC, lo que concuerda con los datos obtenidos en los sujetos del grupo CRT de nuestro estudio, donde la densidad de células superficiales aumentó a partir del mes de uso de las lentes de OK en córnea central ($p=0.04$) y medio-periférica ($p=0.03$) y se mantuvieron aumentados durante todo el tratamiento en ambas localizaciones ($p=0.02$ y $p=0.01$ respectivamente), hasta su retorno a los valores previos tras la retirada de LC tanto en córnea central ($p<0.001$) como en medio periférica ($p<0.01$). Por el contrario, no se encontraron cambios en la densidad de células superficiales en el grupo SF. Sin embargo, y a pesar de no producirse cambios, esta capa presentó una ligera tendencia al aumento al año de tratamiento en córnea central ($p=0.07$) y medio-periférica ($p=0.06$) y posterior tendencia a la disminución tras la retirada de LC en ambas localizaciones ($p=0.08$ y $p=0.10$ respectivamente). Estos datos inducirían a pensar que la sutil divergencia reportada entre los datos de los dos grupos de OK podría deberse a la diferencia entre el tamaño de la muestra de los grupos.

En el caso de la densidad de células intermedias, se han reportado valores porcentuales de visibilidad en usuarios de OK^{33,35}. Los hallazgos de Nieto-Bona et al apuntaron a un aumento de la proporción de células superficiales e intermedias vistas a corto³³ y largo³⁵ plazo de uso de OK y su recuperación tras el cese de las lentes tanto en córnea central como en córnea medio-periférica. Esta conclusión se ajustaría

a los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que en el grupo SF se produjo un aumento de la densidad de células intermedias al año de tratamiento ($p=0.001$) y se recuperaron los valores preliminares ($p=0.01$) tras la retirada de LC en córnea central. Además, en el grupo CRT se advirtió una tendencia al aumento de la densidad celular al año de OK ($p=0.08$) que volvió a los valores preliminares tras la retirada de LC ($p=0.001$) también en córnea central.

Similarmente ocurrió en córnea medio-periférica, ya que en el grupo CRT se promovió un aumento de la densidad de células intermedias al mes de empezar el estudio ($p=0.03$), que se mantuvo durante todo el año de tratamiento ($p=0.002$), y posteriormente se dio una disminución de la densidad de células intermedias en la última visita del estudio ($p=0.001$). A pesar de que no se advirtieron cambios en córnea medio-periférica para el grupo SF durante el tratamiento, se produjo una fuerte tendencia al aumento en la visita de un año ($p=0.06$) y tras la retirada de las LC se originó una recuperación de los valores preliminares ($p=0.04$).

Se ha demostrado que el uso de las LC RGP ralentiza el movimiento normal de las células basales del epitelio hacia la superficie en córnea central²⁰². Esto se traduciría en una disminución de la densidad celular basal, tal y como detectaron Ren et al¹⁹⁹ y Ladage et al²⁰⁰ en usuarios de LC RGP y Zong et al¹⁸⁶ y Nieto-Bona et al³⁵ en usuarios de OK. Estos hallazgos están en consonancia con los del presente estudio dado que en córnea central la densidad de células basales cayó al mes de tratamiento en el grupo CRT ($p=0.03$) y se mantuvo disminuida al año de tratamiento ($p<0.001$). En el caso del grupo SF la disminución celular se produjo al año de tratamiento ($p=0.04$). En ambos grupos, los valores preliminares se recuperaron al concluir el estudio ($p_{\text{CRT}}=0.01$ y $p_{\text{SF}}=0.05$). De igual forma ocurrió en córnea medio-periférica, ya que la disminución de la densidad celular basal se notó al mes de tratamiento en el grupo CRT ($p=0.02$) y al año en ambos grupos ($p_{\text{CRT}}<0.001$ y $p_{\text{SF}}=0.05$) para consecutivamente recuperarse los valores preliminares tras el cese de las LC ($p_{\text{CRT}}=0.01$ y $p_{\text{SF}}=0.03$). De esta forma, los resultados presentados aquí parecen apuntar a la ralentización del movimiento normal de las células basales, tal y como referían los autores anteriormente mencionados^{35,186,199,200,202}.

4.1.5. Morfología del plexo sub-basal.

Dada la extensión de los parámetros evaluados en la morfología del plexo nervioso, los datos se han dispuesto en la tabla 4.6, que está conformada por 4 sub-tablas: sección I datos reflectantes, sección II configuración geométrica, sección III densidades y sección IV tortuosidad. En este caso, el formato sigue la misma línea que hasta ahora. Es decir, primero se expondrán los datos por tablas y posteriormente se discutirán uno por uno para mayor comodidad para el lector.

Los valores de periferia para el grupo control no han sido incluidos porque no se dispone de suficientes imágenes claras para la evaluación de las mismas. En la mayoría de los casos las pérdidas son porque estos sujetos presentaban una aprensión mayor al tacto corneal posiblemente por no ser usuarios de LC.

4.1.5.1. Datos reflectantes.

Sub-tabla 4.6. Sección I. A continuación se exponen los datos relativos a la reflectividad del plexo completo (global), a la reflectividad de la imagen mejor enfocada en el plexo (local) y a la reflectividad de los nervios en una imagen (nerviosa). En este caso, todos los factores analizados se mantuvieron estables a lo largo del tratamiento de OK.

Tabla 4.6. Comparativa en la morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección I: reflectividad global, local y nerviosa.

PNSB (Sección I)		p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
Reflectividad Global			m \pm DE			
CRT	Central	0.22	n = 35 0.33 \pm 0.06	n = 35 -0.01 \pm 0.12	n = 17 -0.02 \pm 0.06	n = 31 0.01 \pm 0.05
	Periférica	0.64	0.33 \pm 0.06	-0.01 \pm 0.09	0.01 \pm 0.05	0.01 \pm 0.04
SF	Central	0.10	n = 21 0.32 \pm 0.10	n = 21 -0.01 \pm 0.10	n = 15 -0.03 \pm 0.05	n = 19 0.01 \pm 0.01
	Periférica	0.80	0.33 \pm 0.08	0.01 \pm 0.08	0.01 \pm 0.03	0.01 \pm 0.05
Control	Central	0.40	n = 15 0.28 \pm 0.18	n = 15 0.01 \pm 0.07	n = 15 0.01 \pm 0.01	-
	Periférica	-	-	-	-	-
Reflectividad Local			m \pm DE			
CRT	Central	0.46	n = 35 0.36 \pm 0.10	n = 35 -0.02 \pm 0.15	n = 17 -0.02 \pm 0.09	n = 31 -0.01 \pm 0.05
	Periférica	0.50	0.35 \pm 0.08	-0.01 \pm 0.12	0.01 \pm 0.07	0.02 \pm 0.06
SF	Central	0.08	n = 21 0.35 \pm 0.15	n = 21 -0.01 \pm 0.15	n = 15 -0.05 \pm 0.07	n = 19 0.01 \pm 0.08
	Periférica	0.79	0.36 \pm 0.12	-0.00 \pm 0.10	0.01 \pm 0.06	-0.01 \pm 0.08
Control	Central	0.61	n = 15 0.30 \pm 0.20	n = 15 0.01 \pm 0.09	n = 15 0.01 \pm 0.02	-
	Periférica	-	-	-	-	-
Reflectividad Nerviosa			m \pm DE			
CRT	Central	0.36	n = 35 0.76 \pm 0.03	n = 35 -0.02 \pm 0.04	n = 17 0.00 \pm 0.01	n = 31 -0.01 \pm 0.07
	Periférica	0.24	0.77 \pm 0.03	-0.03 \pm 0.04	0.00 \pm 0.01	0.00 \pm 0.01
SF	Central	0.39	n = 21 0.76 \pm 0.03	n = 21 -0.03 \pm 0.04	n = 15 0.00 \pm 0.01	n = 19 0.00 \pm 0.01
	Periférica	0.21	0.77 \pm 0.03	0.01 \pm 0.04	0.00 \pm 0.01	0.00 \pm 0.01
Control	Central	0.65	n = 15 0.69 \pm 0.02	n = 15 0.04 \pm 0.01	n = 15 0.01 \pm 0.02	-
	Periférica	-	-	-	-	-

El signo negativo implica una disminución del parámetro con respecto al valor preliminar. Δ diferencia respecto del valor preliminar, m media, DE desviación estándar, n número de OD evaluados por visita. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas.

En 1980, Mertz²⁰³ descubrió que se produce un 4% de edema corneal como respuesta fisiológica durante la noche, debido a la falta de parpadeo y consecuentemente a la disminución de oxígeno. Cuando se produce un edema corneal, la estructura pierde algo de su transparencia. Esto implica que cuando la luz entra en el ojo y choca con estas opacificaciones, ésta se dispersa y genera una imagen más reflectante del epitelio vista bajo el microscopio. La reflectividad, por tanto, es un factor importante a

analizar y su medida ofrece otra manera de comprobar el funcionamiento de las estructuras corneales.

El hecho de que los valores de reflectividad global y local, que están relacionados con el plexo, se mantengan estables, es garantía de que en este estudio no se produjeron edemas corneales por encima de la normalidad en usuarios de OK que indujeran una falta de transparencia corneal.

En esta misma línea, los valores de reflectividad nerviosa también son estables, aunque más elevados que los citados anteriormente debido a que los nervios son estructuras altamente reflectantes²⁰⁴. Es más, en el caso de los nervios, se ha demostrado que valores disminuidos de reflectividad nerviosa se asocian con patologías como el glaucoma^{204,205}.

Finalmente, más allá de discutir estos datos, que al no obtenerse cambios significativos no sería necesario, es digno de mención el hecho de que este procedimiento metodológico se ha realizado por primera vez en usuarios de OK y en usuarios de LC en general.

4.1.5.2. Datos geométricos.

Sub-tabla 4.6. Sección II. En la siguiente sección se exponen los datos relativos a la configuración geométrica de los nervios: longitud, anchura y orientación. Mientras que la unidad de longitud y anchura son las micras, la orientación se representa en grados. Es importante señalar que un aumento de los grados implica un giro de los nervios del plexo en sentido anti-horario y una disminución, un giro en sentido horario.

Ninguno de los factores analizados en esta sección cambió a lo largo del estudio. Sin embargo, se advierte una ligera tendencia de giro en sentido contrario a las agujas del reloj en córnea periférica para los dos grupos de tratamiento CRT ($p=0.06$) y SF ($p=0.08$).

Tabla 4.6. Comparativa en la morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección II: longitud, anchura y orientación de los nervios.

PNSB (Sección II)		p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
Longitud (μm)		m \pm DE				
CRT	Central	0.55	n = 35 231.8 \pm 40.2	n = 35 -5.2 \pm 66.6	n = 17 -1.8 \pm 78.1	n = 31 -13.7 \pm 72.4
	Periférica	0.12	222.2 \pm 66.3	-15.4 \pm 83.5	1.9 \pm 98.9	-29.8 \pm 96.2
SF	Central	0.20	n = 21 194.3 \pm 66.6	n = 21 5.88 \pm 80.3	n = 15 -32.4 \pm 71.8	n = 19 7.7 \pm 75.1
	Periférica	0.51	217.7 \pm 42.9	14.2 \pm 68.6	0.2 \pm 77.3	-35.6 \pm 96.6
Control	Central	0.42	n = 15 240.2 \pm 50.8	n = 15 28.9 \pm 50.8	n = 15 -4.4 \pm 10.9	-
	Periférica	-	-	-	-	-
Anchura (μm)		m \pm DE				
CRT	Central	0.31	n = 35 2.43 \pm 0.40	n = 35 -0.08 \pm 0.44	n = 17 -0.03 \pm 0.43	n = 31 0.08 \pm 0.55
	Periférica	0.49	2.43 \pm 0.31	-0.14 \pm 0.35	-0.12 \pm 0.44	-0.15 \pm 0.70
SF	Central	0.27	n = 21 2.31 \pm 0.44	n = 21 -0.10 \pm 0.26	n = 15 -0.02 \pm 0.48	n = 19 -0.09 \pm 0.34
	Periférica	0.81	2.25 \pm 0.24	-0.01 \pm 0.28	-0.02 \pm 0.44	-0.07 \pm 0.40
Control	Central	0.55	n = 15 2.44 \pm 0.91	n = 15 0.20 \pm 0.91	n = 15 0.04 \pm 0.13	-
	Periférica	-	-	-	-	-
Orientación ($^\circ$)		m \pm DE				
CRT	Central	0.87	n = 35 93.7 \pm 28.5	n = 35 7.3 \pm 35.9	n = 17 6.3 \pm 41.8	n = 31 -4.7 \pm 55.2
	Periférica	0.06	96.1 \pm 27.5	3.7 \pm 30.5	18.1 \pm 48.6	5.0 \pm 39.8
SF	Central	0.29	n = 21 94.7 \pm 27.4	n = 21 8.6 \pm 38.7	n = 15 -8.4 \pm 53.1	n = 19 0.8 \pm 51.6
	Periférica	0.08	99.6 \pm 28.7	7.4 \pm 52.5	19.7 \pm 54.4	21.2 \pm 54.5
Control	Central	0.71	n = 15 89.2 \pm 37.4	n = 15 4.2 \pm 39.4	n = 15 0.8 \pm 4.4	-
	Periférica	-	-	-	-	-

El signo negativo implica una disminución del parámetro con respecto al valor preliminar. Δ diferencia respecto del valor preliminar, μm micras, ($^\circ$) grados, m media, DE desviación estándar, n número de ojos derechos evaluados en cada visita. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas.

Los datos obtenidos en esta sección mostraron una alta concordancia entre los valores reportados para córneas normales¹⁰⁰ y usuarios de LC hidrofílicas¹³⁶. Mientras que los datos de longitud y orientación se comportaron según lo esperado a lo largo del tratamiento, los valores estables de anchura están en desacuerdo con los hallazgos reportados por Oliveira-Soto y Efron¹³⁶, quienes observaron que los nervios corneales en el plexo nervioso parecían ser más estrechos en sujetos que usaban LC hidrofílicas de uso nocturno frente a sujetos control no usuarios de LC. Sin embargo, los autores aluden a la dificultad de visualización de los mismos debido al edema corneal por

encima de la norma. En este estudio el edema corneal no superó la norma, como ponen de manifiesto los valores de reflectividad global y local de la sección anterior. Por tanto, la discrepancia con los resultados reportados aquí podría deberse a que estos autores utilizaron otro microscopio confocal, que podría ser la causa de una peor visualización.

Paralelamente a este punto, la tendencia al giro de las fibras nerviosas está en consonancia con la redistribución nerviosa reportada por Lum et al³⁶, cuando comparó el mapeado de dos usuarios de lentes de OK de larga duración frente a un no usuario de LC.

4.1.5.3. Densidades.

Sub-tabla 4.6. Sección III. La siguiente sección está destinada a la exposición del número de nervios en el plexo, densidad nerviosa y densidad de células de Langerhans.

El número de nervios disminuye en córnea central para ambos grupos de tratamiento al mes de comenzar el estudio. Esta disminución se mantiene al año de tratamiento y un mes tras la retirada de LC. Del mismo modo, ambos grupos presentaron valores disminuidos en el número de nervios en córnea periférica al año de tratamiento y se mantuvieron disminuidos en la visita post-tratamiento.

En el caso de la densidad nerviosa, se detectó una disminución en ambas localizaciones al año de tratamiento. Estos valores se mantuvieron disminuidos a la finalización del estudio.

La densidad de células de Langerhans no estuvo afectada en el grupo CRT, sin embargo en el grupo SF se produjo un aumento de las mismas en córnea central y periférica al mes de tratamiento. Tras un mes de la retirada de las LC, los valores de densidad de células de Langerhans en ambas localizaciones volvieron a los valores preliminares.

Tabla 4.6. Comparativa en la morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección III: número de nervios, densidad de nervios y densidad de células de Langerhans.

PNSB (Sección III)		p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
Nervios (n)			m \pm DE			
CRT	Central	<0.05	n = 35 4.59 \pm 1.87	n = 35 -0.92 \pm 2.04*	n = 17 -0.79 \pm 2.02 [†]	n = 31 -0.77 \pm 1.76 [‡]
	Periférica		<0.01	4.56 \pm 1.58	-0.76 \pm 2.05	-1.67 \pm 1.84 ^α
SF	Central	<0.01	n = 21 4.81 \pm 1.63	n = 21 -1.26 \pm 2.54*	n = 15 -1.91 \pm 2.12 [†]	n = 19 -1.78 \pm 1.80 ^ε
	Periférica		<0.01	4.55 \pm 1.76	0.18 \pm 2.13	-1.50 \pm 2.71 [†]
Control	Central	0.59	n = 15 4.50 \pm 2.10	n = 15 1.00 \pm 1.87	n = 15 -0.40 \pm 1.52	-
	Periférica		-	-	-	-
ρ Nerviosa ($\mu\text{m}/\text{mm}^2$)			m \pm DE			
CRT	Central	<0.05	n = 35 11152 \pm 5011	n = 35 -1956 \pm 5307	n = 17 -2287 \pm 6082 [†]	n = 31 -1712 \pm 6511 [‡]
	Periférica		<0.05	10668 \pm 5369	-2141 \pm 7087	-4720 \pm 7055 [†]
SF	Central	<0.01	n = 21 9680 \pm 4214	n = 21 -1281 \pm 7304	n = 15 -4836 \pm 4767 ^α	n = 19 -3224 \pm 4290 [‡]
	Periférica		<0.05	10818 \pm 5154	458 \pm 6280	-4410 \pm 8468 [†]
Control	Central	0.48	n = 15 11227 \pm 5912	n = 15 4214 \pm 8034	n = 15 458 \pm 1327	-
	Periférica		-	-	-	-
ρ Langerhans (n/mm^2)			m \pm DE			
CRT	Central	0.72	n = 35 70.40 \pm 46.88	n = 35 -1.28 \pm 36.16	n = 17 10.72 \pm 43.04	n = 31 -2.24 \pm 39.84
	Periférica		0.26	55.36 \pm 35.68	-1.28 \pm 42.40	9.60 \pm 44.32
SF	Central	<0.05	n = 21 54.08 \pm 29.28	n = 21 21.60 \pm 24.00*	n = 15 10.72 \pm 25.76	n = 19 5.28 \pm 30.56 ^φ
	Periférica		<0.05	66.40 \pm 33.28	14.24 \pm 28.48*	13.36 \pm 41.12
Control	Central	0.90	n = 15 37.76 \pm 37.53	n = 15 3.20 \pm 7.68	n = 15 0.00 \pm 11.31	-
	Periférica		-	-	-	-

El signo negativo implica una disminución del parámetro con respecto al valor preliminar. Δ diferencia respecto del valor preliminar, μm micras, mm milímetros, m media, DE desviación estándar, n número de ojos derechos/items por visita. p -valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) denota diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes de tratamiento y el valor preliminar para $p < 0.05$. Diferencia estadísticamente significativa entre 1 año y el valor preliminar para $p < 0.05$ (\dagger) y $p < 0.01$ (α). Diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes post-tratamiento y el valor preliminar para $p < 0.05$ (\ddagger) y $p < 0.01$ (ϵ). (ϕ) indica diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes post-tratamiento y 1 año para $p < 0.05$.

La densidad nerviosa y el número de nervios están interrelacionados entre sí de forma directa. Tal y como se esperaba, ambos parámetros cambiaron durante el tratamiento

de OK. Los valores preliminares de estos dos parámetros son ligeramente menores que los encontrados en sujetos con córneas sanas⁴⁷ y usuarios de LC de OK^{48,49}. Esta diferencia podría atribuirse al hecho de que en este estudio se consideraron sólo los nervios principales de la imagen mejor enfocada mientras que otros autores incluyeron todas las ramas nerviosas incluidos en las imágenes analizadas.

Recientemente, Lum et al⁴⁹ han observado una reducción de las fibras nerviosas en respuesta a 3 meses de OK; con respecto al grupo control, esta reducción fue aproximadamente de un 31%. En 2010, Nieto-Bona reportó cambios corneales producidos por las LC de OK tras 3 meses de uso, que incluían efectos en el plexo nervioso sub-basal¹⁸². En el presente estudio, se detectó una tendencia a la disminución de la densidad nerviosa respecto de los valores preliminares aproximadamente del 15% al mes de tratamiento y una disminución significativa en torno al 40% tras un año de OK. El número de nervios observados en córnea central en ambos grupos tras un mes de tratamiento de OK cayó significativamente ($p_{\text{CRT}}=0.03$ y $p_{\text{SF}}=0.01$). Además en la córnea central, tanto la densidad nerviosa como el número de nervios disminuyeron de forma significativa a lo largo del año ($p_{\text{CRT}}=0.03$, $p_{\text{SF}}<0.01$ y $p_{\text{CRT}}=0.02$, $p_{\text{SF}}=0.01$ respectivamente). Este hecho es consistente con la pérdida de fibras nerviosas central reportada por Lum et al^{36,49}. Nieto-Bona et al³⁵ también advirtieron una tendencia a la disminución en este parámetro usando un procedimiento similar, pero subjetivo. En el presente estudio se utilizó una herramienta objetiva (NeuronJ) para la toma de medidas y los datos aquí reportados coincidieron con dicho estudio, aportando una evidencia de mayor potencia estadística al tener un mayor tamaño de muestra y seguir un procedimiento de medida más fiable.

Los valores de densidad nerviosa y número de nervios en córnea central continuaron disminuidos respecto de los valores preliminares ($p_{\text{CRT}}=0.04$, $p_{\text{SF}}=0.01$ y $p_{\text{CRT}}=0.02$, $p_{\text{SF}}=0.001$ respectivamente) en la visita realizada al mes tras la interrupción del tratamiento de OK. En línea con este resultado y dada la descripción previa de la redistribución de las fibras nerviosas hacia la periferia³⁶, la disminución en córnea periférica de la densidad nerviosa ($p_{\text{CRT}}=0.02$, $p_{\text{SF}}=0.05$) y el número de nervios ($p_{\text{CRT}}=0.003$, $p_{\text{SF}}=0.04$) detectada tras un año de tratamiento es sorprendente. Una posible explicación para esta discrepancia con las observaciones previas³⁶ es que las medidas expuestas aquí fueron tomadas en una zona más periférica. De hecho, la localización para la obtención de la medida periférica se realizó a 4 mm ínfero-temporal al ápex corneal (Anexo 6) y por tanto es posible que esta medida medio-periférica sea representativa de una región corneal por debajo de la banda de

alineamiento en vez de en la zona de retorno o reservorio lagrimal bajo la LC de OK. Esto podría explicar los valores de densidad nerviosa reducidos observados en córnea medio-periférica debidos al tratamiento. El hecho de que ambas variables no volvieran a los valores preliminares ($p_{\text{CRT}}=0.001$, $p_{\text{SF}}=0.01$ para la densidad nerviosa y $p_{\text{CRT}}<0.001$, $p_{\text{SF}}=0.005$ para el número de nervios) es consistente con la tendencia reportada por Nieto-Bona¹⁸² y con el reciente estudio de Lum et al²⁰⁶ donde apuntan a un periodo de 3 meses para la recuperación de estos parámetros.

En resumen, la densidad nerviosa y el número de nervios disminuyen con el tratamiento de OK y se mantienen así incluso tras retirar las LC durante un mes. A pesar de esto, se aprecia una ligera tendencia a la recuperación de ambos y, dadas las recientes observaciones en las que se estima un periodo de recuperación de 3 meses²⁰⁶, sería razonable asumir un tiempo más prolongado para la completa recuperación de los mismos.

La densidad de células de Langerhans fue diferente entre los grupos de tratamiento (CRT y SF) y el grupo control en la medida preliminar y a lo largo del estudio. En el grupo SF, durante la visita preliminar, las células de Langerhans fueron vistas principalmente en córnea medio-periférica y más raramente en córnea central, de acuerdo con las observaciones de otros autores^{40,131}. Además, la densidad de células de Langerhans fue mayor en este grupo tanto en córnea central ($p=0.04$) como en córnea medio-periférica ($p=0.05$) tras un mes de tratamiento. Las funciones inmunológicas de las células dendríticas y su rol en la inflamación corneal y ojo seco están ampliamente desarrolladas^{207,208}. Por tanto, es razonable asumir que la córnea responderá a las LC como si fueran un cuerpo extraño mediante el aumento de las células de Langerhans. Esta respuesta se debe probablemente a la irritación mecánica y a la hipoxia asociada al uso de LC.

A los participantes de este estudio se les solicitó quitarse sus LC (si las usaban) 4 semanas antes de comenzar el estudio para asegurar que los niveles de la densidad de células de Langerhans fueran iguales que los de una córnea que no hubiera usado nunca LC. Sin embargo, los valores de células contadas en este estudio para el grupo de tratamiento se encontraron ligeramente por encima de los valores reportados para córneas sanas por Zhivov et al⁴⁰ y Sindt et al²⁰⁹. Por lo que cabría pensar que este periodo de lavado de 4 semanas no sería suficiente o quizás los sujetos no siguieron estrictamente las instrucciones dadas por el grupo de investigación. En contraste, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el grupo CRT, lo que

sugiere que lo anteriormente expuesto podría deberse al incumplimiento de los participantes y no a que el periodo de 4 semanas fuese insuficiente. Los valores estables en este grupo podrían explicarse por las diferencias en geometría de las LC de OK. En este caso, el mayor tamaño del diámetro de las LC (10.8 frente a 10.5 mm) podría haber determinado que el recuento se realizara fuera de la zona de retorno. Esta hipótesis vendría apoyada por el cambio en los radios corneales observados en el mapa topográfico tangencial tras el tratamiento en ambos grupos (Figura 4.1), lo que está directamente ligado a la presión ejercida por la LC sobre la córnea.

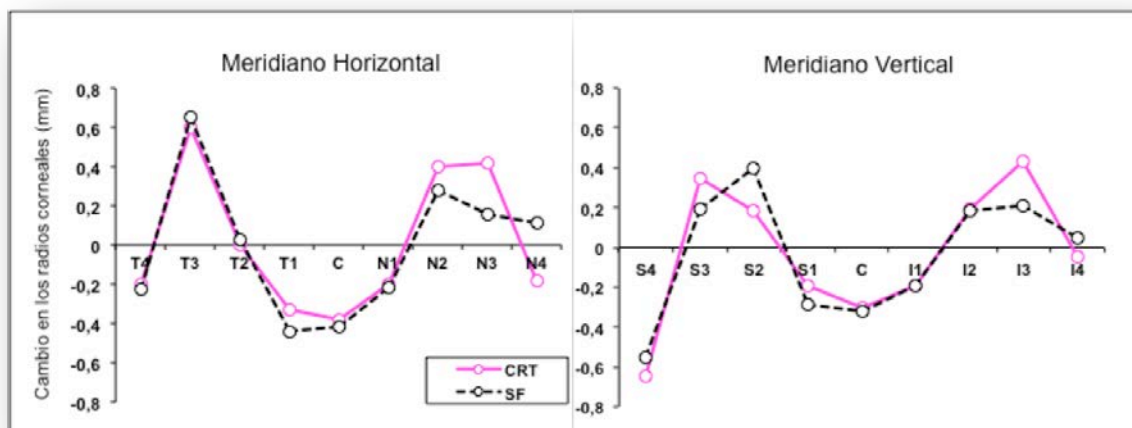


Figura 4.1. Cambio topográfico de los radios corneales producidos por las 2 lentes de OK a lo largo de los meridianos horizontal y vertical tras un mes de uso de las LC de OK. Las medidas fueron tomadas en cada milímetro hasta un total de 4 mm desde el centro hacia los lados temporal y nasal o en dirección superior o inferior. T temporal, C centro, N nasal, S superior, I inferior.

Como se puede observar, el comportamiento en la zona inferior donde se realizaron las medidas con el confocal (I3) fueron ligeramente diferentes entre las dos LC, aunque no de forma significativa ($p > 0.05$). De ahí que la presión ejercida por la lente CRT en ese punto fue más positiva que la observada con la lente SF y podría, en parte, explicar las diferencias observadas en la densidad de células de Langerhans en este estudio. Según Zhivov et al⁴⁰, en ojos sanos estas células presentan mayor densidad en zonas corneales periféricas que en centrales. Del reporte de este autor se deduce un gradiente positivo periférico del 37%. Los resultados que se reportan en este estudio indican gradientes similares para ambas LC (78% para CRT y 81% para SF), que fueron sin embargo superiores a los valores citados por Zhivov et al⁴⁰; lo que sugiere que nuestras medidas pudieron haberse realizado en una zona más periférica. Aunque la respuesta del gradiente positivo observado en las lentes SF era esperado⁴⁰, es decir, más células en córnea central que en periferia, en el grupo CRT se observó lo contrario. Esta respuesta diferente podría ser atribuida a un artefacto en la toma de

la medida, dado el área tan pequeño de análisis con el microscopio confocal. Al año de tratamiento, se observó una ligera tendencia al aumento de las células de Langerhans. No obstante, el único cambio significativo al final de estudio fue la disminución de los valores para esta variable en el grupo SF en córnea central ($p=0.02$) y periférica ($p=0.05$), lo que pone de manifiesto la recuperación del estado inmune corneal.

4.1.5.4. Tortuosidad.

Sub-tabla 4.6. Sección IV. Esta última sección del plexo está enfocada en los valores de tortuosidad obtenidos de forma objetiva y subjetiva. Los valores de tortuosidad subjetiva se mantuvieron estables durante todo el tratamiento. Por el contrario, los valores de tortuosidad objetiva en córnea central se vieron disminuidos en los dos grupos de tratamiento. Además en el grupo SF la tortuosidad objetiva periférica también estuvo ligeramente disminuida respecto del valor tomado en la visita preliminar.

Tabla 4.6. Morfología del plexo nervioso sub-basal por localización corneal en el Estudio 1. Sección IV: coeficientes de tortuosidad objetiva y subjetiva.

PNSB (Parte IV)	p-valor	Preliminar	Δ 1 mes OK	Δ 1 año OK	Δ Post OK
CTO		<i>m</i> \pm DE			
CRT		n = 35	n = 35	n = 17	n = 31
Central	0.44	22.32 \pm 9.95	-4.64 \pm 13.41	-7.43 \pm 14.9 [†]	-2.95 \pm 12.87
Periférica	0.33	20.75 \pm 10.06	-2.19 \pm 12.22	-4.78 \pm 13.02	-6.63 \pm 13.49 [‡]
SF		n = 21	n = 21	n = 15	n = 19
Central	<0.01	21.94 \pm 11.63	-4.53 \pm 16.89	-9.04 \pm 9.88 ^α	-8.38 \pm 12.35
Periférica	0.24	21.62 \pm 11.62	-1.01 \pm 15.72	-3.66 \pm 15.54	-8.51 \pm 22.03 [‡]
Control		n = 15	n = 15	n = 15	
Central	0.44	21.34 \pm 11.95	11.73 \pm 9.79	2.68 \pm 6.93	-
Periférica	-	-	-	-	-
CTS		<i>m</i> \pm DE			
CRT		n = 35	n = 35	n = 17	n = 31
Central	0.23	1.55 \pm 0.89	0.19 \pm 1.13	0.44 \pm 0.76	0.05 \pm 0.79
Periférica	0.55	1.52 \pm 0.65	-0.04 \pm 0.73	0.34 \pm 0.98	0.13 \pm 0.74
SF		n = 21	n = 21	n = 15	n = 19
Central	0.83	1.52 \pm 0.87	-0.05 \pm 0.78	0.00 \pm 0.77	0.11 \pm 0.75
Periférica	0.81	1.65 \pm 0.81	0.12 \pm 0.69	-0.33 \pm 0.78	-0.11 \pm 0.76
Control		n = 15	n = 15	n = 15	
Central	0.37	2.40 \pm 0.55	0.40 \pm 0.55	0.20 \pm 0.45	-
Periférica	-	-	-	-	-

El signo negativo implica una disminución del parámetro con respecto al valor preliminar. CTO coeficiente de tortuosidad objetivo, CTS coeficiente de tortuosidad subjetivo. Δ diferencia respecto del valor preliminar, *m* media, DE desviación estándar, *n* número de ojos derechos analizados por visita. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: diferencia estadísticamente significativa entre 1 año y el valor preliminar para $p < 0.05$ (†) y $p < 0.01$ (α). Diferencia estadísticamente significativa entre 1 mes post-tratamiento y el valor preliminar para $p < 0.05$ (‡).

Hasta la fecha, se ha establecido que los valores de tortuosidad aumentan con la severidad de las neuropatías¹⁴⁹ y con la edad⁴⁷. No obstante, en el presente estudio, la tortuosidad fue evaluada en jóvenes sanos que eran usuarios de lentes de OK. A pesar de que los coeficientes de tortuosidad estaban dentro de los valores normales reportados para sujetos con córneas sanas⁴⁷ y usuarios de LC^{47,136}, tras un año de estudio se produjo una reducción significativa de la tortuosidad objetiva en córnea central en ambos grupos de tratamiento ($p_{\text{CRT}}=0.05$, $p_{\text{SF}}=0.008$). Además, en córnea medio-periférica se observó una disminución del coeficiente de tortuosidad ($p_{\text{CRT}}=0.05$, $p_{\text{SF}}=0.049$) tras un mes de la retirada de LC, lo que coincide con la densidad nerviosa reducida observada en esta misma visita de estudio.

Sin embargo, los datos reportados en la tabla anterior no están en completo acuerdo con el estudio de Lum et al³⁶, quienes observaron que en usuarios de lentes de OK se

produce un reemplazamiento del patrón en espiral, presente de forma natural en no usuarios de LC, por una red de nervios tortuosa en córnea central y un patrón curvilíneo de los mismos en periferia. No obstante, habría que considerar que los autores realizaron observaciones cualitativas sobre un mapeado del plexo nervioso obtenido, eso sí, con el mismo instrumento objetivo por el que se obtuvieron las imágenes del plexo aquí. En el presente estudio, la medida de la tortuosidad se realizó mediante dos métodos: uno objetivo, por el que se observan cambios significativos en la tortuosidad de los nervios corneales, y otro subjetivo, por el que no se observan cambios. Por tanto, las observaciones realizadas por Lum et al³⁶ serían comparables con la medida de la tortuosidad subjetiva y no con la objetiva.

4.1.6. Comparativa entre LC.

En los apartados anteriores se han evaluado los cambios morfológicos en la córnea debido a dos tipos de lentes de OK (Paragon CRT[®] y Seefree[®]). No obstante, a la vista de los resultados obtenidos se consideró la posibilidad de que ambas lentes se comportaran igual, lo que además puede comprobarse a nivel de calidad óptica (AV, tabla 4.2) y de los cambios topográficos a lo largo de la córnea (Figura 4.1).

Dado que el principal objeto de esta tesis es el estudio del PNSB, se realizó un análisis comparativo en aquellas variables del PNSB donde se produjeron cambios significativos, para comprobar si dichas variables presentaban tendencia iguales y demostrar que ambas lentes producían los mismos efectos morfológicos. Asimismo se buscaba poder juntar ambas muestras en un mismo grupo y aumentar la potencia estadística de los resultados, particularmente de interés para la medida de 1 año donde, por falta de visibilidad, se habían perdido un número significativo de sujetos.

Las figuras 4.2a-4.2f muestran los análisis de varianza bifactorial (grupo x tiempo). Como puede observarse, las tendencias fueron similares entre grupos. Además, mediante el análisis de varianza ANOVA bifactorial se calculó la potencia estadística entre los dos subgrupos. Con la excepción de la sensibilidad corneal, el valor de dichas potencias reveló tendencias similares a lo largo del tratamiento: sensibilidad corneal central $\beta=0.27$, densidad nerviosa central $\beta=0.17$, tortuosidad objetiva central $\beta=0.04$, densidad de células de Langerhans medio-periférica $\beta=0.05$, densidad nerviosa medio-periférica $\beta=0.12$ y tortuosidad objetiva medio-periférica $\beta=0.10$.

(Recordemos que una potencia del 80% implica un valor de $\beta \leq 0.20$, por lo que estos valores aportan gran consistencia a los resultados encontrados).

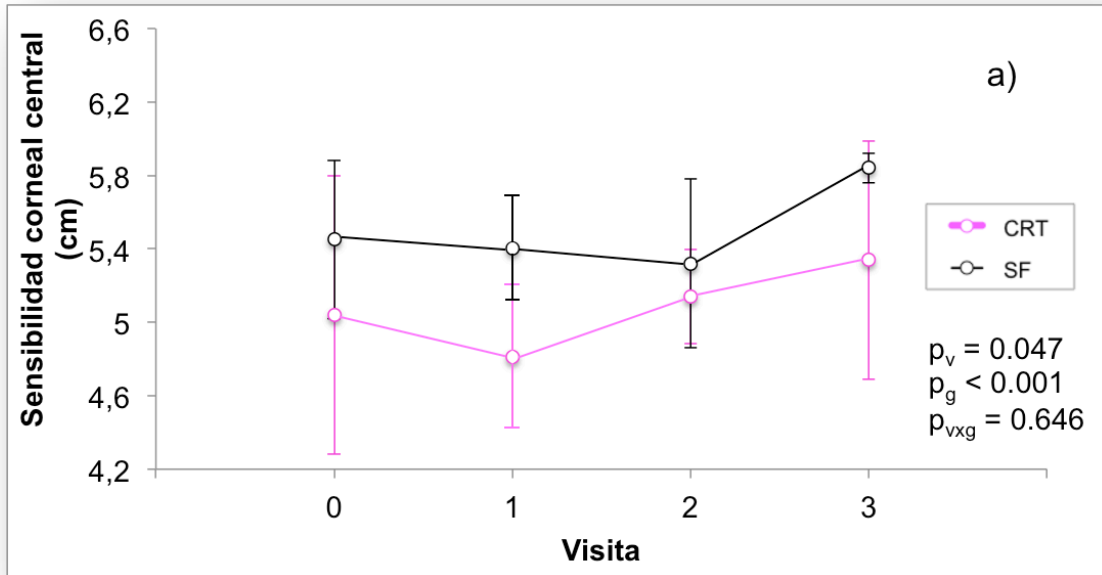


Figura 4.2a. Evolución de la sensibilidad corneal entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar. Análisis multifactorial ANOVA 4x2. v visita de seguimiento, g grupo.

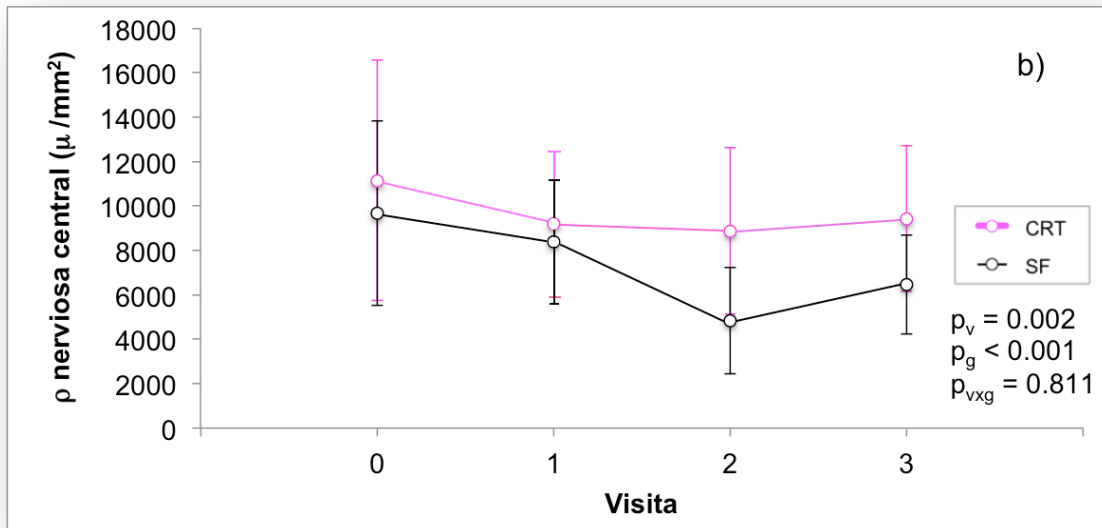


Figura 4.2b. Evolución de la densidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar. ρ densidad. Análisis multifactorial ANOVA 4x2. v visita de seguimiento, g grupo.

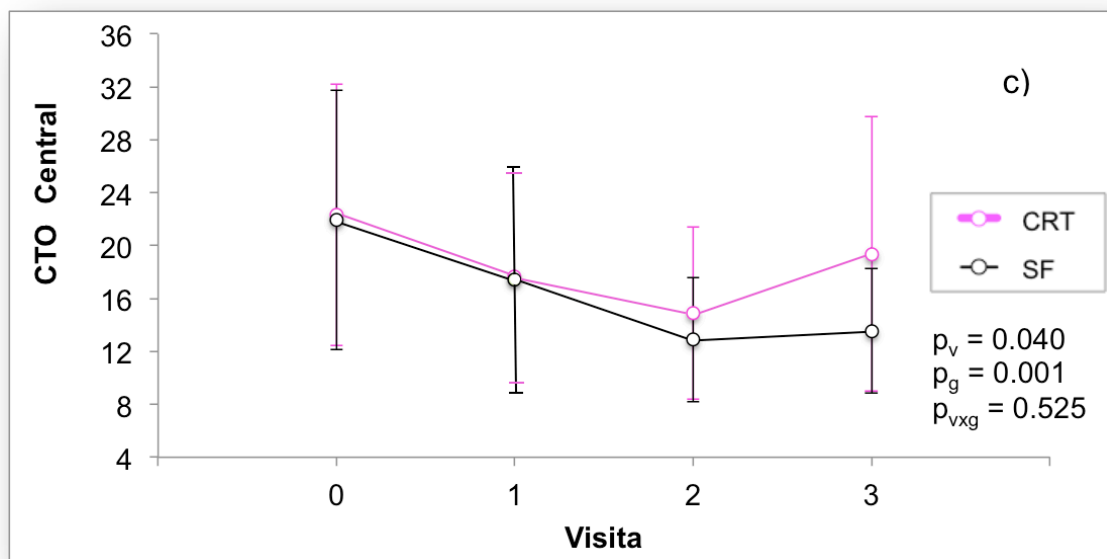


Figura 4.2c. Evolución de la tortuosidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar. CTO coeficiente de tortuosidad objetivo. Análisis multifactorial ANOVA 4x2. v visita de seguimiento, g grupo.

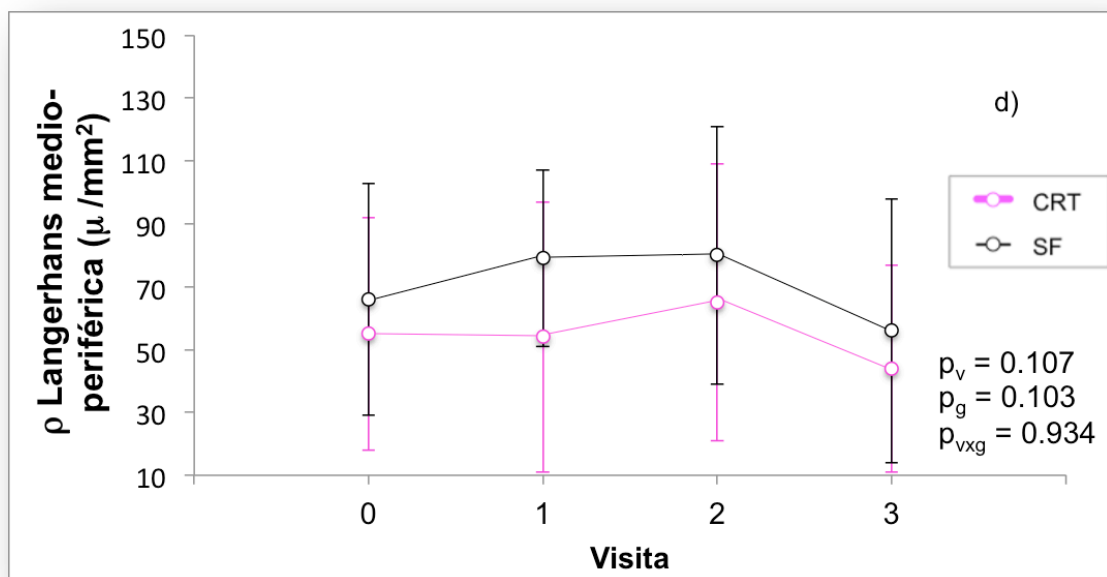


Figura 4.2d. Evolución de la densidad de células de Langerhans entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea medio-periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar. ρ densidad. Análisis multifactorial ANOVA 4x2. v visita de seguimiento, g grupo.

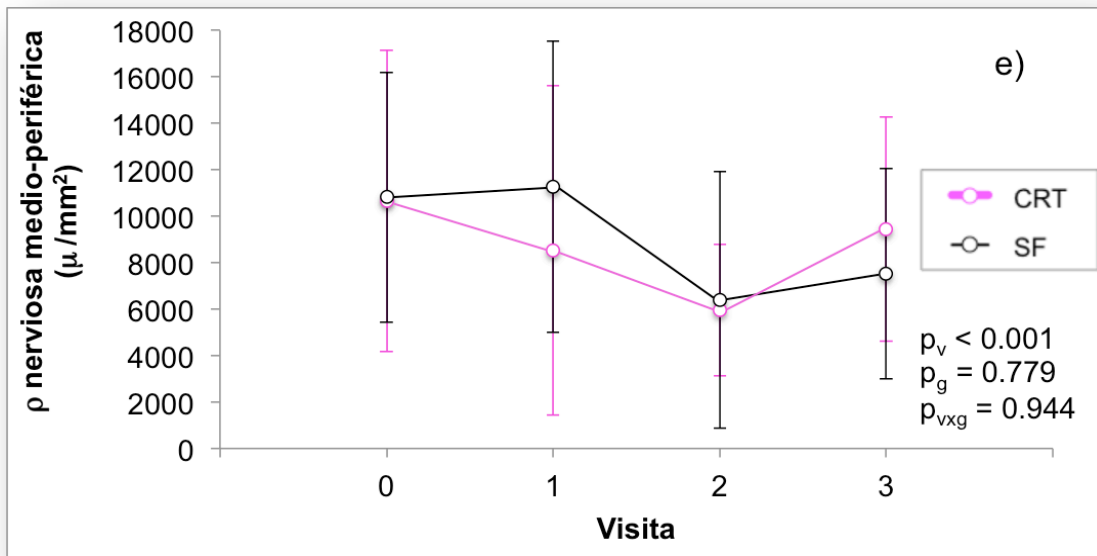


Figura 4.2e. Evolución de la densidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea medio-periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar. ρ densidad. Análisis multifactorial ANOVA 4x2. v visita de seguimiento, g grupo.

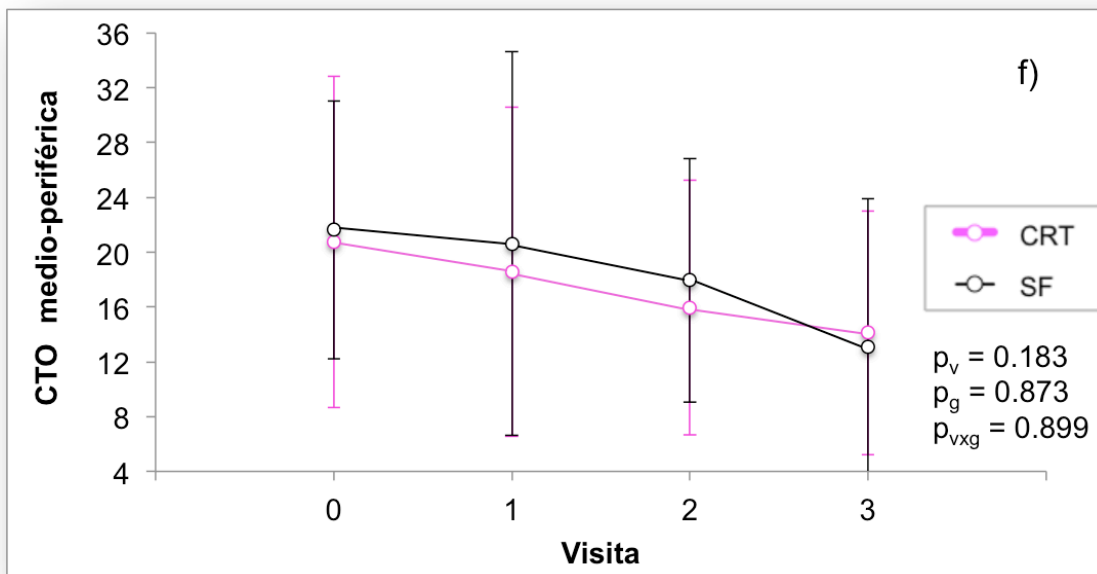


Figura 4.2f. Evolución de la tortuosidad nerviosa entre los grupos CRT y SF a lo largo del tiempo en córnea medio-periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar. CTO coeficiente de tortuosidad objetivo. Análisis multifactorial ANOVA 4x2. v visita de seguimiento, g grupo.

En la figura 4.2a puede observarse la tendencia de descenso en la sensibilidad corneal en el grupo CRT seguida de una tendencia al aumento tras un mes de la retirada de lentes ($p=0.646$). En contraste, no se percibieron cambios en córnea

medio-periférica, lo que está en línea con los resultados descritos previamente en la literatura^{48,192} donde se ha especulado con que los cambios en la sensibilidad corneal estarían limitados a la córnea central mientras que la periferia no se vería afectada.

La comparativa de la densidad nerviosa entre los dos subgrupos de tratamiento reveló un comportamiento similar en ambas localizaciones: central ($p=0.811$) y periférica ($p=0.944$) (Figuras 4.2b y 4.2e respectivamente). Además, el hecho de que la densidad nerviosa no aumentara en medio-periferia (4.2e), como se esperaría por resultados previos³⁶, podría estar causada por la proximidad entre la zona donde se tomó la medida y la zona de retorno de la lente (revisar Figura 4.1. cambios topográficos de los radios corneales).

En el caso de la tortuosidad central (figura 4.2c), la tendencia comportamental de ambos subgrupos fue la misma ($p=0.525$), aunque se percibió una diferencia en términos de amplitud de respuesta entre ellos, atribuible probablemente a la diferencia muestral entre subgrupos.

A la vista de los resultados, que verifican un comportamiento similar de ambas lentes usadas en este estudio, se realizaron los test de medidas repetidas 1-way ANOVA de análisis de varianza en el grupo de tratamiento completo (sujetos CRT + sujetos SF) para dar más potencia a los resultados de los cambios producidos por la OK en la córnea central y medio-periférica.

Como puede observarse en las Figuras 4.3a-4.3h y las Tablas 4.7a, 4.7b y 4.7c los cambios resultan ser los mismos que los producidos en los subgrupos por separado (Tablas 4.3. - 4.6.), viéndose potenciados por el mayor número de pacientes evaluados. Por tanto, se puede afirmar que la muestra evaluada en este estudio aporta fiabilidad a los resultados encontrados pudiendo afirmar que son concluyentes.

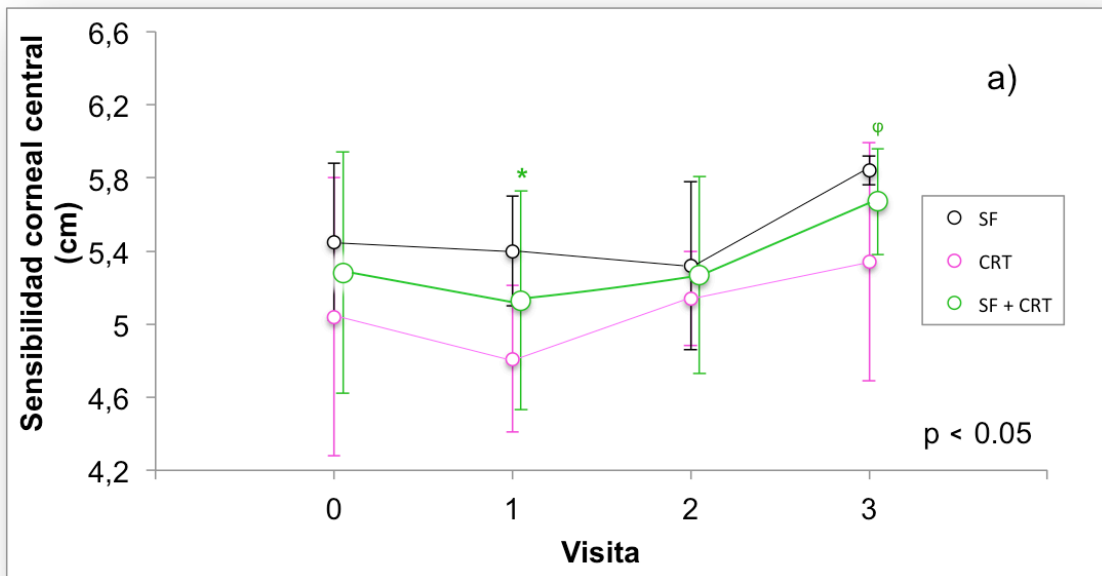


Figura 4.3a. Comparativa de la sensibilidad corneal en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre la medida preliminar y 1 mes de OK para $p < 0.05$. (φ) diferencia entre 1 año de OK y 1 mes post-OK para $p < 0.05$. Se incluyen los análisis de los grupos individuales (Figura 4.2a).

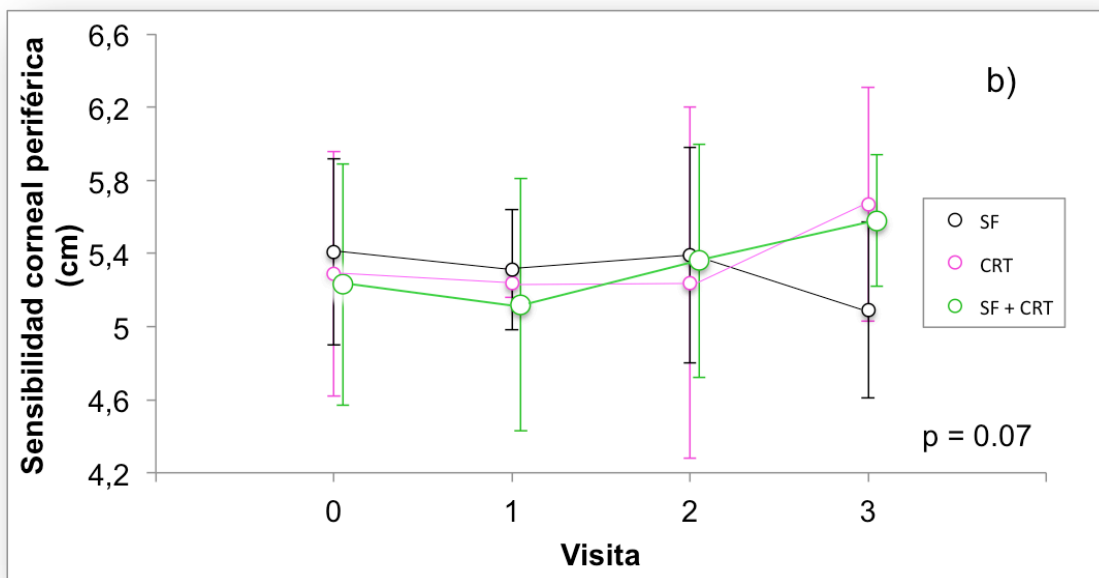


Figura 4.3b. Comparativa de la sensibilidad corneal en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Se incluyen los análisis de los grupos individuales.

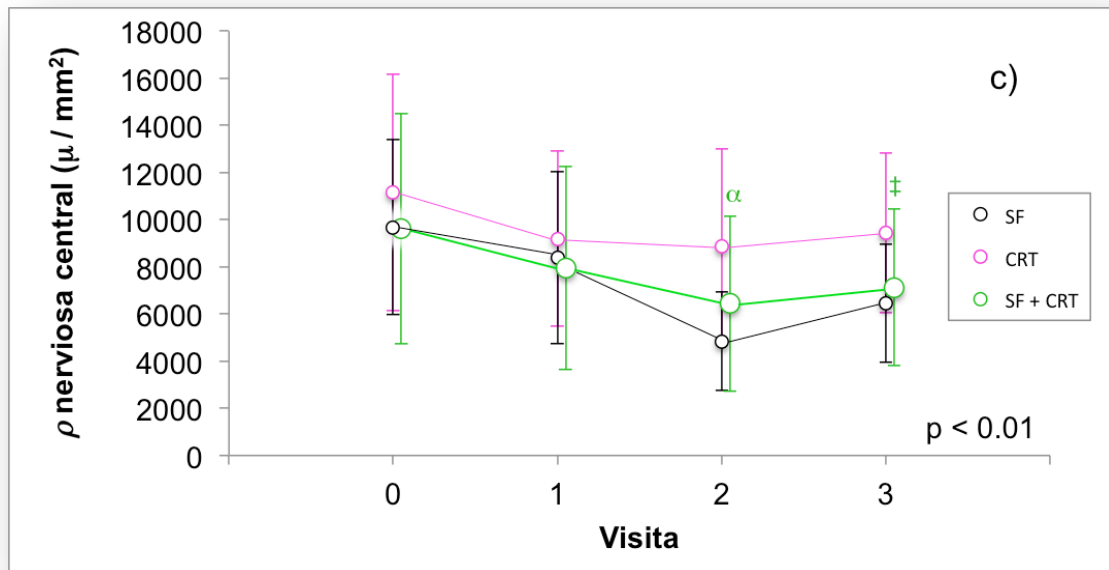


Figura 4.3c. Comparativa de la densidad nerviosa en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (α) diferencia entre la medida preliminar y 1 año de OK para $p < 0.01$. Diferencia entre la medida preliminar y 1 mes post-OK para $p < 0.05$ (\ddagger). Se incluyen los análisis de los grupos individuales (Figura 4.2b).

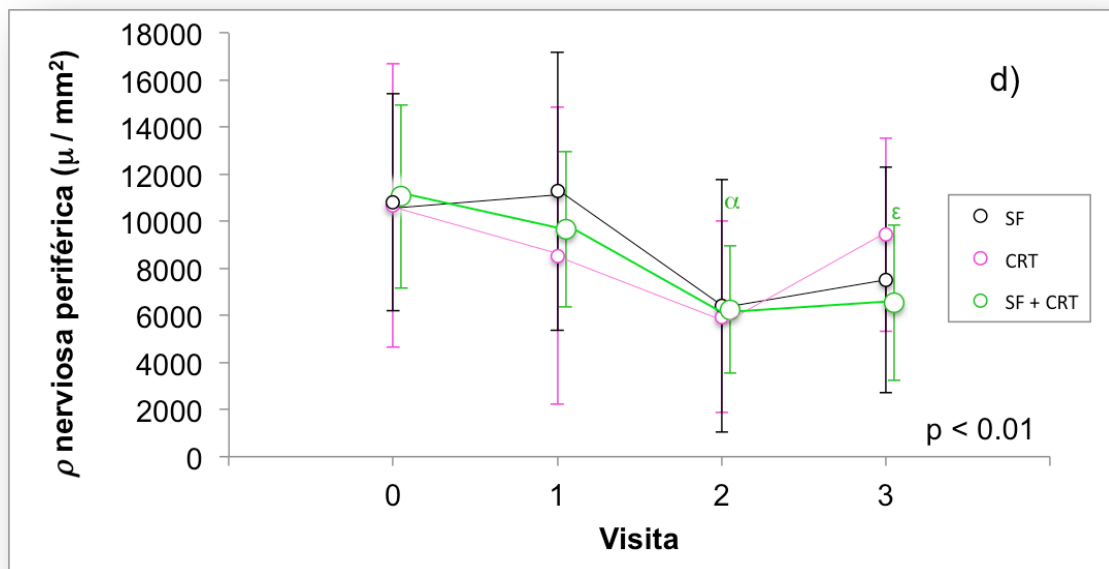


Figura 4.3d. Comparativa de la densidad nerviosa en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (α) diferencia entre la medida preliminar y 1 año de OK para $p < 0.01$. (ϵ) diferencia entre la medida preliminar y 1 mes post-OK para $p < 0.01$. Se incluyen los análisis de los grupos individuales (Figura 4.2e).

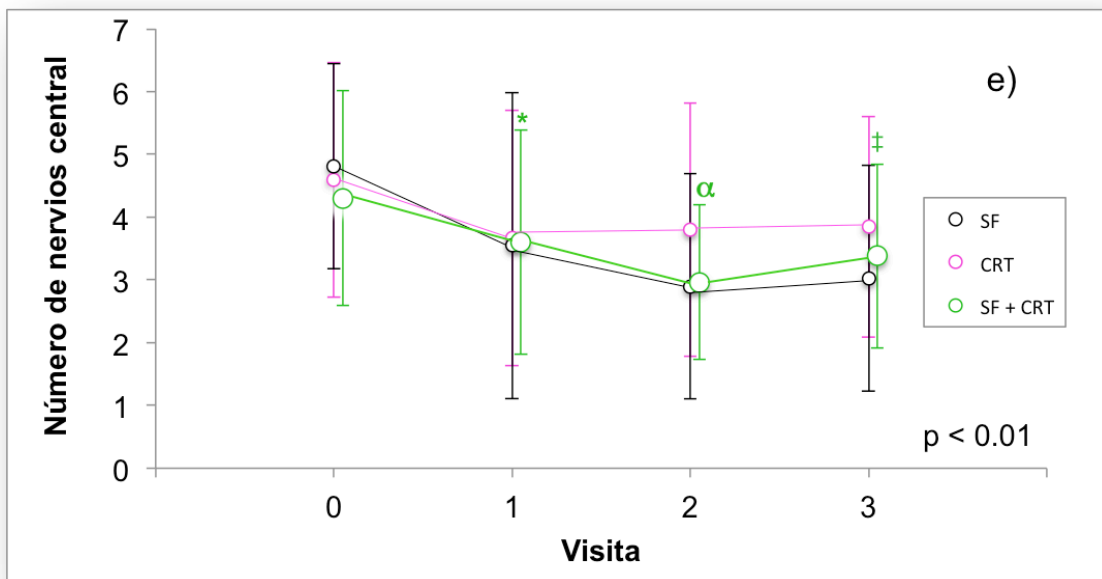


Figura 4.3e. Comparativa del número de nervios en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre 1 mes y el valor preliminar para $p < 0.05$. (α) diferencia entre la medida preliminar y 1 año de OK para $p < 0.01$. Diferencia entre la medida preliminar y 1 mes post-OK para $p < 0.05$ (\ddagger). Se incluyen los análisis de los grupos individuales.

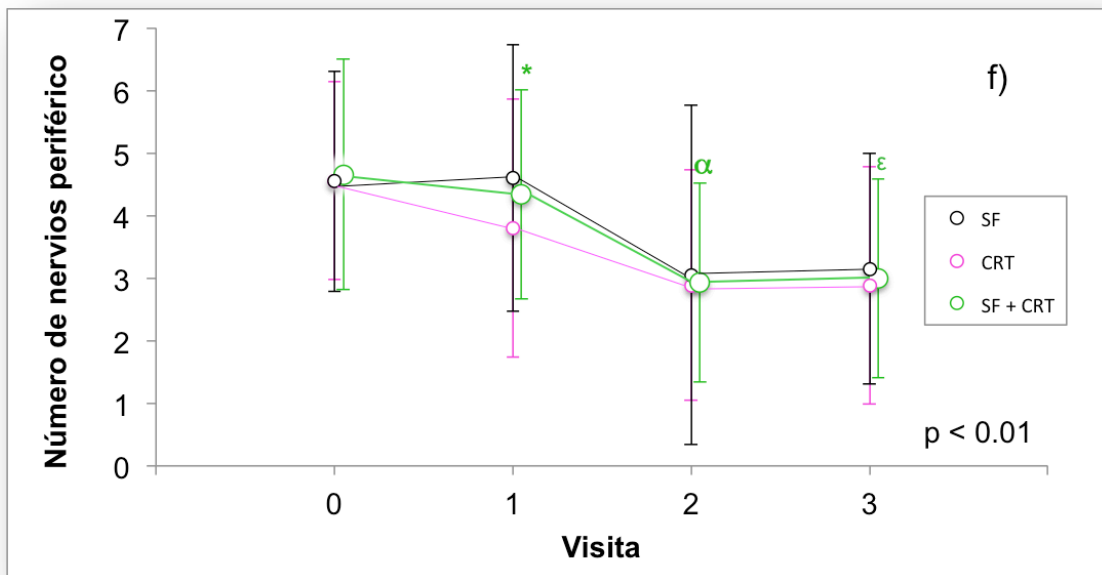


Figura 4.3f. Comparativa del número de nervios en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre 1 mes y basal para $p < 0.05$. (α) diferencia entre basal y 1 año de OK para $p < 0.01$. Diferencia entre basal y 1 mes post-OK para $p < 0.01$ (ϵ). Se incluyen los análisis de los grupos individuales.

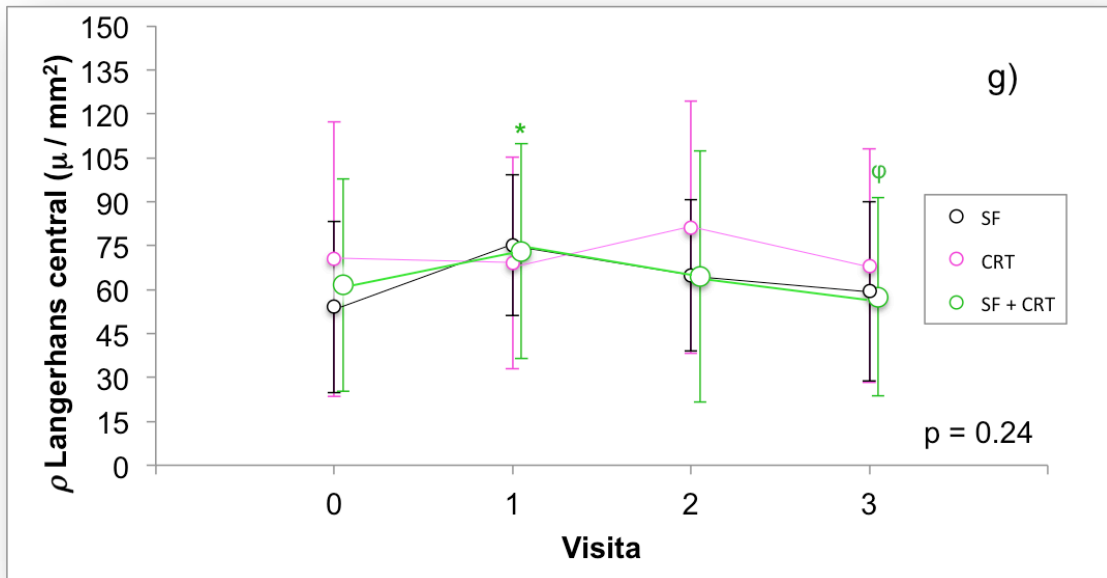


Figura 4.3g. Comparativa de la densidad de células de Langerhans en el grupo completo de OK en córnea central. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre 1 mes y el valor preliminar para $p < 0.05$. (ϕ) diferencia entre 1 año de OK y 1 mes post-OK para $p < 0.05$. Se incluyen los análisis de los grupos individuales.

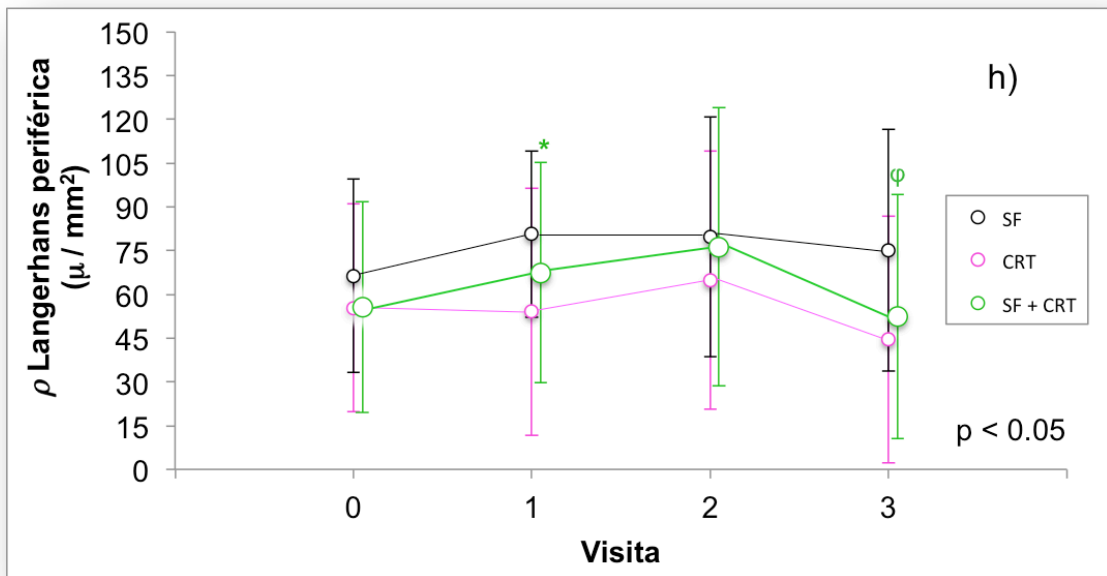


Figura 4.3h. Comparativa de la densidad de células de Langerhans en el grupo completo de OK en córnea periférica. Representación del valor medio y su desviación estándar. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre 1 mes y el valor preliminar para $p < 0.05$. (ϕ) diferencia entre 1 año de OK y 1 mes post-OK para $p < 0.05$. Se incluyen los análisis de los grupos individuales (Figura 4.2d).

Tabla 4.7a. Comparativa de los parámetros de las estructuras corneales (espesor de las capas corneales y densidad celular) en el grupo completo de OK por localización corneal.

Variable (m ± DE)		Preliminar (n=56)	1 mes (n=56)	1 año (n=32)	Post (n=50)	p-valor	
Espesor de las capas corneales	Epitelio (µm)	Central	38.96 ± 8.41	36.14 ± 9.81*	35.18 ± 8.11 ^α	38.61 ± 7.69 ^φ	0.43
		Periferia	37.26 ± 7.34	38.27 ± 9.85*	39.74 ± 9.76 ^α	37.58 ± 7.72 ^φ	0.28
	Plexo (µm)	Central	10.05 ± 1.56	10.18 ± 2.75	10.25 ± 2.98	11.08 ± 2.67	0.31
		Periferia	9.26 ± 4.12	9.34 ± 2.00	9.83 ± 2.05 ^α	9.24 ± 2.51 ^φ	0.07
	Epitelio+Plexo (µm)	Central	47.04 ± 11.15	45.42 ± 9.74*	44.14 ± 8.14 ^α	48.00 ± 9.03 ^φ	0.49
Periferia	46.37 ± 9.13	47.00 ± 10.64*	48.64 ± 10.16 ^α	46.76 ± 9.47 ^φ	0.33		
Bowman (µm)	Central	8.75 ± 2.49	9.30 ± 3.08	9.43 ± 2.87	8.20 ± 2.11	0.55	
	Periferia	7.94 ± 2.68	8.18 ± 2.47	8.33 ± 3.02 ^α	8.03 ± 2.45 ^φ	0.07	
Plexo+Bowman (µm)	Central	18.60 ± 3.79	19.02 ± 4.51	19.72 ± 4.38	18.45 ± 3.99	0.42	
Periferia	17.08 ± 4.69	17.21 ± 4.08	17.56 ± 4.06 ^α	17.11 ± 3.73 ^φ	0.08		
Densidad celular	ρ superficiales (n/mm ²)	Central	324 ± 104	414 ± 101*	530 ± 106 [†]	306 ± 97 ^λ	<0.01
		Periferia	363 ± 98	438 ± 100*	590 ± 97 [†]	312 ± 88 ^λ	<0.05
	ρ intermedias (n/mm ²)	Central	809 ± 130	829 ± 135	837 ± 129 ^α	802 ± 139 ^λ	<0.01
Periferia	821 ± 124	844 ± 133*	853 ± 144 ^α	813 ± 131 ^λ	<0.05		
ρ basales (n/mm ²)	Central	4366 ± 711	3786 ± 814*	3564 ± 779 ^α	4217 ± 708 ^φ	<0.05	
Periferia	4796 ± 509	4471 ± 613*	4292 ± 533 ^α	4384 ± 627 ^φ	0.34		

m media, DE desviación estándar, n número de OD/ítems, µm micras, (°) grados, mm² milímetros cuadrados, ρ densidad. p-valor corresponde con análisis de varianza de medidas repetidas. Bonferroni post-hoc: (*) diferencia entre la medida preliminar y 1 mes de OK para p<0.05. (α) diferencia entre la medida preliminar y 1 año de OK para p<0.01; Diferencia entre 1 año de OK y 1 mes post-OK para p<0.05 (φ) y para p<0.01 (λ).

Tabla 4.7b. Comparativa de los parámetros (reflectividad, geometría y tortuosidad del plexo nervioso sub-basal) en el grupo completo de OK por localización corneal.

Variable (m ± DE)		Preliminar (n=56)	1 mes (n=56)	1 año (n=32)	Post (n=50)	p-valor	
Reflectividad	Global	Central Periferia	0.29 ± 0.03 0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.03 0.28 ± 0.02	0.28 ± 0.04 0.29 ± 0.04	0.29 ± 0.04 0.29 ± 0.03	0.87 0.71
	Local	Central Periferia	0.32 ± 0.05 0.31 ± 0.04	0.30 ± 0.04 0.30 ± 0.04	0.31 ± 0.06 0.31 ± 0.05	0.32 ± 0.06 0.32 ± 0.05	0.73 0.86
	Nerviosa	Central Periferia	0.75 ± 0.13 0.75 ± 0.11	0.74 ± 0.11 0.75 ± 0.11	0.72 ± 0.12 0.73 ± 0.11	0.77 ± 0.11 0.72 ± 0.13	0.17 0.32
Geometría	Longitud (µm)	Central Periferia	325.00 ± 87.12 332.38 ± 93.93	336.45 ± 91.92 338.81 ± 84.97	308.54 ± 100.01 327.51 ± 97.17	316.93 ± 84.59 276.97 ± 92.78	0.57 0.40
	Anchura (µm)	Central Periferia	3.64 ± 0.49 3.60 ± 0.42	3.54 ± 0.49 3.58 ± 0.51	3.51 ± 0.77 3.48 ± 0.60	3.62 ± 0.60 3.61 ± 0.63	0.36 0.68
	Orientación (°)	Central Periferia	90.71 ± 28.93 95.32 ± 29.72	99.66 ± 25.96 100.69 ± 36.01	101.96 ± 37.25 107.89 ± 42.95	100.70 ± 38.43 102.02 ± 44.38	0.60 0.29
Tortuosidad	Subjetiva	Central Periferia	1.44 ± 0.75 1.38 ± 0.62	1.67 ± 0.79 1.63 ± 0.87	1.75 ± 0.65 1.79 ± 0.96	1.59 ± 0.78 1.53 ± 0.57	0.35 0.09
	Objetiva	Central Periferia	19.74 ± 9.90 20.21 ± 10.47	17.34 ± 8.65 17.98 ± 9.52	14.27 ± 6.66 ^α 15.87 ± 8.94	15.62 ± 9.23 15.26 ± 9.74 [‡]	<0.01 <0.05

m media, DE desviación estándar, n número de OD, µm micras, (°) grados, mm² milímetros cuadrados, ρ densidad. Diferencia entre la medida preliminar y 1 año de OK para p<0.01 (α); Diferencia entre la medida preliminar y 1 mes post-OK para p<0.05 (‡).

4.1.7. Correlaciones.

Considerando la premisa anterior sobre la similitud comportamental entre las LC utilizadas en este proyecto, se estudiaron las posibles correlaciones entre los parámetros que cambiaron significativamente a lo largo del estudio mediante regresiones simples en los 32 sujetos del estudio a largo plazo (visita de 1 año). Para ello, se creó una variable para cada parámetro que sufrió un cambio significativo. El valor de dicha variable fue calculado mediante la diferencia entre el valor preliminar y el valor obtenido en la visita donde cambió cada uno de los parámetros. Concretamente, los parámetros analizados en busca de correlaciones fueron: 1) la densidad nerviosa frente a la sensibilidad corneal, la densidad de células de Langerhans, la tortuosidad corneal y el espesor del plexo respectivamente y 2) el espesor celular frente a la densidad de células basales, intermedias y superficiales.

1. Densidad Nerviosa.

Los resultados arrojados por el análisis de correlación entre la densidad nerviosa y la sensibilidad corneal en córnea central fueron negativos ($p=0.24$; $r=-0.24$). Tampoco se encontró correlación entre la densidad de las células de Langerhans y la densidad nerviosa ($p=0.34$; $r=0.19$) en córnea periférica. Sin embargo, el cambio producido durante un año de tratamiento de OK en la tortuosidad corneal correlacionó con el cambio producido en la densidad nerviosa en el mismo periodo de tiempo, tanto en córnea central ($p<0.01$; $r=0.69$) como en córnea periférica ($p<0.01$; $r=0.76$). Por otro lado, el análisis de correlación entre el cambio producido en el espesor del plexo nervioso y la densidad celular en córnea periférica tras un año de tratamiento arrojó valores positivos ($p=0.03$; $r=-0.44$). Las Figuras 4.4a, 4.4b, 4.4c muestran los modelos de ajuste con las rectas de regresión lineal.

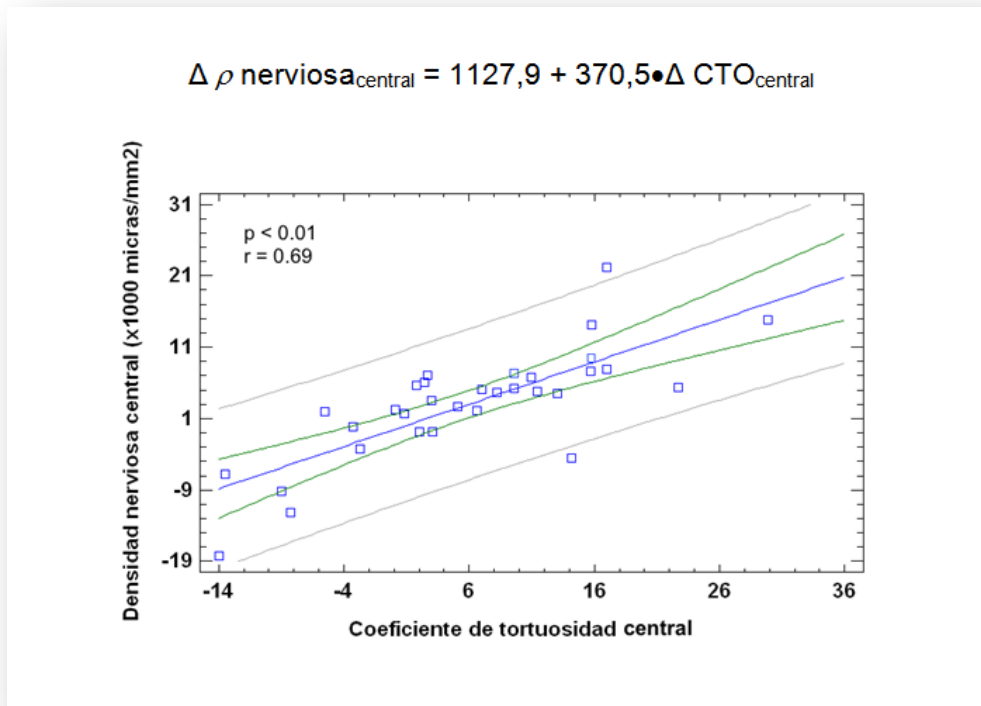


Figura 4.4a. Relación entre el cambio en la densidad nerviosa y el cambio en la tortuosidad en córnea central. Δ variación, ρ densidad, CTO coeficiente de tortuosidad objetiva.

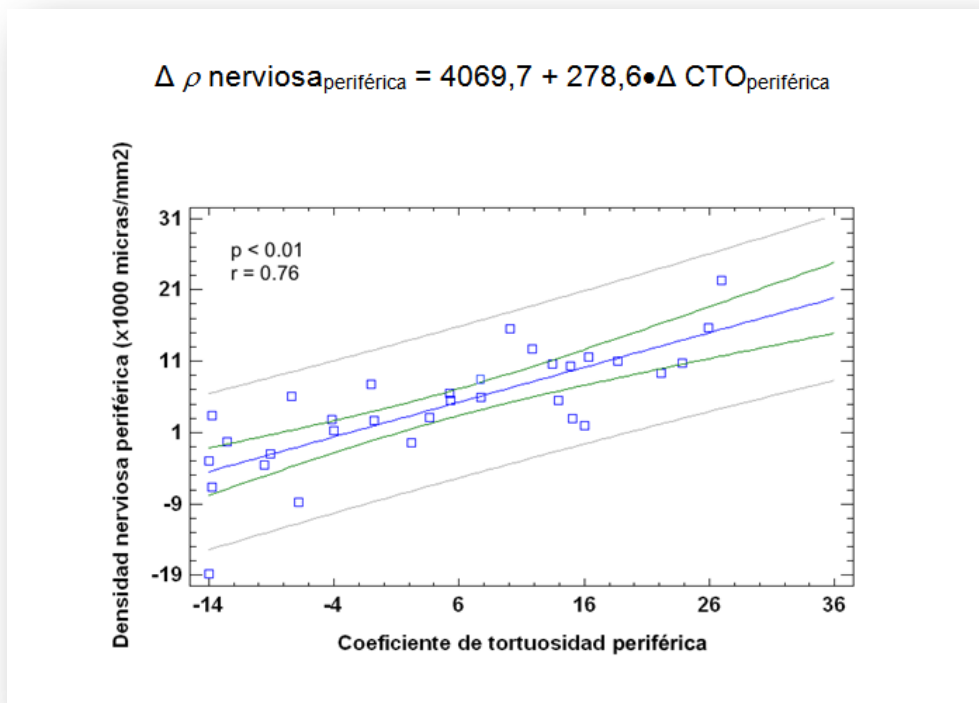


Figura 4.4b. Relación entre el cambio en la densidad nerviosa y el cambio en la tortuosidad en córnea periférica. Δ variación, ρ densidad, CTO coeficiente de tortuosidad objetiva.

El análisis de correlación entre la densidad nerviosa y la tortuosidad apunta a una relación lineal entre ambos en córnea central (Figura 4.4a) y periférica (Figura 4.4b). Este hallazgo estaría apoyado por el descubrimiento realizado por Patel et al⁴⁷, quienes estudiaron la misma correlación en córneas de sujetos sanos en un determinado punto del tiempo y encontraron una correlación débil en las regiones corneales inferior y nasal. En contraste, en el mapeado de córnea completa que realizaron Lum et al³⁶ en dos usuarios de OK se apreció una red nerviosa poco densa pero con una gran tortuosidad. No obstante, habría que tener en cuenta que el análisis llevado a cabo en la presente investigación se llevó a cabo de manera cuantitativa en un área más pequeña que la reportada por estos autores.

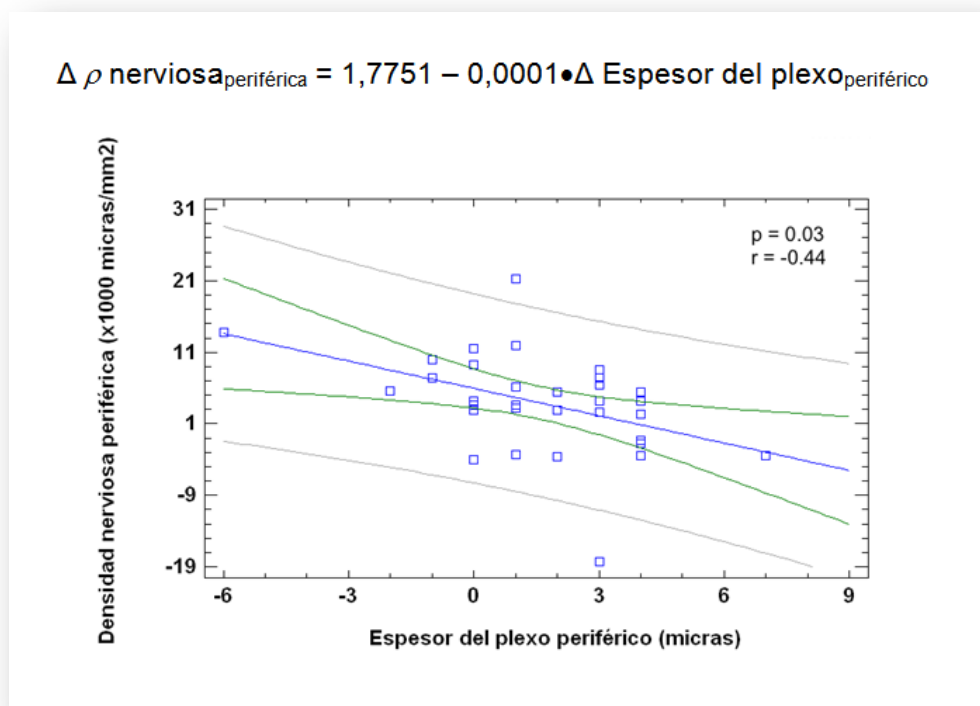


Figura 4.4c. Relación entre el cambio en la densidad nerviosa y el cambio en el espesor del PNSB en córnea periférica. Δ variación, ρ densidad.

En la sección 1.5. se exponían los hallazgos encontrados de disminución de la densidad nerviosa⁴⁹ y del espesor del plexo nervioso³⁵ en usuarios de lentes de OK, que concuerdan con los resultados obtenidos en la presente investigación. No obstante, hasta la fecha no se conocen estudios que correlacionen dichos cambios. En la Figura 4.4c. los datos confirman que dicha correlación existe y es lineal e inversa en córnea medio-periférica.

2. Espesor celular.

No se encontraron correlaciones entre los cambios producidos en el espesor celular y la densidad de células basales ni en córnea central ($p=0.90$; $r=0.057$) ni en periferia ($p=0.74$; $r=0.483$). Tampoco con la densidad de células intermedias en córnea central ($p=0.53$; $r=0.12$) ni periférica ($p=0.06$; $r=0.37$) ni con la densidad de células superficiales (centro $p=0.79$; $r=0.08$ y periferia $p=0.88$; $r=0.05$).

4.2. ESTUDIO 2

4.2.1. Análisis a más largo plazo (3 años).

En el capítulo anterior se explicó que el Estudio 2 se diseñó para verificar si los posibles cambios inducidos por el tratamiento de OK aumentaban, disminuían o se mantenían estables con más tiempo de uso de las LC, específicamente durante un periodo de 3 años.

Para llevarlo a cabo, se compararon las medidas de la visita de 1 año de los 32 sujetos de OK (17 de CRT y 15 de SF) con un grupo de 20 sujetos que llevaban más de 3 años con dicho tratamiento mediante el análisis de t-student para muestras independientes.

A continuación se muestran las tablas 4.8a y 4.8b que recogen los resultados obtenidos en todas las variables de estudio y su comparativa entre los grupos citados previamente. Se puede observar que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ningún parámetro ($p>0.05$ en todos los casos), para los dos periodos de tiempo analizados. Las medidas se facilitan en media \pm desviación estándar.

Tabla 4.8a. Comparativa entre usuarios de lentes de OK durante 1 y 3 años.

Variable		1 año OK (n=32)	3 años OK (n=20)	p-valor
		m ± DE		
Estesiometría (cm)	Central	5.27 ± 0.54	5.36 ± 0.48	0.75
	Periferia	5.36 ± 0.64	5.57 ± 0.53	0.54
Espesores de las capas corneales	Epitelio (µm)	35.18 ± 8.11	34.25 ± 9.06	0.74
	Central	39.74 ± 9.76	35.85 ± 5.11	0.32
	Periferia			
	Plexo (µm)	10.25 ± 2.98	11.40 ± 2.76	0.25
	Central	9.83 ± 2.05	10.25 ± 2.06	0.66
	Periferia			
Epitelio+Plexo (µm)	44.14 ± 8.14	43.75 ± 11.78	0.89	
Central	48.64 ± 10.16	41.71 ± 6.87	0.09	
Periferia				
Bowman (µm)	9.43 ± 2.87	10.70 ± 3.80	0.27	
Central	8.33 ± 3.02	10.00 ± 4.97	0.34	
Periferia				
Plexo+Bowman (µm)	19.72 ± 4.38	20.75 ± 5.89	0.53	
Central	17.56 ± 4.06	19.00 ± 4.55	0.41	
Periferia				
Células epiteliales	ρ superficiales (n/mm ²)	530 ± 106	405 ± 127	0.17
	Central	590 ± 97	574 ± 103	0.19
	Periferia			
ρ intermedias (n/mm ²)	837 ± 129	732 ± 122	0.10	
Central	853 ± 144	755 ± 131	0.13	
Periferia				
ρ basales (n/mm ²)	3564 ± 779	4005 ± 594	0.22	
Central	4292 ± 533	4275 ± 403	0.87	
Periferia				
Reflectividad	Global	0.28 ± 0.04	0.29 ± 0.03	0.45
	Central	0.29 ± 0.04	0.27 ± 0.03	0.06
	Periferia			
	Local	0.31 ± 0.06	0.31 ± 0.04	0.11
	Central	0.31 ± 0.05	0.29 ± 0.04	0.07
	Periferia			
Nerviosa	0.72 ± 0.12	0.76 ± 0.13	0.46	
Central	0.73 ± 0.11	0.70 ± 0.12	0.25	
Periferia				

p-valor corresponde a t-student para muestras independientes. cm centímetros, µm micras, mm² milímetros cuadrados, n número de OD/ítems por visita, ρ densidad.

Tabla 4.8b. Comparativa entre usuarios de lentes de OK durante 1 y 3 años.

Variable		1 año OK (n=32)	3 años OK (n=20)	p-valor
		m ± DE		
Geometría nerviosa	Longitud (µm)			
	Central	308.54 ± 100.01	254.40 ± 61.14	0.06
	Periferia	327.51 ± 97.17	280.22 ± 104.79	0.20
Geometría nerviosa	Anchura (µm)			
	Central	3.51 ± 0.77	3.37 ± 0.33	0.64
	Periferia	3.48 ± 0.60	3.43 ± 0.59	0.80
Geometría nerviosa	Orientación (°)			
	Central	101.96 ± 37.25	94.92 ± 22.55	0.76
	Periferia	107.89 ± 42.95	86.72 ± 43.69	0.14
Densidades plexo	Nervios (n)			
	Central	2.96 ± 1.23	3.20 ± 1.98	0.15
	Periferia	2.93 ± 1.59	3.68 ± 1.17	0.21
Densidades plexo	ρ Nervios (µm/mm ²)			
	Central	6442 ± 3713	6806 ± 2482	0.16
	Periferia	6257 ± 4213	5900 ± 4710	0.20
Densidades plexo	ρ Langerhans (n/mm ²)			
	Central	64.48 ± 42.88	45.20 ± 32.64	0.09
	Periferia	76.32 ± 47.84	52.56 ± 24.00	0.11
Tortuosidad	Subjetiva			
	Central	1.75 ± 0.65	2.25 ± 1.06	0.18
	Periferia	1.79 ± 0.96	2.22 ± 0.97	0.31
Tortuosidad	Objetiva			
	Central	14.27 ± 6.66	16.38 ± 7.21	0.23
	Periferia	15.87 ± 8.94	17.11 ± 6.89	0.31

p-valor corresponde a t-student para muestras independientes. µm micras, (°) grados, mm² milímetros cuadrados, n número de ojos derechos/ítems por visita, ρ densidad.

La alta concordancia en los resultados obtenidos en ambos grupos pone de manifiesto que los cambios producidos en la morfología corneal, por la OK tras un año de uso de las lentes, no siguen avanzando a lo largo del tiempo, sino que se produce una estabilización de los mismos.

Hasta la fecha se han llevado a cabo dos estudios en los que se comparaban los cambios producidos por las LC en usuarios de OK en periodos de largo tiempo. El primero, realizado por Lum et al³⁶, estaría en línea con los resultados obtenidos, ya que no encontraron diferencias al mapear el plexo nervioso de un sujeto reciente de OK (1 año) y compararlo con otro sujeto antiguo de OK (9 años). En el segundo,

realizado por Zhong et al¹⁸⁶, compararon un grupo de usuarios de OK de 1 día con otro grupo de usuarios de OK de 5 años, y encontraron que el adelgazamiento de la córnea en el primer grupo se debió principalmente al engrosamiento corneal periférico mientras que en el segundo grupo este cambio se asoció al engrosamiento del epitelio periférico en conjunto con el adelgazamiento del epitelio central. En el presente estudio los cambios de adelgazamiento central y engrosamiento periférico se dieron al año de tratamiento y se mantuvieron en dichos valores tras 3 años de tratamiento. Existe, por tanto, una discrepancia entre ambos estudios. Sin embargo, habría que considerar que el tiempo reportado²¹⁰ para que los cambios producidos por la OK sean significativos es de al menos 13 días, por lo que justificaría tal discrepancia.

4.3. RECAPITULACIÓN

Los resultados y conclusiones originados en la presente investigación han sido aceptados recientemente en revistas indexadas en JCR con índice de impacto en el área de oftalmología:

- Nombela-Palomo M, Felipe-Marquez G, Hernandez-Verdejo JL, et al. Short-term effects of overnight orthokeratology on corneal sub-basal nerve plexus morphology and corneal sensitivity. *Eye Contact Lens* 2016 May 26.
- Nombela-Palomo M, Felipe-Marquez G, Teus, MA, et al. Long-term impacts of orthokeratology treatment on sub-basal nerve plexus and corneal sensitivity responses and their reversibility. *Eye Contact Lens* 2017 Apr 13.

Hasta la fecha, el epitelio corneal ha sido descrito en córneas sanas^{37,136} y en usuarios de lentes de OK^{35,36}. No obstante, no se conocen estudios que evalúen todas las variables analizadas en la presente investigación de forma cuantitativa en los mismos periodos de tiempo. En esta investigación se llevó a cabo un minucioso análisis de las estructuras del epitelio en córneas normales y en usuarios que llevaron lentes de OK a corto y largo plazo, además del recobro cuando dejaron de usar las lentes, mediante procedimientos objetivos para evaluar varios parámetros.

4.3.1. Limitaciones del estudio.

Merece la pena señalar que existe una limitación respecto a la medida de la sensibilidad corneal con el estesiómetro Cochet-Bonnet. Aunque es la prueba de medida estándar objetiva, ésta tiene una componente subjetiva, que es la aprensión del sujeto. Por lo que las medidas podrían perfeccionarse usando el estesiómetro de no contacto, ya que se ha demostrado que es un instrumento más concluyente en la toma de medida de la sensibilidad corneal¹⁹³.

Además, aunque el tamaño del área corneal observado con el microscopio confocal fue menor que el examinado por otros^{36,37}, la amplia muestra considerada en la presente investigación proporciona evidencia suficiente de que el uso de las lentes de OK altera varios parámetros corneales de forma cuantitativa. De dichos parámetros, algunos como la densidad nerviosa no volvieron a sus valores preliminares al retirar las LC durante un mes. Sin embargo, habría que tomar con precaución dicho resultado pues un estudio muy reciente²⁰⁶ ha puesto de manifiesto que el tiempo para la recuperación de los cambios debidos a la OK podría superar los 3 meses. Por tanto, sería interesante analizar la recuperación de los cambios producidos por OK en periodos aún más largos de tiempo.

5. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados, la argumentación y su discusión con la literatura expuestos a largo del capítulo anterior, se pueden constatar varias conclusiones en referencia a los cambios inducidos en la morfología del epitelio corneal por un tratamiento de ortoqueratología nocturna con dos tipos de LC. Estas conclusiones son:

1. La ortoqueratología nocturna disminuye la sensibilidad corneal central a corto plazo (1 mes), y se estabiliza entre el mes y el año de tratamiento, recuperándose un mes después de retirar las lentes de contacto.
2. El espesor del epitelio celular disminuye en córnea central y aumenta en córnea periférica tras 1 mes de uso de las lentes de ortoqueratología; estas variaciones se mantienen durante todo el tratamiento y están asociados a un aumento de los espesores del plexo nervioso sub-basal y la membrana de Bowman en córnea periférica tras 1 año de ortoqueratología. Todos los cambios en los espesores de los estratos corneales evaluados se recuperaron tras la interrupción del tratamiento ortoqueratológico.
3. La ortoqueratología produce una redistribución de la densidad celular del epitelio. Por un lado la densidad de células superficiales aumenta tras 1 mes de uso de las lentes en todo el área corneal y se mantiene así hasta el año de tratamiento. Por otro lado, la densidad de células intermedias aumenta en córnea periférica al mes de tratamiento y sigue aumentando en todo el área corneal hasta el año de uso de las lentes. Adicionalmente, la densidad de células basales disminuye a corto plazo en córnea central y periférica, y se mantiene disminuida hasta 1 año de tratamiento. Todos los efectos causados en la distribución de la densidad celular en las diferentes capas epiteliales revirtieron tras el cese de las lentes de contacto.
4. La reflectividad del plexo nervioso sub-basal no aumentó a lo largo del tratamiento ortoqueratológico, de lo que se puede inferir que la córnea no perdió su transparencia y que los posibles edemas corneales a lo largo del

estudio fueron siempre inferiores al 4%. En la presente investigación se propone un método para la medida objetiva de la misma.

5. La densidad nerviosa del plexo nervioso y la tortuosidad nerviosa evaluada objetivamente se reducen tras un año de uso de las lentes de ortoqueratología y continúan disminuidas tras la finalización del tratamiento ortoqueratológico. Ambos cambios se correlacionaron de forma inversamente lineal.
6. Con el uso de las lentes de ortoqueratología el estado inmune corneal se agudiza rápidamente, dado el aumento de la densidad de células de Langerhans al mes de tratamiento. No obstante, dicho cambio se termina estabilizando a lo largo del tratamiento y la córnea recupera su estado inmune normal tras la retirada de lentes.
7. Los dos diseños geométricos de las lentes de ortoqueratología evaluadas en la presente investigación (Paragon CRT® y Seefree®) se comportan de manera similar e inducen los mismos efectos en la córnea.
8. La disminución encontrada en el espesor del plexo nervioso correlacionó con la disminución de la densidad nerviosa de forma lineal e inversa. Sin embargo, no se encontraron correlaciones entre la sensibilidad corneal y ninguno de los cambios generados en el plexo nervioso sub-basal.
9. Los cambios encontrados en las diferentes variables morfológicas, biométricas y reflectivas del epitelio corneal y de la membrana de Bowman permanecen estables entre 1 y 3 años de tratamiento ortoqueratológico. Es decir, dichos cambios se mantienen estables en un periodo mayor a 3 años de uso de las lentes de ortoqueratología.

6. REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. Bourne R.R, Stevens G.A, White R.A, et al. Causes of vision loss worldwide, 1999-2010: a systematic analysis. *The Lancet Global Health*. 2013;1:339-349.
2. He M, Huang W, Zheng Y, et al. Refractive error and visual impairment in school children in rural southern China. *Ophthalmology*. 2007;114:374-382.
3. O'Donoghue L, McClelland J.F, Logan N.S, et al. Refractive error and visual impairment in school children in Northern Ireland. *Br J Ophthalmol*. 2010;94:1155-1159.
4. Vitale S, Ellwein L, Cotch M.F, et al. Prevalence of refractive error in the United States, 1999-2004. *Arch Ophthalmol*. 2008;126:1111-1119.
5. Holden B.A, Fricke T.R, Wilson D.A, et al. Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology*. 2016;123(5):1036-1042.
6. Mitchell P, Hourihan F, Sandbach J, et al. The relationship between glaucoma and myopia: the Blue Mountains eye study. *Ophthalmology*. 1999;106(10):2010-2015.
7. Walline J.J, Lindsley K, Vedula S.S, et al. Interventions to slow progression of myopia in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;7(12):CD004916.
8. Ganesan P and Wildsoet C.F. Pharmaceutical intervention for myopia control. *Expert Rev Ophthalmol*. 2010;5(6):759-787.
9. Wei M.L, Liu J.P, Li N, et al. Acupuncture for slowing the progression of myopia in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;7(9):CD007842.
10. Ciuffreda K.J and Ordonez X. Vision therapy to reduce abnormal nearwork-induced transient myopia. *Optom Vis Sci*. 1998;75(5):311-315.
11. Vasudevan B, Ciuffreda K.J, Ludlam D.P. Accomodative training to reduce nearwork-induced transient myopia. *Optom Vis Sci*. 1998;86(11):1287-1294.
12. Gwiazda J, Hyman L, Hussein M, et al. A randomized clinical trial of progressive addition lenses versus single vision lenses on the progression of myopia in children. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(4):1492-1500.
13. Horner D.G, Soni P.S, Salmon T.O, et al. Myopia progression in adolescent wearers of soft contact lenses and spectacles. *Optom Vis Sci*. 1999;76:474-479.

14. Walline J.J, Jones L.A, Sinnott L.A. A randomized trial of the effect of soft contact lenses on myopia progression in children. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:4702-4706.
15. Anstice N.S and Phillips J.R. Effect of dual-focus soft contact lens wear on axial myopia progression in children. *Ophthalmology*. 2011;118:1152-1161.
16. Atchinson D.A, Li S-M, Li H, et al. Relative peripheral hyperopia does not predict development and progression of myopia in children. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:6162-6170.
17. Jones L. Modern contact lens materials: a clinical performance update. *Contact Lens Spectrum*. 2002(September).
18. Wilcox P and Bartels D. CANDY: controlling astigmatism and nearsightedness in developing youth. <http://www.orthokdoctor.com/wp-content/uploads/2016/03/CANDY-orthok-study.pdf>. 2016. Último acceso el 01 de Febrero de 2017.
19. Downie L. MiVision A far-sighted approach to short sightedness. <http://MiVision.com.au/a-far-shighted-approach-to-short-sightedness/>. 2011. Último acceso el 01 de Febrero de 2017.
20. Kakita T, Hiraoka T, Oshika T. Influence of overnight orthokeratology on axial elongation in childhood myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:2170-2174.
21. Davis R.L, Eiden S.B, Bennet E.S, et al. Stabilisation myopia by accelerating reshaping technique (SMART) - study three years outcomes and overview. *Adv Ophthalmol Vis Syst*. 2015;2(3):00046.
22. Bennet E.S. GP insights from the GSLS. *Contact Lens Spectrum*. 2011; <http://www.clspectrum.com/issues/2011/april-2011/gp-insights>. Último acceso el 01 de Febrero de 2017.
23. Liu Y.M and Xie P. The safety of orthokeratology - A systematic review. *Eye Contact Lens*. 2016;42(1):35-42.
24. Nichols J.J, Marsich M.M, Nguyen M, et al. Overnight orthokeratology. *Optom Vis Sci*. 2000;77:252-259.
25. Lorente-Vazquez A, Nieto-Bona A, Villa-Collar C, et al. A straylight and contrast sensitivity after corneal refractive therapy. *Optom Vis Sci*. 2011;88(10):1245-1251.
26. Stillitano I, Schor P, Lipener C, et al. Long-term follow-up of orthokeratology corneal reshaping using wavefront aberrometry and contrast sensitivity. *Eye Contact Lens*. 2008;2008(34):140-145.

27. Stillitano I, Chalita M.R, Schor P, et al. Corneal changes and wavefront analysis after orthokeratology fitting test. *Am J Ophthalmol*. 2007;144:378-386.
28. Felipe-Marquez G, Nombela-Palomo M, Cacho I, et al. Accomodative changes produced in response to overnight orthokeratology. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015;253:619-626.
29. Gonzalez-Mesa A, Villa-Collar C, Lorente-Vazquez A, et al. Anterior segment changes produced in response to long-term overnight orthokeratology. *Curr Eye Res*. 2013;38(8):862-870.
30. Gonzalez-Meijome J.M, Villa-Collar C, Queiros A, et al. A pilot study on the influence of corneal biomechanical properties over the short term in response to corneal refractive therapy for myopia. *Cornea*. 2008;27:421-426.
31. Chen D, Lam A.K.C, Cho P. A pilot study on the corneal biomechanical changes in short-term orthokeratology. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2009;29:464-471.
32. Santodomingo-Rubido J, Villa-Collar C, Gilmartin B, et al. Short and long-term changes in corneal aberrations and axial length induced by orthokeratology in children are not correlated. *Eye Contact Lens*. 2016 Jun 20.
33. Nieto-Bona A, Gonzalez-Mesa A, Nieto-Bona M.P, et al. Short-term effects of overnight orthokeratology on corneal cell morphology and corneal thickness. *Cornea*. 2011a;30(6):646-654.
34. Cheung S.W, Cho P, Bron A.J, et al. Case report: the occurrence of fibrillary lines in overnight orthokeratology. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2006;26:525-531.
35. Nieto-Bona A, Gonzalez-Mesa A, Nieto-Bona M.P, et al. Long-term changes in corneal morphology induced by overnight orthokeratology. *Curr Eye Res*. 2011b;36(10):895-904.
36. Lum E, Golebiowski B, Swarbrick H.A. Mapping the sub-basal nerve plexus in orthokeratology lens wear using in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(4):1803-1809.
37. Patel D and McGhee C. Mapping of the normal human corneal sub-basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(12):4485-4488.
38. Gonzalez-Perez J, Villa-Collar C, Gonzalez-Meijome J.M, et al. Long-term changes in corneal structure and tear inflammatory mediators after orthokeratology and LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(9):5301-5311.

39. Hazlett L.D, McClellan S.M, Hume E.B.H, et al. Extended wear contact lens usage induces Langerhans cell migration into cornea. *Exp Eye Res.* 1999;69:575-577.
40. Zhivov A, Stave J, Vollmar B, et al. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the corneal epithelium of healthy volunteers and contact lens wearers. *Cornea.* 2007;26:47-54.
41. Hiraoka T, Kaji Y, Okamoto F, et al. Corneal sensation after overnight orthokeratology. *Cornea.* 2009;28(8):891-895.
42. Linna T.U, Vesaluoma M.H, Perez-Santoja J.J, et al. Effect of myopic LASIK on corneal sensitivity and morphology of sub-basal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(8):2027-2027.
43. Darwish T, Brahma A, O'Donnell C, et al. Sub-basal nerve fiber regeneration after LASIK and LASEK assessed by noncontact esthesiometry and in vivo confocal microscopy: prospective study. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33(9):1515-1521.
44. Rosenberg M.E, Tervo T.M.T, Immomen I.J, et al. Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(10):2915-2921.
45. Tavakoli M, Boulton A.J.M, Efron N, et al. Increased Langerhans cell density and corneal nerve damage in diabetic patients: role of immune mechanisms in human diabetic neuropathy. *Cont Lens Ant Eye.* 2011;34(1):7-11.
46. Patel S.V, McLaren J.W, Hodge D.O, et al. Confocal microscopy in vivo in corneas of long-term contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(4):995-1003.
47. Patel D, Tavakoli M, Craig, et al. Corneal sensitivity and slit scanning in vivo confocal microscopy of the sub-basal nerve plexus of the normal central and peripheral human cornea. *Cornea.* 2009;28(7):735-740.
48. Lum E, Golebiowski B, Swarbrick H.A. Changes in corneal sub-basal nerve morphology and sensitivity during orthokeratology: onset of change. *Ocul Surf.* 2016 Sept 1.
49. Lum E, Golebiowski B, Swarbrick H.A. Reduced corneal sensitivity and sub-basal nerve density in long-term orthokeratology lens wear. *Eye Contact Lens.* 2016 Jul 12.
50. Rüfer F, Schröder A, Erb C. White-to-white corneal diameter: normal values in healthy humans obtained with the Orbscan II topography system. *Cornea.* 2005;24:259-261.

51. Ruberti J.W, Roy A.S, Roberts C.J. Corneal biomechanics and biomaterials. *Annu Rev Biomed Eng.* 2011;13(269-295).
52. Dubbelman M, Sicam V.A.P.D, Van der Heijde G.L. The shape of anterior and posterior surface of the aging human cornea. *Vis Res.* 2006;46(6):993-1001.
53. Srinivas S.P. Dynamic regulation of barrier integrity of the corneal endothelium. *Optom Vis Sci.* 2010;87(4):E239-254.
54. Dejana E, Corada M, Lampugnani M.G. Endothelial cell-to-cell junctions. *FASEB J.* 1995;9:910-918.
55. Schnittler H.J. Structural and functional aspects of intercellular junctions in vascular endothelium. *Basic Res Cardiol.* 1998;93:30-39.
56. Ramachandran C and Srinivas S.P. Formation and disassembly of adherens and tight junctions in the corneal endothelium: regulation by actomyosin contraction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:2139-2148.
57. Harstock A, Nelson W.J. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1778:660-669.
58. Noske W, Fromm M, Levarlet B, et al. Tight junctions of the human corneal endothelium: morphological and electrophysiological features. *Ger J Ophthalmol.* 1994;3:253-257.
59. Olsen T. Non contact specular microscopy of the corneal endothelium. *Acta Ophthalmol.* 1979;57:986-989.
60. McCarey B.E. Noncontact specular microscopy: a macrophotography technique and some endothelial cell findings. *Ophthalmology.* 1979;86:1848-1860.
61. Yee R.W, Matsuda M, Schultz R.O, et al. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res.* 1985;4:671-678.
62. Kenneth J and Manus C. Normal endothelial cell count range. *Ophthalmology.* 1980;87:861-866.
63. Matsuda M, Yee R.W, Edelhauser H.F. Comparison of the corneal endothelium in an American and Japanese population. *Arch Ophthalmol.* 1985;103:68-70.
64. Ventura A.C, Wälti R, Böhnke M. Corneal thickness and endothelial density before and after cataract surgery. *Br J Ophthalmol.* 2001;85(1):18-20.
65. Maurice DM. The Cornea and Sclera. 3rd edition. New York. Academic Press. 1969: 1–158.
66. Baldwin A and Thurston G. Mechanics of endothelial cell architecture and vascular permeability. *Crit Rev Biomed Eng.* 2001;29(2):247-278.

67. Kirk R.W. External disease and cornea. In: Basic and Clinical Science Course, Section 8 (2004–2005). San Francisco (CA): American Academy of Ophthalmology. 2005:32-33.
68. Bonanno J.A. Molecular mechanisms underlying the corneal endothelial pump. *Exp Eye Res.* 2012;95:2-7.
69. Fischbarg J. On the mechanism of fluid transport accross corneal endothelium and epithelia in general. *J Exp Zool A Comp Exp Biol.* 2003;300:30-40.
70. Hatou S, Yamada M, Mochizuki H, et al. The effects of dexamethasone on the Na,K-ATPase activity and pump function of corneal endothelial cells. *Curr Eye Res.* 2009;34:347-354.
71. Kabosova A, Azar D.T, Bannikov G.A, et al. Compositional differences between infant and adult human corneal basement membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:4989-4999.
72. LeBleu V.S, McDonald B, Kalluri R. Structure and function of basement membranes. *Exp Biol Med.* 2007(232):1121-1129.
73. Ljubimov A.V, Burgeson R.E, Butkowski A.F, et al. Human corneal basement membrane heterogeneity: topographical differences in the expression of type IV collagen and laminin isoforms. *Lab Investig.* 1995;72:461-473.
74. Sawada H, Konomi H, Hirosawa K. Characterization of the collagen in the hexagonal lattice of Descemet's membrane: its relation to type VIII collagen. *J Cell Biol.* 1990;110:219-227.
75. Murphy C, Alvarado J, Juster R. Prenatal and postnatal growth of the human Descemet's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1984;25:1402-1415.
76. Dua H.S, Faraj L.A, Said D.G, et al. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology.* 2013;120(9):1778-1785.
77. Labat-Robert J and Robert L. Fifty years of structural glycoproteins. *Pathol Biol (Paris).* 2012;60:66-75.
78. Wall R.S, Elliot G.F, Gyi T.J, et al. Bovine corneal stroma contains a structural glycoprotein located in the gap region of the collagen fibrils. *Biosci Rep.* 1988;8:77-83.
79. Cooper L.J, Bentley A.J, Nieduszynski I.A, et al. The role of dermatopontin in the stromal organization of the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:3303-3310.
80. Meek K.M. Corneal collagen - its role in the maintaining corneal shape and transparency. *Biophys Rev.* 2009a;1:83-93.

81. Meek K.M, Quantock. The use of X-ray scattering techniques to determine corneal ultrastructure. *Prog Retin Eye Res.* 2001;20:95-137.
82. Meek K.M, Boote. The use of X-ray scattering techniques to quantify the orientation and distribution of collagen in the corneal stroma. *Prog Retin Eye Res.* 2009b(28):369-392.
83. Donohue D.J, Stoyanov B.J, McCally R.L, et al. Numerical modelling of the cornea's lamellar structure and birefringence properties. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis.* 1995;12:1425.
84. Hart R.W, Farrell R.A. Light scattering in the cornea. *J Opt Soc Am.* 1969;59:766-774.
85. Radner W, Zehetmayer M, Aufreiter R, et al. Interlacing and cross-angle distribution of collagen lamellae in the human cornea. *Cornea.* 1998(17):537-543.
86. Komai Y, Ushiki T. The three-dimensional organisation of collagen fibrils in the human cornea and sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1991;32:2244-2258.
87. Bron A.J. The architecture of the corneal stroma. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:379-381.
88. Gordon M.K, Foley J.W, Birk D.E, et al. Type V collagen and Bowman's membrane. Quantification of mRNA in corneal epithelium and stroma. *J Biol Chem.* 1994;269:24959-24966.
89. Adler F.H and Hart W.M. Adler's physiology of the eye: clinical application. 9th Edition. St. Louis: Mosby Year Book; 1992.
90. Kobayasi A, Yokogawa H, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopy of Bowman's layer of the cornea. *Ophthalmology.* 2006;113(12):2203-2208.
91. Winkler M, Chai D, Krilling S, et al. Nonlinear optical macroscopic assessment of 3-D corneal collagen organization and axial biomechanics. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:8818.
92. Lagali N, Germundsson J, Fagerholm P. The role of Bowman's layer in corneal regeneration after phototherapeutic keratectomy: a prospective study using in vivo confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:4192-4198.
93. Ethier C.R, Johnson M, Ruberti J. Ocular biomechanics and biotransport. *Annu Rev Biomed Eng.* 2004;6:249.
94. Klyce S.D and Crosson C.E. Transport processes across the rabbit corneal epithelium: a review. *Curr Eye Res.* 1985;4:323-331.
95. Thoft R.A, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1983;24:1442-1443.

96. Del Monte D.W and Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37:588-598.
97. Klyce S.D. Electrical profiles in the corneal epithelium. *J Physiol.* 1972;226:407-429.
98. Klyce S.D. Enhancing fluid secretion by the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977;16:968-973.
99. Dohlman C.H. The function of the corneal epithelium in health and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1971;10:383-407.
100. Oliveira-Soto L and Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea.* 2001;20:374-384.
101. Bron A.J, Tripathi R.C, Tripathi B. Wolff's anatomy of the eye and orbit. *Chapman and Hall Medical.* London. 1997: 273.
102. Vaughn D. *General ophthalmology.* New York: Appleton and Lange. 1992.
103. May A. Morphology of the long and short uveal nerves in the human eye. *J Anat.* 2004;205:113-120.
104. Trivino A, De Hoz R, Salazar J.J, et al. Distribution and organization of the nerve fiber ganglion cells of the human choroid. *Anat Embriol.* 2002;205:417-430.
105. Müller L.J, Pels E, Vrensen G.F. Ultrastructural organization in human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37(4):476-488.
106. Rózsa A.J and Beuerman R.W. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain.* 1982;14(2):105-120.
107. Müller L.J, Vrensen G.F.J.M, Pels L, et al. Architecture of the human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38:985-994.
108. Matsuda H. Electron microscopic study of the corneal nerve with special reference to the nerve endings. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 1968;72(7):880-893.
109. Misra S, Craig J, McGhee C, Patel D. Interocular comparison by in vivo confocal microscopy of the 2-dimensional architecture of the normal human corneal subbasal nerve plexus. *Cornea.* 2012;31(12):1376-1380.
110. Grupcheva C.N, Wong T, Riley A.F, et al. Assessing the sub-basal nerve plexus of the living healthy human cornea by in vivo confocal microscopy. *Clin Exp Ophthalmol.* 2002(30):187-190.
111. Martin X.Y and Safran A.B. Corneal hypoesthesia. *Surv Ophthalmol.* 1988;33(28-40).

112. Beuerman R.W and Schimmelpfennig B. Sensory denervation of the rabbit cornea affects epithelial properties. *Exp Neurol*. 1980;69:196-201.
113. Kholaas M, Lerche R.C, Klemm M, et al. Aesthesiometry after cryokeratomileusis and in situ keratomileusis. *Eur J Implant Refract Surg*. 1995;7:164-169.
114. Kanellopoulos A.J, Pallikaris I, Donnenfeld E.D, et al. Comparison of corneal sensation following photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 1997;23:34-38.
115. Perez-Santoja J.J, Sakla H.F, Cardona C, et al. Corneal sensitivity after photorefractive keratectomy (PRK) and laser in situ keratomileusis (LASIK) for low myopia. *Am J Ophthalmol*. 1999;127:497-504.
116. Draeger J. Topography of corneal sensitivity. In *Corneal sensitivity: measurement and clinical importance*. New York: Springer-Verlag Wien. 1984.
117. Millodot M. The influence of age on the sensitivity of the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1977;16:240-242.
118. Murphy P.J, Patel S, Kong N, et al. Noninvasive assessment of corneal sensitivity in young and elderly diabetic and nondiabetic subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:1737-1742.
119. Murphy P.J, Patel S, Marshall J. The effect of long-term, daily contact lens wear on corneal sensitivity. *Cornea*. 2001;20(3):264-269.
120. Millodot M. Effect of soft lenses on corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1974;52:603-608.
121. Millodot M. Long-term wear of hard contact lenses and corneal integrity. *Contacto*. 1978;22:7-12.
122. Polse K.A. Etiology of corneal sensitivity changes accompanying contact lens wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1978;17(12):1202-1206.
123. Stapleton F, Tan M.E, Papas E.B. Corneal and conjunctival sensitivity to air stimuli. *Br J Ophthalmol*. 2004;88:1547-1551.
124. Stapleton F, Golebiowski B, Skotnitsky C. Corneal and conjunctival sensitivity in intolerant contact lens wearers. *J Optom*. 2015;8(1):62-63.
125. Situ P, Simpson T.L, Jones L.W, et al. Effects of silicone hydrogel contact lens wear on ocular surface sensitivity to tactile, pneumatic mechanical and chemical stimulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:6111-6117.
126. Auran J.D, Koester C.J, Kleiman N.J, et al. Scanning slit confocal microscopic observation of cell morphology and movement within the normal human anterior cornea. *Ophthalmology*. 1995;102(1):33-41.

127. Zhivov A, Stave J, Vollmar B, et al. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243(10):1056-1061.
128. Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, et al. Epithelial dendritic cell distribution in normal and inflamed human cornea: in vivo confocal microscopy study. *Am J Ophthalmol*. 2006;142(5):736-742.
129. Belmonte C, Acosta M.C, Schmelz M, et al. Measurement of corneal sensitivity to mechanical and chemical stimulation with CO2 esthesiometer. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40(2):513-519.
130. Tavakoli M and Malik R.A. Clinical applications of corneal confocal microscopy. *Clin Ophthalmol*. 2008;2(2):435-445.
131. He J, Bazan N.G, Bazan H.E.P. Mapping the entire human corneal nerve architecture. *Exp Eye Res*. 2010;91(4):513-523.
132. Müller L.J, Marfurt C, Kruse F, et al. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res*. 2003;23(2):163-174.
133. Dawson D.G, Holley G, Geroski D.H, et al. Ex vivo confocal microscopy of human LASIK corneas with histologic and ultrastructural correlation. *Ophthalmology*. 2005;112:634-644.
134. Marfurt C.F, Cox J, Deek S, et al. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res*. 2010;90(4):478-492.
135. Al-aqaba M, Thaer A, Miri A, et al. Ex vivo confocal microscopy of human corneal nerves. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(9):1251-1257.
136. Oliveira-Soto L and Efron N. Morphology of corneal nerves in soft contact lens wear. A comparative study using confocal microscopy. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2003;23(2):163-174.
137. Minsky M, inventor. 1957. Microscopy Apparatus. U.S. Pat. 3,013,467.
138. Wilson T, Sheppard C. *Theory and practice of scanning optical microscopy*. London.1984. Academic Press Inc. London LTD.
139. Hill JD, inventor. 1994. Confocal tandem scanning reflected light microscope. U.S. Pat. 5,307,203.
140. Masters B.R and Thaer A.A. Real-time scanning slit confocal microscopy of the in vivo human cornea. *Applied Optics*. 1994;33:695-701.
141. Boyde A. Confocal optical microscopy. *Microsc Anal*. 1988;1:7-13.
142. Efron N, Perez-Gomez I, Mutalib H.A, et al. Confocal microscopy of the normal human cornea. *Cont Lens Ant Eye*. 2001;24:16-24.

143. Wright S.J, Centezone V.E, Stricker S.A, et al. Introduction to confocal microscopy and three-dimensional reconstruction. *Methods Cell Biol.* 1993;38:1-45.
144. Böhnke M and Masters B.R. Confocal microscopy of the cornea. *Prog Retin Eye Res.* 1999;18(5):553-628.
145. Hollingsworth J, Perez-Gomez I, Mutalib H.A, et al. A population study of the normal cornea using an in vivo, slit-scanning confocal microscope. *Optom Vis Sci.* 2001;78(10):706-711.
146. Jalbert I, Stapleton F, Papas E, et al. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol.* 2003;87(2):225-236.
147. Tervo T and Moilanen J. In vivo confocal microscopy for evaluation of wound healing following corneal refractive surgery. *Prog Retin Eye Res.* 2003;22(3):339-358.
148. Tervo T, Moilanen J, Rosenberg M.E, et al. In vivo confocal microscopy for studying corneal diseases and conditions associated with corneal nerve damage. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506 (Pt A):657-665.
149. Kallinikos P, Berbanu M, O'Donnell C, et al. Corneal nerve tortuosity in diabetic patients with neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(2):418-422.
150. Nejima R, Miyata K, Tanabe T, et al. Corneal barrier function, tear film stability, and corneal sensation after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol.* 2005;139(1):64-71.
151. Alharbi A and Swarbrick H.A. The effects of overnight orthokeratology lens wear on corneal thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:2518-2523.
152. Gonzalez-Meijome J.M, Villa-Collar C, Garcia-Porta N. Actualización en ortoqueratología: teoría y práctica de la terapia refractiva corneal moderna. *Gaceta Óptica.* 2010;452:36-47.
153. Villa-Collar C and Gonzalez-Meijome J.M. *Ortoqueratología nocturna.* Madrid. 2007. CNOO.
154. Swarbrick H.A. Orthokeratology review and update. *Clin Exp Ophthalmol.* 2006;89(3):124-143.
155. Jessen G.N. Orthofocus techniques. *Contacto.* 1962;6(7):200-204.
156. Neilson R.H, Grant S, May C.H. Emotropization through contact lenses. *Contacto.* 1964;8(4):20-21.
157. Nolan J. Orthokeratology with steep lenses. *Contacto.* 1972;16:31-37.
158. Coon L.J. Orthokeratology. Part II: evaluating the Tabb method. *J Am Optom Assoc.* 1984;55(6):409-418.

159. Kerns R.L. Research in orthokeratology. Part I: introduction and background. *J Am Optom Assoc.* 1976a;47:1047-1051.
160. Kerns R.L. Research in orthokeratology. Part II: experimental design, protocol and method. *J Am Optom Assoc.* 1976b;47:1275-1285.
161. Kerns R.L. Research in orthokeratology. Part III: results and observations. *J Am Optom Assoc.* 1976c;47:1505-1515.
162. Binder P.S, May C.H, Grant S.C. An evaluation of orthokeratology. *Ophthalmology.* 1980;87:729-744.
163. Brand R.J, Polse K.A, Schwalbe J.S. The Berkeley orthokeratology study, part I: general conduct of the study. *Am J Optom Physiol Opt.* 1983;60:175-186.
164. Polse K.A, Brand R.J, Schwalbe J.S, et al. The Berkeley orthokeratology study, part II: efficacy and duration. *Am J Optom Physiol Opt.* 1983a;60:187-198.
165. Polse K.A, Brand R.J, Schwalbe J.S, et al. The Berkeley orthokeratology study, part III: safety. *Am J Optom Physiol Opt.* 1983b;60:321-328.
166. Jessen G.N. Contact lenses as a therapeutic device. *Am J Optom Arch Am Acad Optom.* 1964;41:429-435.
167. Fontana A.A. Orthokeratology using the one piece bifocal. *Contacto.* 1972;16(6):45-47.
168. Harris D.H & Stoyan N. A new approach to orthokeratology. *Contact Lens Spectrum.* 1992;7(4):37-39.
169. Wlodyga R.J and Bryla C. Corneal molding: the easy way. *Contact Lens Spectrum.* 1989;4:58-65.
170. Holden B.A and Mertz G.W. Critical oxygen levels to avoid corneal edema for daily and extended wear contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1984;25:1161-1167.
171. Berntsen D.A, Barr J.T, Mitchell G.L. The effect of overnight contact lens corneal reshaping on higher-order aberrations and best-corrected visual acuity. *Optom Vis Sci.* 2005;82(6):490-497.
172. Vestergaard A.H. Past and present of corneal refractive surgery: a retrospective study of long-term results after PRK and a prospective study of refractive lenticule extraction. *Acta Ophthalmol.* 2014;92(2):1-21.
173. Mountford J. An analysis of the changes in corneal shape and refractive error induced by accelerated orthokeratology. *Int Contact Lens Clin.* 1997;24(4):128-144.
174. Swarbrick HA, Wong G, O'Leary DJ. Corneal response to orthokeratology. *Optom Vis Sci.* 1998;75(11):791-799.

175. Matsubara M, Kamei Y, Takeda S, et al. Histologic and histochemical changes in rabbit cornea produced by an orthokeratology lens. *Eye Contact Lens*. 2004;30(4):198-204.
176. Choo JD, Caroline PJ, Harlin DD, et al. Morphologic changes in cat epithelium following continuous wear of orthokeratology lenses: a pilot study. *Cont Lens Ant Eye*. 2008;31:29-37.
177. Barr JT, Pall B, Szczotka LB, et al. Corneal endothelial morphology results in the Menicom Z 30-day continuous-wear contact lens clinical trial. *Eye Contact Lens*. 2003;34:140-145.
178. Lawrenson J and Ruskell G. Investigation of limbal touch sensitivity using a Cochet-Bonnet aesthesiometer. *Br J Ophthalmol*. 1993;77(6):339-343.
179. Stachs O, Zhivov A, Kraak R, et al. In vivo three-dimensional confocal laser scanning microscopy of the epithelial nerve structure in the human cornea. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;245(4):569-575.
180. Ivarsen A, Stultiens BA, Möller-Pedersen T. Validation of confocal microscopy through focusing for corneal sublayer pachymetry. *Cornea*. 2002;21:700-704.
181. Abramoff M, Magalhaes P, Ram S. Image processing with ImageJ. *Biophoton Int*. 2004;11(7):36-42.
182. Nieto-Bona A. *Cambios fisiológicos de la córnea en respuesta al uso de ortoqueratología nocturna*. Madrid: Optica II: Optometria y Vision. GICO, Universidad Complutense de Madrid; 2010. Tesis doctoral. <http://eprints.ucm.es/12141/>
183. Meijering E. Neuron tracing in perspective. *Cytometry A*. 2010;77(7):693-704.
184. Cottrell P, Ahmed S, James C, et al. NeuronJ is a rapid and reliable open source tool for evaluating corneal nerve density in herpes simplex keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(11):7312-7320.
185. Newcombe R and Duff G. Eyes or patients? Traps for the unwary in the statistical analysis of ophthalmological studies. *Br J Ophthalmol*. 1987;71(9):645-646.
186. Zhong X, Cheng X, Xie R.Z, et al. Differences between overnight and long-term wear of orthokeratology contact lenses in corneal contour, thickness and cell density. *Cornea*. 2009;28(3):271-279.
187. Chan B, Cho P, Mountford J, et al. Relationship between corneal topographical changes and subjective myopic reduction in overnight orthokeratology: a retrospective study. *Clin Exp Ophthalmol*. 2010;93(4):237-242.

188. Tsukiyama J, Miyamoto Y, Higaki S, et al. Changes in the anterior and posterior radii of the corneal curvature and anterior chamber depth by orthokeratology. *Eye Contact Lens*. 2008;34(1):17-20.
189. Rah M.J, Bailey M.D, Jones L.A, et al. Changes in high and low contrast logMAR visual acuity with overnight orthokeratology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(13):3095.
190. Hiraoka T, Okamoto F, Kaji Y, et al. Optical quality of the cornea after overnight orthokeratology. *Cornea*. 2006;25(10 suppl 1):S59-S63.
191. Booranapong W, Tanthuvanit P, Suwannik A. Corneal sensitivity in normal Thai population. *Siriraj Med J*. 2005;57:262-265.
192. Lum E, Golebiowski B, Gunn R, et al. Corneal sensitivity with contact lenses of different mechanical properties. *Optom Vis Sci*. 2013;90:954-960.
193. Murphy P.J, Patel S, Marshall J. A new non-contact corneal aesthesiometer (NCCA). *Ophthalmic Physiol Opt*. 1996;16:101-107.
194. Frisani M, Alberto D, Greco M. Epithelial, Bowman's layer, stromal and corneal thickness changes during orthokeratology by SD-OCT. Presentado en EAOO de Copenhagen en 2010. https://www.academia.edu/30323052/Epithelial_Bowmans_layer_stromal_and_corneal_thickness_changes_during_orthokeratology_by_SD-OCT.
195. Haque S, Fonn D, Simpson TL, et al. Corneal and epithelial thickness changes after 4 weeks of overnight corneal refractive therapy lens wear measured with optical coherence tomography. *Eye Contact Lens*. 2004;30:189-193.
196. Lu F, Simpson T, Sorbara L, et al. Malleability of the ocular surface in response to mechanical stress induced by orthokeratology contact lenses. *Cornea*. 2008;27:133-141.
197. McLaren J.W, Nau C.B, Patel S, et al. Measuring corneal thickness with the Confoscan 4 and z-ring adapter. *Eye Contact Lens*. 2007;33(4):185-190.
198. Lian Y, Shen M, Jiang J, et al. Vertical and horizontal thickness profiles of the corneal epithelium and Bowman's layer after orthokeratology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(1):691-696.
199. Ren D.H, Petroll W.M, Jester J.V, et al. The effect of rigid gas permeable contact lens wear on proliferation of rabbit corneal and conjunctival epithelial cells. *Cont Lens Ass Ophthalmol J*. 1999;25(3):136-141.
200. Ladage P.M, Yamamoto K, Ren D.H, et al. Effects of rigid and soft contact lens daily wear on corneal epithelium, tear lactate dehydrogenase and bacterial binding to exfoliated epithelial cells. *Ophthalmology*. 2001;108(7):1279-1288.

201. Holden B.A, Sweeney D.F, Collin H.B. The effects of RGP and silicone elastomer lens binding on corneal structure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1989;30:481.
202. Ladage P.M, Yamamoto K, Li L, et al. Corneal epithelial homeostasis following daily and overnight contact lens wear. *Cont Lens Ant Eye.* 2002;25(1):11-21.
203. Mertz G. Overnight swelling of the living human cornea. *J Am Optom Assoc.* 1980;51:211-214.
204. Pons M.E, Ishikawa H, Gürses-Özden R, et al. Assessment of retinal nerve fiber layer internal reflectivity in eyes with and without glaucoma using optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(8):1044-1047.
205. Gardiner S.K, Demirel S, Reynaud J, et al. Changes in retinal nerve fiber layer reflectance intensity as a predictor of functional progression in glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 2016;170:75-82.
206. Lum E, Golebiowski B, Swarbrick H.A. Changes in corneal sub-basal nerve morphology and sensitivity during orthokeratology: recovery of change. *Ocul Surf.* Apr;15(2):236-241.
207. Hamrah P, Zhang Q, Liu Y, et al. Novel characterization of MHC class II-negative population of resident corneal Langerhans cell-type dendritic cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:639-646.
208. Tuisku I.S, Konttinen Y.T, Konttinen L.M, et al. Alterations in corneal sensitivity and nerve morphology in patients with primary Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res.* 2008;86:879-885.
209. Sindt C.W, Grout T.K, Critser D.B, et al. Dendritic immune cell densities in the central cornea associated with soft contact lens types and lens care solution types: a pilot study. *Clin Exp Ophthalmol.* 2012;6:511-519.
210. Knappe S, Stachs O, Guthoff R. Corneal changes after wearing orthokeratology contact lenses: an investigation using in vivo, confocal laser scanning microscopy. *Ophthalmologe.* 2007 Aug;104(8):681-7. German.

7. ANEXOS

ANEXOS

ANEXO 1. INFORME DEL COMITÉ ÉTICO.



Informe Dictamen Favorable
Proyecto Investigación Biomédica

C.P. - C.I. 11/335-E

15 de noviembre de 2011

CEIC Hospital Clínico San Carlos

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Dra. Mar García Arenillas
Secretaria del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el proyecto de investigación titulado "**Cambios binoculares y acomodativos inducidos por ortoqueratología nocturna**" con código interno nº 11/335-E del que es Investigadora Principal la **Dra. Amelia Nieto Bona** de la Escuela Universitaria de Optica. Departamento de Optica II (Optometría y Vision), de la Universidad Complutense de Madrid, ha sido estudiado por este Comité, no habiéndose realizado objeción alguna al mismo.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto.

Lo que firmo en Madrid, a 15 de noviembre de 2011

Dra. Mar García Arenillas
Secretaria del CEIC Hospital Clínico San Carlos

ANEXO 2. CORREO ELECTRÓNICO INFORMATIVO. (Reportado a los 161 participantes que contactaron al equipo de investigación)

ESTUDIO ORTOQUERATOLOGÍA NOCTURNA

La Ortoqueratología nocturna o Terapia Corneal Refractiva es un procedimiento **seguro** y no quirúrgico, que utiliza unas **lentes rígidas** especiales de alta permeabilidad, el cual moldea la córnea mientras el paciente duerme. Por la mañana se retiran las lentes y el paciente es capaz de ver con **buena visión** durante el día sin ninguna corrección visual.

El tratamiento existe desde los años 60, y en 2002 fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration, organismo de sanidad americano) siendo un tratamiento rápido, eficaz y sin mas complicaciones que cualquier otro tipo de lentes de contacto.

Es un tratamiento **reversible**, si se dejan de usar las lentes durante la noche, la visión del paciente regresará a su estado natural en aproximadamente 72 horas.

Para el estudio se tratan miopías hasta **-4.00** dioptrías con un máximo de 1.00 D de astigmatismo corneal.

El tratamiento no es inmediato se necesitan 3-4 días para notar una mejoría significativa y en **10-14 días** la visión es óptima, en la mayoría de los casos. Por lo tanto la visión será inestable los primeros días y las gafas actuales no funcionarán. Con las lentes del tratamiento se ve bien.

Se recomienda reemplazar las lentes una vez al año, debido a que la lente se deforma al dormir con ella y se pierde el efecto deseado. El acúmulo de suciedad en un año hace obligado su cambio, a pesar de la adecuada limpieza.

EL precio del tratamiento oscila entre 800 y 1200 €. En el estudio se **regalan** las lentes para el primer año, aunque los líquidos de mantenimiento corren a cargo del paciente.

En caso de ser **usuario de lentes de contacto debe permanecer 15 días sin utilizarlas**, para realizar las pruebas iniciales.

La mayoría de las visitas se realizan en la Clínica Universitaria de Optometría (C/ Arcos de Jalón, 118 – Barrio de San Blas – Madrid), aunque las visitas de estudio se desarrollan en el Hospital Vissum de Madrid (C/ Santa Hortensia, 58).

Aunque el horario de atención puede adaptarse a cada circunstancia, hay al menos dos visitas obligadas en horario de mañana (entre 9:10 y 12:00) y en Vissum en horario de tarde. El total de visitas a lo largo del estudio (un año) se estima en nueve, pero de estas visitas, 4 forman parte de la adaptación, es decir, son necesarias para adaptarse al tratamiento y no forman parte del estudio en sí.

En caso de necesitar alguna aclaración pueden dirigirse a:

María Nombela XXX XXX XXX

Gema Felipe XXX XXX XXX

ANEXO 3a. CONSENTIMIENTO INFORMADO SOBRE EL ESTUDIO.

El objetivo de este estudio es valorar los cambios morfológicos que se producen en la terapia refractiva corneal u ortoqueratología nocturna con lentes CRT y su relación con la dispersión de la luz en el ojo. La participación en este estudio es voluntaria, así como la posibilidad de retirarse del mismo en cualquier momento, siendo sus datos utilizados únicamente con fines de investigación. El paciente deberá acudir a revisión a los 15 días, esta visita será la determinante para continuar con la terapia y la fecha en la que se prescribirá el alta. Además, el paciente deberá revisarse al mes, 6 meses y 1 año desde la entrega de las lentes. Para mantener la salud ocular es importante acudir a las revisiones incluso aunque no se presente ninguna queja visual. Se informa de que las lentes no deberán usarse más de un año, fecha en la que deberían renovarse las lentes si el paciente quisiera continuar con el tratamiento bajo supervisión de un especialista.

Yo.....(Nombre y apellidos)

DNI.....

Habiendo recibido suficiente información sobre el estudio, comprendo que mi participación es voluntaria y presto libremente mi conformidad para participar en la investigación y me comprometo a seguir las indicaciones de utilización de las lentes, limpieza y calendario de revisiones durante el periodo de estudio que se establece en un año. Para ello firmo el presente documento.

En Madrid, a de de 20

ANEXO 3b. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMACIÓN SOBRE OK.

En cumplimiento de los artículos 8 y siguientes de la Ley 41/2002, de 14 de Noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica le ofrecemos por escrito y de manera comprensible, la descripción de las características y posibles complicaciones del tratamiento denominado TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, cuyo objetivo principal es la corrección de la miopía.

*Existen otras alternativas de corrección de la miopía:

- unas de tipo óptico (gafas o lentes de contacto)
- y otras de tipo quirúrgico (queratotomía radial, extracción del cristalino transparente con implante de lente intraocular, aplicación de láser Excimer - PRK, Lasik, Lasek, implantación de lentes intraoculares en cámara anterior o cámara posterior, etc.),
- La técnica de la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL consiste en la reducción de miopía de carácter temporal. Para conseguir el efecto esperado se modifica la forma normal de la córnea reduciendo su espesor epitelial en el centro e incrementándose en la medio periferia. Esto se consigue por medio de unas lentes de contacto especiales que se utilizan durante el sueño.
- No obstante, y entre los riesgos más destacados que afectan a esta TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, destacan los siguientes:

Que cuando se utilizan lentes de contacto en general y con estas en particular pueden presentarse algunos de los siguientes problemas: escozor, resquemor o picazón del ojo; lagrimeo; secreción inusual; enrojecimiento de ojo o sequedad ocular.

Que existen posibilidades de daños temporales debido a infiltraciones periféricas, úlceras corneales periféricas y erosiones. Puede que haya posibilidades de otras observaciones fisiológicas, como edema local o generalizado, neovascularización, coloración, inyección, anomalías tarsales, iritis o conjuntivitis. Algunas de las cuales son clínicamente aceptables en bajos niveles.

Que la complicación más importante es la queratitis ulcerativa (infección). La incidencia anual de la queratitis ulcerativa en usuarios de lentes de contacto que no duermen con ellas es de 4,1 por cada 10.000 personas y de 20,9 cuando se duerme con ellas. Una vez tratadas, las queratitis ulcerativas pueden originar un deterioro variable en la visión en función de que se dañen más o menos estructuras oculares. Ante un ojo rojo doloroso con secreciones acuosas, purulentas o muco purulentas debe de retirar las lentes y acudir de forma urgente a consulta.

Que el riesgo de queratitis ulcerativa puede ser reducido siguiendo las instrucciones para el cuidado de las lentes, incluyendo la limpieza del estuche de las mismas. Ser fumador incrementa el riesgo en 3 a 8 veces respecto a no serlo.

Que si una vez dado de alta se experimenta un incremento de la incomodidad, enrojecimiento ocular, cambios en la visión u otra anomalía no detectada durante el tratamiento, deberá de retirarse las lentes y consultar al profesional. Ante la ausencia de signos o síntomas anormales deberá de visitar al profesional de la visión de manera rutinaria tal y como se le indique.

* Los datos técnicos de su TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, podrán ser empleados con fines científicos, para ser presentados en congresos y otros foros apropiados.

Por lo tanto, leído lo anteriormente expuesto y efectuadas las aclaraciones pertinentes ante las dudas suscitadas, CONSIDERO QUE HE SIDO INFORMADO DE MANERA CLARA COMPENSIBLE Y PERSONAL DE LA METÓDICA Y DE LOS RIESGOS QUE PUEDAN DERIVARSE DE LA TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, Y MANIFIESTO EXPRESAMENTE QUE HE COMPRENDIDO PERFECTAMENTE ESTA INFORMACIÓN.

Y en virtud de la información recibida, yo:

Don..... mayor de edad
y con DNI nº libre y voluntariamente, DECLARO: Que he recibido y comprendido, la información sobre la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL que se va a aplicar a.....

Y en consecuencia con lo anteriormente expuesto, SOLICITO expresamente la aplicación de la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, asumiendo la totalidad de los riesgos directos o indirectos que pudieran derivarse de su aplicación. Por tanto, leído y comprendido lo expuesto anteriormente y aclaradas otras posibles dudas AUTORIZO expresamente la aplicación de la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, y por ello, y en conformidad con todo lo anteriormente expuesto, firmo el presente documento de consentimiento informado, que no exime de una posible responsabilidad civil por mala práctica, sino que confirma que yo he sido informado, he comprendido y acepto el método terapéutico propuesto.

Este consentimiento puede ser revocado en cualquier momento interrumpiéndose el tratamiento cuando el paciente lo deseé, siempre ateniéndome a las consecuencias que ello implique en cada momento que serán expuestas con claridad en caso de necesitarlo.

En.....a.....de.....de.....

Firmado:

ANEXO 4. HOJA DE ANAMNESIS.

Fecha _____ N° _____

Nombre: _____

Teléfono: _____ Población: _____

Ocupación: _____ FN: _____

Hobbies: _____

E-mail: _____

*Queja principal.**Historia Ocular.* Usa gafas SI / NO Usa LC RPG / Hidrofílica / NO

Última revisión: _____

Inicio miopía: _____ Aumento miopía: _____

Ambliopía SI / NO Estrabismo SI / NO Nistagmo SI / NO

Queratocono o irregularidad corneal SI / NO

Enfermedad ocular SI / NO Traumatismo ocular SI / NO

Otros _____

Historia médica. HTA SI / NO Diabetes SI / NO

Enfermedad sistémica SI / NO _____

Medicamento SI / NO _____

Antidepresivos SI / NO Somníferos SI / NO Drogas SI / NO

Alergias SI / NO _____

MUJER. Embaraza o intención de tener hijos durante el estudio SI / NO

Anticonceptivo oral SI / NO

Otros _____

ANEXO 5. HOJA DE ADAPTACIÓN DE LC DE OK.

Nombre: _____ Fecha _____ Nº _____

FICHA DE ADAPTACIÓN ORTO-K

RX: OD

AV

OI

AV

<u>TOPO</u>	Radios	Eje	Astigmatismo	Ex/SF	∅córnea	∅pupila	morfología
-------------	--------	-----	--------------	-------	---------	---------	------------

OD

OI

<u>LH</u>	Córnea/CA	Cristalino	Conjuntiva	S-I-N-T	Párpados	BUT
-----------	-----------	------------	------------	---------	----------	-----

OD

OI

ADAPTACIÓN (Primera lente)

OD SBRx AV Patrón F

OI SBRx AV Patrón F

REVISIÓN 1 DÍA

Síntomas

AVsc OD AutoRx Refracción AV

AVsc OI AutoRx Refracción AV

<u>TOPO</u>	Radios	Eje	Astigmatismo	Ex/SF	∅córnea	∅pupila	morfología
-------------	--------	-----	--------------	-------	---------	---------	------------

OD

OI

<u>LH</u>	Córnea	Conjuntiva	S-I-N-T	Párpados
-----------	--------	------------	---------	----------

OD

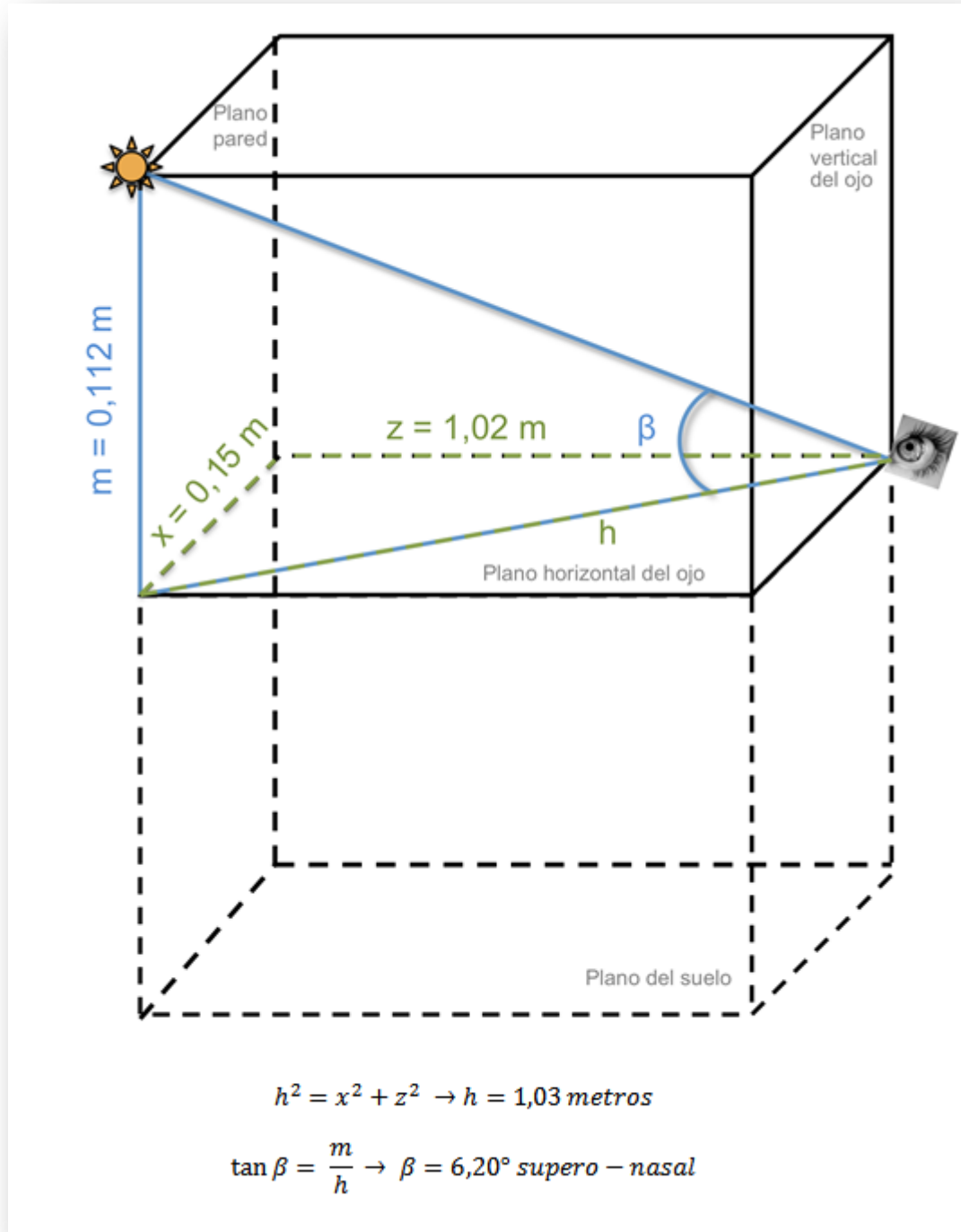
OI

LENTES ADECUADAS SI / NO CAMBIO / DEFINITIVAS

OD

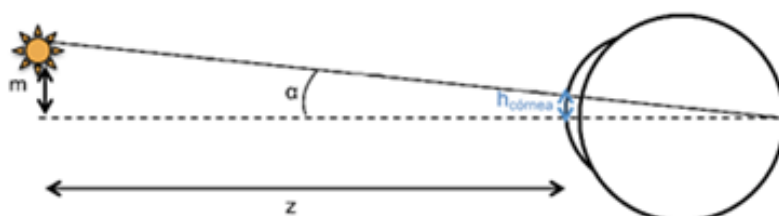
OI

ANEXO 6. CÁLCULO DEL ÁNGULO ROTACIONAL DEL OJO EN LA TOMA DE MEDIDA PERIFÉRICA CON EL MICROSCOPIO CONFOCAL.

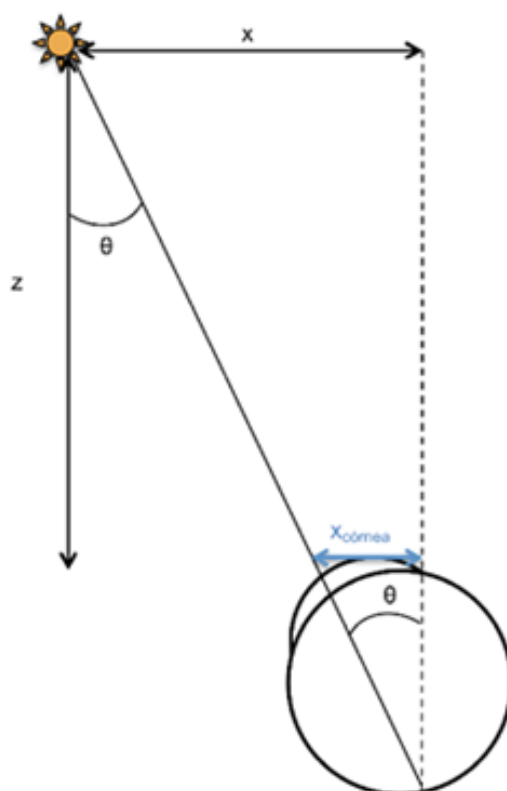


COMPONENTES VERTICAL Y HORIZONTAL DEL ÁNGULO ROTACIONAL DEL OJO EN LA TOMA DE MEDIDA PERIFÉRICA.

Vista Lateral



Vista Frontal



$$\tan \alpha = \frac{m}{z} \equiv \frac{h_{\text{córnea}}}{LA} \rightarrow h_{\text{córnea}} = 2,4 \text{ mm inferior al ápex.}$$

$$\tan \theta = \frac{x}{z} \equiv \frac{x_{\text{córnea}}}{LA} \rightarrow x_{\text{córnea}} = 3,2 \text{ mm temporal al ápex.}$$

Donde LA es la longitud axial. Como caso de referencia se ha tomado una LA de 22 mm.

ANEXO 7. PROGRAMA DE CÁLCULOS EN MATLAB PARA LA OBTENCIÓN DE LOS VALORES OBJETIVOS DE TORTUOSIDAD.

```

##### CÁLCULO DE LA TORTUOSIDAD DE LOS NERVIOS CORNEALES #####
clc, pause(3), clear all, close all

nameresults='hola.txt' %nombre del fichero para guardar los resultados
fid=fopen('filenames.txt'); %abrir el fichero que contiene todos los nombres (sin la extensión
                             %aunque esto se puede cambiar)
C = textscan(fid,'%s'); %Leer el fichero
names=C{1}; %Variable con todos los nombres
fclose(fid); %cerrar el fichero

for j=1:length(names)
    filenameroot=sprintf('%s',cell2mat(names(j))) %nombre del fichero a leer sin extensión
    filename=sprintf('%s.xls',filenameroot) %nombre del fichero a leer

    % Primero cargo los datos de interés desde excel como una matriz de datos y
    % los represento:
    % (NOTA: Aquí hay que tener cuidado porque NeuronJ toma el eje "y" como
    % negativo por lo que la imagen está justo invertida con respecto a la
    % real en la dirección vertical)

    % Esta es la matriz inicial de datos:
    %a=xlsread('900002R-VC-4prueba.xls','E:F');
    a=xlsread(filename,'E:F');
    % La desgloso en vectores:
    x=a(:,1);
    y1=a(:,2);
    columna=length(y1);
    y=y1(columna:-1:1); % e invierto el orden del "eje Y".

    % Genero una nueva matriz con los datos del "eje X" y del "eje Y" invertidos
    v=[x,y];
    %display(v) % Me muestra todos los datos que ha cargado en la pantalla ppal
    % Pero puedo eliminarlo después para que corra más rápido.

    % Pinto los datos X frente a Y, y escalo la gráfica 384x384 píxeles
    plot(x,y,'LineWidth',2);
    %axis ([0,384,0,384]);

    % Determino el punto final e inicial de las coordenadas x,y:
    x1=x(1); y1=y(1);
    x2=x(end); y2=y(end);

    i=[x1 x2]; %punto inicial
    f=[y1 y2]; %punto final

    % Y represento la recta que une dichos puntos:
    line(i,f,'LineWidth',1);
    hold on %para pintar encima de la figura que ya tengo
    figure1= plot(i,f,'ro','LineWidth',1);

    %display(i)
    %display(f)

```

```

% Decimos cual es el origen:
x_center = x(1);
y_center = y(1);
center_o = repmat([x_center; y_center], 1, length(x)); % Es una matriz con los datos de origen.
center = center_o'; % Hago la inversa para tener la matriz 7
alpha = -atan((y(end)-y(1))/(x(end)-x(1))); % Los grados que quiero rotar
theta = -(pi-alpha);
R = [cos(theta) sin(theta); -sin(theta) cos(theta)];

% ROTACION, la recta que he pintado se convierte en mi nuevo eje X, de esa
%manera, para cada valor de x tendre un valor de y, que es el que me est-
%dando una idea de cómo va cambiando el nervio.
s = v - center; % Lo hacemos desde el origen
so = s*R; % Aplicamos la rotación desde el origen

x_rotated = so(:,1);
y_rotated = so(:,2);

%Pinto las 2 juntas para comprobar
hold on
plot(x, y, 'b-', x_rotated, y_rotated, 'g-', x_center, y_center, 'LineWidth',2);
axis equal

%Borro la inicial y me quedo con la girada
%hold off
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

der1=(y_rotated(2:end)-y_rotated(1:end-1))./(x_rotated(2:end)-x_rotated(1:end-1));
%der2=(der1(2:end)-der1(1:end-1))./(x_rotated(2:end-1)-x_rotated(1:end-2));
der2=(y_rotated(3:end)-y_rotated(2:end-1))./(x_rotated(3:end)-x_rotated(2:end-1));
der2=der2-(y_rotated(2:end-1)-y_rotated(1:end-2))./(x_rotated(2:end-1)-x_rotated(1:end-2));
der2=der2./((x_rotated(3:end)-x_rotated(1:end-2))/2);
TC=sqrt(sum((der1(2:end).^2+der2.^2).*(x_rotated(2:end-1)-x_rotated(1:end-2))))

% Determino el punto final e inicial de las coordenadas x_rotated,y_rotated:
x1_r=x_rotated(1); y1_r=y_rotated(1);
x2_r=x_rotated(end); y2_r=y_rotated(end);
L0=sqrt((x2_r-x1_r)^2+(y2_r-y1_r)^2);
Lc=sum(sqrt((x_rotated(2:end)-x_rotated(1:end-1)).^2+(y_rotated(2:end)-y_rotated(1:end-1)).^2));
TL=Lc/L0

fid = fopen(nameresults,'a');
fprintf(fid, '%s %e %e \n',filenameroo,TC,TL);
fclose(fid);

pause(0.1)

end

```

