

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología



TESIS DOCTORAL

**Evaluación de la superficie ocular en pacientes con
tratamiento hipotensor tópico**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Francisco Pérez Bartolomé

Directores

José María Martínez de la Casa
Pedro Arriola Villalobos
Julia García Feijó

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión.
Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología



**EVALUACIÓN DE LA SUPERFICIE OCULAR EN PACIENTES
CON TRATAMIENTO HIPOTENSOR TÓPICO**

*OCULAR SURFACE ASSESSMENT IN PATIENTS UNDER
TOPICAL OCULAR HYPOTENSIVE TREATMENT*

TESIS DOCTORAL INTERNACIONAL

Francisco Pérez Bartolomé

Madrid. 2017

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA**

Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión.
Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología

*OCULAR SURFACE ASSESSMENT IN PATIENTS UNDER
TOPICAL OCULAR HYPOTENSIVE TREATMENT*

**EVALUACIÓN DE LA SUPERFICIE OCULAR EN PACIENTES
CON TRATAMIENTO HIPOTENSOR TÓPICO**

TESIS DOCTORAL INTERNACIONAL

Memoria para optar al Grado de Doctor
presentada por

Francisco Pérez Bartolomé

Director:

Jose María Martínez de la Casa

Codirectores:

Pedro Arriola Villalobos

Julián García Feijoó

Madrid. 2017

José María Martínez de la Casa, Profesor Titular de Oftalmología del Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología de la Universidad Complutense de Madrid, como director,

Pedro Arriola Villalobos, Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid, como director,

y

Julián García Feijóo, Catedrático de Oftalmología del Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología de la Universidad Complutense de Madrid, como director,

CERTIFICAN

Que la presente memoria de Tesis titulada “Estudio de la Superficie Ocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico” ha sido realizada bajo nuestra dirección por D. Francisco Pérez Bartolomé desde el año 2015 en el Departamento de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, para optar al grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid. Hacemos constar que la citada Tesis reúne todos los requisitos necesarios para su defensa y aprobación.

Y, para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Madrid, 2017.

Jose María Martínez de la Casa
Profesor titular de Oftalmología UCM

Pedro Arriola Villalobos
Doctor en Medicina por la UCM

Julián García Feijóo
Catedrático de Oftalmología UCM

“Todo ser humano, si se lo propone, puede ser escultor de su propio cerebro”
Santiago Ramón y Cajal

“El conocimiento es la luz que iluminará vuestro camino”
Robert Fisher

“Es menester haber estudiado mucho para llegar a saber un poco”
Barón de Montesquieu

*A mi padre,
A mi madre,
A mi hermana*

Agradecimientos

Agradecimientos

A **Jose Maria Martínez de la Casa**, Director y "padre" de esta Tesis, por haberme inculcado, con su ejemplo diario, el valor de la investigación clínica y el amor por nuestra profesión.

A **Pedro Arriola Villalobos**, Director de esta Tesis, por haberme dado la confianza necesaria para ser mejor profesional desde mis primeros pasos en la Oftalmología.

A **Julián García Feijoó**, Director de esta Tesis, quien, gracias a la dedicación por el Servicio que dirige, me ha brindado la posibilidad de formarme en uno de los mejores escenarios posibles.

A **Cristina Fernández Pérez**, por su gran ayuda en el análisis estadístico de esta Tesis.

A **Jose Luis Santiago, Elena Urcelay y Ana María Muñoz**, por su valiosa contribución en el estudio inmunológico de la película lagrimal.

A los **participantes** que componen la muestra de la presente Tesis, por su inestimable colaboración altruista.

A **mi madre**, por todo su amor. Por su fuerza, su coraje, sus ganas de trabajar y disfrutar. Por desvivirse por sus hijos siempre.

A mi hermana **Ana**, por todo su cariño, su apoyo, su paciencia y comprensión.

A **mis grandes amigos de toda la vida: Sanful, Aldo, Puech, Torres, Curro, Iván, Pablito, Nachete y Álex...** por estar siempre ahí.

A **mis compañeros residentes del Hospital Clínico San Carlos**, por su contribución en el reclutamiento de los pacientes de esta Tesis. En especial, a mis **cinco "coRs"**, porque es un orgullo haber compartido mis cuatro años de residencia con ellos; a **Claudia Sanz Pozo**, por su ayuda en uno de los apartados de esta Tesis; y a tres de mis residentes "mayores", **Jose Fernández Vigo, Javier García Bella e Ignacio Rodríguez Uña**, porque su ejemplo profesional es y será siempre un estímulo de superación constante.

A **mi padre**. Porque siempre estuvo y estará a mi lado. Por darme fuerza en los malos momentos. Porque un día me ayudó a tomar una de las mejores decisiones de mi vida: estudiar medicina. Porque no es posible ser un padre mejor. Porque si he llegado hasta aquí, es sólo gracias a él.

ÍNDICE

ÍNDICE

1	LISTA DE ABREVIATURAS	25
2	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	31
3	RESUMEN - SUMMARY	37
4	INTRODUCCIÓN	49
4.1	GENERALIDADES	51
4.2	PATOLOGÍA DE LA SUPERFICIE OCULAR EN PACIENTES CON TRATAMIENTO HIPOTENSOR TÓPICO	52
4.2.1	Papel de los principios activos de las medicaciones tópicas	53
4.2.1.1	<i>Agonistas beta- adrenérgicos</i>	55
4.2.1.2	<i>Análogos de las prostaglandinas</i>	56
4.2.1.3	<i>Inhibidores de la anhidrasa carbónica</i>	57
4.2.1.4	<i>Agonistas alpha- adrenérgicos</i>	58
4.2.1.5	<i>Agentes colinérgicos</i>	58
4.2.2	Papel de los conservantes de las medicaciones tópicas	59
4.2.2.1	<i>Estudios in vitro</i>	60
4.2.2.2	<i>Estudios in vivo</i>	61
4.2.3	Papel de las combinaciones fijas de medicaciones tópicas	62
4.3	MÉTODOS DE MEDIDA DE LOS INDICADORES DE LA PATOLOGÍA DE LA SUPERFICIE OCULAR	64
4.3.1	Cuestionarios sobre los síntomas de la patología de la superficie ocular y calidad de vida	64
4.3.2	Evaluación de los signos de la patología de la superficie ocular: párpados, película lagrimal, córnea y conjuntiva	65
4.3.2.1	<i>Test de Schirmer</i>	65
4.3.2.2	<i>Tinciones vitales</i>	66
4.3.2.3	<i>Evaluación de los párpados</i>	68
4.3.2.4	<i>Hiperemia conjuntival</i>	68
4.3.2.5	<i>Composición de la película lagrimal</i>	69
	a. Test de Ferning	69
	b. Osmolaridad	69
	c. Proteínas	70
4.3.2.6	Técnicas diagnósticas emergentes	71
	a. Tomografía de coherencia óptica Spectralis	71
	b. Oculus Keratograph 5M	71
	c. Otros métodos diagnósticos	72
4.4	DISPERSIÓN DE LUZ INTRAOCULAR Y CALIDAD VISUAL DE LOS PACIENTES CON GLAUCOMA	72
5	JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	75
6	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	79
7	MATERIAL Y MÉTODOS	83
7.1	DISEÑO DEL ESTUDIO Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA	85
7.2	PROTOCOLO DE EXPLORACIÓN	87
7.3	METODOLOGÍA DE LAS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	90
7.4	CREACIÓN DE LA BASE DE DATOS	97
7.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	97
8	RESULTADOS	103
8.1	REPRODUCIBILIDAD DE LAS ESCALAS DE HIPEREMIA. CORRELACIÓN Y CONCORDANCIA CON LOS VALORES DE HIPEREMIA APORTADOS POR EL KERATOGRAPH 5M	105
8.2	PATOLOGÍA DE LA SUPERFICIE OCULAR EN LA MUESTRA ESTUDIADA	114
8.2.1	Estadística descriptiva. Diferencias con respecto al grupo control	114

8.2.2	Análisis univariable	118
8.2.3	Análisis multivariable	125
8.3	DISPERSIÓN DE LUZ INTRAOCULAR Y CALIDAD VISUAL EN LA MUESTRA ESTUDIADA	128
8.3.1	Estadística descriptiva. Diferencias con respecto al grupo control	128
8.3.2	Análisis univariable	128
8.3.3	Análisis multivariable	128
8.4	PERFIL DE CITOQUINAS EN LA PELÍCULA LAGRIMAL DE PACIENTES TRATADOS CON LATANOPROST	131
	Efectos de Xalatan ^R sobre los niveles de citoquinas lagrimales	131
	Efectos de Monoprost ^R sobre los niveles de citoquinas lagrimales	131
	Parámetros clínicos en pacientes tratados con Monoprost ^R y Xalatan ^R	137
9	DISCUSIÓN Y LIMITACIONES	139
9.1	REPRODUCIBILIDAD HALLADA ENTRE LAS ESCALAS DE HIPEREMIA Y SU CORRELACIÓN Y CONCORDANCIA CON LOS VALORES DE HIPEREMIA APORTADOS POR EL KERATOGRAPH 5M	141
9.2	PATOLOGÍA DE LA SUPERFICIE OCULAR EN LA MUESTRA DE ESTUDIO	144
9.3	DISPERSIÓN DE LUZ INTRAOCULAR EN LA MUESTRA DE ESTUDIO	151
9.4	MARCADORES DE INFLAMACIÓN LAGRIMAL EN LA MUESTRA DE ESTUDIO	153
10	CONCLUSIONES. CONCLUSIONS	157
11	REPERCUSIÓN Y APORTACIONES	165
12	BIBLIOGRAFÍA	169
13	ANEXOS	189

I. Lista de Abreviaturas

I. Lista de Abreviaturas

AC	Anhidrasa carbónica
AML	Altura del menisco lagrimal
BAK	Cloruro de Benzalconio
CF	Combinaciones fijas
CI	Consentimiento informado
CAC	Concentración acumulativa total de conservante
CDC	Concentración diaria de conservante
CV	Campo visual
dB	Decibelios
DE	Desviación estándar
DGM	Disfunción de glándulas de Meibomio
DLO	Dispersión de luz intraocular
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EGPS	European Glaucoma Prevention Study
FD- OCT	Tomografía de coherencia óptica Dominio Fourier
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos básico
FS	Fluoresceína sódica
GAA	Glaucoma de ángulo abierto
GAC	Glaucoma de ángulo cerrado
GCC	Grosor corneal central
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
GM-CSF	Factor de estimulación de colonias de monocitos y de granulocitos
GP	Glaucoma pigmentario
GPAA	Glaucoma primario de ángulo abierto
GPAC	Glaucoma primario de ángulo cerrado
HC	Hiperemia conjuntival
HO	Hiperemia ocular
HTA	Hipertensión arterial
HTO	Hipertensión ocular
IAC	Inhibidores de la anhidrasa carbónica
IL	Interleuquina
IFN - γ	Interferón gamma
IP-10	Proteína inducida por interferón gamma
K5M	Keratograph 5M
KP	Kappa Ponderado de Cohen
LA	Límites de acuerdo
LASIK	Laser-assisted in situ Keratomileusis

LCD	Lentes de contacto
LH	Lámpara de hendidura
LN	Limbar-nasal
LT	Limbar-temporal
BN	Bulbar-nasal
LIO	Lente intraocular
Log	Logaritmo
MC-D	Escala McMonnies- Chapman Davies
MCP	Proteína quimiotáctica monocítica
MIP	Proteína inflamatoria de macrófagos
ML	Menisco lagrimal
N°	Número
OHTS	Ocular Hypertertension Treatment Study
OQAS	Optical Quality Analysis System
OR	Odds ratio
OSDI	Ocular Surface disease Index
OSI	Ocular light scattering
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PG	Prostaglandina
PIO	Presión intraocular
PL	Película lagrimal
PQ	Polyquaternium
PSD	Desviación standard del patrón
PSO	Patología de la Superficie Ocular
PSX	Pseudoexfoliativo
QPS	Queratitis punteada superficial
RANTES	Regulado en la activación de células T normales expresadas y segregadas
RB	Rosa Bengala
RIC	Rango intercuartílico
RM	Razón de medias
SO	Superficie Ocular
SOS	Síndrome de Ojo Seco
TBUT- NI	Tiempo de ruptura de la película lagrimal no invasivo
TBUT	Tear-flim break-up time (tiempo de ruptura lagrimal)
TBUT-F	Tiempo de ruptura de la película lagrimal medido con fluoresceína
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VL	Verde de Lisamina

2. DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

2. Divulgación Científica

■ PUBLICACIONES

Ocular redness measured with the Keratograph 5M in patients using anti-glaucoma eye drops. Pérez-Bartolomé F, Martínez-de-la-Casa JM, Arriola-Villalobos P, Fernández-Pérez C, Polo V, Sánchez- Jean R, García-Feijoó J.

Aceptado en "Seminars in Ophthalmology." (15/Octubre/2017).

Ocular surface disease in patients under topical treatment for glaucoma.

Pérez-Bartolomé F, Martínez-de-la-Casa JM, Arriola-Villalobos P, Fernández-Pérez C, Polo V, García-Feijoó J.

Eur J Ophthalmol. 2017 May 10.

Tear cytokine profile of glaucoma patients treated with preservative-free or preserved latanoprost.

Martinez-de-la-Casa JM, Perez-Bartolome F, Urcelay E, Santiago JL, Moreno-Montañes J, Arriola-Villalobos P, Benitez-Del-Castillo JM, Garcia-Feijoo J.

Ocul Surf. 2017 Mar 22.

■ COMUNICACIONES ORALES

Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa, Pedro Arriola Villalobos, Cristina Fernández Pérez, Julián García Feijoó.

Patología de la superficie ocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico.

93º Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología. Septiembre, 2017.

Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa, Jose Luis Santiago Álvarez, Julián García Feijoó.

Análisis de los marcadores de inflamación en la película lagrimal en pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto tratados con Latanoprost con conservantes vs sin conservantes.

XII Congreso de la Sociedad Española de Glaucoma, Valencia. Marzo 2017.

Francisco Pérez Bartolomé, Pedro Arriola Villalobos, Cristina Fernández Pérez.

Medida de la dispersión de luz intraocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico crónico.

92º Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología, Málaga. Septiembre, 2016.

Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa, Pedro Arriola Villalobos, Cristina Fernández Pérez, Julián García Feijoó.

Patología de la superficie ocular en pacientes con tratamiento tópico antiglaucomatoso.

Curso del Departamento de Oftalmología. Universidad Complutense de Madrid. "Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo". Madrid, España. Mayo 2017.

■ COMUNICACIONES EN PANEL

Francisco Pérez Bartolomé, Cristina Fernández Pérez.

Medición de la hiperemia ocular con Keratograph 5M en pacientes con tratamiento hipotensor tópico.

93º Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología. Zaragoza, España. Septiembre 2017.

Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa, Jose Luis Santiago Álvarez, Julián García Feijoó.

Tear Cytokine Profile of Glaucoma Patients Treated with Preservative-free or Preserved Latanoprost. 7th World Glaucoma Congress, Helsinki, Finlandia. Junio 2017.

Nestor Abreu-Ventura, Francisco Pérez- Bartolomé, Claudia Sanz- Pozo, Jose María Martínez- de la Casa, Pedro Arriola- Villalobos, Javier Moreno- Montañés, Julián García- Feijoó.

Grading bulbar redness using the Keratograph 5M. Correlation with Efron and McMonnies scales. 2016 ARVO Annual Meeting. Seattle, WA, USA. Mayo 2016.

Claudia Sanz Pozo, Francisco Pérez- Bartolomé, Jose María Martínez- de la Casa, Pedro Arriola- Villalobos, Javier Moreno- Montañés, Julián García- Feijoó.

Grading bulbar redness using the Keratograph 5M. Correlation with Efron and McMonnies scales. 12th European Glaucoma Society Congress. Praga (República Checa) Junio 2016.

Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa.

Medición de la hiperemia ocular con el keratograph 5M en pacientes con tratamiento hipotensor tópico. Correlación con las escalas Efron y Mcmonnies.

Reunión Anual de la Sociedad Oftalmológica de Madrid. Diciembre, 2016.

Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa, Pedro Arriola Villalobos, Julián García Feijoó.

Medida de la dispersión de luz intraocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico crónico. Reunión Anual de la Sociedad Oftalmológica de Madrid. Diciembre, 2016.

Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa, Pedro Arriola Villalobos.

Evaluación de los síntomas de la superficie ocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico. Reunión Anual de la Sociedad Oftalmológica de Madrid. Madrid. Diciembre 2015.

■ PREMIOS

Primer Premio a la Mejor Comunicación de Investigación en la Reunión Anual de la Sociedad Oftalmológica de Madrid.

Evaluación de la superficie ocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico crónico.

Pérez- Bartolomé, Francisco; Martínez de la Casa, Jose María; Arriola Villalobos, Pedro; Fernández Pérez, Cristina; Reunión Anual de la Sociedad Oftalmológica de Madrid. Madrid. Diciembre 2015.

Primer Premio Santen –“Seminarios Castroviejo”. Francisco Pérez Bartolomé, Jose María Martínez de la Casa, Pedro Arriola Villalobos, Cristina Fernández Pérez y Julián García Feijoó.

Ocular surface disease in patients under topical treatment for glaucoma.

European Journal of Ophthalmology. Madrid, España. Junio 2017.

3. RESUMEN - SUMMARY

3. Resumen - Summary

■ INTRODUCCIÓN

El glaucoma se define como una neuropatía óptica crónica y progresiva. El factor de riesgo más importante para el desarrollo de glaucoma, así como para su progresión, es una presión intraocular (PIO) elevada. Así, los fármacos hipotensores tópicos, que reducen la PIO, son la terapia de primera línea requiriendo la mayoría de los pacientes tratamiento a lo largo de su vida.

El término “patología de la superficie ocular (PSO)” describe un amplio espectro de condiciones tales como síndrome de ojo seco (SOS), blefaritis, conjuntivitis y queratitis. La PSO se observa con frecuencia en pacientes con glaucoma y surge, en gran medida, como consecuencia del uso crónico de la terapia hipotensora tópica. La PSO es una de las responsables de la frecuente mala adherencia al tratamiento de los pacientes con glaucoma, así como del empeoramiento de la calidad de vida del paciente.

Hoy en día hay cada vez más evidencia de que los conservantes, presentes en la formulación de algunos medicamentos anti-glaucomatosos tópicos, empeoran los signos y síntomas de la PSO. El cloruro de benzalconio (en inglés, BAK) es uno de los primeros conservantes introducidos y el más utilizado actualmente. Varios estudios in vitro y en modelo animal han demostrado que las soluciones preservadas con BAK causan neurotoxicidad corneal, disrupción de la película lagrimal y daño en la malla trabecular. Numerosos estudios clínicos observacionales han evaluado el papel desempeñado por los conservantes en la PSO. La presencia de BAK en el latanoprost –la prostaglandina más frecuentemente prescrita- se asocia con hiperemia conjuntival, queratopatía puntiforme superficial y metaplasia escamosa. Además, la exposición a largo plazo a este conservante puede causar o agravar una PSO preexistente (ojo seco, blefaritis, disfunción de la glándula meibomiana, inflamación conjuntival crónica o deterioro de la superficie corneal).

Para evitar estos efectos perjudiciales la industria farmacéutica ha desarrollado formulaciones tópicas libres de conservantes. El latanoprost sin conservantes ha demostrado una eficacia equivalente en la reducción de la PIO que su formulación conservada, siendo mejor tolerado y con menor incidencia de efectos adversos, tales como la hiperemia ocular (HO). Los mecanismos etiopatogénicos por los cuales se desarrollan estos efectos adversos no son del todo conocidos, si bien la inflamación pudiera ser el mecanismo subyacente que agrave la PSO asociada a los conservantes. Las gotas hipotensoras inducen la expresión de varias citoquinas, incluyendo interleuquinas, interferón (IFN)- γ y factor de necrosis tumoral (TNF)- α . En este sentido, las citoquinas se han convertido en biomarcadores fiables para el diagnóstico, seguimiento y clasificación de la PSO.

Los indicadores no invasivos de la PSO, tales como la HO, la altura del menisco lagrimal (AML) y el tiempo de ruptura lagrimal [del inglés, tear film break-up time (TBUT)] se pueden medir de forma objetiva y automática hoy en día con dispositivos que disminuyen el sesgo de interpretaciones subjetivas. La AML puede medirse tanto con el Oculus Keratograph 5M (Oculus Optikgerate GmbH, Wetzlar, Alemania) como con el módulo de segmento anterior de varios tomógrafos de coherencia óptica de dominio Fourier, como el Spectralis [(del inglés, Fourier Domain Optical Coherence Tomography (FD-OCT)] (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Alemania). La medida de la AML con FD-OCT se ha propuesto como un buen método de diagnóstico para el SOS, con baja variabilidad, buena repetibilidad y mejor reproducibilidad que el Keratograph 5M. La HO y el TBUT- no invasivo (TBUT-NI) pueden medirse con el Keratograph 5M de forma fiable.

Las escalas McMonnies / Chapman-Davies (MC-D) y Efron son dos escalas de graduación de la hiperemia ocular bien conocidas. A pesar de su uso rápido y fácil, se han publicado algunas limitaciones, como la inclusión de un diferente número de categorías y una considerable variabilidad intra e interobservador. Esto ha supuesto que muchos investigadores hayan tratado de evaluar nuevas maneras más objetivas de medir la HO, incluyendo sistemas computacionales de análisis de fotografías, muchos de los cuales han demostrado ser más sensibles y fiables. Sin embargo, a diferencia de las escalas, hay pocos disponibles comercialmente en la actualidad y el análisis de la imagen capturada no es automático. En este sentido, el Keratograph 5M presenta la ventaja de una evaluación rápida y automática de la HO.

Las aberraciones oculares y la dispersión intraocular de la luz intraocular (DLO) se pueden utilizar como medidas indirectas de la calidad de la visión. Las enfermedades de la superficie ocular, tales como el SOS, tienen un impacto sustancial en la DLO, de tal modo que este fenómeno se ha relacionado con un TBUT acortado y una inestabilidad de la película lagrimal. Actualmente, el **Optical Quality Analysis System (OQAS) point-spread function (PSF) meter** (“medidor desde un punto lumínico que se expande”) (Visiometrics, Terrassa, Spain), basado en el método de “doble paso” (en inglés: **double-pass method**), es un instrumento capaz de cuantificar la cantidad de dispersión lumínica intraocular así como las aberraciones ópticas. Es, por tanto, un aparato capaz de medir de forma objetiva la calidad óptica global. La última versión comercializada de OQAS (II) ofrece una excelente repetibilidad y una buena reproducibilidad de las mediciones.

■ OBJETIVOS

1. Examinar el grado de correlación y concordancia entre los valores de hiperemia ocular aportados por el Keratograph 5M y los obtenidos mediante las escalas MC-D y Efron.
2. Evaluar la prevalencia de la PSO mediante Keratograph 5M y FD-OCT en una gran cohorte de pacientes caucásicos glaucomatosos bajo tratamiento tópico con fármacos hipotensores, e identificar posibles asociaciones entre el tratamiento y los síntomas o signos de la PSO.
3. Evaluar “la técnica de doble paso” (OQAS II) para medir el grado de dispersión lumínica intraocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico e identificar posibles factores determinantes.
4. Comparar el perfil de citoquinas de los pacientes tratados con latanoprost sin conservante (Monoprost®, Thea, Clermont-Ferrand, Francia) o latanoprost conservado (Xalatan®, Pfizer, Nueva York, EE.UU.), utilizando la tecnología multiplex bead. Para ello evaluamos la concentración de 27 citocinas inflamatorias en la película lagrimal de pacientes glaucomatosos, tratados con o sin conservantes, en relación con sujetos sanos.

■ DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio observacional y transversal, de una serie de casos frente a un grupo control.

■ MÉTODOS

211 pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) o hipertensión ocular (HTO), tratados con fármacos hipotensores tópicos, fueron reclutados durante 11 meses en el Departamento de Glaucoma del Hospital Clínico San Carlos. 51 voluntarios sanos, apareados por edad y sexo, constituyeron el grupo control. Se incluyó un ojo por paciente.

Los criterios de inclusión fueron: presencia de HTO o GPAA, al menos seis meses de tratamiento con agentes hipotensores tópicos y firma del consentimiento informado. Los sujetos fueron excluidos si habían sido sometidos previamente a cirugía de glaucoma o cirugía refractiva; cirugía de catarata o cualquier procedimiento con láser en los últimos seis meses; si presentaban hipertensión ocular o glaucoma secundario (congénito, traumático, esteroideo, uveítico, cierre angular, etc.), a excepción del glaucoma pigmentario y pseudoexfoliativo, si presentaban un SOS (según los criterios de diagnóstico establecidos por [Dry Eye WorkShop, 2007](#)) antes de iniciar el tratamiento tópico, si habían requerido drenaje nasolacrimal u oclusión de los puntos lacrimales, presentaban hipersensibilidad conocida a cualquier medicamento o prueba diagnóstica, si presentaban anomalías de la superficie ocular (incluyendo conjuntivochalasia, cirugía previa o lesiones locales), o si estaban bajo tratamiento tópico concomitante, incluyendo el uso regular de lágrimas artificiales, o usaban lentes de contacto. También se excluyeron los sujetos con enfermedades o síndromes oculares graves que impidiesen la correcta realización de las pruebas.

Se consideró el tipo de medicamento, el número de fármacos utilizados y las concentraciones diarias y acumulativas (por tiempo de tratamiento) de los conservantes. Se registraron los siguientes indicadores de PSO: tinción corneal con fluoresceína (puntuación según la escala Oxford), medición de la AML con FD-OCT, tiempo de ruptura de película lagrimal no invasiva (TBUT- NI) e hiperemia conjuntival (HC) [(global, bulbar nasal (BN), bulbar temporal (BT), Limbar nasal (LN), limbar temporal (LT)] (Oculus Keratograph 5M), escala de gravedad de los síntomas mediante OSDI (del inglés, [Ocular Surface Disease Index](#)) y la medición de DLO (mediante el parámetro OSI, del inglés [ocular light scattering](#)). Esta última medida se realizó en 160 pacientes bajo tratamiento y en 46 voluntarios sanos, mediante el OQAS II.

El análisis de correlación y concordancia entre los valores de hiperemia ocular aportados por el Keratograph 5M y los obtenidos mediante las escalas MC-D y Efron, se realizó en 175 pacientes bajo tratamiento y en los 51 sujetos sanos del grupo control. También se evaluó la reproducibilidad interobservador de ambas escalas y el acuerdo entre las escalas (dos observadores).

Se recogieron muestras de la película lagrimal de 39 sujetos sanos, 20 pacientes con GPAA tratados con latanoprost con conservante y 20 tratados con latanoprost sin conservante, ambos durante periodos de tratamiento de 6 a 120 meses. Se analizaron las concentraciones de 27 citoquinas pro-inflamatorias: interleuquina (IL)-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, eotaxina, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de monocitos de granulocitos (GM-CSF), Interferón (IFN)- γ , proteína inducida por interferón gamma (IP)-10, proteína monocítica quimiotáctica (MCP) -1MCAF, proteína inflamatoria de macrófagos (MIP)-1 α , MIP-1 β , factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)-BB, regulado en la activación, expresado y secretado de células T normales (RANTES), factor de necrosis tumoral (TNF)- α y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Las concentraciones de las citoquinas se analizaron mediante el inmunoensayo [Bio-Plex Human Cytokine Immunoassay](#).

Objetivo 1. Se observó una excelente reproducibilidad entre observadores para la graduación de la HO empleando las escalas Efron (Kapa Ponderado (KP)= 0,897; Intervalo de confianza (IC) del 95%: 0,823 – 0,904) y MC-D (KP= 0,783; IC del 95% 0,752 – 0,795). Se hallaron correlaciones moderadas entre las puntuaciones obtenidas con el Keratograph 5M y las obtenidas con las escalas Efron (Rho de Spearman= 0,43; P< 0,001) y MC-D (Rho de Spearman= 0,48; P< 0,001). Los valores de los cuadrantes bulbares y limbares temporales y nasales también se correlacionaron bien con las dos escalas subjetivas. A través del análisis de Bland Altman, se detectó una baja concordancia entre ambos métodos de medida. Las puntuaciones coincidentes según la escala de Efron y las puntuaciones coincidentes según la escala MC-D mostraron altas diferencias (en inglés bias) frente a la HO global obtenida con el Keratograph 5M (-11,27 y -19,17, respectivamente) con amplios límites de acuerdo (LA) (-38,169 a 15,756 y -47,534 a 9,19 respectivamente). La diferencia más reducida se observó entre la HO LN y las puntuaciones del segundo observador según la escala de Efron (-0,04).

Objetivo 2. La puntuación en el test de OSDI fue significativamente mayor en el grupo con tratamiento hipotensor [mediana (intervalo intercuartílico (IQR)): 10,24 (4,54- 18,94) vs 2,5 (0-12,5), P< 0,001], así como el grado de epitelopatía corneal según la escala Oxford (≥ 1 : 64,93% vs 3,6%; P< 0,001). El TBUT-NI y la AML no difirieron significativamente entre ambos grupos. Una mayor concentración diaria de conservante se asoció con una menor AML (R= -0,142; P= 0,043). Los análisis multivariantes en el grupo tratado identificaron las siguientes variables como explicativas de la presencia de epitelopatía corneal: BAK [odds ratio (OR)= 1,56], BAK más poliquaternium-I (PQ) (OR= 5,09), y una mayor puntuación en el test de OSDI (OR= 1,06). Una edad avanzada [razón de medias (RM)= 1,05], una mayor duración del tratamiento (RM= 1,02) o la presencia de epitelopatía corneal (≥ 1 en la escala de Oxford) (RM= 1,23) se asociaron con una mayor puntuación en el test de OSDI.

Los valores de HO fueron más altos en el grupo tratado que en el grupo control (P< 0,01 en todos los valores). En el grupo tratado, los pacientes con más edad presentaron mayores valores de HO (P< 0,05 en todas las puntuaciones). El uso de prostaglandinas fue un fuerte predictor de enrojecimiento ocular, excepto en el sector limbar nasal (LN). Una mayor puntuación en el test de OSDI se asoció con valores más altos de HO LN (β = 0,007; P< 0,05), mientras que el uso de β -bloqueantes se asoció a una menor HO LN (β = -0,225; P< 0,05). El uso de tres o más gotas diarias con conservante dio lugar a una mayor HO BN y tres o más gotas oculares (con o sin conservantes) a una evidente HO LN (β = 0,366; P< 0,01; β = 0,296; P< 0,05, respectivamente).

Objetivo 3. La DLO fue mayor en el grupo de tratamiento (3,1; IQR= 1,8 – 5,47) que en el grupo control (1,95; IQR= 0,7 - 5) (P= 0,017). En un modelo de regresión lineal múltiple realizado en el grupo de tratamiento se identificó al TBUT-NI como la variable más influyente en la DLO (RM= -1,015; P= 0,003; IC del 95%= -1,025- 1,005). No se observaron correlaciones significativas entre la DLO y el número de gotas oculares diarias, la concentración de conservante o la duración del tratamiento.

Objetivo 4. Los niveles de IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF básico, PDGF-BB y TNF- α fueron significativamente mayores en pacientes tratados con latanoprost con conservantes, en comparación con los controles normales sin tratamiento (P< 0,05). La expresión de todas las citocinas estudiadas permaneció estadísticamente invariable en pacientes que recibieron latanoprost sin conservantes, en comparación con sujetos sanos (P> 0,05). Los niveles de las citoquinas fueron más altos en pacientes que recibieron latanoprost con conservantes,

en comparación con los pacientes en tratamiento con latanoprost sin conservantes (diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IL-2, IL-15, IL-17, TNF- α). Los parámetros de la superficie ocular no fueron significativamente diferentes entre ambos grupos de tratamiento, sin observarse correlaciones significativas entre estos parámetros clínicos y los niveles de las citoquinas.

■ CONCLUSIONES

1. El Keratograph 5M, a pesar de ser como un método objetivo y reproducible, sobreestimó las puntuaciones de HO en comparación con las puntuaciones obtenidas mediante las escalas de gradación subjetiva. Se halló una correlación moderada entre ambos métodos, con bajos niveles de concordancia. Por lo tanto, no parecen métodos intercambiables.

2. La PSO fue más prevalente en el grupo tratado con hipotensores oculares. Los principales factores que determinaron la PSO en este grupo fueron el tratamiento con hipotensores con conservantes, una mayor duración del tratamiento y una edad avanzada. El Keratograph 5M permitió detectar una mayor hiperemia en el grupo que recibía tratamiento con medicamentos antiglaucomatosos con respecto al grupo control. Los factores que contribuyeron a dicho enrojecimiento ocular fueron la edad avanzada, el número de gotas diarias o carga terapéutica (≥ 3), -sobre todo en los sectores nasales-, la mayor puntuación en el test de OSDI y el tratamiento con prostaglandinas.

3. Los pacientes bajo tratamiento tópico antiglaucomatoso mostraron una DLO significativamente más alto que los individuos del grupo control. En el grupo de pacientes tratados, un menor TBUT-NI se asoció con una mayor DLO.

4. El tratamiento con latanoprost con conservantes tiene un impacto directo en los niveles de citoquinas de la película lagrimal, mientras que este efecto no se observa con la instilación de latanoprost libre de conservante.

■ INTRODUCTION

Glaucoma is a chronic, progressive optic neuropathy. The most significant risk factor for developing glaucoma and for its progression is elevated intraocular pressure (IOP). This means that topical IOP-lowering eye drops are the first line therapy for glaucoma, with most patients requiring treatment throughout their lives.

The term ocular surface disease (OSD) describes a wide spectrum of conditions such as dry eye syndrome (DES), eye lid disease, conjunctivitis and keratitis. OSD is frequently observed in glaucoma patients and is thought to be the consequence of the chronic use of IOP-lowering eye drops. As a co-morbidity of glaucoma, OSD has been held responsible for poor treatment adherence and worsening of patient quality of life.

Today, there is increasing evidence to suggest that the preservatives used in anti-glaucoma medications may worsen the signs and symptoms of OSD. Benzalkonium chloride (BAK) is one of the first preservatives introduced and is currently the most widely used ophthalmic preservative. Several in vitro and animal studies have shown that solutions containing BAK cause corneal neurotoxicity, tear film disruption and trabecular meshwork damage. Numerous observational clinical studies have assessed the role played by preservatives in OSD. The presence of BAK in latanoprost –the most frequently prescribed prostaglandin– is associated with conjunctival hyperemia, superficial punctate keratopathy, or squamous metaplasia. Furthermore, long-term exposure to BAK-preserved medications may cause or aggravate pre-existing OSDs such as dry eye, blepharitis, meibomian gland dysfunction, chronic conjunctival inflammation, or corneal surface impairment. To circumvent these detrimental effects, great effort has been made towards the development of preservative-free formulations for the management of glaucoma. Following this approach, preservative-free latanoprost was developed as topical glaucoma treatment.

Compared with its preserved counterpart, preservative-free latanoprost showed equivalent efficacy in reducing IOP, was better tolerated and reduced the number of associated ocular adverse events, such as conjunctival hyperemia. However, the mechanisms behind these favorable effects are not completely understood. Inflammation may be the key underlying mechanism fueling preservative-associated OSDs. Hypotensive eyedrops induce the expression of several cytokines, including interleukins, interferon (IFN)- γ , and tumor necrosis factor (TNF)- α . In this regard, cytokines have become reliable biomarkers for the diagnosis, monitoring and classification of OSD.

Non- invasive OSD indicators, such as CH, tear meniscus height (TMH) and tear break-up time (TBUT) can be measured objectively and automatically nowadays with modern devices reducing the interpretation bias of subjective assessments. The TMH can be measured with both the Oculus Keratograph 5M (OculusOptikgerate GmbH, Wetzlar, Germany) and the anterior segment module of the Spectralis Fourier-domain optical coherence tomographer (FD-OCT) (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany). OCT TMH measurements have been proposed as a good diagnostic method for DES showing low variability, good repeatability, and better reproducibility than the Keratograph 5M. CH and Non- invasive TBUT (NI- TBUT) can be measured with the Keratograph 5M, having shown good reliability.

McMonnies/Chapman-Davies (MC-D) and Efron are two well-known image-based grading scales for scoring ocular hyperemia (OH). Despite the quick and easy use of these methods, some limitations have been reported, such as the inclusion of different steps and considerable intra- and interobserver variability. This has meant that many studies have sought to assess objective ways of measuring OH including computer-based photograph-analysis systems, of which many have proven to be more sensitive and reliable. However, unlike imaged-based scales, there are few

commercially available nowadays and the analysis of the captured image is not automatic. In this regard, the Keratograph 5M present the advantage of an automatic assessment of the OH.

Ocular aberrations and intraocular light scatter can be used as indirect measures of vision quality. Ocular surface diseases, such as DES, have a substantial impact on this forward light scatter, or straylight, and this phenomenon has been linked to a shorter TBUT and tear film instability. Thus, local changes in tear film regularity and thickness reduce image quality due to increased light scatter, which is in turn a consequence of the air-tear refractive change. Currently, the point-spread function (PSF) meter (optical quality analysis system, OQAS, Visiometrics, Terrassa, Spain), based on the double-pass retinal imaging method, is an instrument able to quantify the effects of both scattered light and optical aberrations. Thus, it can objectively measure overall optical quality. In effect, the latest marketed version of OQAS (II) offers excellent repeatability and good reproducibility in the clinic.

■ OBJECTIVES

1. Examine correlations between the new computer-automated Keratograph 5M ocular redness grading system and the MC-D and Efron scales.
2. Assess the prevalence of OSD using the Keratograph 5M and the spectral domain OCT devices in a large cohort of Caucasian patients under topical treatment with IOP-lowering drugs and to identify possible correlations between treatment factors and OSD symptoms or signs.
3. Assess the use of the double-pass technique to measure light scatter in eyes under topical IOP-lowering treatment and to identify possible factors causing its variation.
4. Compare the cytokine profile of patients treated either with preservative-free latanoprost (Monoprost®; Thea, Clermont-Ferrand, France) or preserved latanoprost (Xalatan®; Pfizer, New York, USA), by using the multiplex bead technology. We evaluated changes in the concentration of 27 inflammatory cytokines in glaucoma patients, treated with or without preservatives, relative to healthy patients.

45

■ STUDY DESIGN

Observational cross-sectional study with a control group.

■ METHODS

211 eyes of 211 patients with primary open angle glaucoma (POAG) or ocular hypertension (OHT) on topical medication were recruited over 11 months. Controls were 51 eyes of 51 healthy age- and sex matched volunteers.

Inclusion criteria were the previous diagnosis of POAG or OHT, a minimum treatment period with the same topical hypotensive agents of six months and signed informed consent. Subjects were excluded if they had undergone glaucoma surgery, cataract surgery or a laser procedure within the past six months (to avoid cases of OSD due to post-surgery eye drops), had secondary

ocular hypertension or glaucoma (congenital, traumatic, steroid, uveitic, angle closure) except pigmentary and pseudoexfoliative, had had dry eye disease (according to the diagnosis criteria established by the Dry Eye WorkShop; 2007) before starting topical treatment, had impaired nasolacrimal drainage or occlusion of the lacrimal puncta, known hypersensitivity to any medication component or testing procedure, an ocular surface abnormality (including conjunctivochalasis, previous surgery or local lesions), were under concomitant topical treatment including the regular use of lubricant eye drops, or had had refractive surgery or used contact lenses. Subjects with a serious eye disease or syndrome were also excluded.

In each patient, we recorded the intraocular pressure-lowering eye drops used, the number of medications used and daily and cumulative preservative concentrations (PC). Main outcome measures were: fluorescein corneal staining score (OXFORD scale), lower tear meniscus height (LTMH) (spectral domain OCT), non-invasive tear film breakup time (Nif-TBUT), ocular redness scores (RS) [(global, bulbar nasal (BN), bulbar temporal (BT), limbar nasal (LN), limbar temporal (LT)] (Oculus Keratograph 5M), OSD symptom questionnaire index (OSDI) and objective scatter index (OSI). This last measurement was performed in 160 eyes of 160 treated glaucoma patients and in 46 eyes of 46 healthy volunteers, using a double-pass technique (OQAS II).

For correlation between the ocular hyperemia between subjective grading scales and the keratography 5M, 175 treated patients and the 51 age and sex- matched control subjects were scored automatically using the Keratograph 5M. These redness scores (RS) were then correlated with the gradings provided by the Efron and McMonnies/Chapman-Davies scale (MC-D) scales (two observers). The interobserver reproducibility of both scales and agreement between the scales was also assessed.

46

Tear samples were collected from 39 healthy subjects, 20 glaucoma patients treated with preserved latanoprost, and 20 treated with preservative-free latanoprost for periods ranging from 6 to 120 months. We analyzed a set of 27 inflammatory cytokines, including interleukin (IL)-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, eotaxin, fibroblast growth factor (FGF) basic, granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), granulocyte monocyte colony stimulating factor (GM-CSF), interferon (IFN)- γ , interferon gamma-induced protein(IP)-10, monocyte chemo attractant protein(MCP)-1MCAF, macrophage inflammatory protein(MIP)-1 α , MIP-1 β , platelet-derived growth factor (PDGF)-BB, regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES), tumor necrosis factor (TNF)- α and vascular endothelial growth factor (VEGF). Cytokine concentrations were obtained by the Bio-Plex Human Cytokine Immunoassay.

■ RESULTS

Objective 1. Excellent reproducibility was observed for both the Efron (weighted K= 0.897, 95% CI 0.823 – 0.904) and MC-D (weighted K= 0.783, 95% CI 0.752 – 0.795) scales. Keratograph RS and the scores obtained with both Efron (Spearman's Rho = 0.43; P< 0.001) and MC-D (Spearman's Rho= 0.48; P< 0.001) scales were significantly correlated. RS for the bulbar and limbar-nasal and temporal quadrants also correlated well with the two subjective scales. Through Bland Altman analysis, poor agreement was detected between the objective and subjective methods: agreement values for the Efron scale or MC-D scale (matching scorers between observers) versus overall RS showed high biases (-11.27 and -19.17 respectively) and wide limits of agreement (LOA) (-38.296 to 15.756 and -47.534 to 9.19 respectively). Lowest bias was observed between limbar- temporal RS and Observer 2 Efron score (-0.04).

Objective 2. Compared to controls, significantly higher OSDI (median [interquartile range]: 10.24 [4.54- 18.94] vs 2.5 [0- 12.5]; n=211; P< 0.001) and corneal staining (≥ 1 : 64.93% vs 32.61%; n= 51; P< 0.001) scores were recorded in the medication group. Nif-TBUT and LTMH failed to vary between the groups (P> 0.05). A higher daily PC was associated with a lower LTMH (R= -0.142; P= 0.043). In the medication group, multivariate analysis identified correlations: between benzalkonium chloride- (BAK) [odds ratio (OR)= 1.56] and BAK plus polyquaternium (PQ)-containing drops [OR= 5.09], a higher OSDI (OR= 1.06) and abnormal corneal staining test results; and between an older age [mean ratio (MR)= 1.05], longer treatment duration (MR= 1.02) or corneal staining presence (MR= 1.23) and a higher OSDI score. Higher RS were recorded in the medication than control group (P< 0.01 all scores). Within the medication group, older patients returned greater RS (P< 0.05 all scores). Prostaglandin was a strong predictor of higher scores, except LN RS. A higher OSDI was associated with a higher LN RS (β = 0.007; P< 0.05), while the use of β -blockers was linked to a lower LN RS (β = -0.225; P< 0.05). The use of ≥ 3 daily eye drops with preservative gave rise to a higher BN RS and ≥ 3 daily eye drops to a higher LN RS (β = 0.366, P< 0.01; β = 0.296, P< 0.05; respectively).

Objective 3. OSI was higher in the patient group [3.1; interquartile range (IQR)= 1.8- 5.47] than control group (1.95; IQR= 0.7- 5) (P= 0.017). In a multiple linear regression model performed in the patient group, Nif-TBUT was identified as the most influential variable on light scatter (MR= -1.015; P= 0.003; 95% CI = -1.025- -1.005). No correlation with OSI was observed for number of daily eye-drops, preservative concentration or treatment duration.

Objective 4. The levels of IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF basic, PDGF-BB, and TNF- α were significantly higher in patients receiving preserved latanoprost, compared to normal controls (P< 0.05). The expression of all the cytokines studied remained statistically invariable in patients receiving preservative-free latanoprost, compared to healthy subjects (P> 0.05). The levels of the cytokines were higher in patients receiving preserved latanoprost, compared to patients receiving preservative-free latanoprost (statistical significant differences for IL-2, IL-15, IL-17, TNF- α). Ocular surface parameters were not significantly different in both glaucoma groups, and no correlation between these clinical parameters and cytokine levels was observed.

47

■ CONCLUSIONS

1. Although it emerged as a reliable objective method, the Keratograph 5M overestimated the redness scores compared with the subjective grading scales when used to grade the degree of ocular redness. Therefore, they should not be interchangeable methods.
2. OSD was more prevalent in the medication group. The main factors impacting OSD were drops with preservatives, a longer treatment duration and an older age. The Keratograph 5M can objectively detect the hyperaemia induced by glaucoma medications. The factors contributing to ocular redness were advanced age, more daily eye drops (nasal sectors), higher OSDI and treatment with prostaglandins.
3. Participants on anti-glaucoma medication showed a significantly higher OSI than control group individuals. In the treated patient group, a lower Nif-TBUT was associated with a higher OSI.
4. Treatment with preserved latanoprost has a direct impact on tear cytokine levels, whereas this effect is not observed upon preservative-free latanoprost instillation.

4. INTRODUCCIÓN

4. Introducción

4.1. Generalidades

Se define al glaucoma como una enfermedad crónica y progresiva caracterizada por una peculiar atrofia adquirida del nervio óptico, en la que una elevada presión intraocular (PIO) es el principal factor de riesgo (Quigley H.A 1996;Tielsch JM et al. 1991). El daño en el nervio óptico produce una pérdida de células ganglionares de la retina. Este daño sigue un patrón característico, marcado por una pérdida de la visión inicial en la media- periferia del campo visual (CV), al que sigue la afectación de la visión central en los estadios avanzados de la enfermedad. El glaucoma es la segunda causa de ceguera en Estados Unidos y Europa y la principal causa de ceguera irreversible en todo el mundo (Quigley H.A 1996;Tielsch JM et al. 1991).

Se ha clasificado tradicionalmente al glaucoma de acuerdo a ciertas variaciones del segmento anterior ocular. Éste dispone de su propio sistema circulatorio. Así, el humor acuoso se produce en los procesos ciliares, circula a través de la pupila hasta la cámara anterior y se drena por el trabeculum, situado en el ángulo irido-corneal. Según la apariencia (o apertura) de este ángulo, el glaucoma se denomina glaucoma de ángulo abierto (GAA) o glaucoma de ángulo cerrado (GAC). Si no existe ninguna causa identificable y predisponente, (anomalías congénitas del segmento anterior o del ángulo irido-corneal, uso de esteroides, traumatismos previos, inflamación intraocular, síndrome pseudo-exfoliativo o pigmentario) el glaucoma es definido como “primario”. Aproximadamente 60 millones de individuos en todo el mundo sufren glaucoma. En el año 2020 se espera que esta cifra aumente hasta 80 millones debido al envejecimiento poblacional (Varma R et al. 2011). El glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) es el tipo más frecuente de glaucoma. En Estados Unidos el GPAA afecta a 2,2 millones de personas aproximadamente, y se espera que en 2020 dicha cifra aumente a los 3,3 millones. La mitad de los mismos desconocerán que sufren dicha enfermedad (Friedman DS et al. 2004 a; Friedman DS et al. 2004 b).

Los principales factores de riesgo para el desarrollo de un glaucoma son una mayor edad, la hipertensión intraocular (HTO), la historia familiar de glaucoma, la raza negra, un menor grosor corneal central (GCC), la miopía y una menor presión de perfusión ocular (Tielsch JM et al. 1991; Chauhan BC et al. 2008; Lichter PR et al. 2001; Grieshaber MC & Mozaffarieh M, F.J. 2007; Johnson DH. 2003; Boland MV et al. 2013; Kass MA et al. 2002; Broman AT et al. 2008).

El Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS) y el European Glaucoma Prevention Study (EGPS) (Konstas AG et al. 1999) son dos ensayos clínicos aleatorizados que evaluaron el efecto hipotensor sobre la conversión de la HTO en un GPAA (con neuropatía óptica asociada). En ambos estudios, un incremento de la edad, la PIO, la excavación papilar, el valor de la desviación estándar del patrón en el CV y un menor GCC fueron los principales determinantes.

El tratamiento de muchas formas de glaucoma de ángulo abierto y de muchos glaucomas crónicos de ángulo cerrado incluye el uso de fármacos hipotensores tópicos. Estos fármacos actúan aumentando el flujo de salida del humor acuoso, disminuyendo su producción, o realizando ambas acciones. Hasta la fecha, ninguna medicación o tratamiento quirúrgico ha demostrado prevenir la neuropatía óptica glaucomatosa en el ojo humano. Sin embargo, el control crónico de la PIO con medicación tópica diaria sí ha demostrado proteger a largo plazo el progresivo deterioro del nervio óptico (Servat, J.& Bernardino, C. R. 2011).

Varios ensayos clínicos aleatorizados y con amplios tamaños muestrales avalan la certeza científica de que la disminución de la PIO en el tratamiento del glaucoma es muy beneficiosa (Gordon MO et al. 2002; Higginbotham EJ et al. 2004; Brandt, J. D et al. 2001; Leske MC et al. 1999) deteniendo o,

al menos, disminuyendo la progresión de la enfermedad. Los medicamentos hipotensores tópicos constituyen la primera línea de tratamiento de un glaucoma crónico primario. Teniendo en cuenta que la disminución de la PIO sigue siendo a día de hoy el único tratamiento médico viable, la mayoría de los pacientes están abocados a recibirlo, en muchas ocasiones de por vida.

■ 4.2. Patología de la superficie ocular en pacientes con tratamiento hipotensor tópico

El concepto “patología de la superficie ocular” (PSO) es un término genérico que describe un amplio espectro de enfermedades que pueden afectar a las diferentes estructuras de la superficie del ojo (fundamentalmente párpados, conjuntiva y córnea) (Lemp M et al. 2007). En pacientes con tratamiento hipotensor tópico crónico hace referencia, fundamentalmente, a la afectación del borde libre palpebral, en los que acontece una disfunción progresiva de las glándulas de Meibomio, originando un síndrome de ojo seco (SOS) evaporativo que repercute ulteriormente sobre la conjuntiva y la córnea (Lemp M et al. 2007). Los medicamentos tópicos hipotensores pueden afectar a otras estructuras oculares y perioculares (conjuntiva, córnea, piel y tejido celular subcutáneo), ocasionando una gran variedad de efectos adversos. Un requisito básico de toda formulación oftalmológica que se administre de forma reiterada es la composición y formulación de sus conservantes, los cuales preservan (del inglés, “preservatives”) la viabilidad del compuesto, evitando su contaminación tras aperturas repetidas del colirio. La reacción adversa medicamentosa más conocida de los conservantes es el daño sobre la superficie ocular (SO). En los últimos años se ha publicado una gran cantidad de estudios clínicos y revisiones de la literatura que avalan, de forma rigurosa y sistemática, el efecto deletéreo de los distintos conservantes sobre la SO.

Tanto la PSO como el glaucoma son enfermedades relacionadas con la edad (Milanovic B et al. 2007; Servat JJ & Bernardino CR. 2011; Tielsch JM et al. 1991), de tal modo que una puede estar presente independientemente de la otra. La PSO relacionada con la edad consiste en un síndrome de ojo seco (SOS) debido, principalmente, a una disfunción progresiva primaria de las glándulas de Meibomio (Lemp. et al 2007). Así pues, los indicadores comunes de PSO, tales como una reducción del menisco lagrimal, acortamiento del tiempo de ruptura lagrimal (TBUT), tinción de la superficie corneal con fluoresceína, etc., pueden ser debidos a un SOS edad-dependiente, y estar agravados además por el tratamiento tópico hipotensor concomitante. De hecho, los pacientes con glaucoma sufren PSO con una prevalencia mayor que los pacientes sin glaucoma de su misma edad (Stewart WC et al. 2011). Además de la edad y un tratamiento tópico crónico con hipotensores, existen otros factores demográficos que se han asociado con la PSO/ SOS, como el sexo femenino (independientemente de la edad), el estado peri-menopáusico en las mujeres, el tratamiento concomitante oral con ciertos medicamentos como los antidepresivos tricíclicos, la utilización de lentes de contacto durante largos periodo de tiempo, el tabaco o una cirugía refractiva previa (Hashemi H et al. 2013; Scuderi G et al. 2012; Rocha EM et al. 2013; Wong J et al. 2011; Farris RL. 1986; Grus FH et al. 2002; Quinto GG et al. 2008). Actividades como un uso excesivo del ordenador o la visualización prolongada de pantallas pueden desencadenar y/o exacerbar los síntomas (Moschos MM et al. 2012). Una humedad ambiental baja o el aire acondicionado también pueden agravar el daño de la película lagrimal (PL) y la exacerbación de los síntomas oculares (Abusharha AA & Pearce EI et al. 2013). Posibles enfermedades autoinmunes coexistentes, alergias, o una rosácea concomitante son otros factores contribuyentes (Palmowski AM & Ruprecht KW. 1995).

La importancia de la PSO debido al uso crónico de medicaciones hipotensoras radica en dos factores fundamentales. En primer lugar, la alteración de la SO provoca signos (enrojecimiento, eczema, hiperpigmentación local, hipertriosis) que alteran la estética local y acaban por provocar síntomas (sensación de quemazón, de cuerpo extraño, irritación, escozor, fotofobia etc) que no

solo alteran la calidad de vida del paciente, sino que además pueden abocar al abandono de la medicación. Esto último no resulta nada extraño, teniendo en cuenta que el glaucoma crónico (bien de ángulo estrecho o de ángulo abierto) es por definición una enfermedad asintomática en estadios precoces, de tal modo que el paciente no percibirá una necesidad clara de ser tratado durante largos periodos de tiempo. De hecho, se ha publicado que la adherencia al tratamiento en pacientes con glaucoma es baja y disminuye con el tiempo (Rossi GC et al. 2010; Reardon G et al. 2011; Waterman H et al. 2013). Numerosos estudios describen una mayor prevalencia de síntomas y alteración de la calidad de vida en pacientes tratados con medicaciones hipotensoras tópicas (Skalicky SE et al. 2012; Camp A et al. 2015; Saade CE et al. 2015; García- Feijó J & Sampaolesi JR. 2012; Fechtner RD et al. 2010). En este sentido, transmitir una correcta información y mantener una buena relación médico-paciente es esencial para el cumplimiento terapéutico.

En segundo lugar, la inflamación crónica de la SO podría terminar produciendo una alteración de las estructuras de drenaje del humor acuoso (malla trabecular y canal de Schelemm), con la consecuente elevación de la PIO y fracaso del tratamiento tópico (Mirza SK & Higginbotham EJ. 2009). La alteración de la conjuntiva y la epiesclera debida a la inflamación crónica podría suponer, asimismo, el fracaso de la ampolla conjuntival de filtración tras una trabeculectomía. Muchos estudios evidencian que el éxito de la cirugía filtrante se ve afectada por la duración y el número de medicaciones hipotensoras empleadas antes de la cirugía (C. Baudouin. 2008; D.H. Johnson et al. 1994; C. Baudouin. 2012). Así, Broadway DC y col (Broadway DC et al. 1994) publicaron, hace más de dos décadas, un trabajo en el que sugerían un impacto significativo de la carga de medicación tópica sobre las ampollas conjuntivales de filtración. Un trabajo publicado por C. Baudouin en 2012 demostró que la presencia de células inflamatorias (fibroblastos, macrófagos y linfocitos) en la conjuntiva de ampollas de filtración de pacientes con cirugías exitosas era mucho menor preoperatoriamente (C. Baudouin. 2012). A pesar de no existir estudios longitudinales a largo plazo, existe evidencia científica suficiente para asumir que la inflamación crónica de la SO, inducida por el tratamiento hipotensor tópico, puede producir finalmente una fibrosis local que contribuya al fracaso ulterior de la cirugía.

53

Numerosos estudios clínicos han relacionado la carga de tratamiento (número de gotas diarias, número de colirios) con el grado de afectación de la PSO (Saade E. et al. 2015; Mathews PM et al. 2015; Skalicky SE. et al. 2011; Leung EW. et al. 2008; Camp A et al. 2015; Fechtner RD. et al. 2010), así como el uso crónico de medicaciones hipotensoras tópicas conservadas (Skalicky SE et al. 2011; Leung EW et al. 2008; Tomic M et al. 2013).

4.2. 1. Papel de los principios activos en la patología de la superficie ocular.

En la literatura actual no existen ensayos clínicos con amplios tamaños muestrales que comparen a enfermos tratados con hipotensores tópicos sin conservantes con pacientes sin tratamiento tópico, correctamente apareados, de tal modo que se pudiese demostrar, de forma científicamente rigurosa, que el principio activo, por sí solo y directamente, afecta a la SO. Dicha limitación se debe al hecho de que los medicamentos hipotensores no conservados han estado sólo disponibles comercialmente durante los últimos 10- 20 años. La mayoría de los estudios clínicos sobre conservantes se centran en la comparación de la toxicidad inducida por la formulación no conservada frente a la conservada, más que en la demostración de un efecto tóxico directo de los principios activos.

Desde un punto de vista clínico, los tres puntos clave sobre los que se puede desglosar la PSO derivada del uso de la terapia tópica antiglaucomatosa son: la queratitis punteada superficial, la inestabilidad de la película lagrimal y las manifestaciones de hipersensibilidad. La presentación clínica de cada una de ellas podrá variar en severidad incluyendo varios síntomas (como antes se

ha expuesto) de sequedad, lagrimeo, irritación, quemazón, sensación de cuerpo extraño, fotofobia y visión distorsionada. Desde un punto de vista etiopatogénico, los mecanismos que pudieran desencadenar tales efectos adversos serían el inflamatorio, el alérgico y el tóxico.

La queratitis punteada superficial (QPS) engloba lesiones del epitelio corneal clasificadas a menudo por su morfología, incluyendo erosiones, finas o groseras; queratitis punteada areolar y queratitis filamentosa. La queratopatía epitelial obedece a un fenómeno tóxico, frecuentemente asociado al uso tópico de análogos de las prostaglandinas, beta-bloqueantes y agentes colinérgicos. Algunos estudios estiman una prevalencia de entre un 44- 46% de QPS en pacientes con tratamiento con pilocarpina (Johnson DH et al 1986; Maas S et al 1991). Más recientemente, estudios multicéntricos europeos con amplios tamaños muestrales han hallado prevalencias de entre un 18-31% (Aihara M et al. 2012), y estudios menores en Japón de entre un 20- 54% (Inoue K et al. 2003; Jaenen N et al. 2007). Más allá del efecto del principio activo, el conservante también participa de forma activa en la QPS tóxica (Pisella PJ et al 2002).

Los efectos disruptivos de la PL sobre la integridad de la SO son ampliamente conocidos. El modo más extendido de evaluar la cantidad y la calidad de la PL incluye la medición del tiempo de ruptura lagrimal [en inglés, *tear-film break-up time* (TBUT)] mediante fluoresceína con la lámpara de hendidura (LH), la evaluación de las glándulas de Meibomio observando el borde libre posterior palpebral, el test de Schirmer y la determinación de la osmolaridad de la PL. Las diferentes técnicas de evaluación serán comentadas posteriormente con detalle. Se han descrito anomalías en el TBUT y en el test de Schirmer hasta en un 60% de pacientes con glaucoma, conjuntamente con hiperosmolaridad de la PL y pérdida de glándulas de Meibomio (Arici MK et al 2000; Arita R et al 2012 a; Arita R et al 2012 b; Terai N et al. 2011).

54

Las manifestaciones de hipersensibilidad derivadas del tratamiento tópico hipotensor son frecuentemente observadas en la conjuntiva y el tejido periorbitario. Los signos clínicos que orientan hacia este mecanismo de acción son: hiperemia conjuntival, quemosis, edema palpebral, eritema o eccema periorbitario. El síntoma más frecuente es el picor y la sensación de “ardor”. Son mediados a través de inmunoglobulinas E (reacción de hipersensibilidad tipo I, o “alérgica”) o linfocitos T (reacción de hipersensibilidad tipo IV o “retardada”) y frecuentemente se resuelven tras la retirada del medicamento (Baudouin C. 2005; Baudouin C et al. 2010). Si el mecanismo obedece a un fenómeno alérgico, es posible observar también una conjuntivitis papilar marcada. Estas manifestaciones clínicas son, muy probablemente, debidas al principio activo de la formulación oftalmológica, más que al conservante. Sin embargo, varios estudios tanto clínicos como in vivo concluyen que diferentes compuestos preservados son capaces de desencadenar también reacciones de hipersensibilidad/ inflamación sobre la SO, además de efectos citotóxicos directos (Hong J & Bielory L. 2009). Las conjuntivitis alérgicas y las dermatitis secundarias al uso de prostaglandinas son relativamente raras. Han sido estimadas en un 1.5% de pacientes que emplean latanoprost (Baudouin C. 2005). Sin embargo, los betabloqueantes han sido descritos como causantes de dermatitis de contacto en un 11- 13% de pacientes (Jappe U et al. 2006). La dorzolamida también ha sido responsable de un 3% de dermatitis y un 4% de conjuntivitis (Servat JJ & Bernardino CR. 2011). Finalmente, la alergia ocular a brimonidina ha sido documentada en un 9-11.5% en estudios longitudinales a largo plazo (Katz LJ. 1999; Schuman JS et al. 1997).

A continuación se desglosarán los efectos sobre la SO (córnea, conjuntiva, película lagrimal, párpados y tejido periorbitario) relacionados con el uso específico de cada principio activo presente en las medicaciones hipotensoras tópicas oftalmológicas. La **tabla I** explica, a modo de resumen, dicha información.

Los betabloqueantes tópicos reducen la PIO mediante el bloqueo de los nervios simpáticos en el epitelio del cuerpo ciliar, causando una disminución de la producción del humor acuoso. Los dos tipos de betabloqueantes tópicos disponibles en el glaucoma son: los no selectivos, que bloquean receptores β_1 y β_2 (adreno-receptores) y los selectivos, que bloquean sólo los receptores β_1 . Timolol, levobunolol, metipranolol y carteolol constituyen betabloqueantes no selectivos, mientras que betaxolol es cardioselectivo. Posiblemente, el efecto adverso sistémico más grave descrito con el uso de betabloqueantes tópicos sea la exacerbación de una enfermedad pulmonar obstructiva crónica. El Betaxolol parece estar relativamente libre de efectos adversos respiratorios, aunque su toxicidad (o sus efectos) pudieran estar relacionada con la dosis (Goldberg I & Goldberg H. 1995). Los síntomas oculares relacionados con el uso de betabloqueantes a corto- medio plazo incluyen el ardor, escozor, dolor, enrojecimiento, fotofobia y sensación de cuerpo extraño. Estos síntomas fueron causa documentada de cese del tratamiento en un 2-10% de los pacientes en tres estudios (Battershill PE & Sorkin EM. 1988; Wandel T et al. 1986; Novack GD et al. 1988).

Efectos sobre los párpados y tejido periorbitario. La dermatitis alérgica de contacto es una complicación probablemente infraestimada (Corazza M et al. 1993; O'Donnell BF & Foulds IS. 1993). El penfigoide ocular inducido por estos fármacos se ha descrito tras su uso prolongado. Fiore y col (Fiore et al. 1987), en una revisión extensa de la literatura, concluyeron que el penfigoide ocular inducido por fármacos representa un amplio espectro de enfermedades que abarcan desde una forma auto-limitada (forma tóxica) a una forma inmunológica crónica progresiva. Otras reacciones adversas descritas con el uso de betabloqueantes son la blefaroconjuntivitis y erupciones liquenoides palpebrales (Akingbehin T et al. 1992; Mullins RJ et al. 2004).

Efectos sobre la vía lagrimal. Un uso prolongado de betabloqueantes tópicos se ha asociado con un aumento de riesgo de desarrollo de obstrucciones de la vía naso-lagrimal, especialmente en pacientes de edad avanzada (Seider N et al. 2008). Un estudio observacional prospectivo, controlado, ciego, incluyó 627 ojos de 384 pacientes glaucomatosos, en los cuales se evaluó el efecto de la terapia hipotensora tópica sobre el sistema de drenaje lagrimal (Kashkouli MB et al. 2008). Se documentó una mayor prevalencia de obstrucción de la vía lagrimal en pacientes tratados con timolol + dorzolamida y timolol + dorzolamida + pilocarpina. Los investigadores del estudio concluyeron que los pacientes en tratamiento con una combinación de medicamentos que incluyese un betabloqueante, presentaban un mayor riesgo de desarrollar una obstrucción del sistema de drenaje lagrimal (Kashkouli MB et al. 2008). También se han asociado con obstrucciones canaliculares, pudiendo ocurrir tras una exposición relativamente corta o como parte de una reacción cicatricial tras varios años de tratamiento (McNab AA. 1998). Otros estudios han mostrado una reducción en el calibre de los conductos naso-lagrimales (Narioka & Ohashi Y. 2007). Estos hallazgos podrían ser, en parte, responsables de los síntomas de lagrimeo que expresan muchos pacientes tratados con betabloqueantes tópicos. A su vez, los betabloqueantes pueden alterar las glándulas de Meibomio, dañando consecuentemente la película lagrimal y pudiendo ocasionar, asimismo, sequedad ocular. El mecanismo etiopatogénico podría ser similar, causando una disminución del calibre de los conductos de las glándulas sebáceas productoras de la capa lipídica lagrimal. Sin embargo, esta reacción adversa ha sido más frecuentemente documentada con el uso crónico de análogos de las prostaglandinas, junto con las telangiectasias en el borde libre palpebral y la hiperpigmentación cutánea (Mocan MC et al. 2016).

Efectos sobre la córnea, conjuntiva y película lagrimal. La repercusión corneal más frecuentemente documentada derivada del uso de betabloqueantes es la QPS y la anestesia corneal, presente con mayor frecuencia en pacientes de mayor edad (Van Buskirk EM. 1979). Estudios de investigación básica con animales han demostrado que los betabloqueantes ralentizan

la reepitelización en la córnea ante la presencia de úlceras (Trope GE et al. 1988). Pueden ejercer, asimismo, un efecto citostático y citotóxico con disrupción de las membranas citoplasmáticas celulares y depleción de la función de barrera epitelial (Pozarowska D et al. 2010). Los betabloqueantes tópicos parecen causar un deterioro de la producción de las lágrimas, así como de su estabilidad. Un estudio comparó el uso de timolol y levobunolol en pacientes glaucomatosos frente a sujetos sanos no tratados. Ambos medicamentos disminuyeron significativamente el volumen de la PL en la SO, con una reducción adicional del TBUT con timolol, a diferencia del levobunolol, en el cual el TBUT fue normal (Stremmel I. 1984). Otros estudios han demostrado reducciones significativas en la producción de la lágrima mediante el test de Schirmer (Shimazaki J. 2000). El uso de betabloqueantes tópicos también ha sido estudiado en secciones histológicas de la conjuntiva humana. Se han descrito los siguientes cambios histológicos: metaplasia escamosa (definida como un aumento en el grosor y en el número de las células epiteliales), inflamación (aumento en el número de linfocitos, macrófagos y fibroblastos) y fibrosis subconjuntival (Nenciu A et al. 2004). Tras largos periodos de tratamiento, se ha documentado aumento significativo en la densidad del colágeno subepitelial, aumento del número de fibrocitos y disminución de la matriz intercelular (Nenciu A et al. 2004).

4.2. 1. 1. 2. Análogos de las prostaglandinas

Las prostaglandinas tópicas son, junto con los betabloqueantes, los dos grupos farmacológicos más empleados en el tratamiento de l glaucoma crónico. Disminuyen la PIO mediante un aumento de la salida del humor acuoso a través de la vía uveoscleral. El mecanismo preciso mediante el cual ejercen este efecto no es del todo conocido. Actualmente hay cuatro tipos de prostaglandinas disponibles en el mercado español: Latanoprost, travoprost, bimatoprost y tafluprost.

56

Efectos sobre los párpados y el área periorbitaria. Los análogos de prostaglandina pueden producir hiperpigmentación de la piel. Por lo general, la pigmentación disminuye gradualmente durante el primer mes tras el cese del fármaco y se resuelve casi por completo alrededor de los 4 meses (Wand M et al. 2001; Kook MS & Lee K. 2000). La dermatitis de contacto, reactivación cutánea de un herpes zoster y la lipodistrofia orbitaria son otras complicaciones descritas (Sadhi PK et al. 2004; Morales J et al. 2001).

Efecto sobre las pestañas. La hiperpigmentación e hipertriosis de las pestañas es un efecto adverso común. El aumento de la longitud y densidad de las pestañas se observa tanto en la parte superior como en la inferior de los párpados. De hecho, se ha documentado el uso de bimatoprost tópico en el tratamiento de la hipotricosis (Kook MS & Lee K. 2000).

Efectos sobre la conjuntiva y la córnea. La hiperemia conjuntival, debida a un mecanismo vasodilatador, es el efecto adverso más frecuente de las prostaglandinas sobre la SO, habiéndose documentado hasta en un 31% de los pacientes, (Rulo AH et al. 1994; Widengard et al. 1998; Honrubia F et al. 2009). Se ha hallado también una disminución de la densidad de las células caliciformes de la conjuntiva (Stefan C. 2008). Prácticamente todos los indicadores de PSO se han demostrado alterados en numerosos estudios clínicos: TBUT, disfunción de glándulas de Meibomio y test de Schirmer (Stefan C. 2008; Lark KK et al. 1999; Moreno M et al. 2003). Estudios en animales han demostrado que los análogos de las prostaglandinas alteran los fibroblastos conjuntivales, posiblemente debido a una disrregulación de la proteína MMP- 3. Dicha enzima está implicada en la degradación del colágeno y en la reparación de heridas, especialmente de la conjuntiva (Mielitz. 2003; Mielitz. 2001). El efecto adverso corneal más característico, pero no más frecuente, es la recurrencia del virus de herpes simple (VHS) (Kaufman HE. 1999). Puede ocurrir entre 8 días y 14 meses de haber iniciado el tratamiento. Otro efecto secundario característico, y no tanto “adverso”, es la hiperpigmentación del iris (Widengard et al. 1998), debida a la activación

de la enzima tirosín- quinasa en los melanocitos del estroma iridiano. Puede revertirse con la interrupción del tratamiento pero, en algunos casos, puede llegar a ser permanente (Stjernschantz JW et al. 2002).

4.2. 1. 1. 3. Inhibidores de la anhidrasa carbónica (IAC)

Actualmente existen comercializados dos IAC tópicos (dorzolamida y brinzolamida) para el tratamiento de la HTO/ glaucoma. Su uso tópico es menos eficaz que su uso oral. Mediante la inhibición de la enzima anhidrasa carbónica (AC) en el epitelio del cuerpo ciliar reducen la producción del humor acuoso. Presentan una alta penetrancia en el medio intraocular. Un estudio realizado en córnea de conejos reveló que el colirio de dorzolamida al 0,1% inducía un 100% de inhibición de la actividad de la AC (Sugure MF et al. 1990). La posología recomendada de dorzolamida es de tres veces al día en solución al 2%, con una eficacia equivalente a la brinzolamida (Silver LH. 1998). Aunque los datos presentes en la literatura son controvertidos, los pacientes parecen tolerar mejor la brinzolamida que la dorzolamida (Barnebey H & Kwok SY. 2000). Estas diferencias sobre el “confort” ocular se han atribuido a diferencias en el pH entre ambos compuestos (De Santis L. 2000). Los efectos adversos oculares más frecuentemente documentados con los IAC son sensación de “quemazón” ocular (19%), picor (12%), visión borrosa transitoria (9%) y lagrimeo (7%) (Strahlman E et al. 1995; Rosenberg LF et al. 1998; Epstein R. et al 1998).

Efectos sobre los párpados y el tejido periorbitario. La dorzolamida puede producir dermatitis, habitualmente reversible tras la interrupción del tratamiento (Delaney YM et al. 2002). Sin embargo, en algunos pacientes puede persistir, terminando por producir cambios cicatriciales que pueden ocasionar un ectropión. En una serie de casos de 13 individuos con ectropión relacionado con medicamentos, nueve de ellos fueron tratados con dorzolamida (Hegde V et al. 2007). La interrupción del tratamiento y el uso de esteroides tópicos solventaron el cuadro. Otras reacciones adversas documentadas con el uso de dorzolamida son la blefaritis, el eritema palpebral e incluso un caso de necrosis epidérmica tóxica (Munshi V & Ahluwalia H. 2008; Asensio- Sánchez VM. 2008).

Efecto sobre las vías lagrimales. El uso de dorzolamida tópica asociada con timolol y pilocarpina en pacientes ancianos ha demostrado aumentar significativamente el riesgo de obstrucción del sistema de drenaje lagrimal (Kashkouli MB et al. 2008).

Efectos sobre la conjuntiva y la córnea. Al igual que con los análogos de las prostaglandinas, la hiperemia conjuntival constituye el efecto secundario más frecuentemente observado. Se ha llegado a describir hasta en el 20,7% de los pacientes (Adamsons IA et al. 1998). La conjuntivitis alérgica es relativamente frecuente tras 3- 12 meses de tratamiento (Strahlman E et al. 1995). La aparición de folículos limbares también ha sido descrita (Gupta R & Vernon SA. 2005). Varios estudios han demostrado que el uso tópico de IAC puede ocasionar un aumento del GCC debido a una descompensación edematosa, relacionada con la inhibición de la propia enzima (AC), que juega un papel importante en el mantenimiento de la transparencia corneal (Tanimura H et al. 2005; Zhao JC & Chen T. 2005). Esta complicación es mucho más frecuente en pacientes con córnea guttata (Domingo Gordo B et al. 2002). Asociado al uso de dorzolamida, se ha descrito la aparición de QPS y anestesia corneal (Kohlhaas M et al. 1997).

Efecto sobre la película lagrimal. Sólo existe un estudio en la literatura que evalúe específicamente el efecto de los IAC sobre el menisco lagrimal y el TBUT. Noguchi y col (2007) estudiaron los síntomas de visión borrosa referidos por pacientes tratados con IAC y concluyeron que se debía a una inestabilidad importante de la PL (acortamiento del TBUT y disminución de la altura del menisco lagrimal).

4.2. 1. 1. 4. Agonistas α - adrenérgicos (agonistas simpaticomiméticos)

Los dos fármacos α - adrenérgicos disponibles para la disminución de la PIO son la apraclonidina y la brimonidina. En la presente Tesis Doctoral nos referiremos exclusivamente a la brimonidina, por ser el principio activo de esta familia más empleado como hipotensor en la práctica clínica habitual en España (bien como fármaco único, bien en combinación con otros hipotensores tópicos). La brimonidina disminuye la PIO al reducir la producción de humor acuoso y favoreciendo su salida por la vía uveo-escleral. Comprado con la apraclonidina, presenta una menor incidencia de conjuntivitis alérgica (Gordon RN et al. 1998), sin tasas significativas de reactividad cruzada entre ambos medicamentos. Sin embargo, sí es posible que la brimonidina aumente la probabilidad de desarrollar diferentes manifestaciones alérgicas a la exposición de sucesivos fármacos, como el timolol, brinzolamida o latanoprost (Osborne SA et al 2005). En el estudio previamente comentado de Hegde V y col (Hegde V et al. 2007), un 23% de los ectropiones, secundarios a una dermatitis de contacto cicatricial, estuvieron relacionados con el uso de brimonidina. En el 2008 se publicó un caso aislado de ectropion reversible relacionado con su uso (Aristodemou P & Baer R. 2008). Un efecto secundario descrito es el blanqueamiento de la piel rodeado de un halo de hiperemia cerca de la mejilla. Esta reacción local puede ser debida a un leve efecto vasoconstrictor por inhibición de los receptores α - 1, que puede persistir hasta 24 horas tras la instilación (Scruggs JT et al. 2000). Reacciones menos frecuentemente publicadas incluyen una dermatitis de contacto peri-ocular y un liquen plano en las uñas, ambas reversibles tras la interrupción del medicamento (Sodhi PK et al. 2003; Bordel-Gómez MT et al. 2009).

4.2. 1. 1. 5. Agentes colinérgicos (agonistas para-simpaticomiméticos)

El mecanismo por el cual estos fármacos ejercen su acción hipotensora es mediante el incremento de la salida del humor acuoso a través de la malla trabecular. Su uso hoy en día es prácticamente nulo para el tratamiento de la HTO o el glaucoma crónico, debido a su menor eficacia hipotensora comparada con otros fármacos disponibles y la frecuente aparición de efectos adversos, como cefaleas relacionadas con una astenopia acomodativa inducida. Los síntomas más referidos por los pacientes tratados con pilocarpina (principal representante de este grupo farmacológico) incluyen visión borrosa e irritación ocular, con prevalencias de hasta un 50% (Johnson DH et al. 1984; Johnson DH et al. 1986). Otros efectos adversos descritos sobre la SO incluyen: dermatitis de contacto (Helton J & Storrs FJ. 1991), fibrosis conjuntival (Steuhl KP et al 1991), conjuntivitis folicular (Jackson WB. 1993) y penfigoide cicatricial (Tauber J et al. 1989).

58

Tabla I

Manifestaciones clínicas de la PSO relacionadas con el principio activo	
Signos/ Síntomas comunes descritos con todos los principios activos	Enrojecimiento, sequedad ocular, irritación, lagrimeo, quemazón, sensación de cuerpo extraño, fotofobia, visión borrosa
Análogos de las Prostaglandinas	Hiperpigmentación de los párpados y las pestañas, hipertriosis, quistes iridanos, uveítis, edema macular, recurrencia del virus del herpes simple/ zoster
β -bloqueantes	Dermatitis de contacto, blefaritis, conjuntivitis, queratitis punteada superficial, síndrome pseudopenfigoide
Inhibidores de la anhidrasa carbónica	Dermatitis, ectropión cicatricial, conjuntivitis alérgica, edema corneal
Agonistas α - adrenérgicos	Uveítis anterior granulomatosa, conjuntivitis alérgica y dermatitis
Agonistas parasimpático-miméticos (pilocarpina)	Espasmo de acomodación, miosis y miopización (mala visión nocturna), iritis

4.2. 2. Papel de los conservantes en la patología de la superficie ocular

Podemos definir “conservante” como aquella sustancia capaz de detener o minimizar el deterioro de un compuesto por la presencia de diferentes tipos de microorganismos (principalmente bacterias y hongos). Su función, por lo tanto, es la de preservar dicho compuesto (del inglés, “preservative”). La presentación tópica de los medicamentos oftalmológicos en colirios obliga a la inclusión de estas sustancias en su formulación, más allá del principio activo y los excipientes potenciadores necesarios.

El GPAA y el GPAC son, por definición, enfermedades crónicas que requieren para su adecuado control conseguir cifras tensionales normales durante largos periodos de tratamiento, cuando no toda la vida. Así pues, producir nuevos compuestos libres de conservantes, o con conservantes más respetuosos con la SO, ha sido el principal reto de la Industria Farmacéutica, en lo que al tratamiento médico del glaucoma se refiere, durante los últimos 20 años.

El **cloruro de benzalconio (BAK)** fue introducido por vez primera en la década de 1950 y, a día de hoy, sigue siendo el conservante más empleado en las soluciones oftálmicas. Se trata de un amonio cuaternario que tiene actividad bacteriostática y bactericida, así como propiedades surfactantes que facilitan el paso del principio activo a la cámara anterior (Yee RW. 2007; Caraccio TR et al. 2004). Sin embargo, el BAK no es selectivo de las bacterias o los hongos, pudiendo dañar también las diferentes estructuras de la SO. Debido a sus efectos tóxicos, esta sustancia ha sido objeto de estudio durante muchos años. Una gran cantidad de publicaciones avalan su efecto nocivo, tanto en estudios in- vitro como en estudios clínicos (Anwar Z. et al. 2013; Noecker R& Miller KV 2011; Tressler CS et al 2011). La mayoría de los estudios in- vitro han evaluado la viabilidad de las células epiteliales corneales y conjuntivales con la exposición al BAK desde cinco a 30 minutos. El tiempo y la concentración de exposición determinan, en gran medida, el grado de alteración sobre la SO. Los antibióticos conservados con BAK han demostrado disminuir de forma significativa el menisco lagrimal y el TBUT a partir de los 30 segundos desde su instilación (Friedlaender MH et al. 2006).

59

El **conservante SofZia^R** (Alcon, Fort Worth, Texas, USA) fue inicialmente comercializado en las formulaciones oftálmicas de travoprost. Consistía en un ion tipo buffer que contenía borato, sorbitol, propileno, glicol y zinc. Fue aprobado por la **Food and Drug Administration (F.D.A)** como sustituto del BAK. Sin embargo, no cumplió con los requerimientos mínimos de la Agencia Europea del Medicamento, al no disponer de una actividad bactericida suficiente contra *Staphylococcus aureus*, ni actividad antimetabólica suficiente frente a determinados hongos. **Purite^R**, un complejo oxo-cloro, estuvo comercializado un corto periodo de tiempo. Otro conservante comercializado es el **polyquad (Poluquaternium-1) (PQ)**, otro amonio cuaternario, con una estructura química muy parecida al BAK, y una aparente misma eficacia bactericida pero menos lesivo sobre las células corneales (Ammar et al. 2010).

En la actualidad, El BAK sigue siendo el conservante más empleado debido a su gran actividad bactericida. Exceptuando aquellos hipotensores tópicos libres de conservantes, prácticamente la totalidad de medicamentos tópicos hipotensores comercializados en España contienen BAK. Sólo el travoprost (Travatán^R) y la combinación fija de travoprost- timolol (Duotrav^R) presentan como conservante en su composición el PQ. El travoprost conservado con PQ ha demostrado la misma eficacia hipotensora con un perfil de seguridad y tolerancia muy parecido al BAK (Peace JH et al. 2015).

A continuación se comentaran brevemente los principales estudios publicados acerca de los efectos nocivos de los conservantes de las soluciones oftalmológicas hipotensoras.

Tripathi & Tripathi (Tripathi BJ & Tripathi RC 1989) demostraron que una concentración de sólo 0,01% de BAK era suficiente para provocar el cese de la citocinesis y mitosis de células corneales humanas. Empleando muestras de conjuntiva humana, Takashiy col (Takashi et al. 1982) midieron la citotoxicidad del BAK durante 98,9 segundos a una temperatura de 37°C, existiendo hasta un 50% de daño celular en el cultivo. Debbasch y col (Debbasch C et al. 2001) demostraron que la muerte celular tras la exposición al BAK a concentraciones bajas puede ser mediado por un mecanismo apoptótico. Sin embargo, a altas concentraciones, la necrosis podría ser el principal mecanismo de muerte celular. Posteriormente, Ayaki y col (Ayaki M et al. 2008) emplearon, esta vez, células epiteliales corneales para demostrar que la citotoxicidad de las soluciones oftálmicas disminuía en ausencia de BAK. Chung y col (Chung SH et al. 2006) describieron una disrupción de la capa mucinosa de la PL ante la exposición de altas concentraciones de BAK. Epstein y col (Epstein SP et al. 2009) demostraron que las células epiteliales corneales y células conjuntivales humanas expresaban un aumento de determinadas citoquinas pro-inflamatorias, como el TNF, IL-1, IL-12, IL-10 y CRP-9 ante la presencia de BAK.

Varios estudios in vitro han comparado los efectos nocivos de los medicamentos conservados frente a los que no llevan conservantes. Así, Kawase y col (Kawase K et al 2010) demostraron, en células conjuntivales humanas cultivadas, que las formulaciones de timolol conservadas con BAK mostraban una actividad celular más reducida que la formulación sin BAK. Ammar y col (Ammar DA et al. 2010) mostraron que el travoprost sin BAK producía una mayor supervivencia celular en cultivos de células epiteliales corneales humanas, comparado con travoprost conservado con BAK. La tasa de supervivencia de los cultivos celulares tratados con PQ fue la más alta, seguida de las tratadas con SofZia y BAK.

El timolol no conservado ha demostrado no inducir toxicidad celular (De Saint et al. 2000), y sólo un leve aumento del estrés oxidativo celular en células conjuntivales (Pisella PJ et al. 2004). Empleando cultivos de células endoteliales corneales humanas, Ayaki y col (Ayaki M et al. 2010) concluyeron que la viabilidad celular era mayor en soluciones de travatan sin cloruro de benzalconio (BAK) (88,5%), seguido de timolol no conservado (80,9%) y dorzolamida no conservada (71,1%). En la misma línea, Yee col mostraron que travoprost conservado sin BAK fue significativamente menos tóxico para células epiteliales corneales humanas que el latanoprost conservado con BAK (Yee RW et al. 2006). Otro estudio evaluó específicamente el papel citotóxico de las prostaglandinas, concluyendo que no existía un aumento de la apoptosis o la necrosis en células tratadas con travoprost sin BAK versus controles sin tratamiento (Baudouin et al. 2007).

El tafluprost no conservado no ha demostrado producir una citotoxicidad directa, mostrando ausencia de inducción de marcadores inflamatorios sin disrupción de la membrana celular en comparación con soluciones conservadas con BAK (Liang H et al. 2011; Brasnue et al. 2008). En líneas celulares de conejos, el latanoprost sin conservantes disminuyó levemente la viabilidad celular, mostrando una reacción inflamatoria mínima, y encontrándose además escasas células apoptóticas en las capas superficiales de la córnea y la conjuntiva, sin diferencias estadísticamente significativas con respecto a células tratadas con una solución salina (Pauly A et al. 2012).

Ingram y col (Ingram et al. 2004) demostraron la citotoxicidad del BAK sobre cultivos de células epiteliales corneales y conjuntivales. 15 minutos tras la aplicación de BAK y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), Adams et al (Adams J et al. 1992) observaron muerte celular en células epiteliales corneales cultivadas de conejo.

4.2.2.2. Estudios in vitro

a. Estudios en animales

Diversos estudios sobre animales in vivo han demostrado también los efectos nocivos del BAK. Wilson y col llevaron a cabo, en 1975, uno de los primeros estudios sobre los efectos oculares del BAK (Wilson et al. 1975), demostrando un acortamiento del tiempo de ruptura de la lágrima con concentraciones de BAK de tan solo el 0,01%. En la misma línea, Green y col (Green et al. 1977) demostraron que las propiedades ultraestructurales del endotelio corneal de conejos se veían alteradas tras tres horas de perfusión con soluciones de BAK al 0,0001%. Colin y Grabsch realizaron queratectomías en córneas de conejos para determinar el efecto del BAK en el proceso de curación de las heridas corneales (Collin HB et al 1982). Aunque el BAK a una concentración de 0,01% no influyó sobre este proceso, al 0,02% sí retrasó la curación de la herida. Colin publicó otro trabajo que en el que demostraba la aparición de edema intra- y extracelular y contracción de queratocitos (Colin HB. 1986). En las córneas de conejo queratectomizadas tratadas con BAK, observó una disrupción extensa de las membranas celulares y de las organelas intracitosólicas. Posteriormente, Colin y Carroll demostraron que córneas con queratectomías previas eran afectadas adversamente por el BAK (Collin & Carrol 1986). En córneas de conejo, López Bernal y col encontraron una mayor tinción de la superficie corneal en ojos expuestos a BAK 0,01% comparados con soluciones sin BAK u otros conservantes (Lopez Bernal D& Ubels JL et al. 1991). Ichijima y col (Ichijima H et al. 1992) emplearon microscopía confocal para examinar el efecto del BAK en córneas de conejos vivos, observando efectos deletéreos con concentraciones de tan solo el 0,005%.

Mietz y col (Mietz H et al 1994) compararon el efecto de soluciones conservadas frente a no conservadas en ojos de conejos durante tres meses. El grosor del colágeno subepitelial aumentó en los ojos tratados con la solución preservada. Un estudio muy similar fue llevado a cabo por Becquet y col (Becquet F et al. 1998) poco después. En un estudio con 25 ratones, Baudouin y col (Baudouin C et al 1999) hallaron la presencia de infiltrados corneales tras un mes de tratamiento con timolol conservado, que no existían en el grupo tratado con timolol no conservado. Pisella y col (Pisella PJ et al. 2000) obtuvieron menor incidencia de edema estromal en ojos de ratones tratados con timolol conservado con BAK comparado con timolol sin conservantes.

b. Estudios en seres humanos

Son numerosos los estudios que han investigado el grado de tolerancia de los conservantes en pacientes glaucomatosos. Dependiendo de cuál sea el objetivo último de estudio (documentación del grado de daño del epitelio corneal, grado de hiperemia ocular, tolerancia, puntuación en escalas de calidad de vida, TBUT, etc.) los resultados varían significativamente entre los distintos autores. Algunos estudios observacionales concluyen que existe una alteración significativa en la calidad de vida de pacientes glaucomatosos tratados con medicaciones hipotensoras tópicas conservadas (Skalicky SE. et al 2011; Rossi GC. et al 2009; Camp. A et al. 2015). Sin embargo, otros grupos de investigación no describen ese impacto como significativo (Valente C et al. 2011; Cvenkel B et al 2015; Ghosh S et al 2012; Lemij HG et al. 2015). La rápida dilución de BAK por la PL tras su instilación minimiza su efecto deletéreo sobre las células oculares. Por ello, su repercusión sobre los síntomas o calidad de vida no está del todo aclarada. Gracias a la gran evidencia científica existente, hay consenso en que los conservantes son nocivos para la SO, pero el impacto real en la práctica clínica debe ser contrastada con una larga experiencia clínica individual. Muchos pacientes desarrollan leves molestias que no ven limitada su actividad diaria y, además, alcanzan cifras tensionales adecuadas.

En la última década se han publicado abundantes trabajos de investigación clínica que evalúan el efecto de los conservantes sobre la SO. Los ensayos clínicos que más se han realizado han sido estudios cruzados (del inglés, “crossover studies”) en los cuales se suspende el tratamiento con BAK por otro no conservado o con un conservante menos lesivo. En 2011- 2012 se publicaron tres ensayos clínicos que evaluaban las terapias hipotensoras sin conservantes recientemente comercializadas en USA (tafluprost y dorzolamida + timolol sin conservantes). En dos de ellos, se sustituyó latanoprost conservado con BAK por tafluprost y se evaluó su repuesta a los tres meses. En ambos estudios se documentó una disminución significativa de los síntomas de PSO y de las anomalías de la PL (osmolaridad, TBUT, Schirmer test) (Januleviciene I et al. 2012; Uusitalo H et al. 2010). El tercer ensayo clínico referido, publicado en 2010, fue un estudio en el que se sustituyó el tratamiento conservado con BAK por medicamentos no conservados en aproximadamente 2000 pacientes, y se objetivó un incremento de la tolerancia a la medicación de aproximadamente un 80% (Renieri G et al. 2010).

Leung EW y col (Leung EW et al. 2008) publicaron un estudio transversal con 101 pacientes tratados con hipotensores tópicos. Un 59% de la muestra refirió síntomas significativos de SOS. Realizaron un modelo de regresión logística que demostraba que por cada gota adicional de BAK, la probabilidad de presentar anomalías conjuntivales en la tinción con verde de lisamina se multiplicaba por dos.

En un gran estudio transversal, que incluyó 9658 pacientes glaucomatosos, se evaluaron síntomas relacionados con PSO y varios signos, tales como QPS, enrojecimiento o disfunción palpebral. Tanto síntomas como signos relacionados con la PSO fueron significativamente más prevalentes en pacientes tratados con betabloqueantes conservados que en aquellos tratados con medicaciones no conservadas. Sin embargo, muchos de los pacientes incluidos presentaban politerapia o estaban tratados con otros fármacos tópicos no hipotensores. La prevalencia de QPS fue de un 25,6%, con tan solo un 1,7% de pacientes con QPS severa. En aquellos pacientes que cambiaron su tratamiento a una medicación no preservada, la incidencia de QPS se redujo de un 29% a un 5,7% (Jaenen N et al. 2007).

Un estudio en el que se comparó timolol maleato (con una concentración de 0,01% de BAK) con una población sin tratamiento tópico, observó una reducción de la producción lagrimal (evaluada con el test de Schirmer) y el TBUT en el grupo de tratamiento (Herrerías JM et al. 1992). Otros estudios posteriores comparativos con formulaciones no preservadas arrojan los mismos hallazgos (Inoue K et al. 2003; Baffa Ldo P et al. 2008).

Como conclusión al presente apartado, se puede afirmar que existe una evidencia preclínica sustancial y tangible que apoya la hipótesis de que una exposición a altas concentraciones de BAK, así como durante largos periodos de tiempo, produce efectos adversos sobre la SO. Muchos de estos estudios incluyen concentraciones altas de BAK o modelos experimentales diversos, de tal modo que la extrapolación de dichos resultados a la práctica clínica diaria debe hacerse con cautela. Los estudios clínicos arrojan evidencia que aprueba dicha hipótesis, pero no de forma consistente, ya que existen muchas discrepancias entre unos estudios y otros. De hecho, estudios a largo plazo con medicaciones hipotensoras preservadas con BAK a concentraciones comerciales, no han demostrado una mayor prevalencia de la PSO secundaria exclusivamente a la concentración del conservante. La acción deletérea propia del principio activo también supone un factor de confusión no desdeñable. Posiblemente, factores como la edad, otras patologías concomitantes o diversos factores de vulnerabilidad individual, jueguen también un papel determinante.

4.2. 3. Papel de las combinaciones fijas de medicaciones tópicas

Teniendo en cuenta los datos arrojados por el OHTS, a los cinco años del diagnóstico de glaucoma, el 40% de los pacientes empleaba, al menos, dos principios activos hipotensores tópicos y un 9%, al menos tres (Konstas AG et al. 1999). Es decir, aproximadamente un 50% de los pacientes

glaucomatosos requiere, como mínimo, dos principios activos para un adecuado control tensional. Por ello, surgió la idea de desarrollar las denominadas “combinaciones fijas (CF)”, que incluyen más de un principio activo en un mismo colirio. La eficacia de las CF actuales se mide por su potencia hipotensora, la cual debe ser al menos similar que sus componentes por separado (Fechtner RD & Realini T. 2004; Cox JA et al. 2008). Su uso presenta varias ventajas: 1) minimiza el número de gotas diarias con la clara implicación que esto pueda suponer sobre la PSO (Saade E. et al. 2015; Mathews PM et al. 2015; Skalicky SE. et al. 2011) y la calidad de vida (Leung EW. et al. 2008; Skalicky SE. et al. 2011; Fechtner RD. et al. 2010); 2) se evita un efecto lavado del segundo principio activo; 3) facilita la adherencia al tratamiento (Nordstrom BL et al. 2005) y, por tanto, se podría alcanzar una mayor efectividad terapéutica con un teórico mejor control de la enfermedad (Francis BA et al. 2004). Esto hace suponer que se conseguiría, a su vez, un mayor ahorro económico, aunque este aspecto no está suficientemente estudiado. Hasta un 51% de los pacientes admiten olvidar dosis con fármacos que requieren una o dos instilaciones diarias, y hasta un 61% con aplicaciones superiores a las dos gotas diarias (Patel SC & Spaeth GL. 1995). En fármacos hipotensores sistémicos para la HTA o para la hipercolesterolemia, las CF disminuyen la falta de adherencia hasta en un 26% con respecto a terapias no combinadas (Bangalore S et al. 2007).

La mayoría de las CF actuales incluyen en su formulación timolol 0.5%. Sólo existe una CF comercializada en España que no lo tiene, y es una combinación de brimonidina- brinzolamida (Simbrinza[®]), introducido en España en 2014. Su perfil de seguridad ha demostrado ser consistente con el de sus componentes individuales, siendo los eventos adversos oculares más frecuentes la hiperemia ocular, los trastornos visuales transitorios y las reacciones alérgicas oculares (Fellman RL et al. 2004; Realini T et al. 2013; Aung T et al. 2014). A día de hoy, sólo tres CF comercializadas en España carecen de conservante en su formulación: Dorzolamida- timolol (Cosopt PF[®], Duo-Kopt[®]) y bimatoprost- timolol (Ganfort[®] UD) y tafluprost- timolol (Taptiqom[®]). El resto presentan BAK, aunque a diferentes concentraciones, a excepción de la CF travoprost- timolol (DuoTrav[®]), que presenta PQ. Debido a su menor daño teórico sobre la SO, esta última CF podría ser de elección en pacientes con PSO previa (Konstas AG et al. 2012), aunque su repercusión clínica sobre la PSO aún debe ser contrastada en estudios comparativos a largo plazo. La CF dorzolamida- timolol fue la primera comercializada en España de las utilizadas actualmente (1998). Es un fármaco bien tolerado, siendo el efecto adverso más frecuente la presencia de molestias locales (hasta un 30%), seguido de disgeusia. La CF brinzolamida- timolol presenta un pH más neutro, que puede ser responsable de una menor prevalencia descrita de molestias oculares (Sánchez-Pulgarín M et al. 2011; Vold SD et al. 2008), si bien está referida una mayor incidencia de visión borrosa (Ormrod D et al. 2000). Asimismo, parece evidenciarse una mayor tolerancia a las CF de prostaglandina-timolol respecto a sus componentes por separado (Aptel F et al. 2007), habiéndose observado las mismas reacciones adversas locales que sus componentes, individuales, aunque quizás la hiperemia ocular inducida por la prostaglandina sea menor, debido a la acción vasoconstrictora local del betabloqueante. Un ensayo clínico multicéntrico que incluyó a casi 1000 pacientes tratados con dicha CF, reveló que a los cinco años la hiperpigmentación iridiana apareció en aproximadamente un 30% de los pacientes, la hipertriosis en un 58% y la pigmentación palpebral en un 5-6% (Alm A et al. 2011). La CF bimatoprost- timolol presenta una concentración de BAK menor a otras CF (0.05%), al igual que la CF brimonidina- timolol. Se ha descrito una menor incidencia de hiperemia conjuntival con bimatoprost- timolol que con bimatoprost aislado, lo cual puede ser debido bien al efecto de una menor concentración de BAK, bien al efecto del beta-bloqueante (Hommer A. 2007). Sin embargo, según los estudios comparativos de CF prostaglandina- timolol publicados, la CF bimatoprost- timolol presenta menor tolerancia y más efectos adversos locales, si bien es la que consigue cifras tensionales más bajas (Quaranta L et al. 2012; Scherzer ML et al. 2011). La tasa de alergia con la CF brimonidina- timolol disminuye hasta un 50% respecto al uso de brimonidina aislada, lo cual podría explicarse, de nuevo, debido a la acción vasoconstrictora del timolol, que minimizaría los signos de inflamación (Motolko MA. 2008).

Las CF han supuesto un gran avance en la terapéutica médica del glaucoma. Probablemente en los próximos años se desarrollarán nuevas formulaciones con más de dos principios activos, con conservantes menos lesivos sobre la SO o con combinaciones de más fármacos (más allá del timolol y la brinzolamida- brimonidina).

■ 4.3. Métodos de medida de los indicadores de la patología de la superficie ocular

La constante revolución tecnológica que subyace en la medicina, y en la oftalmología en particular, ha traído consigo multitud de instrumentos y softwares capaces de analizar indicadores de PSO. Si bien pueden aportar una evaluación más objetiva y reproducible de varios indicadores de PSO, su aplicabilidad en la práctica clínica diaria es limitada por cuestiones obvias: relación coste/eficacia, volumen asistencial, trascendencia clínica real para el diagnóstico y/o el tratamiento, etc. Lo cierto es que en la clínica del día a día, los métodos más empleados para evaluar la SO en pacientes con glaucoma siguen siendo los mismos que hace 20- 30 años. A continuación se desglosarán los síntomas y signos cardinales referentes a la PSO, así como las principales formas de evaluarlos.

4.3. 1. Cuestionarios sobre síntomas de patología de la superficie ocular y calidad de vida

Los cuestionarios elaborados para evaluar los síntomas de la PSO han sido diseñados para pacientes con SOS. Como se ha comentado anteriormente, los síntomas de una PSO derivada del uso de un tratamiento hipotensor tópico crónico y aquellos derivados de un SOS evaporativo senil se solapan tangiblemente (sensación de quemazón, de cuerpo extraño, irritación, escozor, fotofobia, etc.). Los cuestionarios tienen su relevancia, ya que permiten uniformizar criterios y objetivar, mediante puntuaciones, el grado de daño de la SO. Permiten, además, llevar a cabo una evaluación más rigurosa y estandarizada de la respuesta a los tratamientos.

Los cuestionarios que evalúan los síntomas por SOS difieren en su finalidad (screening vs evaluación de la severidad clínica), extensión y grado de validación previa. Los cuestionarios más empleados en el SOS son el cuestionario de McMonnies y el Ocular Surface Disease Index (OSDI). La sensibilidad y especificidad descrita para el primero es de un 78% y 44%, respectivamente (Nichols KK et al. 2004), mientras que para el segundo los valores de sensibilidad y especificidad son de, aproximadamente, un 60% y 80%, respectivamente (Schiffman RM et al. 2000). Por lo tanto, la principal utilidad del cuestionario de McMonnies radica en el screening de la enfermedad, mientras que el test de OSDI es más útil para el seguimiento. Mientras que el primero apenas se ha empleado en pacientes con glaucoma, el segundo se ha utilizado en multitud de estudios y ensayos clínicos.

El test de OSDI está compuesto por doce preguntas sobre diferentes síntomas relacionados con la PSO durante la semana previa al interrogatorio, con cinco respuestas posibles en función de la frecuencia con la que se presente dicho síntoma (“En todo momento”; “casi en todo momento”; “el 50% del tiempo”; “casi en ningún momento”; “en ningún momento”). Cinco de las preguntas versan sobre molestias oculares locales y/o una visión borrosa transitoria, cuatro hacen referencia a actividades de la vida diaria, como leer o conducir, y tres están relacionadas con el estado ambiental del enfermo (exacerbación de los síntomas ante la presencia de viento, aire acondicionado o humedad). Tras realizar el interrogatorio, se obtiene una puntuación final que varía de 0 a 100. Una puntuación mayor de 12 indica presencia de PSO clínicamente relevante (Miller KL. 2010). Este test ha sido empleado por muchos autores en estudios clínicos con pacientes glaucomatosos bajo tratamiento hipotensor tópico. García Feijoó J & Sampaolesi JR (García Feijoó & Sampaolesi JR. 2012) describieron una prevalencia de un 59,2% de PSO en 448

pacientes tratados. Valente C. y col (Valente C. et al. 2011) describieron una prevalencia de un 52% en 50 pacientes con tratamiento hipotensor tópico. Otros estudios de corte transversal con grupo control han documentado diferencias significativas entre grupos (pacientes con glaucoma tratados vs controles sanos o sospechos de glaucoma sin tratamiento) (Mathews PM et al. 2013; Skalicky SE et al. 2011; Rossi GC et al. 2009). Sin embargo, también se ha publicado una ausencia de diferencias significativas entre ambos grupos (Cvenkel B et al. 2015). Muchos estudios que incluyen únicamente pacientes glaucomatosos tratados, sin grupo control, describen prevalencias altas de PSO en los sujetos estudiados (Saade CE et al. 2014; Leung EW et al. 2008; Fechtner RD et al. 2010). En la discusión de la presente Tesis se analizarán con detalle estos estudios, y se comentaran las ventajas y limitaciones del test de OSDI.

Otros cuestionarios empleados en la evaluación de la PSO en pacientes con glaucoma han sido el Glaucoma Quality of Life-15 (GQL-15) (Skalicky SE et al. 2012), el Dry Eye Questionnaire 5 (DEQ5) (Camp A et al. 2015), Impact of Dry Eye on Everyday Life (IDEEL) (Camp A et al. 2015; Abetz L et al. 2011) y el Non-specific vision-related quality of life (QL) metric (Rossi GC et al. 2009). Entre todos ellos, sólo el test de OSDI y el IDEEL han sido previamente validados (Grubbs JR et al. 2014). Un estudio reciente comparó, en una población de 657 sujetos asintomáticos de entre 18 y 34 años, las puntuaciones de los cuestionarios Standard Patient Evaluation of Eye Dryness (SPEED) y OSDI, concluyendo que el primero era mejor para discriminar entre pacientes asintomáticos y sintomáticos; es decir, era un test más sensible (Asiedu K et al. 2016). Sin embargo, no hay ningún estudio publicado en la literatura que evalúe este test en pacientes con glaucoma.

4.3. 2. Evaluación de los párpados, película lagrimal, conjuntiva y córnea

Como se ha comentado previamente, los fármacos hipotensores tópicos repercuten sobre la SO a nivel de varias estructuras. El primer paso en la exploración de un paciente con presunta PSO es el examen sin tintaciones de la SO mediante una lámpara de hendidura (LH). Los posibles signos que se pueden encontrar son erosiones corneales epiteliales superficiales, disminución del menisco lagrimal inferior, ruptura precoz de la PL, hiperemia ocular y disfunción de las glándulas de Meibomio palpebral. Varios test complementarios completan la evaluación.

65

4.3. 2. 1. Test de Shirmer

El test de Shirmer fue descrito por el mismo autor en 1903 (Cho P & Yap M. 1993). Más de un siglo después, sigue formando parte de la batería de pruebas disponibles en la evaluación de la SO. Se emplea para medir la cantidad de producción de la PL. El test de Shirmer tipo I mide la secreción total, incluyendo la producción de lágrima basal y refleja. Sin la instilación previa de anestésico tópico, la tira de papel se aplica sobre el borde palpebral y la conjuntiva tarsal y se espera 5 minutos, momento en el cual se evalúa la distancia en mm que la lágrima ha “mojado” la tira de papel. Un valor menor de 10 mm es sugestivo de SOS acuodeficiente. En el test de Schirmer tipo II se emplea anestesia tópica previa a la colocación de la tira de papel, y evalúa solo la producción de lágrima refleja estimulada con la punta de un algodón. Se puede evaluar tras un minuto de espera (Kashkouli MB et al. 2010). A pesar de lo extendido de su uso, hay que tener en cuenta que su reproducibilidad es baja, pues consiste en un test por lo general molesto, con una alta tasa de falsos positivos (Bitton E et al. 2013; Feldman F & Wood MM. 1979). Ya que la PSO en pacientes con glaucoma obedece más a un mecanismo de SOS evaporativo que acuodeficiente (por afectación citotóxica directa del borde palpebral), no se ha empleado tanto como el test del TBUT con fluoresceína en los estudios sobre SO en pacientes glaucomatosos. Valente C. y col (Valente C. et al. 2011) observaron una disminución de la producción de la PL mediante el test de Shirmer tipo

I en 8 de 50 pacientes con glaucoma. En un estudio transversal, Leung EW y col (Leung EW. et al. 2008) encontraron una alteración en el test de Schirmer en un 61% de pacientes glaucomatosos bajo tratamiento hipotensor. Otros estudios transversales comparativos con grupo control no han arrojado diferencias estadísticamente significativas (Mathews PM. et al. 2013; Cvenkel B. et al. 2015) entre pacientes glaucomatosos tratados y sanos sin tratamiento.

4.3. 2. 2. Tinciones vitales

Los tres colorantes vitales más empleados en la evaluación de la SO son la fluoresceína sódica (FS), el Rosa Bengala (RB) y el Verde de Lisamina (VL).

La FS es el colorante de primera elección en el diagnóstico del SOS. Es un colorante hidrosoluble que tiñe los espacios intercelulares y permite detectar defectos epiteliales (Feenstra RP, Tseng SC. 1992). La tinción se realiza instilando 2 o 3 μ L de fluoresceína a una concentración del 1 o 2% en el saco conjuntival (idealmente con una micropipeta), o con tiras impregnadas del colorante que se aplican en la conjuntiva bulbar para mejorar la visibilidad y maximizar su absorción. La exploración se debe realizar dos minutos después de la instilación, con una LH y filtro azul cobalto. El contraste de la imagen incluso puede ser mejorado colocando un filtro amarillo delante del sistema de observación. Una ausencia de tinción indica integridad del epitelio corneal. Las erosiones epiteliales pueden ser el resultado de numerosas patologías o factores, aparte de un SOS o un efecto tóxico directo de las medicaciones hipotensoras, tales como una cirugía refractiva previa, infecciones locales, orbitopatía distiroidea, uso crónico de lentes de contacto etc (Yoon KC et al. 2011; Savini G et al. 2006). Por ello, por sí solo, no es un test altamente sensible ni específico. De hecho, existe una gran variabilidad inter-sesión de la tinción corneal en pacientes con SOS (Nichols KK et al. 2004 a). Es importante recalcar que el examen de la SO debe realizarse antes de la toma de la PIO.

66

Independientemente del estado corneal, la FS también es útil en la evaluación del tiempo de ruptura lagrimal (TBUT), del menisco lagrimal (ML) y en la realización del test de aclaramiento de la PL.

El TBUT es un parámetro indirecto de la estabilidad de la PL. Una vez aplicada la fluoresceína tópica, y tras esperar unos 30 segundos, el TBUT se calcula midiendo el intervalo de tiempo que transcurre desde un parpadeo hasta el primer signo de sequedad (ruptura de la PL). El paciente debe ser instado a no parpadear tras la administración tópica de la fluoresceína. Un TBUT menor de 10 segundos se considera sugerente de SOS evaporativo (Lemp M. et al. 2007). Sin embargo, no es un test patognomónico, de tal modo que debe realizarse una evaluación correcta ulterior del borde libre palpebral en busca de disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM). Se trata de un test barato y rápido, aunque ha demostrado ser inexacto y poco reproducible (Vanley GT et al. 1977; Lin YY et al. 2005). Aun así, la media de dos medidas consecutivas ha demostrado aumentar la reproducibilidad (Nichols KK et al. 2004). Idealmente, este test debe llevarse a cabo sin anestesia tópica, con 5 μ L de fluoresceína al 1 o 2%. De nuevo, los valores publicados en la literatura son controvertidos con respecto al TBUT en pacientes con glaucoma. Mientras que unos autores afirman un acortamiento significativo del mismo (Leung EW et al. 2008; Cvenkel B. et al. 2015; Martone G et al. 2009; Rossi GC et al. 2009; Dougherty BE et al. 2011; Baffa Ldo P et al. 2008), otros describen valores normales (Mathews PM et al. 2013; Lee SY et al. 2013; Uzunosmanoglu E et al. 2016).

El **test de aclaramiento de la PL** consiste en una modificación del test de Schirmer. Evalúa una combinación tanto de la secreción como del drenaje de la PL. Instilando una gota de 5 μ L de FS y proparacaína, se coloca una tira de papel de Schirmer en el fondo de saco conjuntival y se esperan

20 minutos. A los 10 minutos la tira de papel debe estar mojada al menos 3 mm para considerarse un test normal. A los 20 minutos no debe quedar ningún remanente de FS en el ojo. Al igual que el test de Schirmer consume tiempo, es molesto para el paciente y no es un test reproducible (Jordan A, Baum J. 1980). Una alternativa moderna consiste en la aplicación de un fluorofotómetro (fluorophotometer CytoFluor II (Applied Biosystem, Framingham, MA, USA), que ha demostrado una mayor predictibilidad para el aclaramiento de la FS, comparado con el test de Schirmer tipo I (Afonso AA. et al 1999). Sin embargo, es un test costoso y también consume mucho tiempo.

El **menisco lagrimal (ML)** consiste en un remanente de lágrima entre la conjuntiva bulbar y el borde palpebral inferior. La medida de su altura y curvatura se emplea como método diagnóstico del SOS (Mainstone JC et al. 1996). Dicha medición se puede realizar con una LH capaz de medir en micro-metros o mediante programas informáticos tomando previamente una foto de la SO. Se puede realizar con o sin fluoresceína. Si bien la fluoresceína permite una mejor visualización del ML, a menudo puede sobreexpresar la cantidad de lágrima presente, conduciendo a falsos negativos (Lamberts DW et al. 1979). El uso del **tearscope- Plus** (Keeler Ltd, Windsor, UK) mejora su visualización (Fodor E et al. 2010). Unos valores entre 0.2 y 0.5 mm se consideran dentro de la normalidad (Lamberts DW et al. 1979). Un valor de la altura del menisco lagrimal (AML) \leq 0,2 mm es sugestivo de SOS. Sin embargo, muchos pacientes con acortamientos teóricos de la AML no presentan un SOS (Lamberts DW et al. 1979; Miller WL et al. 2004). Por ello, este test debe realizarse conjuntamente con otras pruebas para incrementar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico. Un estudio transversal de 1992 evaluó la AML en pacientes tratados con timolol frente a sujetos sin tratamiento y concluyó que había una disminución significativa del mismo en el primer grupo (Herrerías JM et al. 1992).

El colorante **Rosa Bengala (RB)** es un derivado de la fluoresceína que tiñe filamentos mucosos y células degeneradas de la conjuntiva y la córnea (Norn MS. 1967). Se emplea con una concentración del 1% o menor, ya que es más citotóxica que la FS, pudiendo causar una mayor irritación e hiperemia (Khan-Lim D & Berry M. 2004). Se instilan 2-5 μ L en el fondo de saco y se evalúa después la SO con la ayuda del filtro verde. Las áreas carentes de membranas mucinosas quedan teñidas. Según el criterio de Van Bijsterveld, se gradúa el grado de tinción de 0 a 3 en tres sectores (conjuntival nasal, temporal y coneal). Por sí solo, presenta una sensibilidad baja para el diagnóstico del SOS (25%), pero una alta especificidad (90%) (Goren MB, Goren SB. 1988). No hay estudios clínicos recientes que empleen este colorante en la evaluación de la SO de pacientes con glaucoma.

El colorante **Verde Lisamina (VL)** se emplea al 1% y tiñe la mucina y células epiteliales degeneradas (Norn MS. 1973), al igual que el RB. A diferencia de ésta, no produce apenas irritación ocular (Khurana AK et al. 1996), por lo que permite un mejor contraste para la evaluación de vasos sanguíneos y hemorragias, mediante el uso de un filtro (Hamrah P et al. 2011). Valente C y col (Valente C. et al. 2011) describió una prevalencia aproximada de un 50% de tinción positiva con este test en pacientes glaucomatosos. Saade CE y col (Saade CE. 2014) publicó resultados parecidos (65% de tinción positiva en glaucomatosos vs 3% de tinción en el grupo control). Leung EW y col (Leung EW et al. 2007) describió una prevalencia menor (22%) en 101 pacientes glaucomatosos, ninguno de los cuales presentó grados severos de tinción.

Existen diferentes escalas de graduación de la epiteliopatía corneal. Las más utilizadas son la **escala de Oxford** (Bron AJ et al. 2003), la escala de **Van Bijsterveld** (Van Bijsterveld OP et al. 2007), la **versión estandarizada del NEI/ Industry Workshop** (Lemp MA. 1995), y **las escalas del CCLRU** (Terry RL. et al. 1993). La escala que más se ha usado en estudios con pacientes glaucomatosos es la es escala de Oxford tras tinción con FS. Mediante unas imágenes de referencia, se clasifica de forma ordinaria en seis categorías la intensidad de la tinción de la superficie corneal, desde la ausencia de tinción (grado 0), hasta una tinción severa (grado 5). Varios estudios clínicos describen

un efecto citotóxico directo de las medicaciones hipotensoras tópicas sobre el epitelio corneal mediante esta escala (Mathews PM et al. 2013; Cvenkel B et al. 2015).

4.3. 2. 3. Evaluación de los párpados

El patrón de parpadeo normal es aproximadamente de un parpadeo cada 5-6 segundos (unos 10-12 parpadeos por minuto). En el SOS se observan tasas de parpadeo mayores. En el SOS evaporativo, acontece una disfunción progresiva de las glándulas de Meibomio (DGM), generalmente en el contexto de una blefaritis seborreica (asociada con piel grasa y descamación del cuero cabelludo concomitante), o estafilocócica (colonización bacteriana, normalmente por *S. aureus*), o una combinación de ambas. Los signos de blefaritis incluyen secreciones grasas, “caspas” o collaretes alrededor de las pestañas, madarosis o triquiasis. Los márgenes del párpado suelen estar inflamados y los orificios de las glándulas obstruidos o en número reducido. Ello condiciona que la capa lipídica de la PL sea de mala calidad, facilitando la evaporación del resto de la PL) y ocasionando por tanto una disminución del volumen total de la lágrima (Tomlinson A. et al. 2011). A pesar de la existencia de varias escalas de graduación de la DGM, existe una gran variabilidad documentada interobservador (Nichols KK et al. 2004). Una de las escalas más empleadas ha sido la publicada por la **International Workshop meibomian gland dysfunction scale** en 2011, en la cual se evalúa el aspecto de los orificios, acini y secreciones locales en una escala del 1 al 3 (Tomlinson A. et al 2011).

La **Meibometría** actual se basa en los trabajos de Chew y col (Chew CK. Et al 1993). Consiste en una técnica cuantitativa, no invasiva, que determina la cantidad de lípidos presentes en el borde palpebral. Los lípidos de la PL quedan impregnados en una tira que posteriormente son analizados con un fotómetro. La meibografía fue introducida por Tapi y col (Tapie et al. 1977) y mejorada posteriormente por Mathers y col (Mathers WD et al. 1992). Mediante la eversión palpebral y una técnica manual de transiluminación se puede evaluar la estructura de las glándulas, graduándolas según escalas estandarizadas. La meibografía no invasiva con luz infrarroja puede detectar cambios morfológicos de las glándulas meibomianas en los párpados superior e inferior, mientras que la interferometría lagrimal permite evaluaciones cualitativas y cuantitativas de la capa lipídica de la película lagrimal.

Dos trabajos recientes analizan la DGM en pacientes con tratamiento hipotensor tópico crónico. Uzunozmanoglu E y col (Uzunozmanoglu E et al. 2016) describieron una alta prevalencia de DGM en estos pacientes. Sin embargo, en la mayoría de los casos se trataba de estadios leves sin una repercusión adicional en la PSO a la propia inducida por los medicamentos hipotensores tópicos. Mocan MC y col (Mocan MC et al. 2016) describieron una asociación entre la DGM con patrón obstructivo y el uso crónico de prostaglandinas.

4.3. 2. 4. Hiperemia conjuntival

La hiperemia conjuntival (HC) es un efecto secundario común descrito con el uso crónico de la mayoría de los medicamentos antiglaucomatosos tópicos, especialmente las prostaglandinas (Sherwood M et al. 2001; Stewart WC et al. 2004; Higginbotham E et al. 2002; Feldman RM. 2003; Rulo AH et al. 1994; Widengard et al. 1998; Honrubia F et al. 2009). Además de las molestias locales de las que pueda acompañarse, la HC supone un problema estético y es uno de los principales determinantes del abandono del tratamiento (Feldman RM. 2003). Además, la HC es uno de los signos más consistentes de la respuesta ocular a un estímulo patológico, constituyendo un hallazgo cardinal de una amplia gama de trastornos de la SO como conjuntivitis, blefaritis moderada-grave, enfermedad ocular seca, abrasiones traumáticas, etc (Cronau H et al. 2010; Leibowitz HM. 2000). Así pues, el registro y la graduación de la HC es una parte fundamental de cualquier examen ocular.

Se han descrito varios métodos clínicos para clasificar la hiperemia ocular. Estos abarcan desde una simple escala binaria (enrojecimiento vs no enrojecimiento), hasta la comparación de fotografías de la SO con imágenes de referencia (Bailey IL. et al 1991). Las escalas de clasificación basadas en imágenes más empleadas son la escala de McMonnies / Chapman-Davies (MC-D), la escala de Efron, la validated bulbar redness scale (VBR) y la escala Institute for Eye Research scale (IER).

La escala MC-D fue la primera escala de clasificación fotográfica introducida para medir el enrojecimiento bulbar en los usuarios de lentes de contacto, y ha demostrado capacidad discriminativa diagnóstica suficiente para detectar diferencias significativas entre usuarios de lentes de contacto duras y blandas (McMonnies CW & Chapman-Davies A. 1987). **La escala de Efron** se basa en ilustraciones artísticas en lugar de imágenes fotográficas (Efron N. et al. 2000). Ambos son métodos de medida validados, al igual que los cuestionarios antes comentados. Sin embargo, a pesar de su uso sencillo y rápido, han sido descritas algunas limitaciones, como la inclusión de diferentes grados de enrojecimiento o diferente número de imágenes entre cada una de ellas. Se ha descrito, así mismo, cierta variabilidad intra- e inter-observador (Schulze MM et al. 2009; Amparo F et al. 2013). Debido a ello, muchos estudios han tratado de evaluar maneras objetivas y más reproducibles de medir la HC, incluyendo sistemas computarizados de análisis de fotografías (Amparo F et al. 2013; Ferrari G et al. 2015; Schulze MM et al. 2008; Zhao WJ et al. 2014; Schulze MM et al. 2010). Muchos de estos métodos, si bien son más objetivos y fiables, carecen de la viabilidad de un uso cotidiano en la práctica clínica, ya que la cuantificación de la hiperemia no es automática, y requieren de la realización de fotografías de la SO previas.

4.3. 2. 5. *Composición de la película lagrimal*

Los pacientes con PSO/SOS presentan una composición alterada de la PL (Pinto Fraga FJ. et al 2012). Dichas alteraciones estructurales son puestas de manifiesto mediante la realización de las pruebas y análisis siguientes:

a. *Test de Ferning*

Es un test de screening del SOS. Consiste en la obtención de 1 μ L de lágrima del menisco lagrimal inferior que se deja secar en un porta a temperatura ambiente durante 10 minutos. En condiciones normales, la porción mucínica de la lágrima cristaliza en forma arborizada. Cuando existe un SOS, eso no ocurre. Tabbara y col (Tabbara KF et al. 1982) asociaron la falta de cristalización a enfermedades de la SO que cursaban con déficit de mucina. Rolando et al (Rolando M. 1992) catalogó posteriormente los diferentes patrones de cristalización. Herreras JM y col (Herreras JM et al. 1992) describió una alteración de la PL empleando este test en pacientes expuestos a timolol maleato. Costagliola C y col (Costagliola C et al. 2001) observaron test de Ferning anómalo en pacientes expuestos a timolol y latanoprost con BAK, pero solo en aquellos que presentaron antecedentes de conjuntivitis alérgica. Cennamo G y col (Gennamo G et al. 2013) publicaron también alteraciones de la PL empleando este test en 40 pacientes con exposición crónica a hipotensores oculares tópicos.

b. *Osmolaridad*

La osmolaridad se define como la cantidad de solutos disueltos por volumen de muestra. La hiperosmolaridad de la PL ha demostrado ser el mejor método aislado de medida para diagnosticar y clasificar un SOS. La variabilidad interocular de sus niveles en un mismo paciente es una característica del SOS que no se observa en sujetos normales (Lemp MA. 2011). Una elevada evaporación de la lágrima o un déficit en su producción producirá hiperosmolaridad. Una vez obtenida una muestra lagrimal se puede medir mediante osmometría por presión

(Tornheim PA. 1980), determinación del punto de congelación (Gilbard JP et al. 1978) mediante el osmólarímetro TearLab™, que analiza directamente la osmolaridad midiendo la impedancia de la muestra (Benelli U et al. 2010). Valores superiores a los 312- 315.6 mOsm/L son compatibles con el diagnóstico de SOS (Gilbard JP et al. 1978; Tomlinson A et al. 2006). El papel de la hiperosmolaridad es posiblemente un factor fundamental en la fisiopatología de la alteración de la PL, pero su aplicabilidad en la práctica clínica diaria es, actualmente, pobre si se considera de forma aislada sin otros test diagnósticos (Lemp M et al. 2007). Un estudio reciente transversal, que incluyó 61 pacientes glaucomatosos con tratamiento hipotensor tópico y 32 controles, no documentó un aumento de la osmolaridad de la PL en el grupo de tratamiento (Halkiadakis I et al. 2015). Sin embargo, estudios previos sí han objetivado un aumento de la osmolaridad lagrimal en esta población (Lee SY et al. 2013; Labbé A et al. 2012).

c. Proteínas

Existen cerca de 400 tipos distintos de proteínas en la PL (Wu k. et al. 2007). Las más estudiadas han sido la lisozima, la lactoferrina, la lipocalina, la IgA secretora y las citoquinas.

La **lisozima** presenta propiedades antibacterianas. Representa entre el 20 y el 40% del total de las proteínas en la lágrima. Niveles por debajo de 0.6 mg/mL se consideran patológicos (Avisar R et al. 1979). Dichos niveles disminuyen con la edad y en pacientes con SOS. La **lactoferrina** constituye el 25% del total de las proteínas de la PL, y se le atribuyen propiedades antiinflamatorias y antibacterianas. Niveles menores de 2.2 mg/mL se consideran patológicos (Kijlstra A et al. 1983), habiéndose descrito fundamentalmente en pacientes con disfunción de la glándula lagrimal principal (Danjo Y et al. 1994).

70

Las **citoquinas** son un grupo de proteínas que actúan mediando interacciones complejas entre las células de sistema inmune, jugando un papel esencial en la inflamación. En la PL existe una concentración basal de estos mediadores pro-inflamatorios, que son secretados por el epitelio conjuntival y corneal (Nakamura Y et al. 1998). Los niveles basales de las citoquinas pro-inflamatorias están alterados en diversas patologías de la SO. En pacientes con SOS, se ha documentado un aumento en la concentración de IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, interferón (IFN)-gamma, factor de necrosis tumoral (TNF)- alpha, IL-1 beta en la PL (Massingale ML et al. 2009). Un estudio halló una correlación positiva y significativa entre el nivel de citoquinas pro-inflamatorias y la severidad del cuadro clínico, presentándose concentraciones elevadas hasta en pacientes con síntomas moderados. Dicha información contrasta con la ya conocida discordancia entre el grado de severidad de los signos y los síntomas de la PSO en el SOS (Lemp. et al. 2007).

La inflamación crónica es el mecanismo basal que explica la PSO ocasionada por las medicaciones hipotensoras tópicas. Su uso prolongado induce la expresión de diferentes citoquinas, incluidas interleukinas, el IFN- gamma y el TNF- alpha (Baudouin C et al. 2008; De Paiva CS et al. 2007). En el apartado anterior del presente texto hemos comentado el estudio de Epstein SP (Epstein SP et al. 2009), en el cual se objetivaba in vitro un aumento de las concentraciones de diversas citoquinas pro-inflamatorias ante la exposición de BAK. Su importancia creciente está evidenciada por el gran número de herramientas o dispositivos diagnósticos que se están comercializando para su detección en la PL, incluyendo técnicas proteómicas, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), microarrays de membranas y el multiplex bead assays (Wei Y et al. 2015).

No existe ningún estudio publicado en la literatura actual que compare la concentración de las citoquinas en la PL en pacientes crónicamente expuestos a tratamientos hipotensores tópicos conservados frente a los no conservados.

Actualmente existen comercializados numerosos métodos tecnológicos capaces de proporcionar información sobre diversos indicadores de la PSO de un modo objetivo. Comentaremos algunos de ellos.

a. Tomografía de coherencia de óptica de dominio espectral- dominio Fourier con módulo de segmento anterior (FD- OCT) (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany).

El sistema de Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) Spectralis es una tecnología de imagen sin contacto, similar al ultrasonido de resonancias magnéticas. Se ha empleado en el diagnóstico del SOS para el registro y la medición del ML. Tras pedirle al paciente que realice un parpadeo, se obtiene una imagen de alta calidad en la cual pueden medirse mediante la herramienta de medición del programa (“calliper tool”) tres parámetros: la AML superior e inferior, la profundidad del ML, y el área que queda entre el mismo y el fondo de saco palpebral. De los tres, el más recientemente empleado ha sido la AML inferior. Shen M y col (Sheng M et al. 2009) describió que el AML inferior estaba significativamente reducido en pacientes con SOS, comparado con una población normal. Estudios posteriores han comprobado que su medición tiene una buena capacidad diagnóstica, con poca variabilidad (Bitton E et al. 2007) y buena reproducibilidad intra e inter- observador (Zhou S et al. 2009; Tittler EH et al. 2011). La AML inferior se correlaciona con los síntomas de PSO y con el test de Schirmer (Nguyen P et al. 2012). La medida de la AML inferior con FD-OCT ha sido recientemente comparada con otros métodos computarizados de medida, como el Keratograph 5M y el OCT Swept- Source, concluyéndose grados de concordancia baja entre los diferentes aparatos (Arriola-Villalobos P. et al. 2016; Arriola- Villalobos P. et al. 2015).

No hay ningún estudio publicado en la literatura que evalúe el ML mediante esta tecnología en pacientes con tratamiento hipotensor tópico.

71

b. Oculus Keratograph 5M

El Oculus Keratograph 5M (Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania) (K5M) es un moderno topógrafo con disco de plácido, que incluye un queratómetro y una cámara a color de alta resolución. Independiente de su capacidad como topógrafo corneal, este aparato permite, a través de tres sistemas de escaneo diferentes, la adquisición y procesamiento de imágenes de la SO. Diferentes softwares son capaces de analizar de forma automática dichas imágenes y arrojar valores cuantitativos y objetivos de los indicadores de la PSO.

Mediante la **tecnología TF- Scan** es posible adquirir imágenes sobre las cuales se puede medir manualmente la AML inferior. También se pueden obtener valores instantáneos del TBUT [TBUT no invasivo (TBUT-NI) o del inglés “Non invasive tear break-up time”], e imágenes de la capa lipídica de la PL, mediante mecanismo de interferometría. Se ha hallado una correlación fuerte entre los síntomas de SOS y capas lipídicas delgadas (< 60 nm) y de forma inversa, entre capas lipídicas gruesas y una ausencia de síntomas (Blackie CA et al. 2009). Mediante la **tecnología “Meibo-Scan”**, es posible la realización de una meibomiografía instantánea del párpado superior e inferior y una visualización 3D de las glándulas de Meibomio (Kent C. 2013). Mediante la **tecnología R-Scan** se puede detectar y clasificar de forma automática del enrojecimiento de la SO. La metodología de adquisición de imágenes y la interpretación ulterior de los valores que provee este aparato serán comentados más adelante en el presente texto. Sin duda esta tecnología es prometedora en el manejo clínico del SOS, pero su aplicabilidad a día de hoy es controvertida debido a diversas cuestiones, como la relación coste/efectividad, su repercusión terapéutica, etc.

Empleando el K5M, Wu y col (Wu S et al. 2015) describieron recientemente una excelente reproducibilidad intra e inter-observador de las mediciones de hiperemia ocular. Sin embargo, las mediciones manuales de la AML inferior no han demostrado ser reproducibles (Arriola-Villalobos et al. 2015). Koh S y col (Koh S et al. 2015) realizaron un estudio transversal en 23 sujetos con SOS acuodeficiente y 23 sujetos sanos controles, y observaron que los valores de la AML inferior aumentaban de forma significativa después de una apertura mantenida de los párpados, necesaria para la adquisición del TBUT-NI. Hong J y col (Hong J et al. 2013) evaluaron la reproducibilidad de las mediciones de este parámetro (TBUT-NI) en pacientes con SOS, concluyendo que existe una excelente concordancia interobservador, y que los valores aportados son significativamente más bajos que la medición clásica del TBUT. Sin embargo, un año más tarde, Lan W y col (Lan W et al. 2014) describieron unos tiempos de TBUT-NI más prolongados comparados con el método clásico de adquisición del TBUT (con FS, “TBUT- invasivo”) en 24 sujetos sanos. En la misma línea, Lee R (Lee R. et al 2016) describió una baja concordancia entre los valores de TBUT-NI aportados por el K5M y el auto-refractómetro Tomey RT-7000.

No hay estudios en la literatura actual que hayan empleado el K5M para la evaluación de la SO en pacientes glaucomatosos con tratamiento hipotensor tópico.

c. Otros métodos diagnósticos

La **meniscografía reflectiva** mediante un “meniscómetro” digital incorporado a la LH es un método moderno, no invasivo, que permite la cuantificación del volumen y la forma del ML de una forma muy similar a la realizada con FD-OCT. Aunque hay estudios muy limitados en la literatura actual, puede suponer un método prometedor y menos costoso que la FD-OCT (Bandlitz S et al. 2013).

72

La **microscopía confocal** se ha empleado también en el diagnóstico del SOS. Esta técnica permite la determinación de la densidad de células epiteliales superficiales e intermedias, determinación de la inervación corneal (Benítez del Castillo JM et al. 2004), densidad de células caliciformes conjuntivales (Hong J et al. 2010) y estudio de la DGM (Ibrahim OM et al. 2010).

■ 4.4. CALIDAD VISUAL Y DISPERSIÓN DE LA LUZ INTRAOCULAR

El concepto de “dispersión de la luz intraocular (DLO)” (del inglés, “ocular scattering”) ha sido recientemente empleado en la literatura científica como un medidor indirecto de la calidad visual. Las imperfecciones del sistema óptico, o aberraciones ópticas, producidas por cualquier enfermedad ocular pueden, potencialmente, incrementar la cantidad de luz dispersada en el medio óptico y, consecuentemente, producir una disminución en la calidad de la visión (Allen MJ & Vos JJ. 1967; Shahidi M et al. 2005). Las enfermedades de la SO, tales como el SOS, tienen un efecto sustancial en la DLO. Dicha asociación se ha asociado a un acortamiento del TBUT, inestabilidad de la PL, epitelopatía corneal y enrojecimiento ocular (Benito A et al. 2011). Cambios locales en la regularidad y grosor de la PL alteran el índice de refracción lagrimal, lo cual genera una mayor dispersión lumínica intraocular en vez de una refracción adecuada, y ocasionando, por tanto, una degradación de la calidad de la imagen “retiniana” generada. (Montés-Micó R. et al. 2007). En pacientes con SOS, Díaz Valle y col (Díaz Valle et al. 2012) describieron la presencia de un exceso de DLO, que podía disminuir con la aplicación de gotas lubricantes tópicas

Se han empleado muchos métodos de medida para documentar la DLO, como aparatos basados en un sistema de captura de imagen con “Scheimpflug”, dispersión lumínica dinámica (Ansari RR.

Et al 2004), estimaciones psicofísicas (Beckman C. et al. 1991) y sistemas aberrométricos como el análisis de Hartmann- Shack (Fujikado T et al. 2004; Prieto PM et al. 2000). En la actualidad existen comercializados dos aparatos de medida automáticos: el **C- Quant straylight meter** (“medidor de luz dispersa”) (Oculus, Optikgeräte, GmbH, Wetzlar, Germany), basado en el método de compensación (en inglés: *compensation method*) (Franssen L et al. 2006), y el **Optical Quality Analysis System (OQAS) point-spread function (PSF) meter** (“medidor desde un punto lumínico que se expande”) (Visiometrics, Terrassa, Spain), basado en el método de “doble paso” (en inglés: *double- pass method*) (Güell JL et al. 2004). Iijima A y col (Iijima A. et al. 2015) publicaron recientemente una ligera mayor reproducibilidad para el OQAS comparándolo con el C- Quant, afirmando que el OQAS es capaz de medir objetivamente y con fiabilidad el grado de DLO y las aberraciones ópticas, dando una idea muy certera de la calidad óptica global. Xu CC et al (Xu CC et al. 2015) publicaron que el OQASII, la última versión de OQAS disponible hoy en día, presentaba una excelente reproducibilidad intra-observador e inter-observador en la práctica clínica.

La DLO ha sido ampliamente estudiada en sujetos sanos (Shahidi M et al. 2005; Franssen L. et al 2006; Xu CC et al. 2015), pacientes con cataratas (de Waard PW et al. 1992, Artal P et al. 2015), pacientes pseudofáquicos con “glistening” de la lente intraocular (LIO) y con diferentes tipos de LIO (Henriksen BS et al. 2015; Kamiya K. et al 2013; Xiao XW et al. 2015; Vilaseca M et al. 2009), pacientes sometidos a cirugía querato-refractiva con laser-assisted in situ Keratomileusis (LASIK) (Lee K et al. 2013), ojo seco (Diaz-Valle D et al. 2012; Schmidl D. et al 2015), uveítis (Nanavaty MA et al. 2011) e, incluso, pacientes con coriorretinopatía serosa central (Lee K et al. 2014). Desde nuestro conocimiento, la cantidad de luz intraocular dispersada en pacientes bajo tratamiento tópico hipotensor y sus factores implicados no han sido estudiados previamente. La PSO, como complicación de un tratamiento crónico con colirios hipotensores, podría contribuir a incrementar la cantidad de dispersión lumínica y, consecuentemente, disminuir la calidad del sistema óptico.

5. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

5. Justificación del Trabajo

1. Existe controversia en la literatura científica acerca del papel que juega el tratamiento hipotensor crónico sobre la SO en pacientes glaucomatosos. Existe evidencia de una gran variedad de efectos deletéreos de estos medicamentos (principios activos, excipientes y conservantes) sobre la piel periocular, párpados, conjuntiva y córnea. La repercusión sobre los síntomas del paciente y su calidad de vida es variable y difiere entre los estudios publicados. Además de la carga del tratamiento tópico, pueden existir otros factores, como el tiempo de evolución de la enfermedad, el tiempo de tratamiento, la edad, sexo, raza, etc. que contribuyan al daño sobre la SO.
2. El auge de la tecnología en medicina es un hecho y, en oftalmología, es especialmente tangible. A medida que progresa el conocimiento, se desarrollan nuevos aparatos capaces de realizar una evaluación más precisa y fiable de las estructuras oculares. Las técnicas diagnósticas clásicas para la PSO, como las tinciones corneales, la graduación de la hiperemia con escalas ilustradas o el test de Schimer, se verán relegadas por dispositivos más modernos, capaces de aportarnos indicadores objetivos y más reproducibles durante el seguimiento de los pacientes. El K5M y el módulo de segmento anterior del FD-OCT son dos buenos ejemplos. Aún es pronto para afirmar su utilidad real en la práctica clínica del día a día, pero su potencial diagnóstico resulta prometedor. No existen estudios en la literatura científica que empleen estos dispositivos para la evaluación de la SO en una gran cohorte de pacientes glaucomatosos que reciben tratamiento crónico con colirios hipotensores.
3. La inflamación de la SO puede ser uno de los principales mecanismos responsables de la gran variedad de efectos adversos sobre la SO de las medicaciones antiglaucomatosas tópicas. No existen estudios en la literatura que evalúen directamente la expresión de biomarcadores en la PL (proteínas, citoquinas, interleuquinas etc) en sujetos tratados con colirios hipotensores conservados. La posible asociación del tratamiento conservado con un mayor nivel de inflamación en la PL, en pacientes crónicamente expuestos, avalaría la gran cantidad de estudios in vitro y ensayos clínicos que afirman un claro efecto deletéreo de los conservantes sobre la SO.

6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

6. Hipótesis y Objetivos

Hipótesis

Cada uno de los objetivos del presente proyecto de investigación está marcado por una hipótesis conceptual bien definida. De forma global, la hipótesis principal del estudio es que el tratamiento hipotensor tópico, administrado de forma crónica, tiene efectos perjudiciales sobre la SO. Nuestra hipótesis postula que la edad avanzada, la carga y la duración del tratamiento tópico, así como la presencia de conservantes en el colirio inducirán una mayor prevalencia de signos y síntomas relacionados con la PSO y la calidad visual.

Objetivos

Se proponen los cuatro objetivos siguientes:

1. Examinar el grado de correlación y concordancia entre los valores de hiperemia ocular aportados por el K5M y los obtenidos mediante las escalas MC-D y Efron.
2. Evaluar la prevalencia de la PSO mediante el K5M y el módulo de segmento anterior del FD-OCT en una gran cohorte de pacientes caucásicos glaucomatosos bajo tratamiento tópico crónico con fármacos hipotensores, e identificar potenciales factores explicativos (demográficos y asociados al tratamiento) de los diferentes indicadores de PSO.
3. Evaluar “la técnica de doble paso” (OQAS II) para medir el grado de dispersión lumínica intraocular (DLO) en pacientes con tratamiento hipotensor tópico e identificar posibles factores determinantes.
4. Comparar el perfil de citoquinas, como marcadores de inflamación, de los pacientes tratados con latanoprost sin conservante (Monoprost®, Thea, Clermont-Ferrand, Francia) o latanoprost conservado (Xalatan®, Pfizer, Nueva York, EE.UU.), utilizando la tecnología multiplex bead. Para ello se evaluará la concentración de 27 citocinas inflamatorias en la película lagrimal de pacientes glaucomatosos, tratados con o sin conservantes, en relación con sujetos sanos. Se establecerá, así mismo, asociaciones entre los niveles de inflamación y los indicadores de la PSO.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7. Material y Métodos

■ 7.1. Diseño del estudio y selección de la muestra

7.1. 1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional, transversal, de una serie de casos frente a un grupo control.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. El diseño del estudio se adaptó a los protocolos descritos en la Declaración de Helsinki para la investigación biomédica.

7.1. 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO (CI)

A todos los participantes se les solicitó permiso para ser incluidos en el estudio mediante un consentimiento informado en el que se explicaban las exploraciones y las pruebas complementarias a las que iban a ser sometidos, así como las posibles consecuencias de los resultados que pudieran aparecer. También se dejó constancia de la posibilidad de abandonar el estudio en cualquier momento del mismo (en este contexto, antes de venir al hospital tras haber concertado la visita, o durante el protocolo de exploración) sin perjuicio alguno de cara a la asistencia facultativa que pudieran precisar.

A lo largo del período del estudio se comentaron los resultados obtenidos a los integrantes del mismo, y esta información fue tenida en cuenta a la hora de tomar decisiones diagnósticas y/o terapéuticas.

7.1. 3. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Una muestra de **211 pacientes** diagnosticados de hipertensión ocular primaria (HTO) o glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) fueron prospectivamente seleccionados para el estudio. Todos ellos eran pacientes atendidos regularmente en las consultas de Oftalmología de la Unidad de Glaucoma del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Todos los pacientes incluidos estaban bajo tratamiento con al menos un colirio hipotensor (GRUPO TRATADO). Se seleccionaron, asimismo, **51 sujetos sanos**, apareados por edad y sexo, que no habían sido diagnosticados de HTO ni GPAA y, por lo tanto, no estaban siendo tratados con colirios hipotensores (GRUPO CONTROL). La muestra del grupo control fue reclutada a partir de voluntarios sanos (familiares de los enfermos atendidos en el hospital y staff sanitario). Se incluyó un ojo por paciente. Todos los sujetos del estudio fueron reclutados en un plazo de 11 meses (Junio 2015- Abril 2016).

Los **criterios de selección** del grupo tratado fueron:

1. Diagnóstico previo de GPAA o HTO.
2. Tratamiento con al menos un principio activo hipotensor tópico durante un periodo mínimo de seis meses, durante los cuales no haya sufrido modificaciones en la pauta terapéutica.
3. Firma del Consentimiento Informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Procedimiento quirúrgico previo para el glaucoma (trabeculectomía, cirugía micro-incisional o dispositivo de drenaje).
2. Cirugía de catarata o un procedimiento con láser ocular en los seis meses previos a la inclusión del estudio (para evitar sesgos en la evaluación de la SO debido al tratamiento tópico post-operatorio).
3. Hipertensión ocular o glaucoma secundario (congénito, traumático, esteroideo, uveítico o por cierre angular), a excepción de glaucoma pigmentario y pseudoexfoliativo.
4. Diagnóstico de síndrome de ojo seco (SOS) (según los criterios de diagnóstico establecidos por el *Dry Eye WorkShop, 2007*; Lemp M. et al 2007) antes de haber iniciado el tratamiento hipotensor tópico.
5. Alteraciones del drenaje nasolacrimal o la oclusión de los punctus lacrimales.
6. Hipersensibilidad previa conocida a cualquier componente de medicaciones tópicas.
7. Anomalías de la SO (incluyendo conjuntivochalasis o lesiones locales).
8. Tratamientos tópicos concomitantes incluyendo el uso regular de colirios lubricantes.
9. Antecedentes de cirugía refractiva o de uso de lentes de contacto.
10. Enfermedad o síndrome ocular grave que impidiese la correcta realización de las pruebas complementarias.

86

Los criterios de selección de la muestra fueron verificados mediante la revisión de la historia clínica de los pacientes, previa al reclutamiento, y durante la exploración inicial al comienzo de la visita destinada a la realización de las pruebas complementarias del estudio.

Los criterios de selección mencionados fueron aplicados a los sujetos incluidos en el grupo control.

7.2. Protocolo de exploración

Todos los pacientes fueron explorados en las Consultas de Oftalmología de la Unidad de Glaucoma del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Tras la firma del CI, a todos los pacientes se les realizó un examen basal inicial, que incluyó:

Anamnesis general: Nombre, sexo, fecha de nacimiento (edad), enfermedades generales (diabetes mellitus, hipertensión o hipotensión arterial, enfermedades cardiovasculares, etc.), antecedentes familiares de glaucoma, tratamientos sistémicos previos o actuales (corticoides, etc).

Historia clínica oftalmológica: Cirugías previas, traumatismos, enfermedades oculares previas, tratamientos médicos oftalmológicos que hubieran utilizado o utilizasen en ese momento.

Exploración oftalmológica básica: Se realizó una biomicroscopia anterior mediante Lámpara de Hendidura (LH). Se decidió no realizar más test complementarios relacionados con el diagnóstico de la patología glaucomatosa (gonioscopia con lente de Goldman, tonometría de aplanación, dilatación pupilar con tropicamida para la visualización del fondo de ojo etc) por el sesgo que supondría en la evaluación ulterior de la PSO al manipular la superficie ocular.

En este punto, si alguno de los participantes citados para la realización de las pruebas del estudio no cumplía con los mencionados criterios de selección (fundamentalmente alteraciones locales de la SO, anomalías palpebrales u otras que pudieran haber sido infradiagnosticadas y por lo tanto no constar en la historia clínica), era retirado del estudio sin la realización de pruebas adicionales. A continuación, se registraron las **variables explicativas (demográficas y referentes al tratamiento)**, mediante la revisión de la historia clínica y una breve conversación con los participantes del estudio.

Se registró la **edad, el sexo, el tiempo total de tratamiento** desde la prescripción del primer colirio hipotensor (en la mayoría de las ocasiones coincidente con el tiempo transcurrido desde la aparición de la enfermedad) en meses, **número y tipo de principios activos** empleados en el momento de la visita, número de gotas hipotensoras instiladas al día, **número de gotas hipotensoras con conservante instiladas al día, número de colirios empleados al día y número de colirios diarios**. Se registró asimismo el **tipo de conservante empleado (BAK; PQ)**, la **concentración diaria de conservante (CDC)** y la **concentración acumulativa total de conservante (CAC)**, y el uso o no de combinaciones fijas. Se constató también si el sujeto había sido intervenido de **cirugía de cataratas (>6 meses)**.

La CDC se calculó del siguiente modo:

Se registró la concentración del conservante de cada medicación de la hoja de información del producto ($\mu\text{g} / \mu\text{l}$) y se multiplicó por 7, ya que $7\mu\text{l}$ es el volumen aproximado de una gota que permanece en el ojo después de cada instilación (de acuerdo con el fabricante del fármaco, esta puede variar entre $33,8 \mu\text{l}$ y $63,4 \mu\text{l}$). A continuación, dicha cifra fue multiplicada por el número de gotas instiladas al día para cada medicamento (Tabla 2). Si un paciente estaba siendo tratado con más de un colirio, se sumaron las CDC de cada uno de ellos.

La CAC se calculó como el producto de la CDC y la duración del tratamiento (en días).

Tabla 2

Concentración de los conservantes de las medicaciones registradas en el estudio					
Colirio	Conservante	Concentración de conservante ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Concentración de conservante en una gota ($\mu\text{g}/7\mu\text{l}$)	Nº de gotas diarias	Concentración diaria de conservante (CDC) ($\mu\text{g}/\text{día}$)
Latanoprost 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	BAK	0,2	1,4	1	1,4
Latanoprost SC 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	No	0	0	1	0
Bimatoprost 0,1 mg/ml	BAK	0,2	1,4	1	1,4
Bimatoprost 0,3 mg/ml	BAK	0	0	1	0
Travoprost 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Polyquaternium-I	0,01	0,07	1	0,07
Tafluprost 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$	BAK	0	0	1	0
Latanoprost 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ - Timolol 5 mg/ml	BAK	0,2	1,4	1	1,4
Travoprost 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ - Timolol 5 mg/ml	Polyquaternium-I	0,01	0,07	1	0,07
Bimatopros 0.3 mg/mL - Timolol 5 mg/ml	BAK	0,05	0,35	1	0,35
Bimatoprost SC 0.3 mg/mL - Timolol 5 mg/ml	No	0	0	1	0
Brinzolamida 10 mg/ml	BAK	0,1	0,7	2	1,4
Brinzolamida 10 mg/ml + Timolol 5 mg/m	BAK	0,1	0,7	2	1,4
Dorzolamida 20 mg/ml + Timolol 5 mg/ml	BAK	0,075	0,525	2	1,05
Dorzolamida SC 20 mg/ml + Timolol 5 mg/ml	No	0	0	2	0
Timolol 5 mg/ml	BAK	0,11	0,77	2	1,54
Timolol SC 5 mg/ml	No	0	0	2	0
Brimonidina 2 mg/ml	BAK	0,05	0,35	2	0,7
Brimonidina 2 mg/ml + Timolol 5 mg/ml	BAK	0,05	0,35	2	0,7

SC, sin conservantes; BAK, Cloruro de benzalconio; Nº, número

A continuación se realizaron las siguientes pruebas para registrar los indicadores de PSO:

1. Test de **OSDI**.
2. **Tomografía de coherencia de óptica de dominio espectral- dominio Fourier con módulo de segmento anterior (FD- OCT)** (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) (Figura 1).
3. **Fotografía de SO** con la cámara BQ-900/IM-900 (Haag-Streit, Koeniz, Switzerland) conectada a LH.
4. **Oculus Keratograph 5M (K5M)** (Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania) (Figura 2).
5. **Optical Quality Analysis System (OQAS)** (Visiometrics, Terrassa, España) (Figura 3).
6. Si el paciente estaba siendo tratado en monoterapia con latanoprost, se esperaban 15 minutos, y se obtenía una **muestra de la película lagrimal (PL)** con una micropipeta estéril.
7. **Tinción con fluoresceína y graduación del grado de epitelopatía corneal mediante la escala de OXFORD.**

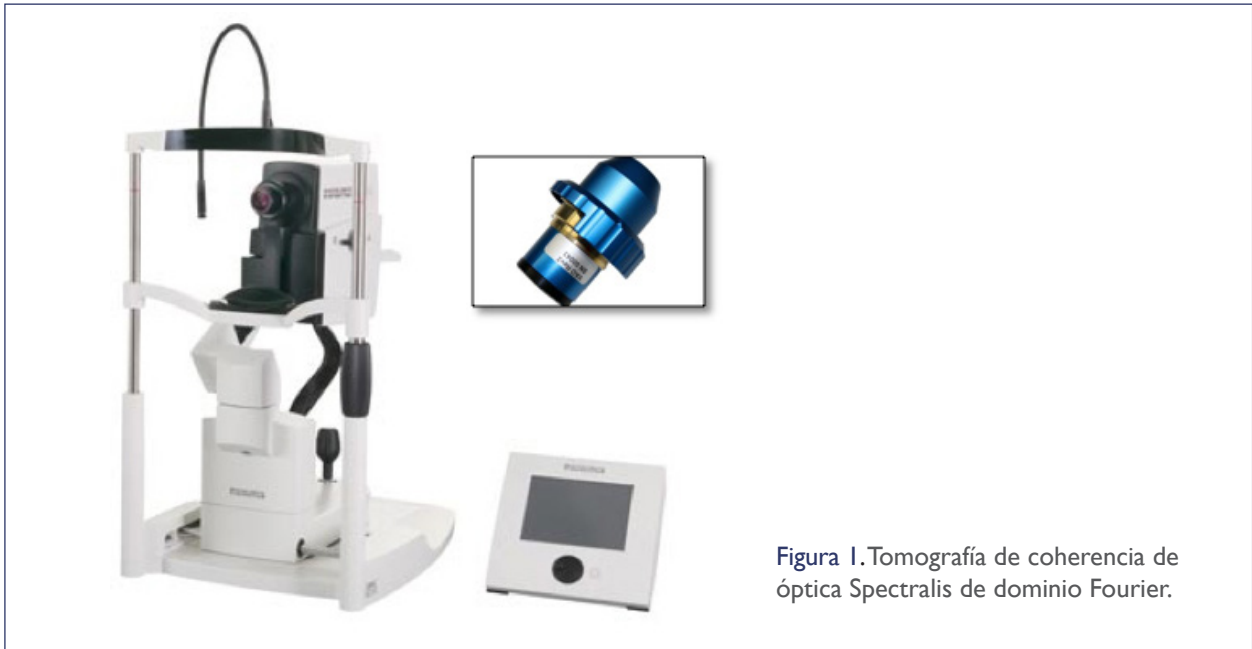


Figura 1. Tomografía de coherencia de óptica Spectralis de dominio Fourier.



Figura 2. Oculus Keratograph 5M (Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania)

Figura 3. Optical Quality Analysis System (OQAS) (Visiometrics, Terrassa, España)

■ 7.3. Metodología de las pruebas complementarias

Los sujetos fueron examinados entre las 9 a.m y las 6 p.m en dos pequeñas salas ambientadas a una temperatura de 21- 25° C y sin conductos de ventilación sobre el equipo utilizado. Cada sujeto fue sometido a las siguientes pruebas por el mismo observador en este orden:

1. Test Ocular Surface Disease Index (OSDI)

El cuestionario OSDI fue entregado a todos los sujetos al inicio de la sesión. Consiste en un test separado en tres categorías. La primera hace referencia a síntomas relacionados con molestias locales; la segunda está relacionada con dificultades en la realización de actividades diarias y la tercera está relacionada con la influencia de factores ambientales. Cada categoría está compuesta por una serie de preguntas que se responden de forma categórica calificándose según una escala de Likert de 5 puntos (0 a 4 corresponden a respuestas: en ningún momento, casi en ningún momento, el 50% del tiempo, casi en todo momento, en todo momento) (Figura 4). La puntuación total del cuestionario se calculó utilizando la aplicación disponible en <http://www.oftagalia.es/es/pruebas-online/test-osdi-ojo-seco>, que utiliza la siguiente ecuación: $12,5 \times [(suma \text{ de las puntuaciones individuales}) / (\text{Número de ítems contestados})]$, obteniéndose una puntuación global de 0 a 100. Esta puntuación total se registró para cada participante. El impacto del ojo seco se evaluó también categóricamente como normal (puntuaciones de 0 a 12), leve (puntuaciones de 13 a 22), moderada (puntuaciones de 23 a 32) o severa (puntuaciones de 33 a 100) (Leung EW et al. 2008; Fechtner RD et al. 2010).

2. Tomografía de coherencia de óptica de dominio espectral- dominio Fourier.

Se utilizó el FD-CT con el módulo de segmento anterior para medir la AML utilizando el método descrito por Arriola y col. (Arriola et al. 2015). La medida de la AML inferior mediante este método ha sido descrita como una buena herramienta diagnóstica en el SOS, con poca variabilidad (Bitton E et al. 2007) y buena reproducibilidad (Zhou S et al. 2009; Tittler EH et al. 2011).

Empleando la lente de segmento anterior y el software de captura de imágenes en el modo “esclera”, se prefijó en la OCT una línea de corte (B- scan) por debajo del vértice corneal, centrado en la córnea inferior y el párpado inferior. El vértice corneal fue determinado por la posición de la reflexión especular. Se le pidió al sujeto que parpadeara normalmente durante el procedimiento de formación de imágenes mientras observaba directamente un punto de fijación dentro del dispositivo. Las imágenes fueron capturadas en el primer segundo inmediatamente después de un parpadeo (Figura 5). Se utilizó la herramienta del calibrador (“calliper tool”) proporcionada por el dispositivo para las mediciones del ML inferior en las imágenes obtenidas. Dichas mediciones se realizaron inmediatamente después de su adquisición por el mismo explorador.

¿Ha experimentado alguna de las siguientes alteraciones durante la última semana?

	FRECUENCIA				
	En todo momento	Casi en todo momento	El 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento
Sensibilidad a la luz	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Sensación de arenilla en los ojos	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Dolor de ojos	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Visión borrosa	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Mala visión	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

¿Ha tenido problemas en los ojos que le han limitado o impedido realizar alguna de las siguientes acciones durante la última semana?

	FRECUENCIA					
	En todo momento	Casi en todo momento	El 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento	NO SÉ
Leer	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Conducir de noche	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Trabajar con un ordenador o utilizar un cajero automático	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Ver la televisión	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

¿Ha sentido incomodidad en los ojos en alguna de las siguientes situaciones durante la última semana?

	FRECUENCIA					
	En todo momento	Casi en todo momento	El 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento	NO SÉ
Viento	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lugares con baja humedad (muy secos)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Zonas con aire acondicionado	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Calcular puntuación OSDI

Puntuación total OSDI*:

Figura 4. Preguntas del cuestionario OSDI. Imágenes obtenidas de la web <http://www.oftagalia.es/es/pruebas-online/test-osdi-ojo-seco>.

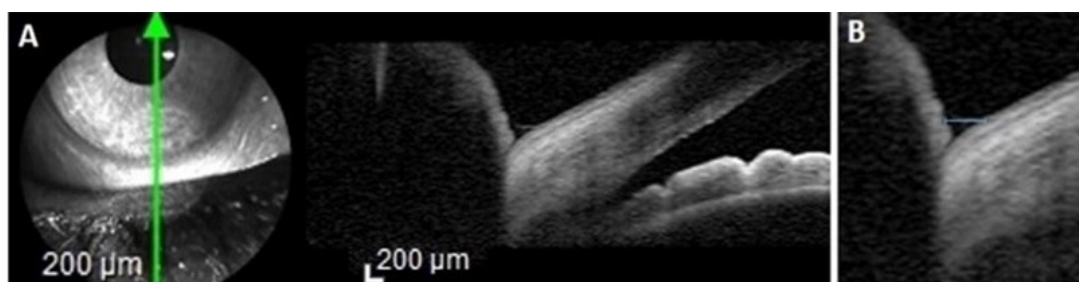


Figura 5. **A.** Spectralis FD-OCT Spectralis mostrando una imagen donde se aprecia la altura del menisco lagrimal (AML). **B.** Uso del “calibrador” para la medición.

3. Fotografías de la superficie ocular.

Las imágenes empleadas para evaluar la hiperemia ocular mediante las escalas de gradación subjetivas fueron capturadas con un sistema BQ-900 / IM-900 (Haag-Streit, Koeniz, Suiza) conectado a una LH. La magnificación de la LH fue X10 y la fuente de iluminación fue difusa. La LH se inclinó a 30 grados para evitar reflexiones sobre el área conjuntival. Todas las imágenes fueron tomadas en la misma habitación y en las mismas condiciones estandarizadas (iluminación, ampliación y dirección de fijación) (Figura 6). Se pidió a los participantes que miraran hacia adelante, como se requiere para obtener las imágenes con el K5M, como luego se explicará.

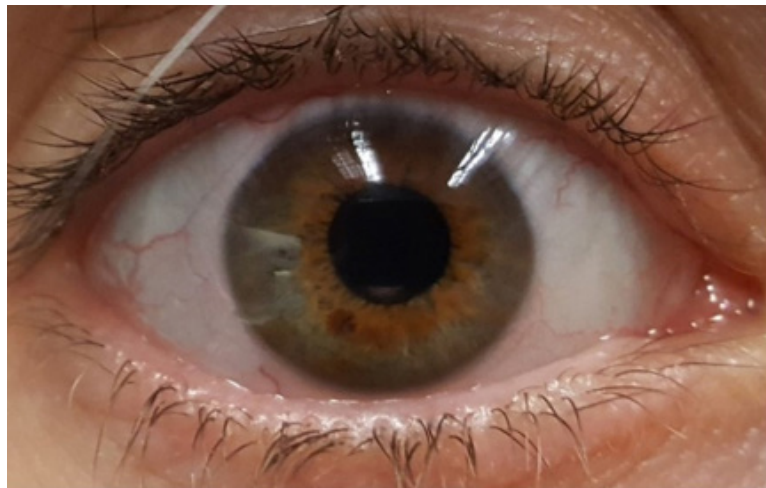


Figura 6. Fotografía de la superficie ocular (SO) de un sujeto con glaucoma tratado con timolol 5 mg/ml.

92

4. Oculus Keratograph 5M.

El K5M se encontraba en otra habitación con las mismas condiciones de ventilación y una iluminación más tenue.

4.1. Hiperemia ocular (HO).

Se realizaron mediciones automáticas de la hiperemia ocular (según Wu S et al. 2015) y del TBUT-NI (siguiendo el método descrito por Hong J et al. 2013). Para la adquisición de las imágenes, los pacientes fueron instruidos a mirar hacia adelante y centrarse en el punto de fijación dentro de la cámara, por lo que el área corneal aparece en el centro de la imagen. Al tratarse de un topógrafo corneal, el software informático (R- scan) sólo puede detectar los valores de hiperemia si el paciente mira al frente. Tras la toma de imágenes, el equipo muestra cinco puntuaciones de enrojecimiento ocular (con una de precisión de 0,1 unidades). Estos valores [limbar-nasal (LN), limbar-temporal (LT), bulbar-nasal (BN), bulbar-temporal (BT) y global] aparecen junto con el área total analizada (mm²) (Figura 7). Las puntuaciones son calculadas en base al porcentaje del área total presente entre los vasos y el resto de la superficie bulbar (proporción rojo- blanco). Por ejemplo, si la proporción es del 10%, la puntuación será de 1,0. La proporción máxima detectada es de un 40%, de tal modo que los valores de HO varían de 0,0 a 4,0. Estos cinco valores de HO fueron registrados en cada participante.

4.2. Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo (TBUT- NI).

Se dejó descansar a los pacientes cinco minutos aproximadamente y se realizó la determinación del TBUT- NI, de la manera siguiente: Se utilizó el software TF- scan (4 diodos de infrarrojo en disposición horizontal organizados en dos parejas, una encima de la otra, que proyectan 22 anillos iluminados -disco de plácido- sobre la córnea). El anillo de iluminación roja (empleado para la

realización de una topografía corneal con este dispositivo) fue desactivado para asegurar un fondo de oscuridad que permitiera la realización de la prueba. Tras tres o cuatro parpadeos se pidió a los sujetos que mantuvieran el ojo abierto el mayor tiempo posible. Durante este lapso de tiempo, las irregularidades de la proyección reflejada desde la córnea indican pérdida de la estabilidad o ruptura de la PL y son grabadas por el dispositivo hasta que el sujeto parpadease. Si esto no sucedía, el registro cesaba automáticamente a los 23 segundos.

Se generaban entonces de forma automática dos valores: **BUT first** (primer tiempo de ruptura lagrimal) y **BUT avg** (promedio del tiempo de ruptura de la PL en todos los sectores). También se generaba un mapa de colores de la superficie corneal dividida en sectores, en el cual los colores cálidos indican una ruptura precoz de la lágrima y el color verde indica ausencia de ruptura (Figura 8). Para el análisis estadístico ulterior, sólo se registró el **BUT first** (llamado en el presente texto TBUT-NI).

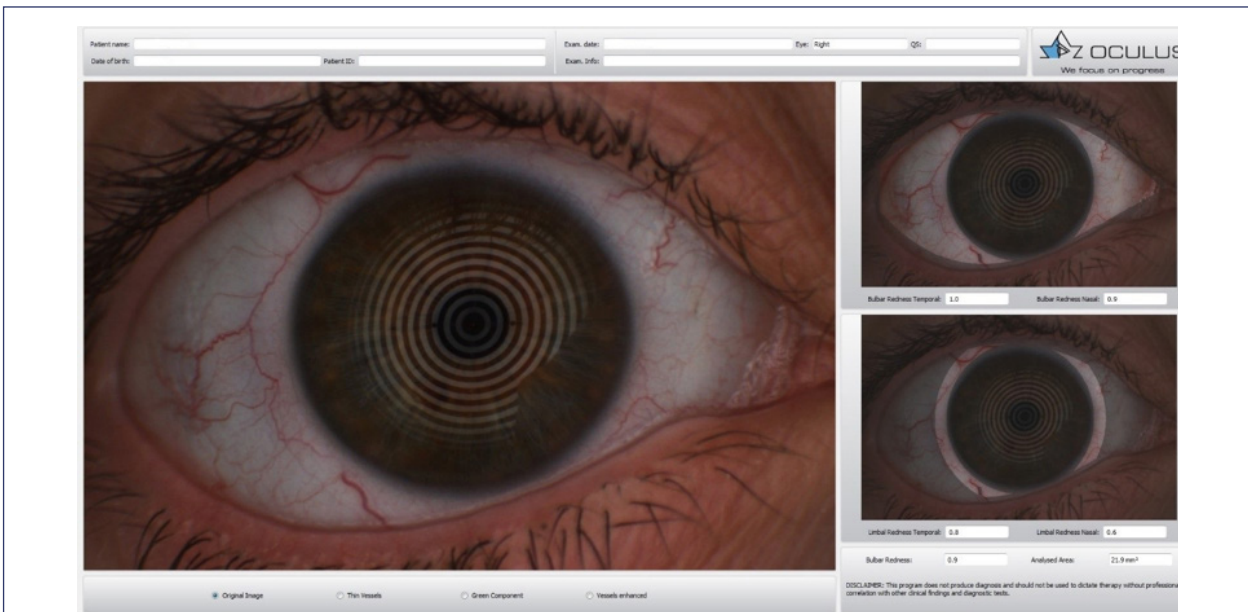


Figura 7. Captura de pantalla de las imágenes obtenidas con el K5M para la cuantificación de la hiperemia ocular (HO) (mismo sujeto que la figura 6). Derecha: Se muestran los 5 valores de HO descritos: Arriba: bulbar temporal, bulbar nasal. Abajo: Limbar temporal, limbar nasal y global.

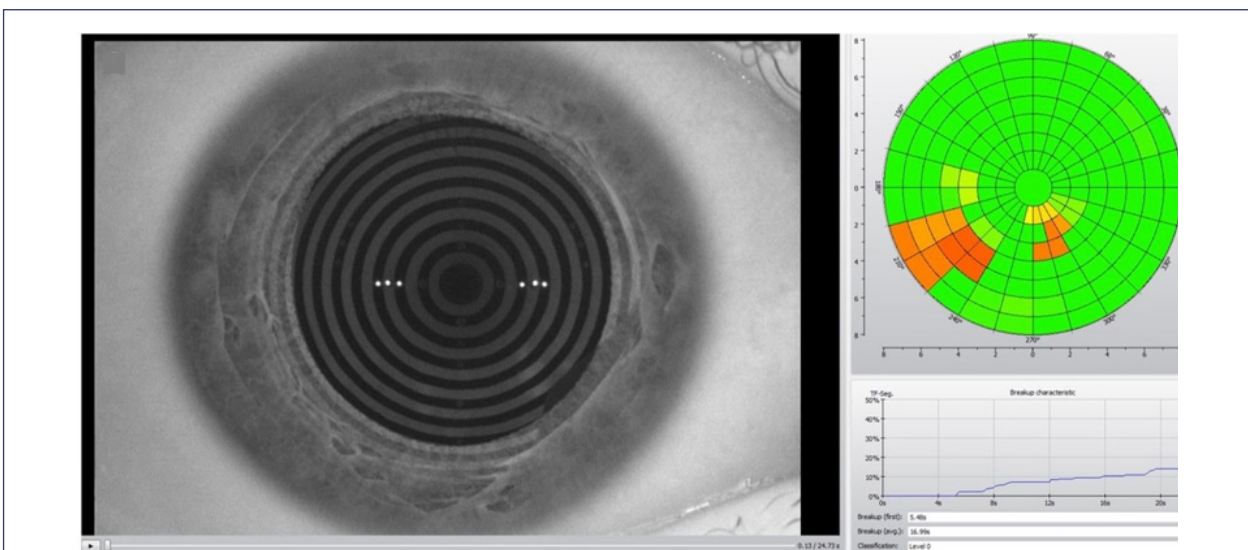


Figura 8. Izquierda. Captura de pantalla de los anillos del disco de plácido reflejados sobre la superficie corneal. Derecha: Arriba: Mapa de colores que indican el tiempo de ruptura de la lágrima por sectores. Abajo: Valores de BUT first y BUT avg.

5. Optical quality analysis system II (OQAS II)

Se dejó descansar de nuevo a los sujetos unos cinco-diez minutos tras la prueba anterior. En la misma sala y con las mismas condiciones de iluminación que se emplearon en el K5M, se realizó el test del OQAS II para la cuantificación de la DLO (parámetro provisto por el aparato como OSI, del inglés, Ocular light scattering). La técnica del “doble paso” consiste en la emisión de un haz colimado de luz de un 1 mm de diámetro aproximadamente, producido por un láser de 780 nm, que genera una imagen en la retina. Esta imagen es reflejada como un punto de luz a través del medio intraocular generando un “punto de dispersión lumínica” en la pantalla del dispositivo [del inglés, point spread function (PSF)], a partir del cual el software del OQAS II calcula de forma automática la DLO. Valores de DLO superiores a 4 indican una gran dispersión (Figura 9). La medida global requiere unos 20 segundos, durante los cuales los sujetos son instruidos para no parpadear. La refracción esférica manifiesta fue corregida automáticamente por el OQAS II durante el procedimiento.

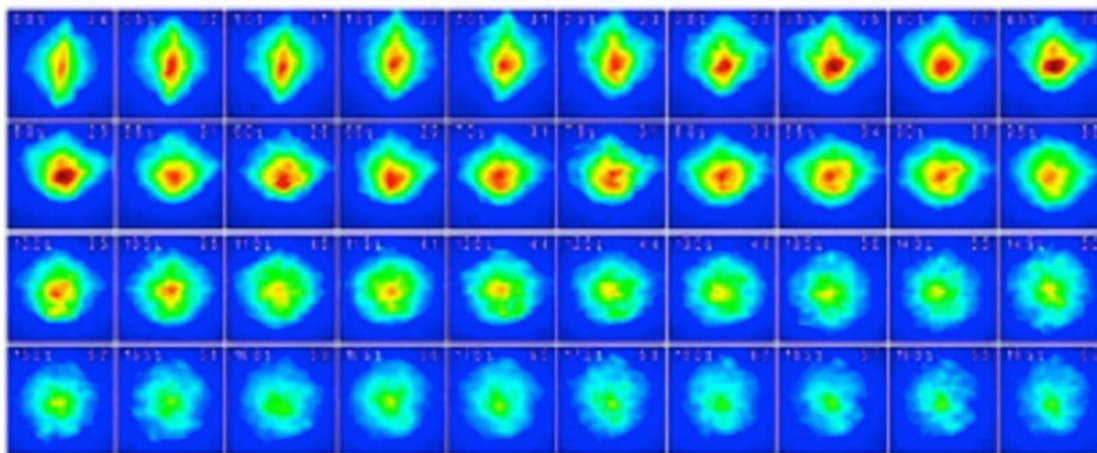


Figura 9. Punto de dispersión lumínica intraocular (DLO) representada por el OQAS II. Los colores cálidos indican una mayor dispersión de luz. Cada fila corresponde a un sujeto diferente. Véase la escasa DLO del último sujeto comparado con el primero.

6. Colección de muestras de la película lagrimal

Se tomó una muestra de la película lagrimal en los sujetos controles del estudio y en pacientes tratados con latanoprost [con conservante (Xalatan®; Pfizer, New York, USA) o sin conservantes (Monoprost®; Thea, Clermont-Ferrand, France). Las muestras se tomaron al menos 48 horas antes o después de la realización del resto de las pruebas del estudio.

Estas muestras de lágrimas se recogieron utilizando una micropipeta estéril en un único ojo de cada individuo. El párpado inferior fue deprimido levemente y la micropipeta colocada en el fondo de saco conjuntival inferior, en el centro del ojo (Figura 10). Las muestras se congelaron a -80°C y se almacenaron hasta su análisis (Departamento de Inmunología del Hospital Clínico San Carlos). Para evitar la evaporación o degradación, el tiempo transcurrido entre la recogida y el almacenamiento fue inferior a los 15 minutos. Dado que los volúmenes de lágrimas oscilaban entre 2 y 15 µl, se añadió un tampón salino (BRAUN Mini- Plasco) para diluir todas las muestras hasta los 50 µl antes de su almacenamiento.

Cuantificación de citoquinas

Las concentraciones de citoquinas de las muestras se determinaron usando el kitBio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay (Laboratorios Bio-Rad). Esta técnica se basa en el inmunoensayo y

consisten en una plataforma compuesta por superficies magnéticas fluorescentes que permite la detección simultánea de hasta 96 muestras repartidas en placas de micropozo. Por lo tanto, la principal ventaja de este sistema es que requiere bajos volúmenes de muestra. Mediante el uso de esta tecnología, se cuantificaron 27 citoquinas pro-inflamatorias en una sola ejecución: interleuquinas (IL) -1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL9, IL-10, IL- 12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, exotaxina, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) básico, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor de estimulación de colonias de monocitos de granulocitos (GM-CSF) IFN) - γ , proteína inducida por interferón gamma (IP-10), proteína quimiotáctica monocítica (MCP)-1MCAF, proteína inflamatoria de macrófagos (MIP) -1 α , MIP-1 β , factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), regulado en la activación de células T normales expresadas y segregadas (RANTES), factor de necrosis tumoral (TNF) - α y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Para ello, se dispensaron los 50 μ l de cada muestra en los micropozos de cada plataforma (96 micropozos por cada plataforma). Las muestras fueron leídas simultáneamente en el lector Luminex MAGPIX (Luminex Corporation, Austin TX USA). Las concentraciones de citoquinas se determinaron mediante la interpolación de la medida de las intensidades de fluorescencia emitidas de cada muestra y ajustadas a curvas estándar. Para cada muestra se aplicó un factor de corrección según la dilución previa correspondiente. Finalmente, se empleó el programa informático Bio-PlexManager™ Software para calcular las concentraciones de las 27 citoquinas.

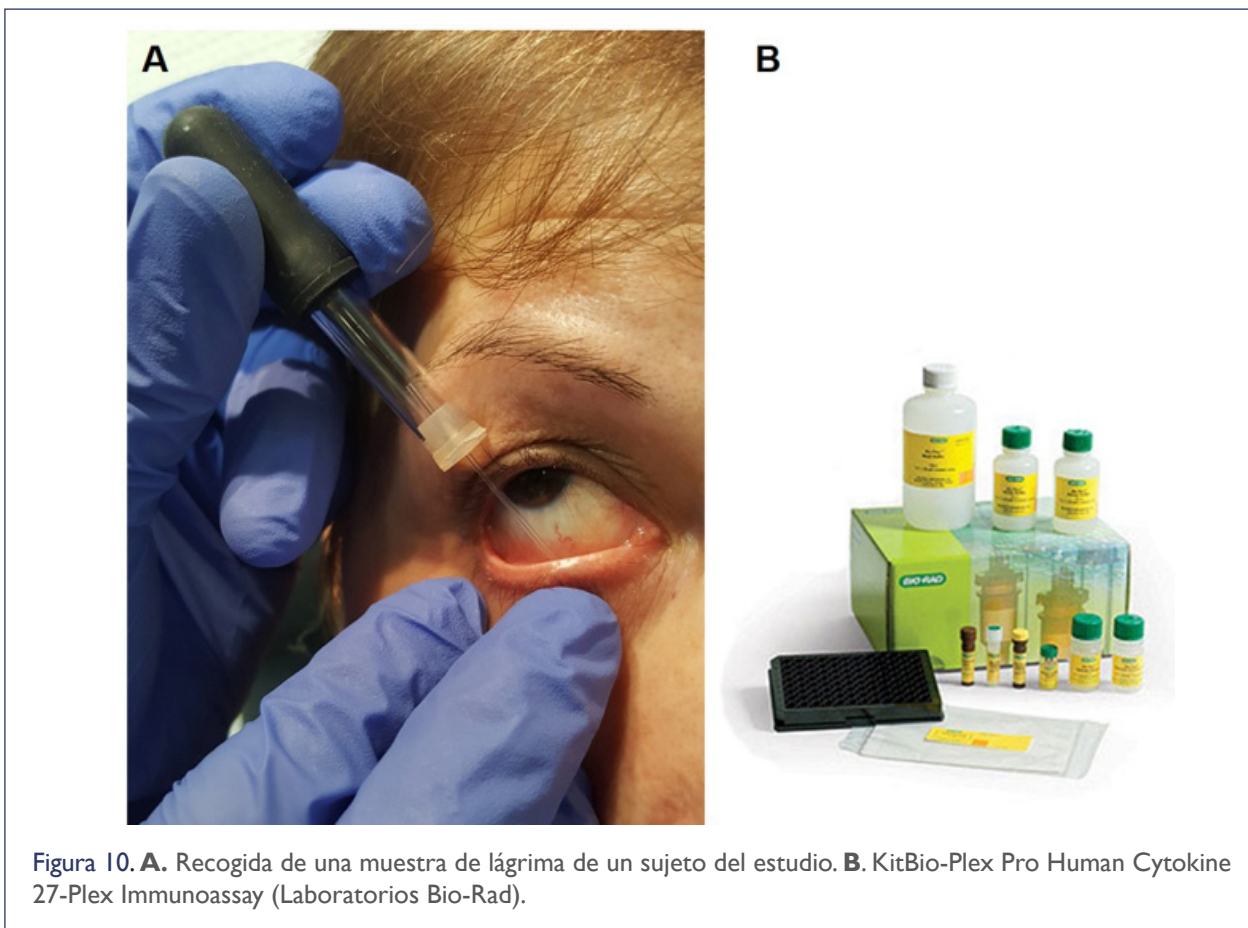
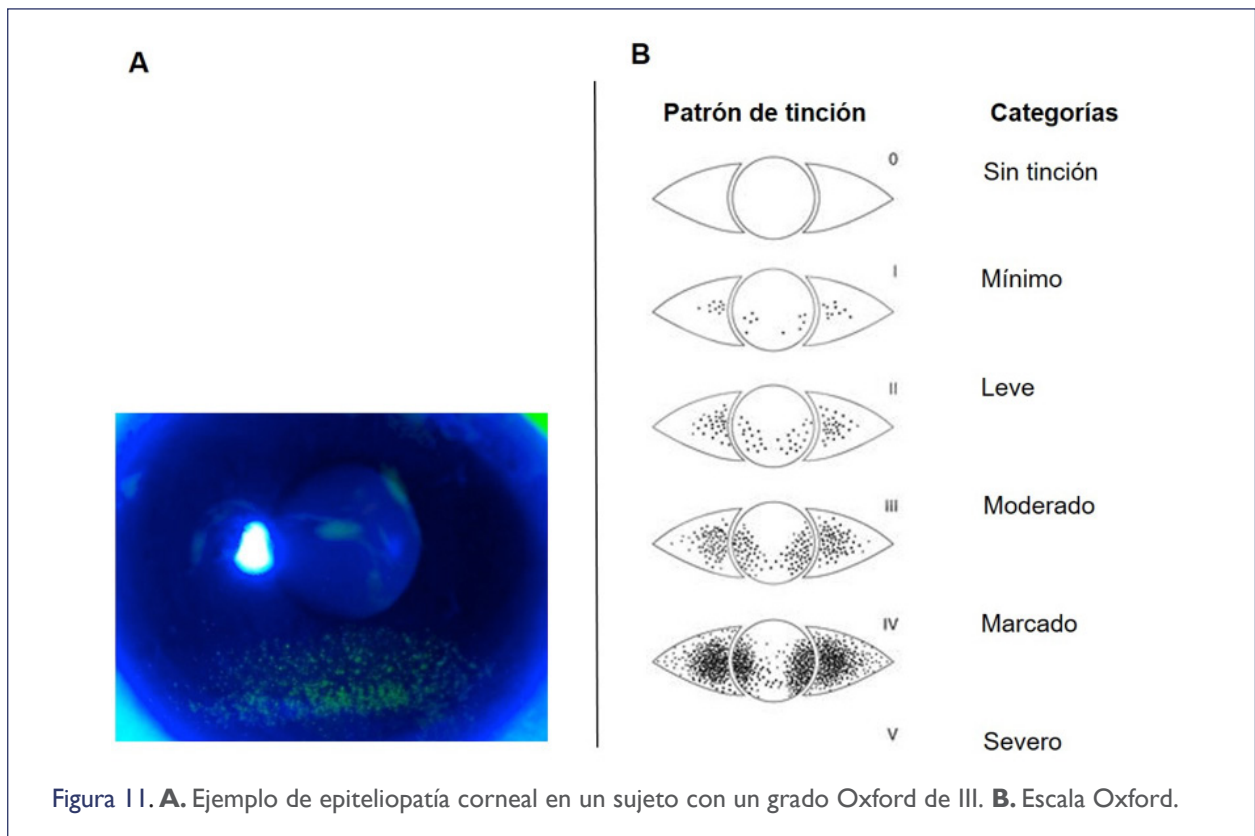


Figura 10. **A.** Recogida de una muestra de lágrima de un sujeto del estudio. **B.** KitBio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay (Laboratorios Bio-Rad).

7. Tinción corneal con fluoresceína y examen con lámpara de hendidura (LH).

Todos los sujetos fueron sometidos finalmente a un examen con LH, con aumento de X16, para la evaluación de la córnea y la conjuntiva teñida con una gota de fluoresceína (Minims-fluoresceína sódica al 2,0%, Chauvin Pharmaceuticals Ltd.) y filtro azul cobalto. Se levantó lo suficiente y mediante una ligera presión el párpado superior para poder observar la totalidad de la superficie corneal. El grado de epiteliopatía corneal se clasificó de 0-V usando la escala de Oxford (0 = sin tinción, I = mínimo, II = leve, III = moderado, IV = marcado, V = Severo) (Lemp M et al. 2007) (Figura 11).

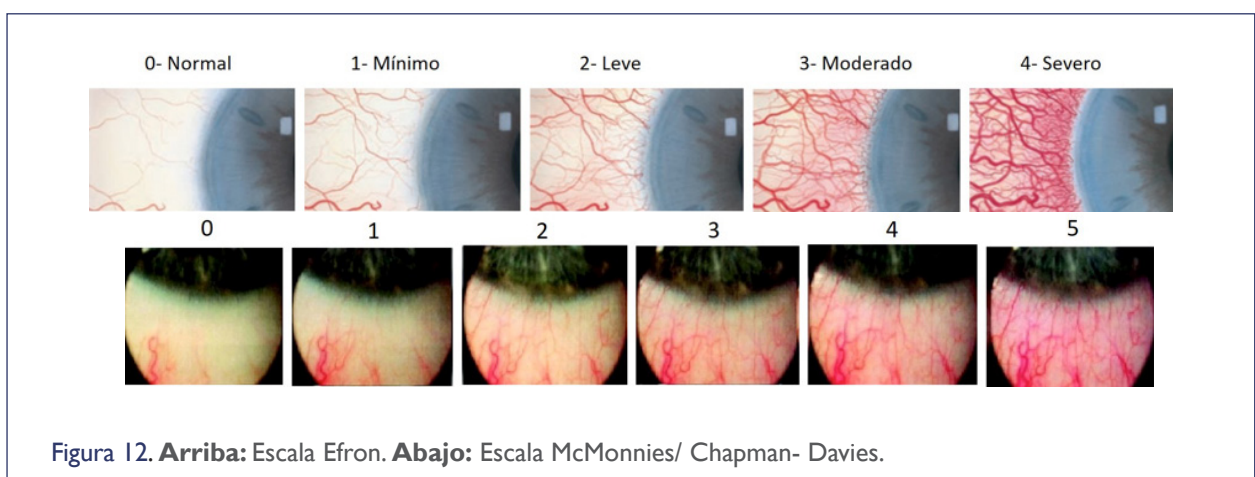


8. Graduación de la hiperemia ocular según las escalas McMonnies/ Chapman Davies y Efron.

96

Las fotografías de la SO fueron exportadas a un ordenador y codificadas con un número de orden. Cada una de ellas fue graduada por dos observadores según las dos escalas de clasificación de la hiperemia ya comentadas (MC-D y Efron) (Figura 12).

El procedimiento se realizó en la misma sala con la misma fuente de iluminación, con la escala de referencia impresa y plastificada encima de una mesa y las fotografías obtenidas mostradas en la pantalla de un ordenador. Las fotografías se mostraron en un orden aleatorio, de modo que ambos observadores desconociesen si se trataba de un sujeto perteneciente al grupo control o al de tratamiento. Asimismo, ambos observadores desconcían el resto de información (demográfica, terapéutica y clínica) de los sujetos. Cada observador anotó las puntuaciones de todas las fotografías en bases de datos independientes (Microsoft Excel 2013), siguiendo el mismo protocolo. Ambas bases de datos fueron posteriormente unificadas junto con el resto de las variables registradas (ver sección “creación de la base de datos”).



■ 7.4. Crecación de la base de datos

Para trabajar con los resultados obtenidos (historia clínica y pruebas complementarias) se diseñó una base de datos a partir de una tabla de Excel (Microsoft Excel versión 2013) que posteriormente fue recodificada en SPSS (versión 15.0, SPAA INC., Chicago, IL) para el análisis estadístico.

Para cada uno de los ojos a estudio se recogieron diversas variables, distribuidas en tres bloques:

Primer bloque: Datos demográficos.

Segundo bloque: Variables relativas al tratamiento.

Tercer bloque: Indicadores de PSO y calidad visual.

1. Primer bloque: Datos demográficos.

Se recogieron apellidos, nombre, sexo, ojo derecho u ojo izquierdo analizado, edad y el número de la historia clínica.

2. Segundo bloque: Variables relativas al tratamiento.

Se recogieron las siguientes variables: número y tipo de principios activos empleados en el momento de la visita, número de gotas hipotensoras instiladas al día, número de gotas hipotensoras con conservante instiladas al día, número de colirios empleados al día, número de colirios diarios. Se registró así mismo el tipo de conservante empleado (BAK; PQ), la concentración diaria de conservante (CDC), la concentración acumulativa total de conservante (CAC), el uso o no de combinaciones fijas y si había sido intervenido de cirugía de catarata.

3. Tercer bloque: Indicadores de PSO y calidad visual.

Se registraron los resultados obtenidos en el test de OSDI, la AML, los cinco valores de HO aportados por el K5M (Global, BN, BT, LN, LT), el TBUT- NI, el valor de DLO aportado por el OQAS II, los valores de las 27 citoquinas pro-inflamatorias estudiadas, el grado de tinción corneal según la escala Oxford y el grado de enrojecimiento ocular según las escalas Efron y MC-D (dos observadores).

■ 7.5. Análisis estadístico

Todos los test estadísticos fueron realizados con el programa IBM SPSS versión 15.0 (SPAA INC., Chicago, IL), a excepción de un análisis de concordancia, que fue realizado por el programa STATA 12.0 (StataCorp LP, College Station, TX, USA), como se comentará a continuación.

Las variables cualitativas del estudio están presentadas en forma de porcentajes y las variables continuas como media \pm desviación estándar (DE) si mostraban una distribución normal (de Gauss) y como mediana [rango intercuartílico (RIC)] si no la presentaban. En la **tabla 3** se resume el conjunto de variables analizadas en el estudio.

Algunas variables categóricas se recodificaron de la siguiente manera, debido al pequeño tamaño muestral en las categorías más extremas:

1. Tinción corneal: Ningún sujeto del estudio fue clasificado con un grado IV o V según la escala Oxford, por lo que las categorías restantes se codificaron como 0= ausencia de epitelopatía (tinción); 1= Presencia de epitelopatía (tinción) (incluyendo los grados I, II y III de la escala).
2. Número de principios activos: 1; ≥ 2 .
3. Número de gotas diarias: 1; 2; ≥ 3 .
4. Número de gotas diarias con conservante: 1; 2; ≥ 3 .
5. Tipo de conservante: 0= sin conservante; 1= BAK; 2= BAK + PQ.
6. Puntuación en test de OSDI: Se expresa como una variable continua y también como una variable cualitativa dicotómica: 0= Puntuación normal (≤ 12); 1= Puntuación patológica (PSO) (> 12).

La CDC y la CAC [CDC x tiempo tratamiento (días)] se calcularon también con el programa SPSS.

Se utilizó el test de Kolmogorov–Smirnov para saber la distribución (normal o no) de las variables continuas ($P > 0.05$ = distribución normal).

El nivel de significación estadístico para el resto de tests empleados se fijó en un nivel alpha (P) $< 0,05$.

98

Análisis univariable

Se empleó el test de la Chi-cuadrado para comparaciones entre variables cualitativas nominales. Se utilizó el test de la T de Student para comparaciones entre variables cualitativas dicotómicas y variables continuas de distribución normal. Se empleó el test de la U de Mann Whitney si la distribución no era normal. Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) para la comparación de variables cualitativas nominales polidicotómicas (al menos 3 categorías) y variables continuas de distribución normal. Fue el test de Kruskal- Wallis el empleado si la distribución no era normal. Asimismo, manejamos los siguientes tests de correlaciones bivariadas entre variables continuas: Coeficiente de correlación de Pearson si la distribución de las variables era normal y coeficiente de correlación de Spearman si la distribución de al menos una de las variables era no normal. Para la comparación de variables cualitativas ordinales y variables continuas también se empleó el coeficiente de correlación de Spearman.

Análisis multivariable

Se construyeron nueve modelos de regresión para evitar posibles factores de confusión en la asociación univariante de las variables comparadas. Se utilizaron dos modelos de regresión logística y siete modelos de regresión lineal múltiple.

Los dos modelos de regresión logística binaria se realizaron para las variables dependientes o “resultado” OSDI (Normal ≤ 12 ; Patológico > 12) y tinción corneal según la escala Oxford (Ausencia de epitelopatía corneal; Presencia de epitelopatía corneal).

Los siete modelos de regresión lineal múltiple se realizaron para variables dependientes continuas: Hiperemia global, BN, BT, LN, LT, puntuación en el test de OSDI y valor de DLO. Las variables “OSDI” y “DLO” fueron reconvertidas al logaritmo de su valor para conseguir una distribución normal, lo cual es necesario para realizar una regresión lineal múltiple (logOSDI, LogDLO). Una constante arbitraria de +10 fue sumada a todos los valores de la variable “OSDI” para poder realizar la conversión logarítmica, ya que el valor de varias puntuaciones era 0. Los coeficientes β no estandarizados fueron reconvertidos en estos dos modelos como una Razón de Medias (RM) (del inglés, mean ratio) para cada una de las variables explicativas introducidas.

Los modelos se realizaron mediante un método “hacia atrás” (backward stepwise method) con nivel de significación estadística prefijado como $P \leq 0,05$ para su inclusión y $P \geq 0,1$ para su exclusión. Se incluyeron aquellas variables que presentaron asociaciones estadísticamente significativas en los modelos de contraste de hipótesis univariante ($P < 0,05$) o cercanos a la significación estadística ($P = 0,05 - 0,1$) si fueron considerados clínicamente relevantes. Los factores de Tolerancia y de Inflación de la Varianza fueron empleados para medir la colinearidad de las variables explicativas introducidas en cada modelo.

Análisis de reproducibilidad y concordancia

El grado de acuerdo entre ambos observadores, en las puntuaciones obtenidas de la graduación de la HO según las escalas de Efron y MC-D, se determinó mediante el estadístico Kappa Ponderado de Cohen. Este estadístico se emplea para evaluar el grado de acuerdo entre variables ordinales, ya que tiene en cuenta la diferencia relativa entre las puntuaciones de cada observador. Se calculó mediante el programa STATA.

Para establecer el grado de correlación (grado de asociación lineal entre dos variables) entre las puntuaciones de las escalas Efron y MC-D y los valores de HO aportados por el K5M, se realizó un análisis de correlación de Spearman. Para establecer el grado de concordancia (grado de similitud entre dos variables), se realizó un análisis de Bland Altman (programa SPSS). Para ello, se realizó previamente una recodificación de las variables para que ambas tuvieran las mismas unidades de medida (0- 100) (requisito necesario para poder realizar este análisis), siguiendo el método ya descrito por Amparo y col (Amparo et al. 2013):

1. Puntuaciones en la escala Efron 0, 1, 2, 3, 4 = 0, 25, 50, 75 y 100, respectivamente.
2. Puntuaciones en la escala MC-D 0, 1, 2, 3, 4, 5 = 0, 20, 40, 60, 80 y 100, respectivamente.
3. Los valores de HO aportados por el K5M (0- 4.0) fueron multiplicados por 25. Las diferencias entre la media de las puntuaciones fueron identificadas mediante el test de la T Student para muestras apareadas.

Tabla 3

Variables registradas en el estudio	
VARIABLES CUALITATIVAS	VARIABLES CUANTITATIVAS
A. NOMINALES	A. DISTRIBUCIÓN NORMAL
A.1 DICOTÓMICAS	
Sexo (varón; mujer)	Hiperemia ocular (K5M)
IAC (sí; no)	Bulbar nasal, bulbar temporal, limbar nasal, limbar temporal, global
PG (sí; no)	AML
AAA (sí; no)	TBUT-NI
BB (sí, no)	Niveles de las 27 citoquinas proinflamatorias
OSDI (Normal si ≤ 12 ; patológico si > 12)	Edad
Cirugía de la catarata (sí; no)	CDC
Grado de tinción corneal con fluoresceína (escala Oxford) (No epitelopatía; presencia de epitelopatía)	
A.2 POLIDICOTÓMICAS	
Tipo de tratamiento (monoterapia; CF; no CF)	
Conservante (ausencia; BAK; BAK + PQ)	
B. ORDINALES	B. DISTRIBUCIÓN NO NORMAL
Nº de gotas diarias (1,2, ≥ 3)	OSDI (0-100)
Nº de gotas cc (0,1,2, ≥ 3)	DLO
Nº de colirios (1, ≥ 2)	Tiempo de tratamiento
Nº de principios activos (1, ≥ 2)	CAC
Puntuación escala Efron (0;1;2;3;4)	
Puntuación escala MC-D (0;1;2;3;4;5)	

IAC, inhibidor de la anhidrasa carbónica; PG, prostaglandina; AAA, Agonista alpha adrenérgico; BB, betabloqueante; BAK, cloruro de benzalconio; PQ, Polyquanternium; cc, con conservante; MC-D, McMonnies; AML, Altura del menisco lagrimal; TBUT- NI, Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo; OSDI, Test del Ocular Surface Disease Index; DLO, dispersión de luz intraocular; CDC, concentración diaria de conservante; CAC, concentración acumulada de conservante

8. RESULTADOS

8. Resultados

■ 8.1. Reproducibilidad de las escalas de graduación de la hiperemia ocular: correlación y concordancia con los valores aportados por el keratograph 5M.

Para este análisis se incluyeron 226 participantes (175 pacientes bajo tratamiento hipotensor tópico y 51 sujetos sanos). Estos fueron reclutados durante un periodo de siete meses (Junio-Diciembre 2015). Los sujetos de ambos grupos fueron agrupados para realizar los análisis pertinentes de este primer objetivo.

La edad media fue de $67,52 \pm 10,67$ años. El 57,96% (n= 131) fueron hombres. La mayoría de los sujetos incluidos estaba bajo tratamiento con un principio activo (58,3%; n= 102), seguido de dos (35,4%; n= 62) y tres (6,3%; n= 11); la mayoría de los medicamentos eran prostaglandinas (70,2%; n= 123), seguidos por los betabloqueantes (48,6%; n= 85), inhibidores de la anhidrasa carbónica (21,7%; n= 38) y agonistas alpha2- adrenérgicos (brimonidina) (9,1%; n= 16). Ninguno de los sujetos incluidos estaba bajo tratamiento con pilocarpina. 147 (84%) pacientes estaban siendo tratados con medicaciones conservadas.

Los valores originales y convertidos (media \pm DE) de las puntuaciones obtenidas con las escalas Efron y MC-D (observador 1 y 2), valores coincidentes entre ambos observadores y los valores de HO aportados por el K5M están representados en la [tabla 4](#). Los sujetos bajo tratamiento del estudio presentaron niveles de HO significativamente mayores con ambos métodos de medida (escalas Efron y MC-D y el K5M) ($P < 0.05$).

Tabla 4

Valores obtenidos con ambas escalas y con el Keratograph 5M
I.A. MUESTRA GLOBAL

	Valores originales				Valores convertidos			
	Media	DE	Min	Max	Media	DE	Min	Max
Efron obs. 1	1.09	0.69	0	3	27.24	17.29	0	75
Efron obs. 2	1.18	0.7	0	3	29.5	17.7	0	75
Efron valores coincidentes	1.14	0.66	0	3	28.43	16.55	0	75
MC-D obs. 1	1.07	0.8	0	3	21.43	16.15	0	60
MC- D obs. 2	1.28	0.93	0	4	25.58	18.67	0	80
MC- D valores coincidentes	1.06	0.79	0	3	21.19	15.87	0	80
HO Bulbar temporal	1.62	0.61	0.3	3.4	40.42	15.27	7.5	85
HO Bulbar nasal	1.91	0.62	0.7	3.9	47.77	15.68	17.5	97.5
HO Limbar temporal	1.18	0.56	0.2	3.2	29.56	14.02	5	80
HO Limbar nasal	1.24	0.58	0.1	3.1	31.06	14.52	2.5	77.5
HO Global	1.76	0.57	0.6	3.9	44.05	14.40	15	97.5

2.B. GRUPO TRATADO

	Valores originales				Valores convertidos			
	Media	DE	Min	Max	Media	DE	Min	Max
Efron obs. 1	1.17	0.71	0	3	29.36	17.8	0	77.5
Efron obs. 2	1.3	0.68	0	3	32.6	17.16	0	75
Efron valores coincidentes	1.25	0.66	0	3	31.25	16.59	0	75
MC-D obs. 1	1.18	0.82	0	3	23.6	16.4	0	60
MC- D obs. 2	1.43	0.93	0	4	28.65	18.65	0	80
MC- D valores coincidentes	1.21	0.79	0	3	24.25	18.65	0	80
HO Bulbar temporal	1.69	0.6	0.4	3.4	42.28	15.19	10	85
HO Bulbar nasal	1.99	0.6	0.7	3.9	49.75	15.09	17.5	97.5
HO Limbar temporal	1.28	0.56	0.2	3.2	32.18	14.14	5	80
HO Limbar nasal	1.33	0.58	0.3	3.1	33.2	14.54	7.5	77.5
HO Global	1.84	0.57	0.7	3.9	46.07	14.27	17.5	97.5

2.C. GRUPO CONTROL

	Valores originales				Valores convertidos			
	Media	DE	Min	Max	Media	DE	Min	Max
Efron obs. 1	0.8	.53	0	2	20.09	13.25	0	50
Efron obs. 2	0.76	0.62	0	3	19.12	15.48	0	75
Efron valores coincidentes	0.78	0.52	0	2	19.4	12.93	0	50
MC-D obs. 1	0.71	0.64	0	2	14.11	12.83	0	40
MC- D obs. 2	0.76	0.74	0	3	15.29	14.74	0	60
MC- D valores coincidentes	0.67	0.64	0	2	13.48	12.88	0	40
HO Bulbar temporal	1.36	0.55	0.3	2.8	34.16	13.9	7.5	70
HO Bulbar nasal	1.64	0.64	0.7	3.4	41.07	15.9	17.5	85
HO Limbar temporal	0.829	0.37	0.3	1.8	20.73	9.27	7.5	45
HO Limbar nasal	0.95	0.47	0.1	2.3	23.77	11.93	2.5	57.5
HO Global	1.49	0.31	0.6	3.0	37.25	12.74	15	75

MC-D, McMonnies Chapman- Davies; HO, hiperemia ocular; DE, desviación estandar

8.1.1. Reproducibilidad de las escalas de graduación de la hiperemia

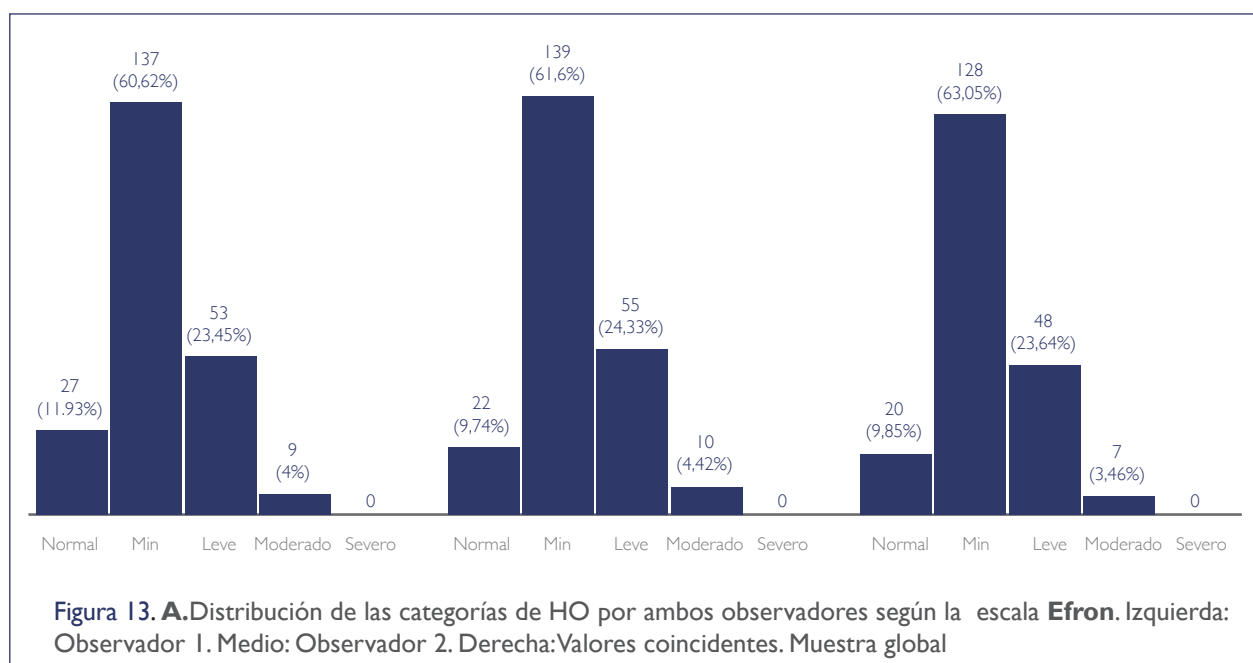
El grado de concordancia de las puntuaciones de HO entre ambos observadores fue buena con ambas escalas, con resultados muy parecidos en ambos grupos (tabla 5). 203 de los 226 sujetos recibieron la misma puntuación por ambos observadores según la escala Efron: Kappa ponderado (KP)= 0,897 (IC 95% 0,85- 0,94), mientras que 158 sujetos fueron clasificados con las mismas puntuaciones con la escala MC-D scale: KP= 0,781 (IC 95% 0,71- 0,85) (Figura 13). El grado de concordancia entre las puntuaciones coincidentes de ambos observadores entre ambas escalas también fue alta: KP= 0,742 (IC 95% 0,71- 0,80)

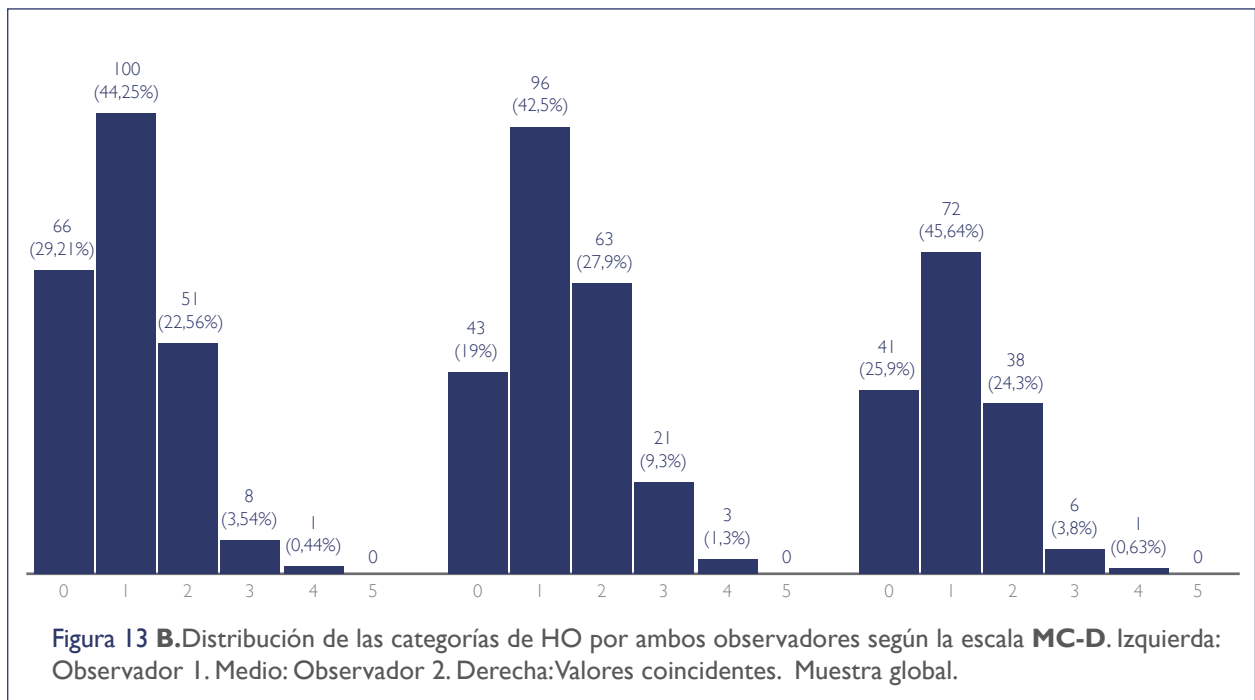
Tabla 5

Concordancia entre observadores para las escalas Efron y MC-D y entre ambas escalas entre sí		
Muestra global (N=226)		
	Kappa ponderado	IC 95%
EFRON obs. 1 vs obs. 2	0,897	0,85- 0,94
MC-D obs. 1 vs obs. 2	0,781	0,71- 0,85
Efron valores coincidentes (N=203) vs MC-D valores coincidentes (N=158)	0,742	0,71- 0,80
Grupo tratado (N= 175)		
	Kappa ponderado	IC 95%
EFRON obs. 1 vs obs. 2	0,84	0,78- 0,9
MC-D obs. 1 vs obs. 2	0,75	0,69- 0,82
Efron valores coincidentes (N= 144) vs MC-D valores coincidentes (N= 108)	0,86	0,79- 0,92
Grupo control (N= 51)		
	Kappa ponderado	IC 95%
EFRON observer 1 vs observer 2	0,82	0,69- 0,95
MC-D observer 1 vs observer 2	0,85	0,76- 0,95
Efron valores coincidentes (N= 45) vs MC-D valores coincidentes (N= 43)	0,83	0,72- 0,93

107

MC-D, McMonnies- Chapman Davies; IC, intervalo de confianza





8.1.2. Correlación y concordancia con los valores aportados por el keratograph 5M

Se hallaron correlaciones directas moderadas entre los valores de HO aportados por el K5M y las puntuaciones obtenidas con ambas escalas (todas estadísticamente significativas $P < 0.001$) (Tabla 6). Estratificando por grupos, prácticamente todas las correlaciones permanecieron invariables, exceptuando la HO limbar nasal que no mostró correlaciones significativas con el resto de valores en los sujetos del grupo control. En la figura 14 se puede apreciar la correlación detectada entre la HO global y las puntuaciones con las escalas Efron y MC-D de ambos observadores.

En el análisis de Bland Altman, observamos que el test de la t de Student para datos apareados arrojó diferencias estadísticamente significativas entre la media de los valores convertidos de HO y las puntuaciones en las escalas (todas $P < 0,001$), a excepción de la HO limbar nasal (LN) vs puntuación media de Efron obs. 2 ($P = 0,194$) y de la HO limbar temporal (LT) vs puntuación media de Efron obs. 2 y puntuaciones coincidentes entre ambos observadores según Efron ($P = 0,317$; $P = 0,91$; respectivamente). Las puntuaciones coincidentes según la escala de Efron y las puntuaciones coincidentes según la escala MC-D mostraron altos sesgos frente la HO global obtenida con el K5M (-11,27 y -19,17, respectivamente) con amplios límites de acuerdo (LA) (-38,169 a 15,756 y -47,534 a 9,19 respectivamente). Estos datos, junto con la comparación entre la HO global y las puntuaciones de ambos observadores en ambas escalas están representadas en la figura 15. Así pues, aunque encontramos correlaciones moderadas, directas y significativas, el grado de concordancia entre la HO global y las escalas fue bajo.

Tabla 6

Correlaciones entre las puntuaciones de las escalas y los valores obtenidos con el keratograph 5M
3.A. MUESTRA GLOBAL

	HO Bulbar Nasal	HO Bulbar Temporal	HO Limbar Nasal	HO Limbar temporal	HO Global
EFRON Obs. 1	0.365 (P<0.001)*	0.331 (P<0.001)*	0.313 (P<0.001)*	0.307 (P<0.001)*	0.432 (P<0.001)*
EFRON Obs. 2	0.344 (P<0.001)*	0.343 (P<0.001)*	0.322 (P<0.001)*	0.349 (P<0.001)*	0.423 (P<0.001)*
EFRON valores coincidentes	0.316 (P<0.001)*	0.338 (P<0.001)*	0.300 (P<0.001)*	0.338 (P<0.001)*	0.416 (P<0.001)*
MC-D Obs. 1	0.321 (P<0.001)*	0.427 (P<0.001)*	0.329 (P<0.001)*	0.375 (P<0.001)*	0.451 (P<0.001)*
MC-D Obs. 2	0.349 (P<0.001)*	0.437 (P<0.001)*	0.355 (P<0.001)*	0.392 (P<0.001)*	0.479 (P<0.001)*
MC-D valores coincidentes	0.322 (P<0.001)*	0.539 (P<0.001)*	0.385 (P<0.001)*	0.495 (P<0.001)*	0.495 (P<0.001)*

3.B. GRUPO TRATADO

	HO Bulbar Nasal	HO Bulbar Temporal	HO Limbar Nasal	HO Limbar temporal	HO Global
EFRON Obs. 1	0.384 (P<0.001)*	0.348 (P<0.001)*	0.367 (P<0.001)*	0.323 (P<0.001)*	0.41 (P<0.001)*
EFRON Obs. 2	0.372 (P<0.001)*	0.295 (P<0.001)*	0.326 (P<0.001)*	0.304 (P<0.001)*	0.397 (P<0.001)*
EFRON valores coincidentes	0.34 (P<0.001)*	0.278 (P<0.001)*	0.354 (P<0.001)*	0.271 (P<0.001)*	0.36 (P<0.001)*
MC-D Obs. 1	0.376 (P<0.001)*	0.371 (P<0.001)*	0.376 (P<0.001)*	0.358 (P<0.001)*	0.43 (P<0.001)*
MC-D Obs. 2	0.361 (P<0.001)*	0.404 (P<0.001)*	0.352 (P<0.001)*	0.351 (P<0.001)*	0.464 (P<0.001)*
MC-D valores coincidentes	0.303 (P<0.001)*	0.361 (P<0.001)*	0.391 (P<0.001)*	0.374 (P<0.001)*	0.365 (P<0.001)*

3.C. GRUPO CONTROL

	HO Bulbar Nasal	HO Bulbar Temporal	HO Limbar Nasal	HO Limbar temporal	HO Global
EFRON Obs. 1	0.25 (P=0.076)	0.437 (P<0.001)*	0.163 (P=0.253)	0.244 P=0.084	0.471 (P<0.001)*
EFRON Obs. 2	0.264 (P=0.061)	0.409 (P<0.05)*	0.237 (P=0.094)	0.24 (P=0.09)	0.447 (P<0.001)*
EFRON valores coincidentes	0.288 (P=0.055)	0.481 (P<0.001)*	0.211 (P=0.163)	0.348 (P<0.05)*	0.496 (P<0.001)*
MC-D Obs. 1	0.303 (P<0.05)*	0.541 (0.001)*	0.263 (P=0.062)	0.35 (P<0.05)*	0.529 (P<0.001)*
MC-D Obs. 2	0.33 (P<0.05)*	0.461 (P<0.001)*	0.269 (P=0.057)	0.29 (P<0.05)*	0.498 (P<0.001)*
MC-D valores coincidentes	0.32 (P<0.05)*	0.601 (P<0.001)*	0.231 (P=0.136)	0.468 (P<0.05)*	0.55 (P<0.001)*

Coefficiente de correlación de Spearman (P valor); MC-D, McMonnies/ Chapman- Davies; *estadísticamente significativo

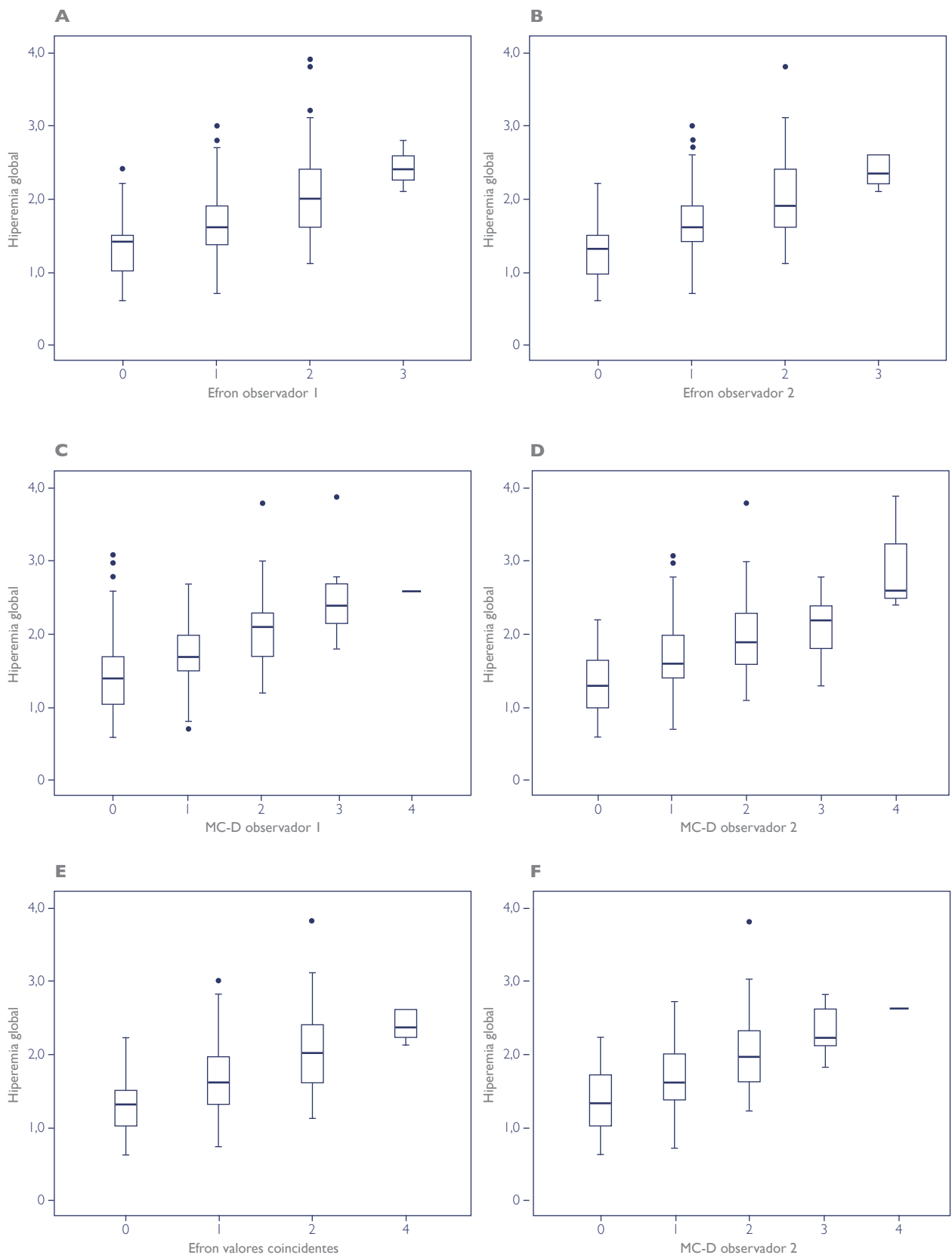


Figura 14 Diagrama de cajas que indica la correlación entre los valores de hiperemia ocular global detectada por el K5M y las puntuaciones de ambos observadores con ambas escalas.

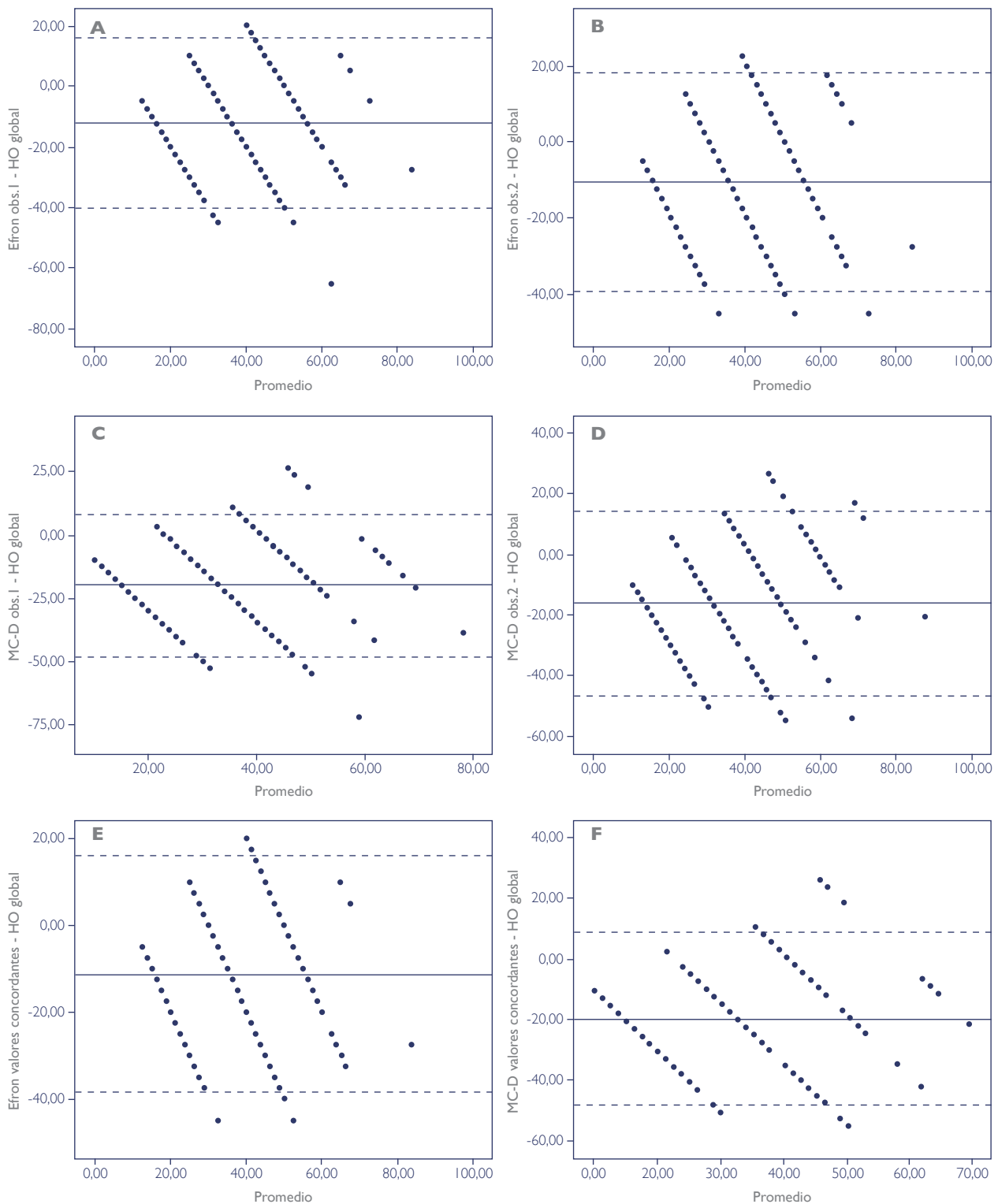


Figura 15 Gráficas de Bland-Altman que muestran los límites de acuerdo (limits of agreement) y el sesgo (bias) entre los diferentes métodos de medida de la hiperemia ocular (HO global). MC-D, McMonnies/Chapman- Davies.

Tras la conversión centesimal de los valores, la diferencia media o sesgo (del inglés, *bias*) y los límites de acuerdo (del inglés, *limits of agreement*) también fue calculada entre ambos observadores para ambas escalas. El mismo análisis se llevó a cabo entre los valores restantes de HO del K5M (LN, LT, BN, BT) y las puntuaciones de Efron y MC-D (Tabla 7). El menor sesgo en esta comparación fue observado entre la HO LT y la puntuación del observador 2 con la escala de Efron (-0.04). De nuevo, estratificando por grupos, se halló un bajo grado de acuerdo entre ambos métodos de medida (amplios LA y altas diferencias medias). Sin embargo, dichas diferencias fueron significativamente menores entre Efron obs. 1 vs Efron obs. 2 y entre MC-D obs. 1 y MC-D obs. 2 en el grupo control. La diferencia media de las puntuaciones de Efron obs. 2 vs HO bulbar temporal fue significativamente mayor en el grupo control.

Tabla 7.A

MUESTRA GLOBAL. Diferencia media (sesgo) y límites de acuerdo entre los valores de HO del Keratograph 5M y las escalas

	LA 95%	Diferencia media
Efron Obs 1 vs Obs 2	-20.602 - 16.322	-2.6
MC-D Obs 1 vs Obs 2	-25.456 - 17.348	-4.05
Efron valores coincidentes vs MC-D valores coincidentes	-10.852 - 21.62	5.77
Efron obs 1 vs HO global	-40.24 - 15.71	-12.26
Efron obs 2 vs HO global	-38.928 - 17.938	-10.49
Efron valores coincidentes vs HO global	-38.294 - 15.754	-11.27
MC-D obs 1 vs HO global	-48.079 - 8.546	-19.76
MC-D obs 2 vs HO global	-46.367 - 14.225	-16.07
MC-D valores coincidentes vs HO global	-44.5 - 11.261	-16.63
Efron Obs 1 vs HO bulbar temporal	-47.437 - 21.071	-13.18
Efron Obs 2 vs HO bulbar temporal	-47.053 - 25.207	-10.92
Efron valores coincidentes vs HO bulbar temporal	-46.714 - 21.582	-12.56
MC- D Obs 1 vs HO bulbar temporal	-50.878 - 12.896	-18.19
MC-D Obs 2 vs HO bulbar temporal	-49.919 - 20.234	-14.82
MC-D valores coincidentes vs HO bulbar temporal	-49.826 - 12.673	-18.57
Efron Obs 1 vs HO bulbar nasal	-56.027 - 14.987	-20.52
Efron Obs 2 vs HO bulbar nasal	-54.741 - 18.052	-18.34
Efron valores coincidentes vs HO bulbar nasal	-54.512 - 15.941	-19.28
MC-D Obs 1 vs HO bulbar nasal	-60.56 - 7.892	-26.33
MC-D Obs 2 vs HO bulbar nasal	-60.042 - 15.515	-22.26
MC-D valores coincidentes vs HO bulbar nasal	-62.217 - 9.734	-26.24
Efron Obs 1 vs HO Limbar temporal	-36.717 - 32.117	2.32
Efron Obs 2 vs HO Limbar temporal	-35.045 - 34.95	-0.04
Efron valores coincidentes vs HO Limbar temporal	-34.64 - 32.161	-1.24
MC-D 1 vs HO Limbar temporal	-39.753 - 23.498	-8.13
MC-D 2 vs HO Limbar temporal	-39.313 - 31.385	-3.96
MC-D valores coincidentes vs HO Limbar temporal	-37.529 - 22.364	-7.58
Efron Obs 1 vs HO Limbar nasal	-38.977 - 31.377	-3.8
Efron Obs 2 vs HO Limbar nasal	-37.42 - 34.222	-1.59
Efron valores coincidentes vs HO Limbar nasal	-35.485 - 30.03	-2.72
MC-D Obs 1 vs HO Limbar nasal	-42.945 - 23.684	-9.63
MC-D Obs 2 vs HO Limbar nasal	-42.75 - 31.714	-5.52
MC-D valores coincidentes vs HO Limbar nasal	-41.714 - 22.641	-9.54

LA, límites de acuerdo; HO, Hiperemia ocular (Keratograph 5M); MC-D, McMonnies/Chapman- Davies

Tabla 7.B

Diferencia media (sesgo) y límites de acuerdo entre los valores de HO del Keratograph 5M y las escalas en el grupo tratado y en el grupo control

	Grupo de tratamiento		Grupo control		P #
	LA 95%	d (Sesgo)	LA 95%	d (Sesgo)	
Efron Obs 1 vs Obs 2	--17.307 – 12.4	-2.45	-12.705 – 14.274	0.78	0.008*
MC-D Obs 1 vs Obs 2	-27.746 – 17.922	-4.91	-15.656 – 13.303	-1.17	0.023*
Efron valores coincidentes vs MC-D valores coincidentes	-10.781 – 21.413	5.32	-11.106 – 19.568	4.23	0.483
Efron Obs 1 vs HO Global	-41.894 – 16.727	-12.58	-34.249 – 11.897	-11.17	0.537
Efron Obs 2 vs HO Global	-39.42 – 19.306	-10.05	-37.06 – 13.14	-11.96	0.412
Efron valores coincidentes vs HO Global	-39.647 – 17.008	-11.32	-33.746 – 11.526	-11.11	0.903
MC-D Obs 1 vs HO global	-49.655 – 9.999	-19.83	-42.285 – 3.187	-19.55	0.204
MC-D Obs 2 vs HO global	-46.92 – 16.222	-15.35	-43.737 – 6.757	-18.49	0.93
MC-D valores coincidentes vs HO global	-45.14 – 12.811	-16.16	-42.07 – 5.718	-18.18	0.375
Efron Obs 1 vs HO bulbar temporal	-48.905 – 23.062	-12.92	-13.805 – 41.94	-14.068	0.63
Efron Obs 2 vs HO bulbar temporal	-46.725 – 27.339	-9.69	-46.99 – 16.893	-15.05	0.037*
Efron valores coincidentes vs HO bulbar temporal	-48.013 – 24.263	-11.87	-41.468 – 11.914	-14.77	0.274
MC-D Obs 1 vs HO bulbar temporal	-52.28 – 14.931	-18.67	-45.462 – 5.364	-20.05	0.663
MC-D Obs 2 vs HO bulbar temporal	-49.894 – 22.613	-13.64	-48.65 – 10.905	-18.87	0.063
MC-D valores coincidentes vs HO bulbar temporal	-51.247 – 15.969	-17.64	-45.007 – 3.146	-20.93	0.284
Efron Obs 1 vs HO bulbar nasal	-56.323 – 15.538	-20.39	-55.351 – 13.39	-20.98	0.935
Efron Obs 2 vs HO bulbar nasal	-53.309 – 18.776	-17.26	-58.996 – 15.075	-21.96	0.11
Efron valores coincidentes vs HO bulbar nasal	-54.548 – 17.083	-18.73	-54.477 – 12.365	-21.05	0.489
MC-D Obs 1 vs HO bulbar nasal	-60.733 – 8.436	-26.15	-60.256 – 6.335	-26.96	0.874
MC-D Obs 2 vs HO bulbar nasal	-59.653 – 11.347	-21.21	-60.729 – 9.16	-25.78	0.129
MC-D valores coincidentes vs HO bulbar nasal	-62.574 – 11.093	-25.74	-61.513 – 6.514	-27.5	0.681
Efron Obs 1 vs HO Limbar temporal	-39.117 – 33.489	-2.82	-27.775 – 26.506	-0.64	0.398
Efron Obs 2 vs HO Limbar temporal	-35.532 – 36.38	0.42	-33.332 – 30.112	-1.61	0.356
Efron valores coincidentes vs HO Limbar temporal	-36.733 – 34.441	-1.14	-27.009 – 23.954	-1.55	0.965
MC-D 1 vs HO Limbar temporal	-42.007 – 24.856	-8.57	-31.25 – 18.015	-6.62	0.384
MC-D 2 vs HO Limbar temporal	-40.442 – 33.395	-3.52	-35.064 – 24.182	-5.44	0.546
MC-D valores coincidentes vs HO Limbar temporal	-39.987 – 24.963	-7.52	-30.484 – 15.021	-7.73	0.918
Efron Obs 1 vs HO Limbar nasal	-40.349 – 32.623	-3.86	-34.35 – 27.013	-3.67	0.927
Efron Obs 2 vs HO Limbar nasal	-37.196 – 35.821	-0.68	-37.7 – 28.387	-4.65	0.148
Efron valores coincidentes vs HO Limbar nasal	-36.027 – 31.513	-2.25	-33.67 – 25.23	-4.22	0.542
MC-D Obs 1 vs HO Limbar nasal	-44.177 – 24.93	-9.62	-38.712 – 19.399	-9.65	0.775
MC-D Obs 2 vs HO Limbar nasal	-43.338 – 34.056	-4.63	-39.932 – 22.972	-8.48	0.133
MC-D valores coincidentes vs HO Limbar nasal	-42.31 – 24.253	-9.03	-40.227 – 18.599	-10.81	0.401

LA, Límites de acuerdo; HO, Hiperemia ocular (Keratograph 5M); MC-D, McMonnies/Chapman- Davies scale; # Test de la U de Mann Whitney para la comparación de las diferencias medias (sesgos) entre el grupo de tratamiento y el grupo control; *estadísticamente significativa

■ 8.2. Patología de la superficie ocular de la muestra estudiada

8.2. 1. Estadística descriptiva. Diferencias con respecto al grupo control

Los datos analizados en este apartado corresponden a 211 sujetos con tratamiento hipotensor tópico y los 51 sujetos del grupo control. Todos completaron las pruebas del estudio. Los datos demográficos y las variables medidas durante el protocolo exploratorio están representadas en la tabla 8 y la figura 16. Los sujetos del grupo de tratamiento presentaron un mayor grado de tinción corneal ($P < 0,001$) y una mayor puntuación en el cuestionario OSDI ($P = 0,003$) que los sujetos del grupo control. Aún así, la media de ambos indicadores fue baja (Figura 16). Una pequeña proporción del grupo tratado presentó epitelopatía corneal (tinción con fluoresceína) moderada y severa en el test de Oxford (18,6% y 8,6%, respectivamente). Aún así, la mayoría de pacientes tratados presentaron cierto grado de tinción corneal [65,3% (138)]. El test de OSDI fue patológico (>12) (Miller KL. 2010) en 88 sujetos tratados (41,71%), mientras que en el grupo control fue patológico en sólo 13 sujetos (29,49%) ($P < 0,005$). El grupo tratado presentó valores significativamente más altos de HO detectados con el K5M con respecto al grupo control (Tabla 9; Figura 17).

Los facotres TBUT-NI y AML no difirieron de forma significativa entre ambos grupos ($P = 0,483$; $P = 0,482$; respectivamente) (Tabla 8).

Tabla 8

Factores demográficos, terapéuticos e indicadores de PSO

	Grupo tratado (N=211)	Grupo control (N=51)	P
Sexo [% (N)]			
Hombres	43,6% (92)	37,25% (19)	0,41*
Mujeres	56,4% (119)	62,75% (32)	
Edad			
Media ± DE	69,81 ± 10,7	67,73 ± 9,65	0,097†
Min	29	49	
Max	90	87	
TBUT-NI (s)			
Media ± DE	9,71 ± 5,8	10,37 ± 6,15	0,483†
Min	1,9	2,29	
Max	24,09	24,09	
AML (µm)			
Media ± DE	280 ± 98,23	291,69 ± 67,31	0,482†
Min	122	150	
Max	621	447	
OSDI			
>12 (patológico) [% (N)]	41,71% (88)	25,49% (13)	0,033*
≤ 12 (normal) [% (N)]	58,29% (123)	74,51% (38)	
Mediana (RIC)	10,24 (4,54- 18,94)	2,5 (0- 12,5)	0,001#
Min	0	0	
Max	65	30	
Tinción corneal			
0: no epitelopatía [% (N)]	34,8% (73)	66,66% (34)	<0,001*
≥1: epitelopatía [% (N)]	65,2% (138)	33,33% (17)	
Mediana (RIC)	1 (0- 1)	0 (0- 1)	<0,001#
Min	0	0	
Max	2	1	
Duración del tratamiento (meses)			
Mediana (RIC)	36 (18- 84)	-	
Min	6		
Max	480		
CDC (µg/día)			
Media ± DE	1,25±1,02	-	
Min	0		
Max	12.25		
CAC (µg/día X duración tratamiento, días)			
Mediana (RIC)	1008 (756- 3024)	-	
Min	0		
Max	68040		

PSO, Patología de superficie ocular; TBUT-NI, tiempo de ruptura lagrimal no invasivo; AML, altura del menisco lagrimal; OSDI, ocular surface disease index; DE, Desviación estándar; RIC, Rango Intercuartilico; CDC, Concentración diaria de conservante; CAC, Concentración acumulada de conservante; * test de Chi- cuadrado; † Test de la T de Student; # Test de la de U Mann Whitney

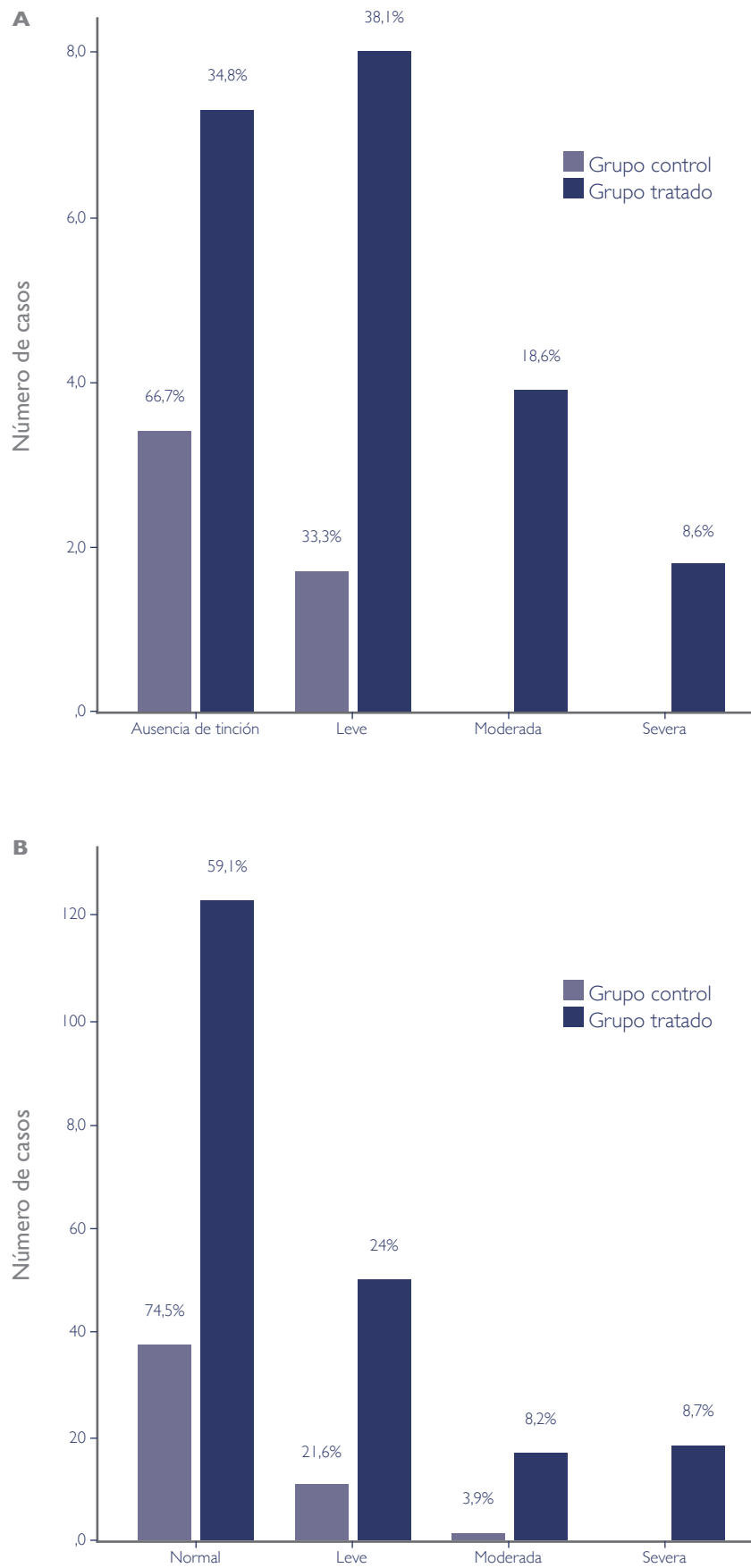


Figura 16. **A.** Distribución de las puntuaciones en el test de Oxford (tinción corneal).
B. Distribución de las puntuaciones en el cuestionario OSDI.

Tabla 9

Hiperemia ocular con Keratograph 5M

	Grupo tratado (N=211)	Grupo control (N=51)	P
HO global			
Media ± DE	1,78 ± 0,56	1,49 ± 0,5	0,001†
Min	0,6	0,6	
Max	3,9	3,00	
HO bulbar nasal			
Media ± DE	1,95 ± 0,59	1,64 ± 0,63	0,001†
Min	0,7	0,7	
Max	3,9	3,4	
HO Limbar nasal			
Media ± DE	1,29 ± 0,57	0,95 ± 0,47	0,003†
Min	0,1	0,1	
Max	3,1	2,3	
HO limbar temporal			
Media ± DE	1,24 ± 0,55	0,83 ± 0,37	<0,001†
Min	0,2	0,3	
Max	3,2	1,8	
HO bulbar temporal			
Media ± DE	1,64 ± 0,6	1,36 ± 0,55	<0,001†
Min	0,4	0,3	
Max	3,4	2,8	

HO, Hiperemia ocular; DE, Desviación estándar; †Test de la T de Student

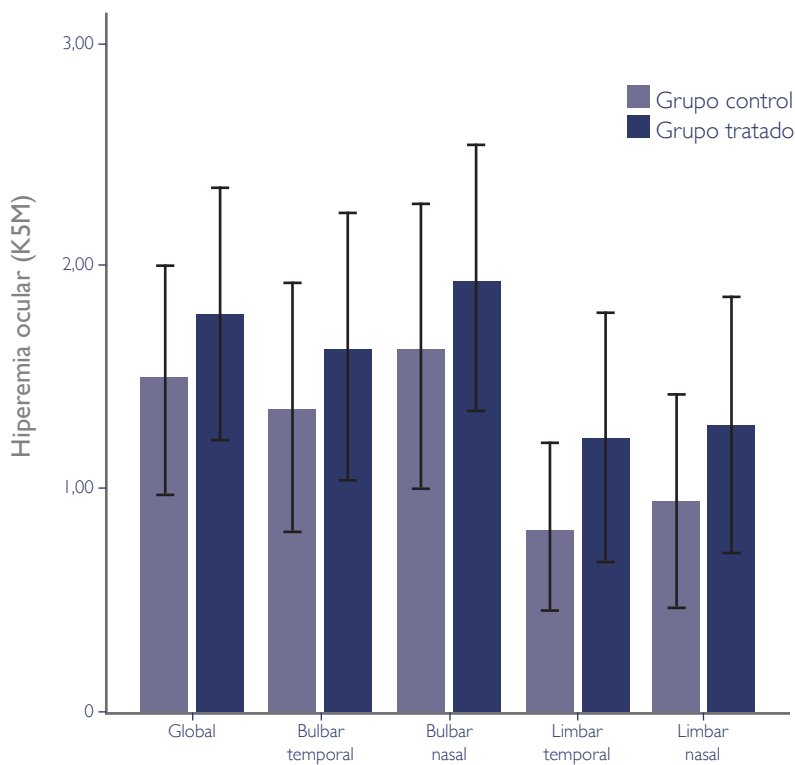


Figura 17. Media de los valores de hiperemia ± 1 desviación estándar (K5M) entre ambos grupos.

Considerando solo el grupo de tratamiento, se realizó un análisis univariable y multivariable ulterior para identificar factores explicativos de cada uno de los indicadores de PSO.

8.2. 2. Análisis univariable

Se hallaron numerosas asociaciones estadísticamente significativas (Tablas 10, 11, 12; Figuras 18 y 19). 33 pacientes (15,64%) empleaban medicaciones libres de conservantes, 144 (68,25%) empleaban medicaciones que contenían como único conservante el BAK y 34 (16,11%) usaban medicaciones que contenían BAK y PQ. Los agentes terapéuticos más empleados fueron las prostaglandinas (PG) [149 (70,62%)], en monoterapia o en combinaciones con otros agentes, seguido de los β -bloqueantes [101 (47,86%)], inhibidores de la anhidrasa carbónica [46 (21,8%)] y los agonistas α 2 adrenérgicos [21 (9,95%)]. La prevalencia de tinción corneal aumentó con la carga de tratamiento (número de principios activos, número de gotas diarias, número de gotas diarias con conservante y número de colirios) (todos $P < 0,05$). En consonancia con esta observación, los pacientes que empleaban medicaciones sin conservantes mostraron una prevalencia menor de tinción corneal que aquellos tratados con medicaciones con conservantes (BAK y PQ) ($P = 0,000$). Además, se objetivó una prevalencia progresivamente mayor de tinción corneal en pacientes tratados con un principio activo, seguido de combinaciones fijas y combinaciones no fijas, si bien dicha asociación no fue estadísticamente significativa ($P = 0,056$). La presencia de tinción corneal se asoció, además, de forma significativa al uso de agonistas- α adrenérgicos (tabla 10), a una mayor CDC ($\mu\text{g}/\text{día}$), CAC ($\mu\text{g}/\text{día} \times \text{tiempo de tratamiento en días}$) y a una mayor duración del tratamiento hipotensor tópico (Tabla 11).

118

Las mujeres puntuaron más alto en el cuestionario OSDI, pero de forma no estadísticamente significativa ($P = 0,09$; Tabla 10.1 y 10.2). El uso de conservantes y la modalidad de tratamiento (monoterapia, combinación fija, combinación no fija) se correlacionaron directamente con la puntuación del OSDI, pero de nuevo sin asociación estadísticamente significativa ($P = 0,082$ y $P = 0,36$, respectivamente). Sí se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre la puntuación del OSDI y el número de gotas diarias con conservante, pero sin patrón claramente establecido. Los pacientes que usaron medicaciones no conservadas presentaron menores niveles de OSDI [5 (2,5- 18,5)] con respecto a aquéllos que recibían ≥ 3 gotas con conservante diarias [12,5 (7,5- 25)]. Sin embargo, el uso de dos gotas diarias con conservante no se asoció con mayores valores de OSDI que el uso de una gota diaria con conservante [7,5 (4,65 - 20); 10 (5 - 15,7); respectivamente]. Sólo una de las variables explicativas, la CDC, se correlacionó significativamente y de forma inversa con la AML ($R = -0,142$; $P = 0,043$). No se observó una asociación estadísticamente significativa entre el OSDI y el TBUT- NI. Aquellos pacientes con mayor tiempo de tratamiento y mayor edad presentaron una puntuación más alta en el test de OSDI (Tabla 12; figura 18).

Tabla 10.A

Asociación entre variables explicativas categóricas y los indicadores de PSO

Variable (N)	Tinción corneal (escala Oxford)		P*	OSDI	
	0 [% (N)]	≥1 [% (N)]		Mediana (RIC)	P
Sexo					
Hombres (92)	38,04%(35)	61,96%(57)	0,49	8,3(2,7- 14,6)	0,09†
Mujeres (119)	32,8%(39)	67,2%(80)		10(5- 20,4)	
Conservante					
Sin conservante (33)	63,64%(21)	36,36%(12)	0,000	5(2,5- 18,5)	0,082#
BAK (144)	31,9%(46)	68,1%(98)		9,1(5- 18,01)	
PQ-I + BAK (34)	20,6%(7)	79,4%(27)		12,5(3,74-20,1)	
Tipo de Tratamiento					
Monoterapia (123)	43,09%(53)	56,91%(70)	0,054	8,3(3,8- 16,3)	0,36#
Combinación fija (56)	26,3%(15)	73,7%(41)		9(5- 20,2)	
Combinación no fija (32)	15,6%(5)	84,4%(27)		10(5- 22,5)	
Principio activo					
IAC					
Presencia (46)	21,74%(10)	78,26%(36)	0,041	7,5(5- 20)	0,86†
Ausencia (165)	38,2%(63)	61,8%(102)		10(4,5- 18,5)	
Prostaglandin					
Presencia (149)	37,6%(56)	62,4%(93)	0,152	10(4,5- 17,1)	0,95†
Ausencia (62)	27,4%(17)	72,6%(45)		8,3(4,5-20,8)	
Beta-blocker					
Presencia (101)	29,7%(27)	70,29%(74)	0,021	8,3(5- 20,45)	0,891†
Ausencia (110)	41,8%(46)	58,2%(64)		10(4,2- 16,3)	
AAA					
Presencia (21)	14,3%(3)	85,7%(18)	0,04	12,5(6,5- 26,2)	0,04†
Ausencia (190)	37,4%(71)	62,6%(119)		8,33(4,2- 16,3)	
Nº gotas diarias					
1(127)	42,5%(54)	57,5%(73)	0,03	10(4,16- 15,9)	0,097#
2(60)	28,3%(17)	71,7%(43)		7,5(4,66- 20)	
≥3(24)	8,4%(2)	91,6%(22)		12,5(7,5- 25)	
Nº gotas diarias con conservante					
0(33)	63,63%(21)	36,37%(12)	0,000	5(2,5- 18,5)	0,003#
1(97)	35,1%(34)	64,9%(63)		10(5- 15,7)	
2(60)	30%(18)	70%(42)		7,5(4,65- 20)	
≥3(21)	4,8%(1)	95,2%(20)		12,5(7,5- 26,25)	
Nº Principios activos					
1(123)	43,9%(54)	56,1%(69)	0,001	8,33 (4,16- 15,9)	0,26†
≥2(88)	21,6%(19)	78,4%(69)		9,37 (5- 20,45)	
Nº colirios					
1(179)	38%(68)	62%(111)	0,018	8,33 (4,5- 17,5)	0,201†
2(32)	15,63%(5)	84,37%(27)		10 (5- 22,5)	
Tinción corneal (escala Oxford)					
0(73)	-	-		5(2,5- 12,3)	0,001†
≥1(138)	-	-		11,5(5- 22,5)	

BAK, cloruro de Benzalconio; PQ-I, polyquaternium; IAC, Inhibidores de la anhidrasa; AAA, Agonistas alpha adrenérgicos; RIC, rango intercuartílico; OSDI, ocular surface disease index; * test de la Chi Cuadrado; † Test de la U de Mann Whitney; # Test de Kruskal Wallis

Tabla 10.B

Asociación entre variables explicativas categóricas y los indicadores de PSO				
Variable (N)	AML		TBUT-NI	
	Media± DE	P	Media± DE	P
Sexo				
Hombres (92)	289,88±102,69	0,284 α	9,79±5,69	0,851 α
Mujeres (119)	274,41±100,65		9,64±5,91	
Conservante				
Sin conservante (33)	290,16±108,02	0,795 β	10,41±5,8	0,675 β
BAK (144)	277,71±102,86		9,48±5,95	
PQ-I + BAK (34)	285,42±91,47		9,98±5,57	
Tipo de Tratamiento				
Monoterapia (123)	283,76±102,37	0,248 β	10,21±5,63	0,067 β
Combinación fija (56)	290,11±103,65		8,15±5,42	
Combinación no fija (32)	253,52±92,83		10,54±6,71	
Principio activo				
IAC				
Presencia (46)	300,22±125,09	0,22 α	10,56±6,51	0,258 α
Ausencia (165)	275,36±93,56		9,46±5,59	
Prostaglandin				
Presencia (149)	274,85±95,92	0,181 α	9,7±5,64	1,000 α
Ausencia (62)	295,95±113,99		9,71±6,21	
Beta-blocker				
Presencia (101)	285,8±106,31	0,513 α	9,04±5,92	0,115 α
Ausencia (110)	276,44±97,42		10,31±5,65	
AAA				
Presencia (21)	252,16±79,44	0,197 α	8,34±6,3	0,258 α
Ausencia (190)	283,79±103,27		9,86±5,74	
Nº gotas diarias				
1(127)	277,31±95,65	0,113 β	9,62±5,55	0,348 β
2(60)	301±110,41		9,26±5,86	
≥3(24)	251,75±104,75		11,27±6,88	
Nº gotas diarias con conservante				
0(33)	290,16±108,02	0,133 β	10,41±5,82	0,288 β
1(97)	271,29±87,81		9,25±5,4	
2(60)	303,14±113,91		9,35±6,01	
≥3(21)	251,33±109,46		11,69±6,77	
Nº Principios activos				
1(123)	283,71±101,94	0,632 α	10,15±5,63	0,185 α
≥2(88)	276,76±101,45		9,07±6,01	
Nº colirios				
1(179)	285,74±102,51	0,104 α	9,55±5,63	0,38 α
2(32)	253,52±92,83		10,54±6,71	
Tinción corneal (escala Oxford)				
0(73)	272,58±94,34	0,421 α	10,59±5,7	0,119 α
≥1(138)	284,71±105,47		9,27±5,8	

BAK, cloruro de Benzalconio; PQ-I, polyquaternium; IAC, Inhibidores de la anhidrasa; AAA, Agonistas alpha adrenérgicos; AML, altura del menisco lagrimal; TBUT-NI, tiempo de ruptura de la película lagrimal no invasivo; DE, desviación estándar; α Test de la T de Student; β Test de ANOVA

Tabla 11

Asociaciones entre variables explicativas continuas y la tinción corneal			
Variables	Tinción corneal (Escala Oxford)		
	0 (N=73)	≥1 (N= 138)	P
Edad (años) (media± DE)	69,23± 12,8	71,31± 10,14	0,2*
CDC (µg/día) (media± DE)	0,88± 0,74	1,45± 1,25	0,003*
CAC (µg/díaX duración tratamiento) [mediana (RIC)]	420 (0- 1512)	1512 (151.2- 3780)	0,000#
Duración de tratamiento (meses) [mediana (RIC)]	24 (12- 60)	48 (24- 120)	0,000#

OSDI, ocular surface disease index; CDC, concentración diaria de conservante; CAC, Concentración acumulada de conservante; * Test de la T de Student; #Test de la U de Mann Whitney; DE, desviación estándar; RIC, rango intercuartílico

Tabla 12

	OSDI		AML		OSDI	
	R#	P	R	P	R	P
OSDI	-	-	0,031#	0,664	-0,049#	0,481
AML	0,031	0,664	-	-	-0,059*	0,407
TBUT-NI	-0,049	0,481	-0,059*	0,407	-	-
Edad	0,141	0,042	0,159*	0,09	-0,104*	0,133
CDC	0,106	0,126	-0,142#	0,043	0,106#	0,124
CAC	0,2	0,004	-0,116#	0,151	-0,029#	0,675
Tiempo de tratamiento	0,218	0,002	-0,105#	0,139	-0,011#	0,879

#R de Spearman; *R de Pearson; OSDI, ocular surface disease index; AML, altura del menisco lagrimal; TBUT-NI, tiempo de ruptura de la película lagrimal no invasivo; CDC, Concentración diaria de conservante; CAC, concentración acumulada de conservante

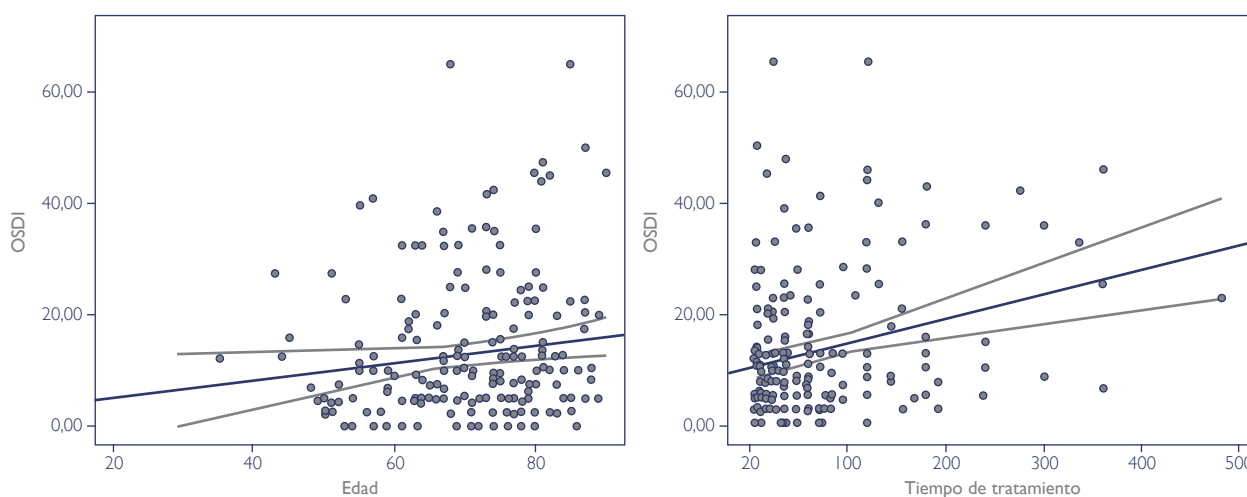
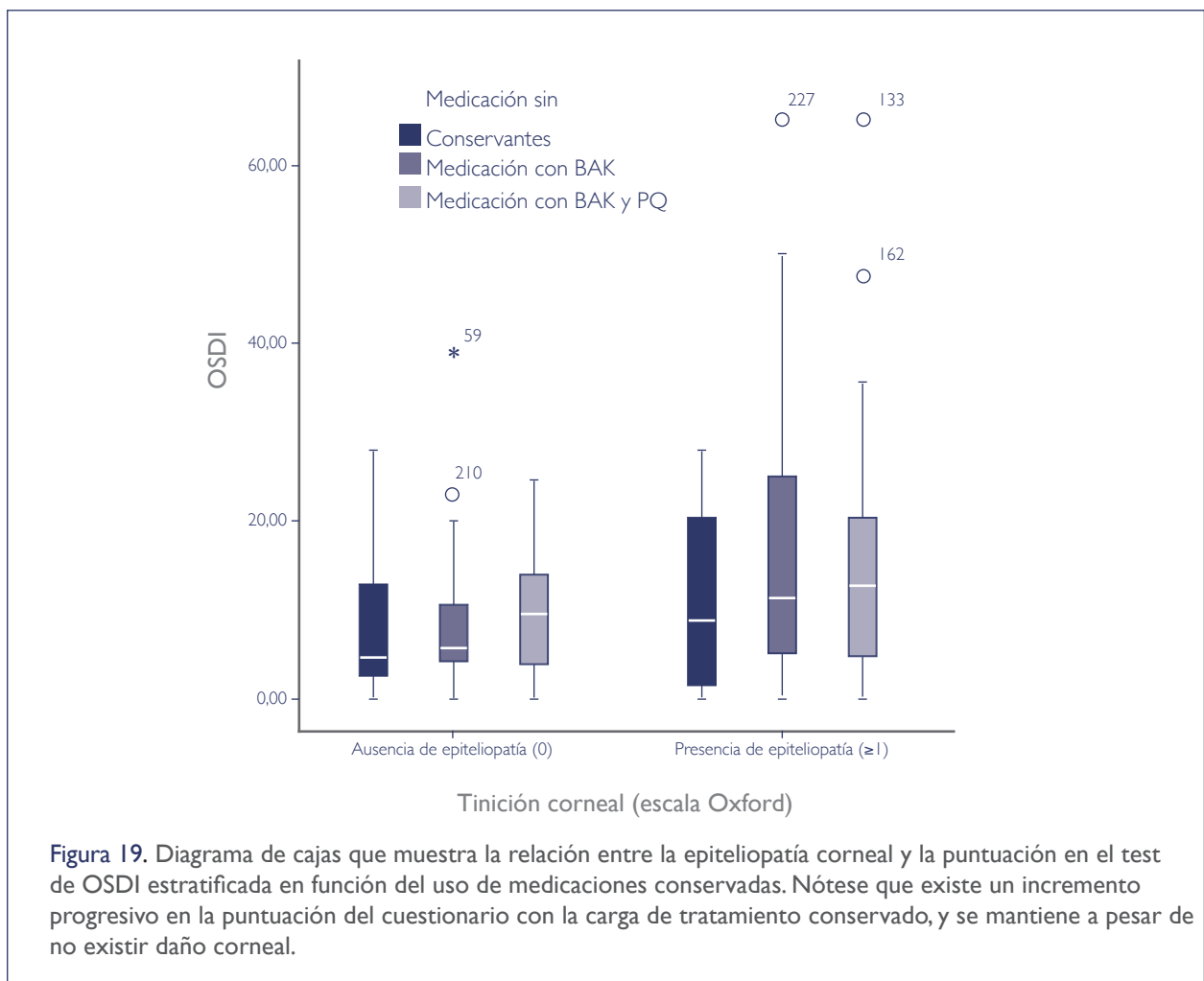


Figura 18 Diagrama de dispersión de puntos. Izquierda: Puntuaciones en el test de OSDI vs Edad (R de Pearson= 0,141). Derecha: Puntuaciones en el test de OSDI vs tiempo de tratamiento (meses) (R de Pearson= 0,218).



Las PG se asociaron con valores más altos de HO en todos los sectores ($P < 0,05$ en todos los sectores); (Tabla 13.1 y 13.2). El uso de β - bloqueantes se asoció con valores más bajos de HO, pero la diferencia fue sólo significativa en el sector LN ($P = 0,003$). Los valores de HO BN aumentaron progresivamente con el uso de gotas diarias con conservantes y con el número de colirios, aunque sin asociación estadísticamente significativa ($P = 0,05$; $P = 0,091$, respectivamente).

El uso de ≥ 3 gotas diarias determinó valores más altos de HO LN, de nuevo sin asociación significativa ($P = 0,09$). Los pacientes con tratamiento con conservantes presentaron mayor HO BN ($P = 0,028$). Puntuaciones más altas en el test de OSDI se asociaron discretamente con valores más altos de hiperemia (estadísticamente significativos en el sector limbar nasal; Tabla 14; figura 20). La edad se correlacionó también directa y significativamente con todos los valores de HO ($P < 0,005$) (Figura 20).

Tabla 13.A

Asociaciones entre las variables explicatorias cualitativas y los valores de hiperemia (K5M)

Variable (N)	Hiperemia Global		Hiperemia Bulbar temporal		Hiperemia Bulbar nasal	
	Media± DE	P	Media± DE	P	Media± DE	P
Sexo						
Hombres (92)	1,85±0,51	0,113*	1,71±0,56	0,157*	2,02±0,58	0,13*
Mujeres (119)	1,73±0,6		1,58±0,62		1,89±0,6	
Conservante						
Sin conservante (33)	1,63±0,61	0,096#	1,5±0,7	0,348#	1,76±0,66	0,028#
BAK (144)	1,78±0,55		1,65±0,58		1,95±0,57	
PQ-I + BAK (34)	1,93±0,55		1,71±0,53		2,15±0,6	
Tipo de Tratamiento						
Monoterapia (123)	1,77±0,59	0,322#	1,59±0,58	0,304#	1,95±0,63	0,138#
Combinación fija (56)	1,72±0,56		1,68±0,63		1,85±0,57	
Combinación no fija (32)	1,91±0,44		1,76±0,56		2,11±0,49	
Principio activo						
IAC						
Presencia (46)	1,71±0,46	0,343*	1,56±0,52	0,309*	1,95±0,51	0,971*
Ausencia (165)	1,8±0,59		1,66±0,61		1,95±0,62	
Prostaglandin						
Presencia (149)	1,86±0,56	0,002*	1,7±0,6	0,002*	2,02±0,58	0,005*
Ausencia (62)	1,6±0,53		1,48±0,57		1,77±0,6	
Beta-blocker						
Presencia (101)	1,71±0,46	0,343*	1,62±0,62	0,701*	1,86±0,59	0,042*
Ausencia (110)	1,8±0,59		1,65±0,57		2,03±0,59	
AAA						
Presencia (21)	1,87±0,58	0,463*	1,77±0,53	0,29*	2,02±0,67	0,583*
Ausencia (190)	1,77±0,56		1,62±0,6		1,94±0,61	
Nº gotas diarias						
1(127)	1,79±0,6	0,635#	1,65±0,62	0,91#	1,95±0,62	0,195#
2(60)	1,73±0,52		1,61±0,68		1,88±0,58	
≥3(24)	1,86±0,45		1,66±0,54		2,14±0,5	
Nº gotas diarias con conservante						
0(33)	1,63±0,61	0,352#	1,5±0,7	0,561#	1,76±0,66	0,051#
1(97)	1,82±0,58		1,65±0,58		1,99±0,59	
2(60)	1,77±0,54		1,69±0,58		1,89±0,57	
≥3(21)	1,86±0,47		1,63±0,55		2,22±0,5	
Nº Principios activos						
1(123)	1,78±0,59	0,78*	1,59±0,58	0,151*	1,95±0,63	0,951*
≥2(88)	1,79±0,53		1,71±0,6		1,95±0,56	
Nº colirios						
1(179)	1,76±0,58	0,157*	1,62±0,6	0,221*	1,92±0,61	0,091#
2(32)	1,91±0,44		1,76±0,56		2,11±0,49	
Tinción corneal (escala Oxford)						
0(73)	1,82±0,59	0,5*	1,67±0,58	0,594*	1,96±0,62	0,875*
≥1(138)	1,76±0,56		1,62±0,6		1,94±0,59	

BAK, Cloruro de benzalconio; PQ-I, polyquaternium-I; IAC, inhibidores de la anhidrasa carbónica; AAA, agonistas alpha adrenérgicos; DE, desviación estándar; * Test de la T de Student; # Test de ANOVA.

Tabla 13.B

Asociaciones entre las variables explicatorias cualitativas y los valores de hiperemia (K5M)				
Variable (N)	Hiperemia limbar temporal		Hiperemia limbar nasal	
	Media± DE	P	Media± DE	P
Sexo				
Hombres (92)	1,29±0,54	0,197*	1,3±0,53	0,742*
Mujeres (119)	1,19±0,56		1,28±0,6	
Conservante				
Sin conservante (33)	1,09±0,62	0,251#	1,17±0,59	0,058#
BAK (144)	1,25±0,56		1,27±0,55	
PQ-I + BAK (34)	1,3±0,46		1,48±0,62	
Tipo de Tratamiento				
Monoterapia (123)	1,2±0,56	0,458#	1,31±0,59	0,253#
Combinación fija (56)	1,23±0,55		1,18±0,52	
Combinación no fija (32)	1,34±0,52		1,37±0,56	
Principio activo				
IAC				
Presencia (46)	1,11±0,41	0,102*	1,3±0,59	0,56*
Ausencia (165)	1,26±0,58		1,24±0,48	
Prostaglandin				
Presencia (149)	1,31±0,57	0,001*	1,36±0,57	0,002*
Ausencia (62)	1,03±0,44		1,1±0,53	
Beta-blocker				
Presencia (101)	1,19±0,55	0,308*	1,16±0,54	0,003*
Ausencia (110)	1,27±0,56		1,4±0,58	
AAA				
Presencia (21)	1,26±0,47	0,76*	1,28±0,62	0,974*
Ausencia (190)	1,22±0,56		1,29±0,56	
Nº gotas diarias				
1(127)	1,26±0,59	0,443#	1,32±0,58	0,09#
2(60)	1,15±0,5		1,17±0,53	
≥3(24)	1,3±0,42		1,44±0,59	
Nº gotas diarias con conservante				
0(33)	1,09±0,62	0,358#	1,17±0,59	0,13#
1(97)	1,28±0,57		1,34±0,56	
2(60)	1,2±0,52		1,2±0,53	
≥3(21)	1,26±0,45		1,46±0,61	
Nº Principios activos				
1(123)	1,21±0,57	0,469*	1,32±0,59	0,37*
≥2(88)	1,26±0,54		1,25±0,54	
Nº colirios				
1(179)	1,21±0,56	0,225*	1,27±0,57	0,36*
2(32)	1,34±0,52		1,37±0,56	
Tinción corneal (escala Oxford)				
0(73)	1,28±0,61	0,381*	1,31±0,54	0,706*
≥1(138)	1,21±0,53		1,28±0,59	

BAK, Cloruro de benzalconio; PQ-I, polyquaternium-I; IAC, inhibidores de la anhidrasa carbónica; AAA, agonistas alpha adrenérgicos; DE, desviación estándar; * Test de la T de Student; # Test de ANOVA.

Tabla 14

Correlaciones bivariadas entre las variables explicativas continuas y los valores de hiperemia (K5M)

	Global		Bulbar temporal		Bulbar nasal		Limbar temporal		Limbar nasal	
	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P
OSDI	0,123#	0,07	0,078#	0,263	0,13#	0,06	0,133#	0,055	0,143#	0,038
AML	0,083*	0,238	0,026*	0,717	0,074*	0,292	0,013*	0,858	-0,011*	0,878
BUT-NI	-0,112*	0,106	-0,086*	0,216	-0,06*	0,383	-0,076*	0,275	-0,1*	0,151
Edad	0,292*	0,000	0,241*	0,000	0,249*	0,000	0,26*	0,000	0,202*	0,003
CDC	0,052#	0,452	0,029#	0,677	0,092#	0,182	0,075#	0,28	0,038#	0,581
CAC	0,011#	0,869	-0,017#	0,808	0,068#	0,329	0,031#	0,658	-0,04#	0,569
Duración de tratamiento	-0,083#	0,229	-0,101#	0,145	0,006#	0,93	-0,094#	0,174	-0,151#	0,102

#R de Spearman; *R de Pearson; OSDI, ocular surface disease index; AML, Altura del menisco lagrimal; BUT-NI, tiempo de ruptura lagrimal no invasivo; CDC, concentración diaria de conservante; CAC, concentración acumulada de conservante.

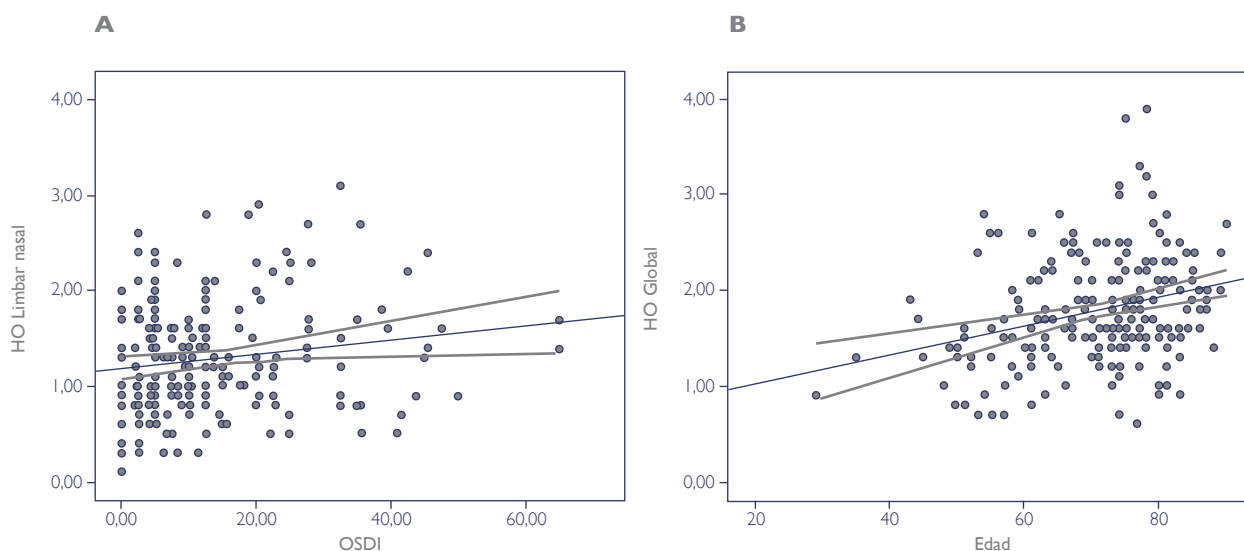


Figura 20 Diagrama de dispersión de puntos. A. Correlación entre la hiperemia ocular (HO) limbar nasal y la puntuación en el test de OSDI (R= 0,143). B. Correlación entre la HO global y la edad (meses) (R= 0,292).

8.2.3. Análisis multivariable

Las tablas 15 y 16 resumen los hallazgos de los modelos multivariable realizados. Los factores que se asociaron con tinción de la superficie corneal (presencia de epiteliopatía) fueron las medicaciones conservadas con BAK [odds ratio (OR)= 1,567], la combinación de medicaciones conservadas con BAK y PQ (OR= 5,09), una mayor puntuación en el test de OSDI (OR= 1,06). La variable “número de gotas diarias” no se incluyó en este análisis a pesar de haber mostrado asociación estadísticamente significativa en el análisis univariable, debido a la alta “colinealidad” con la variable “número de gotas diarias con conservante” (solo 33 sujetos de la muestra estaba bajo tratamiento no conservado). Nótese que la adición de medicaciones conservadas con PQ a una medicación conservada con BAK incrementaba el riesgo de presentar epiteliopatía corneal de forma sustancial.

Los siguientes factores se asociaron con incrementos en los valores de OSDI de aproximadamente un 0,5%, 0,2% y 22,6%, respectivamente: un año de incremento en la edad [razón de medias (RM)=

1,05], un mes en el tratamiento (MR= 1,02) y la presencia de tinción corneal (MR= 1,23). Cuando los valores de OSDI fueron recodificados para llevar a cabo una regresión logística binaria, la presencia de epitelopatía corneal se asoció a una probabilidad de presentar una puntuación patológica de aproximadamente dos veces mayor que su ausencia (OR= 2,3). Asimismo, una mayor duración del tratamiento se asoció con una mayor probabilidad de presentar puntuaciones patológicas (OR= 1,04).

Tabla 15

Análisis multivariantes (I)			
Variables explicativas [£]	Probabilidad de puntuación del test de OSDI ≥ 13 * ^{#₁}	Puntuación OSDI (LogOSDI+ 10) [†] ^{#₂}	Probabilidad de tinción corneal ≥ 1 (Escala Oxford)* ^{#₃}
	OR (95% IC)	Razón de medias (95% IC)	OR (95% IC)
β -bloqueantes			1,885 (0,983- 3,615)
BAK			1,567 (1,073- 3,938)
BAK+ PQ	1,985 (0,917- 4,299)		5,093 (1,605- 16,166)
OSDI			1,06 (1,023- 1,098)
CAC (μ l)		1,052 (1,000- 1,01)	1 (1,0- 1,0)
Edad		1,02 (1,001- 1,003)	
Duración del tratamiento	1,04 (1,000- 1,008)	1,226 (1,118- 1,334)	
Tinción corneal	2,304 (1,211- 4,385)		

*Análisis por regresión logística; † Análisis de regresión lineal

£Sólo el último paso de cada modelo está representado

Valores en "negrita" indican una asociación estadísticamente significativa ($P < 0,05$)

126

OR, odds ratio; β , coeficiente β no estandarizado; IC, Intervalo de confianza; BAK, cloruro de benzalconio; PQ, polyquaternium; OSDI, ocular surface disease index; CAC, Concentración acumulada de conservante

#₁ Variables incluidas: tipo de conservante, edad, tinción corneal, duración del tratamiento. $R^2 = 0,274$.

#₂ Variables incluidas: sexo, tipo de conservante, alpha-agonistas (presencia), n° de gotas diarias con conservante, tinción corneal, edad, CAC, duración del tratamiento. $R^2 = 0,291$.

#₃ Variables incluidas: Tipo de conservante, tipo de tratamiento, IAC, BB, AAA (presencia vs ausencia), n° de gotas diarias con conservante, n° de principios activos, n° de colirios, CDC, CAC, duración del tratamiento. $R^2 = 0,382$.

IAC, inhibidores de la anhidrasa carbónica; BB, betabloqueantes; AAA, agonistas alpha-adrenérgicos; CDC, concentración diaria de conservante.

Una mayor edad se asoció con valores más altos de HO (en todos los sectores). El uso de PG fue un factor determinante de una mayor HO [especialmente en el sector bulbar nasal (BN) ($\beta = 0,314$)], a excepción del sector limbar nasal (LN), en el cual la presencia de β -bloqueante determinó valores más bajos ($\beta = -0,225$). La administración de ≥ 3 gotas diarias con conservante se asoció con valores más altos de HO BN ($\beta = 0,36$). Una mayor puntuación en el test de OSDI y el uso de un mayor número de gotas diarias se asoció con valores más elevados de HO LN ($\beta = 0,007$; $\beta = 0,296$, respectivamente) (Tabla 16; Figura 21).

Decidimos emplear los valores de HO del K5M (variables continuas) y no las puntuaciones obtenidas con las escalas Efron y MC-D (variables ordinales) de tal modo que la precisión del análisis estadístico fuera mayor (posibilidad de realizar una regresión lineal).

Tabla 16

Análisis multivariantes (2). Modelos de regresión lineal múltiple

	HO Global # ₁	HO Bulbar temporal # ₂	HO Bulbar nasal # ₃	HO Limbar temporal # ₄	HO Limbar nasal # ₅
<i>R</i> ²	0,287	0,189	0,243	0,217	0,298
Variables explicativas ^f	β (95% IC)	β (95% IC)	β (95% IC)	β (95% IC)	β (95% IC)
β-bloqueantes			-0,155 (-0,336- 0,025)		-0,225 (-0,376- 0,073)
OSDI	0,005 (-0,001- 0,011)				0,007 (0,001- 0,013)
Edad	0,014 (0,007- 0,02)	0,013 (0,006- 0,02)	0,013 (0,006- 0,02)	0,013 (0,00- 0,006)	0,010 (0,003- 0,017)
Prostaglandinas	0,208 (0,1- 0,416)	0,217 (0,045- 0,38)	0,314 (0,068- 0,56)	0,277 (0,12- 0,433)	0,149 (-0,037- 0,334)
2 gotas diarias			0,255 (-0,011- 0,499)		
≥3 gotas diarias con conservante			0,366 (0,092- 0,64)		
≥3 gotas diarias					0,296 (0,046- 0,545)

Valores en “**negrita**” indican una **asociación estadísticamente significativa (P< 0.05)**
 £Sólo el último paso de cada modelo está representado

Coeficiente β no estandarizado; IC, Intervalo de confianza; BAK, cloruro de benzalconio; PQ, polyquaternium; OSDI, ocular surface disease index; CAC, concentración acumulada de conservante; HO, Hiperemia ocular.

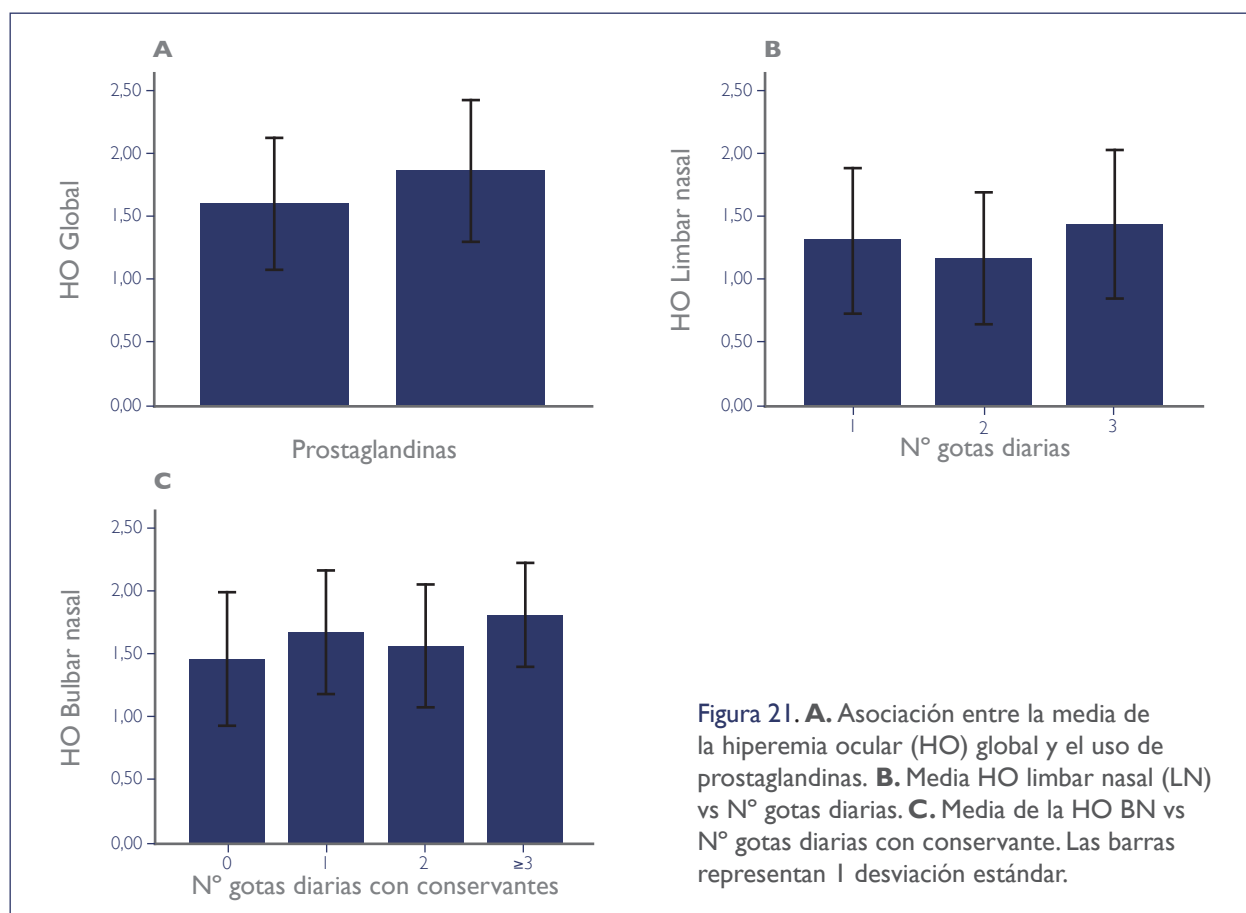
#₁ **Variables incluidas:** conservante, prostaglandina (presencia), OSDI, edad.

#₂ **Variables incluidas:** prostaglandina (presencia), edad.

#₃ **Variables incluidas:** Edad, OSDI, prostaglandina (presencia), β-bloqueante (presencia), conservante, n° gotas diarias con conservante, n° de colirios

#₄ **Variables incluidas:** prostaglandina (presencia), edad, OSDI

#₅ **Variables incluidas:** prostaglandina (presencia), edad, β-bloqueante (presencia), n° gotas diarias, OSDI.



8.3. Dispersión de luz intraocular y calidad visual en la muestra estudiada

8.3. 1. Estadística descriptiva. Diferencias con respecto al grupo control

En este análisis incluimos 160 pacientes tratados y 46 sujetos controles. No se pudo realizar el test del OQAS II en los 51 pacientes restantes del grupo de tratamiento (211) y a los cinco sujetos restantes del grupo control (51) debido a problemas técnicos con el equipo.

La edad media del grupo tratado fue de $68,84 \pm 10,72$ años. El 58.1% del mismo se compuso de mujeres (93). La edad media del grupo control fue de $63,86 \pm 10,34$ años; un 60,67% de los cuales fueron varones (28). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos para la edad, sexo y cirugía previa de catarata ($P= 0,09$, T de Student; $P= 0,124$, Test de la Chi-cuadrado; $P= 0,87$, Test de la Chi-cuadrado, respectivamente). La dispersión de luz intraocular (DLO) fue significativamente mayor en el grupo de tratamiento (3,05; 1,625– 5,475) que en el grupo control (1,95; 0,7– 5) ($P= 0,017$; Test de la U de Mann Whitney). El grupo de tratamiento presentó niveles significativamente superiores de todos los valores HO, tinción corneal con fluoresceína (escala de Oxford) y puntuación en el test de OSDI (al igual que en el análisis previo). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control para la AML y el TBUT-NI ($P= 0,491$; $P= 0,473$; test de la T de Student, respectivamente). Los análisis uni- y multivariantes siguientes se realizaron solo en el grupo de tratamiento.

8.3.2. Análisis univariable

No se hallaron asociaciones estadísticamente significativas entre la DLO y el resto de variables categóricas explicativas (Tablas 17 y 18).

El TBUT-NI y la edad se correlacionaron de forma débil pero significativamente con la DLO (Tabla 19; Figura 22). No se halló ninguna asociación significativa entre la DLO y el resto de variables explicativas continuas, aunque la AML, la HO BN y la puntuación en el test de OSDI casi alcanzaron la significación estadística (tabla 19).

8.3.3. Análisis multivariable

Se construyó un modelo de regresión lineal múltiple en el que fueron incluidas las siguientes variables: edad, TBUT-NI ($P < 0,05$ en las correlaciones bivariadas), AML, HO BN y OSDI ($P < 0,1$ en las correlaciones bivariadas). Este análisis reveló que solo el TBUT-NI influyó significativamente sobre la DLO (Razón de Medias (RM) = $-1,015$; $P= 0,003$; 95% IC = $-1,025$ – $-1,005$) (Tabla 20). Por lo tanto, por cada unidad de aumento en el TBUT-NI (1 segundo), se producía un descenso de un 1,5% en el valor de la DLO. En otras palabras, los pacientes que recibían medicaciones antiglaucomatosas con tiempos de ruptura lagrimal más acortados presentaron una mayor dispersión lumínica intraocular.

Tabla 17

Dispersión de luz intraocular (DLO) en el grupo de tratamiento (N= 160)			
Variable (N)	% (N)	DLO [mediana (RIC)]	P
Sexo			
Varones	41,9% (67)	3,0 (1,9- 5,6)	0,631*
Mujeres	58,1% (93)	3,2 (1,25- 5,35)	
Tipo de tratamiento			
Monoterapia	52,5% (84)	3,0 (1,52- 5,57)	0,238#
Politerapia			
Combinación fija	33,8% (54)	3,4 (1,87- 5,7)	
Combinación no fija	13,8% (22)	2,9 (1,05- 4,95)	
Tipo de conservante			
Sin conservantes	10,6% (17)	4,01 (1,35- 6,95)	0,312#
BAK	71,3% (114)	3,05 (1,77- 5,52)	
BAK + PQ	18,1% (29)	2,9 (1,55- 3,7)	
Cirugía de catarata			
Sí	43,8% (70)	2,9 (1,8- 5,35)	0,75*
No	56,3% (90)	3,1 (1,47- 6)	
Nº gotas diarias (N)			
1	56,9% (91)	3,2 (1,9- 4,75)	0,521#
2	34,4% (55)	3,1 (1,8- 5,9)	
≥ 3	8,8% (14)	2,9 (1,5- 5,5)	
Nº gotas diarias con conservante (N)			
0	10,6% (17)	3,4 (1,35- 5,8)	0,562#
1	46,9% (75)	2,8 (1,5- 4,4)	
2	35% (56)	3,3 (1,8- 5,57)	
≥ 3	7,5% (12)	3,3 (1,33- 5,82)	
Nº principios activos (N)			
1	53,1% (85)	3,0 (1,5- 5,55)	0,635*
≥2	46,9% (75)	3,2 (1,8- 5,4)	
Nº colirios (N)			
1	86,3% (138)	3,15 (1,77- 5,52)	0,168*
2	13,8% (22)	3,2 (1,05- 4,95)	

RIC, Rango intercuartílico; DLO, Dispersión de luz intraocular; *Test de la U de Mann-Whitney; #Test de Kruskal-Wallis.

Tabla 18

Dispersión de luz intraocular (DLO) en el grupo de tratamiento (N= 160)			
	% (N)	DLO [mediana (RIC)]	P
Inhibidor de la anhidrasa carbónica			
Presencia	23,1% (37)	2,5 (1,4- 6,8)	0,851*
Ausencia	76,9% (123)	3,1 (1,6- 5,4)	
Prostaglandina			
Presencia	66,3% (106)	3,0 (1,5- 5,35)	0,738*
Ausencia	33,8% (54)	3,3 (1,77- 5,9)	
B- bloqueante			
Presencia	51,9% (83)	3,1 (1,8- 5,3)	0,874*
Ausencia	48,1% (77)	3 (1,5- 6,35)	
Agonista alpha- adrenérgico			
Presencia	11,3% (18)	2,95 (1,57- 5,67)	0,617*
Ausencia	88,8% (142)	4,25 (2,2- 5,4)	
Tinción corneal (escala Oxford)			
0 (no daño epitelial)	33,1% (53)	2,8 (1,5- 6,5)	0,867*
≥ 1 (daño epitelial)	66,9% (107)	3,1 (1,8- 5,3)	

RIC, Rango intercuartílico; *Test de la U de Mann-Whitney

Tabla 19

Correlaciones bivariadas entre la DLO y las variables explicativas continuas (N=160)		
	R de Spearman	P
DLO vs Edad	0,216	0,006†
DLO vs TBUT-NI	-0,232	0,003†
DLO vs AML	0,148	0,06#
DLO vs HO global	0,063	0,43
DLO vs HO Bulbar nasal	0,14	0,08#
DLO vs HO Bulbar temporal	-0,107	0,177
DLO vs HO limbar nasal	0,04	0,595
DLO vs HO limbar temporal	-0,062	0,437
DLO vs OSDI	0,148	0,065#
DLO vs Concentración diaria de conservante	-0,063	0,427
DLO vs Concentración acumulada de conservante	-0,011	0,894
DLO vs duración de tratamiento (meses)	0,043	0,59

DLO, Dispersión de luz intraocular; TBUT-NI, tiempo de ruptura lagrimal no invasivo; OSDI, ocular surface disease index; AML, altura del menisco lagrimal; † Indica asociación estadísticamente significativa ($P < 0,05$); # Indica asociación casi estadísticamente significativa ($P < 0,1$).

Tabla 20

Regresión lineal múltiple en el grupo tratado (N= 160); $R^2=0.201$. Variable dependiente: DLO			
Variables explicativas	Razón de medias	IC 95%	P
TBUT-NI	-1,015	(-1,025 – -1,005)	0,003*
Edad	1,004	(1,002– 1,082)	0,061
HO bulbar nasal	1,048	(0,95– 1,147)	0,316
OSDI	1,001	(-0,93– 1,006)	0,609
AML	1,0001	(0,903– 1,002)	0,227

DLO, dispersión de luz intraocular; TBUT-NI, Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo; OSDI, ocular surface disease index; AML, altura del menisco lagrimal; HO, hiperemia ocular; IC intervalo de confianza; *Asociación estadísticamente significativa

130

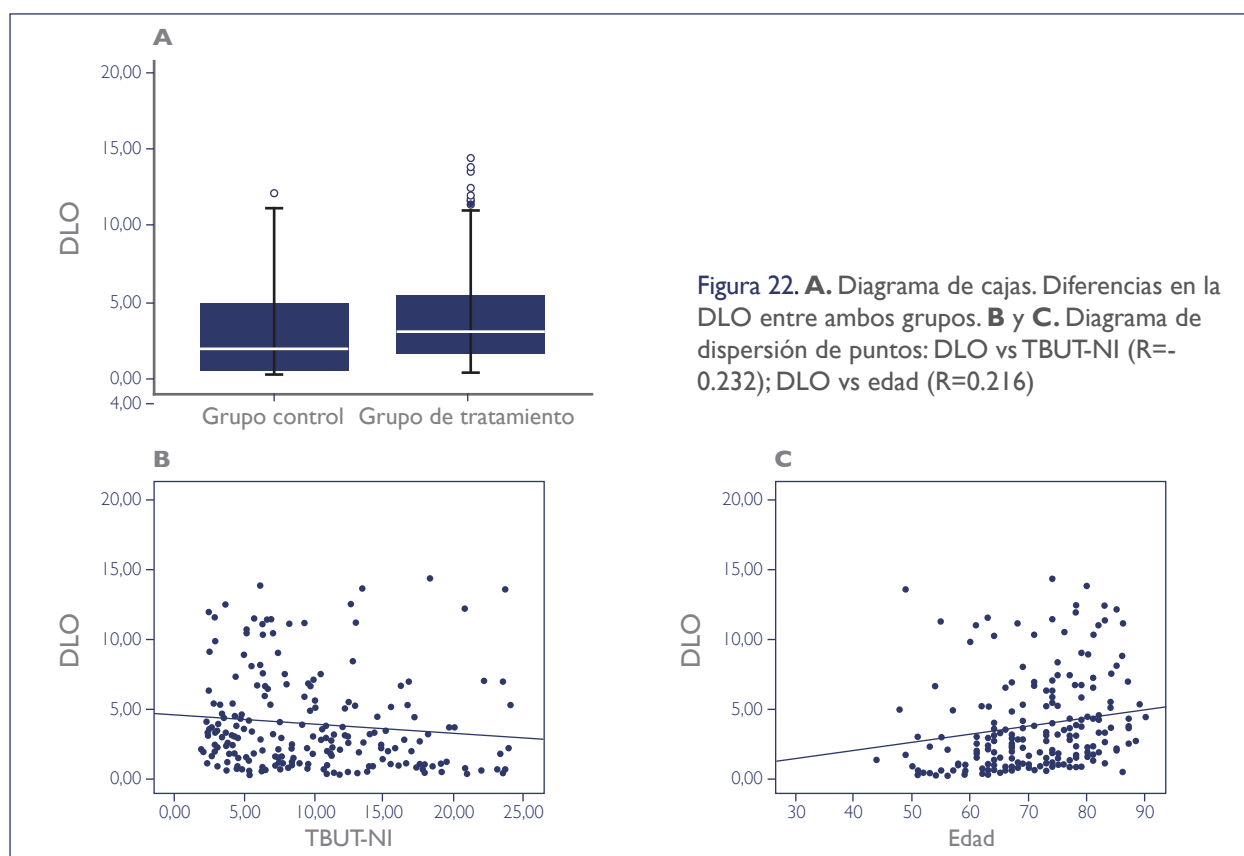


Figura 22. **A.** Diagrama de cajas. Diferencias en la DLO entre ambos grupos. **B y C.** Diagrama de dispersión de puntos: DLO vs TBUT-NI ($R=-0.232$); DLO vs edad ($R=0.216$)

8.4. Perfil de citoquinas en la película lagrimal de pacientes tratados con latanoprost

Los datos demográficos de los participantes se enumeran en la Tabla 21. Un total de 79 sujetos [mediana: 70 años (rango: 29- 88 años)] fueron incluidos en este apartado del estudio; 34 eran varones (43%) y 45 eran mujeres (57%). El estudio incluyó 40 pacientes con glaucoma y 39 individuos sin antecedentes de enfermedad ocular, como controles no tratados. Entre los pacientes con glaucoma, 20 estaban recibiendo Latanoprost sin conservante (Monoprost[®]) y los otros 20 Latanoprost con conservante (Xalatan[®]), como medicación tópica contra el glaucoma. El tiempo medio de tratamiento no difirió de modo estadísticamente significativo entre ambos grupos (29,6 ± 27,2 meses para Monoprost y 33,8 ± 26,5 meses para Xalatan, P= 0,619). Las variables demográficas evaluadas no fueron significativamente diferentes entre los grupos (P> 0,05).

Tabla 21

Características demográficas de los participantes					
	Control	Monoprost [®]	Xalatan [®]	Total	P
Género, N (%)					
Varones	16 (41%)	10 (50%)	8 (40%)	34 (43%)	0,765*
Mujeres	23 (59%)	10 (50%)	12 (60%)	45 (57%)	
Total	39 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	79 (100%)	
Edad (años), Media ± DE	72,72 ± 8,67	70,35 ± 13,92	71,65 ± 9,93	71,85 ± 10,43	0,713 ^ω

DE, desviación estándar; Chi- cuadrado*; T- Student ^ω

131

Efectos de Xalatan[®] sobre los niveles de citoquinas lagrimales

Se analizó un conjunto de 27 citoquinas inflamatorias relevantes en las muestras de la película lagrimal de pacientes tratados con Xalatan y control. La concentración absoluta de cada citoquina se presenta en la Tabla 22. Los niveles de citoquinas fueron sistemáticamente mayores en los pacientes que recibieron Xalatan, en comparación con los participantes sanos (Figura 23). Entre todas las citocinas evaluadas, hubo un aumento significativo (P< 0,05) en los niveles de IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF básico, PDGF-BB y TNF-α en sujetos tratados con Xalatan frente a los sujetos del grupo control. El PDGF-BB y el TNF-α mostraron el mayor aumento de la concentración (1,9 veces) en los pacientes tratados con Xalatan, con respecto a los sujetos normales.

Efectos de Monoprost[®] sobre los niveles de citoquinas lagrimales

Las concentraciones de las citoquinas en las lágrimas tratadas con Monoprost y las lágrimas de los sujetos del grupo control se muestran en la Tabla 23. Los niveles de citoquinas fueron altamente coincidentes para Monoprost y los grupos de control (Figura 23). Del mismo modo, los cambios en las concentraciones de citocinas entre los pacientes que recibieron Monoprost y sujetos sanos no alcanzaron la significación estadística para todas las 27 citocinas estudiadas (P> 0,05). Las citocinas con niveles significativamente mayores en la comparación anterior (Xalatan versus control), permanecieron estadísticamente invariables al comparar Monoprost con pacientes sanos.

Tabla 22

Concentración de citoquinas en pacientes tratados con Xalatan con respecto al grupo control			
Citoquina	Control	Xalatan®	P _⊞
IL-1 β	51,99 \pm 44,38	73,74 \pm 60,01	0,120
IL-1ra	18120,10 \pm 17296,27	14150,58 \pm 10067,61	0,359
IL-2	79,48 \pm 67,76	130,22 \pm 84,72	0,028*
IL-4	58,93 \pm 40,28	75,10 \pm 53,41	0,198
IL-5	150,56 \pm 133,52	258,91 \pm 221,34	0,024*
IL-6	161,79 \pm 150,37	185,92 \pm 131,44	0,546
IL-7	442,35 \pm 343,28	631,08 \pm 475,92	0,086
IL-8	573,88 \pm 465,33	475,80 \pm 314,45	0,402
IL-9	230,65 \pm 168,14	339,96 \pm 244,85	0,050
IL-10	243,01 \pm 182,77	392,86 \pm 295,55	0,019*
IL-12 (p70)	334,28 \pm 222,28	505,92 \pm 328,43	0,021*
IL-13	120,99 \pm 95,26	193,62 \pm 129,48	0,017*
IL-15	149,26 \pm 107,10	228,37 \pm 130,37	0,047*
IL-17	343,83 \pm 332,85	634,36 \pm 472,46	0,009*
Eotaxin	396,77 \pm 251,72	512,45 \pm 327,51	0,140
FGF basic	303,67 \pm 215,90	547,02 \pm 355,85	0,002*
G-CSF	621,68 \pm 483,07	700,72 \pm 489,66	0,560
GM-CSF	168,91 \pm 124,44	227,03 \pm 136,41	0,123
IFN- γ	2034,27 \pm 1.331,88	2677,13 \pm 1857,30	0,134
IP-10	25632,69 \pm 28754,16	14130,95 \pm 15142,54	0,102
MCP-1 (MCAF)	489,70 \pm 304,50	633,31 \pm 388,62	0,124
MIP-1 α	54,92 \pm 38,41	70,14 \pm 44,04	0,176
PDGF-BB	126,17 \pm 113,44	234,96 \pm 201,35	0,010*
MIP-1 β	174,03 \pm 176,80	124,14 \pm 77,96	0,249
RANTES	320,03 \pm 218,74	394,26 \pm 228,71	0,231
TNF- α	317,12 \pm 263,14	602,44 \pm 502,04	0,006*
VEGF	476,41 \pm 286,34	495,52 \pm 282,81	0,808

Los datos están expresados como media (pg/mL) \pm desviación estándar; * Diferencias estadísticamente significativas; \otimes T Student

Tabla 23

Concentraciones de citoquinas en pacientes tratados con Monoprost con respecto a sujetos controles

Citoquina	Control	Monoprost®	P ^W
IL-1 β	53,10 \pm 67,05	51,99 \pm 44,38	0,939
IL-1ra	14,069.58 \pm 10,054.80	18,120.10 \pm 17,296.27	0,349
IL-2	68,69 \pm 63,21	79,48 \pm 67,76	0,592
IL-4	57,48 \pm 54,07	58,93 \pm 40,28	0,908
IL-5	181,62 \pm 217,64	150,56 \pm 133,52	0,503
IL-6	162,51 \pm 171,08	161,79 \pm 150,37	0,987
IL-7	488,20 \pm 461,86	442,35 \pm 343,28	0,668
IL-8	428,52 \pm 289,48	573,88 \pm 465,33	0,219
IL-9	272,26 \pm 281,40	230,65 \pm 168,14	0,492
IL-10	290,68 \pm 351,42	243,01 \pm 182,77	0,494
IL-12 (p70)	377,24 \pm 443,19	334,28 \pm 222,28	0,620
IL-13	138,74 \pm 160,53	120,99 \pm 95,26	0,596
IL-15	122,86 \pm 76,12	149,26 \pm 107,10	0,442
IL-17	295,49 \pm 280,22	343,83 \pm 332,85	0,604
Eotaxin	385,54 \pm 352,04	396,77 \pm 251,72	0,889
FGF basic	358,46 \pm 435,10	303,67 \pm 215,90	0,519
G-CSF	596,67 \pm 722,30	621,68 \pm 483,07	0,879
GM-CSF	162,25 \pm 201,80	168,91 \pm 124,44	0,882
IFN- γ	1,989.44 \pm 1,852.67	2,034.27 \pm 1,331.88	0,916
IP-10	21529,78 \pm 20541,95	25632,69 \pm 28754,16	0,584
MCP-1 (MCAF)	560,90 \pm 463,19	489,70 \pm 304,50	0,481
MIP-1 α	52,88 \pm 55,96	54,92 \pm 38,41	0,870
PDGF-BB	166,56 \pm 248,59	126,17 \pm 113,44	0,393
MIP-1 β	107,33 \pm 129,72	174,03 \pm 176,80	0,173
RANTES	305,15 \pm 308,74	320,03 \pm 218,74	0,832
TNF- α	265,71 \pm 263,83	317,12 \pm 263,14	0,488
VEGF	464,41 \pm 312,76	476,41 \pm 286,34	0,883

Los datos están expresados como media (pg/mL) \pm desviación estándar; *T Student

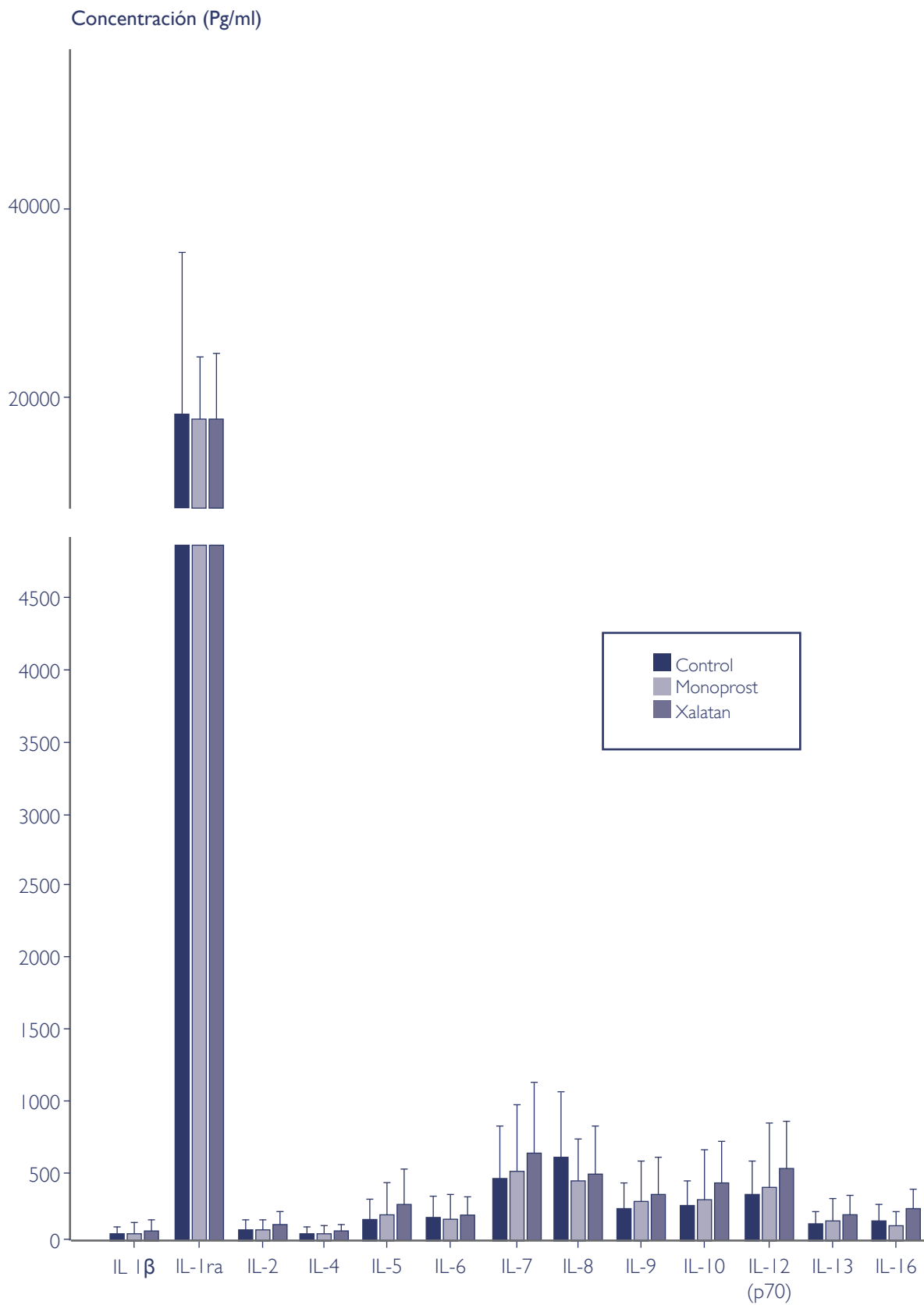
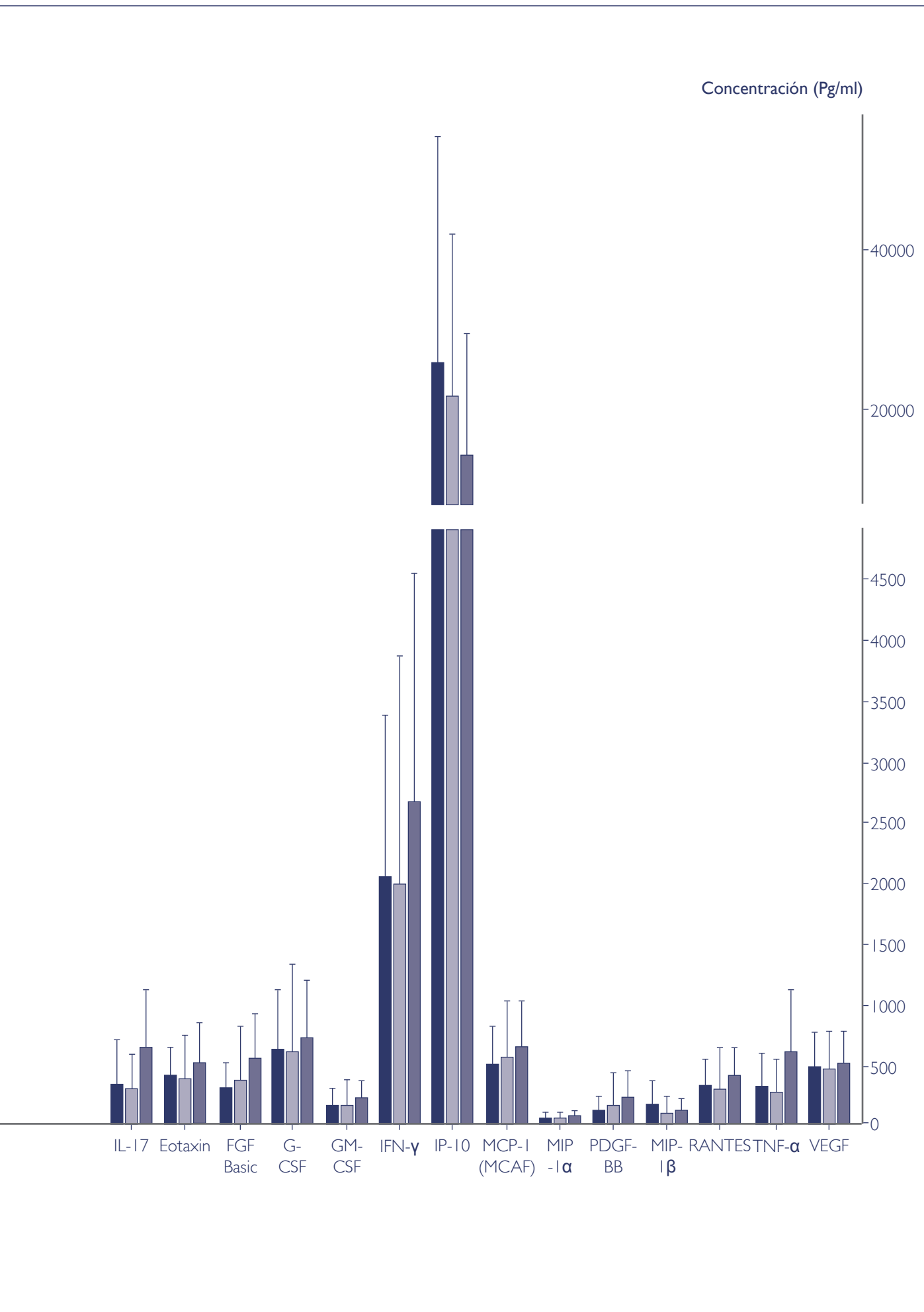


Figura 23. Gráfico de barras que muestra las concentraciones de citoquinas en pacientes tratados con Xalatan® o Monoprost® y en sujetos control. El gráfico de barras muestra la concentración de cada una de las 27 citoquinas determinadas por el inmunoensayo Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex: interleucina (IL).



Los niveles de todas las citoquinas estudiadas fueron sistemáticamente mayores en el grupo tratado con Xalatan, en comparación con el grupo tratado con Monoprost, excepto IP-10. Los niveles de IL-2, IL-15, IL-17 y TNF- α alcanzaron la significación estadística ($P < 0,05$) (Tabla 24, Figura 23).

Tabla 24

Concentraciones de citoquinas en pacientes tratados con Monoprost con respecto a pacientes tratados con Xalatan			
Citoquina	Monoprost®	Xalatan®	P ω
IL-1 β	53,10 \pm 67,05	73,74 \pm 60,01	0,312
IL-1ra	14069,58 \pm 10054,80	14150,58 \pm 10067,61	0,980
IL-2	68,69 \pm 63,21	130,22 \pm 84,72	0,022*
IL-4	57,48 \pm 54,07	75,10 \pm 53,41	0,307
IL-5	181,62 \pm 217,64	258,91 \pm 221,34	0,273
IL-6	162,51 \pm 171,08	185,92 \pm 131,44	0,637
IL-7	488,20 \pm 461,86	631,08 \pm 475,92	0,341
IL-8	428,52 \pm 289,48	475,80 \pm 314,45	0,629
IL-9	272,26 \pm 281,40	339,96 \pm 244,85	0,433
IL-10	290,68 \pm 351,42	392,86 \pm 295,55	0,326
IL-12 (p70)	377,24 \pm 443,19	505,92 \pm 328,43	0,303
IL-13	138,74 \pm 160,53	193,62 \pm 129,48	0,241
IL-15	122,86 \pm 76,12	228,37 \pm 130,37	0,016*
IL-17	295,49 \pm 280,22	634,36 \pm 472,46	0,014*
Eotaxin	385,54 \pm 352,04	512,45 \pm 327,51	0,245
FGF basic	358,46 \pm 435,10	547,02 \pm 355,85	0,142
G-CSF	596,67 \pm 722,30	700,72 \pm 489,66	0,603
GM-CSF	162,25 \pm 201,80	227,03 \pm 136,41	0,267
IFN- γ	1989,44 \pm 1852,67	2677,13 \pm 1857,30	0,248
IP-10	21,529.78 \pm 20,541.95	14,130.95 \pm 15,142.54	0,207
MCP-1 (MCAF)	560,0 \pm 463,19	633,31 \pm 388,62	0,595
MIP-1 α	52,88 \pm 55,96	70,14 \pm 44,04	0,285
PDGF-BB	166,56 \pm 248,59	234,96 \pm 201,35	0,345
MIP-1 β	107,33 \pm 129,72	124,14 \pm 77,96	0,636
RANTES	305,15 \pm 308,74	394,26 \pm 228,71	0,306
TNF- α	265,71 \pm 263,83	602,44 \pm 502,04	0,013*
VEGF	464,41 \pm 312,76	495,52 \pm 282,81	0,743

Los datos están expresados como medias (pg/mL) \pm DE; ω T Student; * Diferencias estadísticamente significativas

Listado de abreviaturas de las citoquinas estudiadas expresadas en las tablas 22, 23, 24 y Figura 23:

Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF); Factor estimulante de colonias de monocitos de granulocitos (GM-CSF); Interferón (IFN); Proteína inducida por interferón gamma (IP); Proteína monocítica atrayente de quimioterapia (MCP1 (MCAF)); Proteína inflamatoria de macrófagos (MIP); Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); Regulado en la activación, células T normales expresadas y secretadas (RANTES); Factor de necrosis tumoral (TNF); Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Los valores se expresan como media (pg / mL) \pm desviación estándar (DE).

Parámetros clínicos en pacientes tratados con Monoprost® y Xalatan®

Las variables clínicas registradas referentes a la PSO mostraron niveles similares en ambos grupos de tratamiento (Monoprost y Xalatan). Concretamente, la altura del menisco lagrimal (AML), OSDI, NI-TBUT e hiperemia conjuntival fueron estadísticamente equivalentes en pacientes tratados con ambas medicaciones ($P > 0,05$) (Tabla 25). La tinción corneal con fluoresceína (presencia de epiteliopatía) no fue significativamente diferente entre ambos grupos ($P = 0,491$).

No se observó ninguna correlación significativa entre los niveles de citoquinas y los parámetros clínicos de la PSO (OSDI, NI-TBUT, HO global y AML) al analizar aquellas citoquinas con niveles significativamente diferentes en los grupos de Monoprost y Xalatan (IL-2, IL-15, IL-17 y TNF- α).

Tabla 25

Parámetros clínicos en ambos grupos de tratamiento			
	Monoprost®	Xalatan®	P ω
OSDI	11,220 \pm 9,799	6,439 \pm 7,052	0,121
Hiperemia global (K5M)	1,706 \pm 0,522	1,400 \pm 0,473	0,088
Altura del menisco lagrimal (Spectralis-OCT)	324,000 \pm 108,312	333,059 \pm 104,711	0,809
NI-TBUT (K5M)	8,836 \pm 4,73136	11,365 \pm 6,045	0,189

Los datos están expresados como media \pm DE; NI-TBUT, Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo; OSDI, Ocular Surface Disease Index; K5M, Keratograph 5M; ω T de Student

9. DISCUSIÓN Y LIMITACIONES

9. Discusión y Limitaciones

■ 9.1. Reproducibilidad entre las escalas de hiperemia y su correlación y concordancia con los valores aportados por el keratograph 5M

En este estudio hemos determinado la reproducibilidad interobservador de dos de las escalas de graduación de la HO más conocidas (Efron y MC-D), y hemos examinado su correlación y concordancia con los valores de HO aportados con el K5M. Empleamos estas dos escalas porque han sido rutinariamente utilizadas en numerosos ensayos clínicos y su validez ha sido ampliamente contrastada (Efron N. 2000; McMonnies CW & Chapman-Davies A. 1987). Aun así, el grado de concordancia intra e inter-observador entre ambas escalas ha sido discutido, fundamentalmente debido a la falta de un consenso o de medidas estandarizadas en su elaboración. Si bien la escala de Efron está diseñada con cinco ilustraciones pictóricas de la conjuntiva bulbar, la escala MC-D incorpora seis fotografías (Efron N et al. 2002; Peterson RC & Wolffson JS et al. 2009). Schulze y col (Schulze et al. 2009) describieron que las estimaciones subjetivas de la hiperemia bulbar se basaban en una percepción de la intensidad del color y/o la luminosidad de los vasos sanguíneos superficiales. Así pues, en los últimos años se han desarrollado numerosos métodos tecnológicos (softwares informáticos) que cuantifican el grado de HO en función de la intensidad del color y del número de vasos sanguíneos bulbares (Amparo F et al. 2013; Ferrari G et al. 2015; Schulze MM et al 2008; Zhao WJ et al. 2014; Schulze MM et al. 2010). Entre ellos, se encuentran el análisis “fractal y fotométrico” (Schulze MM et al. 2008), “colorimétrico pixelado” (Fieguth P & Simpson T. 2002) o “extracción colorimétrica” (Peterson RC & Wolffsohn JS. 2007). Muchos de ellos han demostrado ser métodos más objetivos, sensibles y reproducibles que las escalas de medida convencionales (Amparo F et al. 2013; Fieguth P & Simpson T. 2002; Peterson RC & Wolffsohn JS. 2007).

141

Sin embargo, las técnicas descritas consisten en softwares informáticos costosos y no resultan cómodos en la práctica clínica habitual, ya que requieren de la realización previa de la fotografía y un análisis ulterior por el programa correspondiente. Es decir, no son métodos de medida automáticos. En contraposición, las escalas de hiperemia son prácticas, rápidas y coste-eficientes. McMonnies y Chapman-Davies A (McMonnies CW & Chapman-Davies A. 1987) describieron que la escala validada por su grupo de investigación (MC-D) era capaz de detectar diferencias significativas en el grado de enrojecimiento ocular entre los usuarios de lentes de contacto (LDC) blandas, duras y sujetos que no las utilizaban.

En un estudio publicado recientemente, el K5M ha sido descrito como un moderno topógrafo corneal capaz de aportar valores consistentes (fiables y reproducibles) de HO (Wu S et al. 2015). En este estudio, 30 ojos de 26 pacientes con diferentes grados de HO (debido a diferentes patologías de la SO), fueron evaluados mediante el K5M, al igual que con las escalas subjetivas de graduación de la hiperemia, entre ellas la escala Efron (al igual que nosotros), la Institute for Eye Research (IER) y la Validated Bulbar Redness (VBR). Los autores concluyeron que había una excelente reproducibilidad interobservador para la escala de Efron [coeficiente Kappa Ponderado de Cohen (KP)= 0,884; coeficiente de correlación intraclase (CCI)= 0,889 para los valores de HO global determinado con el K5M]. No obstante, los límites de acuerdo (LA) fueron más cercanos entre sí en el análisis realizado con los datos aportados por el K5M, indicando, por tanto, una menor variabilidad interobservador de las mediciones. En nuestro estudio hemos observado, asimismo, un grado de acuerdo inter-observador “excelente” para ambas escalas (Efron: KP= 0,897; MC-D: KP= 0,781). Como se ha comentado, la escala MC-D está compuesta por seis categorías, a diferencia de la escala Efron, que está compuesta por cinco. Este aspecto podría explicar el menor valor de KP para la escala MC-D. En efecto, los histogramas que muestran la distribución de las puntuaciones de cada categoría fueron muy parecidos entre ambos observadores para la escala

de Efron (Figura 13.A) y más dispares para la escala MC-D (Figura 13.B). Además, las puntuaciones en cada categoría fueron claramente asimétricas en nuestra muestra, con muchos más sujetos catalogados con niveles bajos de HO (lo cual refleja la realidad de la práctica clínica diaria ya que los pacientes fueron consecutivamente reclutados del Departamento de Glaucoma). Entre ambos observadores, el 63,03% de los valores coincidentes según la escala Efron pertenecieron a la categoría “mínimo” (Figura 13.A) y el 45,64% de los valores coincidentes de la escala MC-D pertenecieron a la categoría “1” (Figura 13.B). Es posible que este rango “estrecho” de los valores de hiperemia registrados (bajos, en este caso) sean responsables, en parte, de los altos valores de reproducibilidad interobservador obtenidos, ya que al existir una menor variabilidad de las categorías a elegir, la probabilidad de coincidencia en la elección aumenta. El grado de HO registrado no afectó claramente a las correlaciones y a la concordancia entre ambos métodos de medida (escalas y K5M), ya que se obtuvieron resultados muy parecidos para ambos grupos (tratados y grupo control). Ambas escalas (Efron y MC-D) mostraron un mayor grado de acuerdo (estadísticamente significativo) entre observadores para niveles menores de HO (mayor en el grupo control con respecto al grupo tratado).

Wu S y col (Wu S et al. 2015) observaron una alta correlación entre los valores de HO aportados por el K5M y las puntuaciones obtenidas con la escala Efron ($R= 0,958$; $P< 0,001$). Sin embargo, nosotros no detectamos esa asociación lineal tan fuerte. El coeficiente de correlación de Spearman más alto fue de 0,539 entre los valores coincidentes entre ambos observadores para la escala MC-D y los valores de HO bulbar temporal (BT) (Tabla 6). Una explicación plausible para explicar esta discrepancia podría ser nuestro mayor tamaño muestral (226 ojos vs 30 ojos) y la homogeneidad de nuestros datos (solo sujetos sanos, diagnosticados con HTO o GPAA). Además, el grado de acuerdo hallado entre los valores de HO (K5M) y las puntuaciones en ambas escalas de hiperemia fue bajo. Es decir, es cierto que hallamos correlaciones moderadas, significativas y directas (R de Spearman mínimo= 0,3; máximo= 0,539) entre ambos métodos de medida. Sin embargo, sí hallamos diferencias significativas entre las medias de los valores convertidos a una escala centesimal (test de la T de Student para datos apareados, realizado como parte del análisis de Bland Altman), lo cual es altamente ilustrativo de la disparidad presente entre ambos métodos de medida. Además, dicha disparidad fue fundamentada por las grandes diferencias (en inglés, bias) y LA entre los valores de HO y cada una de las escalas (Figura 15: gráficas de Bland-Altman).

En este análisis, observamos que la HO global del K5M fue consistentemente mayor que las puntuaciones de las escalas (rango de las diferencias en la gráfica de Bland-Altman: -10,49 hasta -19,76). Los valores de HO bulbar (temporal y nasal) presentaron también diferencias elevadas (rango: -26,24 hasta -10,92), sobreestimando las puntuaciones de las escalas. Sin embargo, la HO de los sectores limbares, tanto temporal como nasal, mostraron mayor grado de acuerdo con ambas escalas, reflejado por la ausencia de significación estadística en el test de la t Student para datos apareados. De hecho, las diferencias detectadas en estos sectores limbares fueron los más cercanos al valor cero (rango: -9,63 hasta -0,04). El nivel de acuerdo hallado más alto fue entre los valores de HO limbar nasal (K5M) y las puntuaciones del observador 2 según la escala Efron (diferencia de -0,04).

De forma global, se detectó una menor concordancia entre el K5M y las escalas de hiperemia que entre las puntuaciones inter-observador para una misma escala (diferencia de -2,6 en la escala Efron y de -4,05 en la escala MC-D).

De nuevo, nuestros resultados contrastan llamativamente con los reportados por Wu S y col 6 (Wu S et al. 2015). Como se ha referido antes, nuestro estudio consta de un mayor tamaño muestral y los sujetos incluidos presentan unas características (demográficas y clínicas) muy diferentes al del estudio comentado (europeos, diagnosticados de HTO o GPAA) y con menores

niveles de HO (nuestra media \pm DE para las puntuaciones del observador I según la escala Efron fueron de $1,09 \pm 0,69$, mientras que en el estudio comentado fue de $2,85 \pm 0,156$). Es posible que niveles más altos de hiperemia en la muestra podrían haber equilibrado el nivel de concordancia entre ambos métodos de medida.

Siguiendo la clásica clasificación estadística del coeficiente KP de Altman (Altman DG. 1991), podemos afirmar que obtuvimos una alta reproducibilidad de las puntuaciones con ambas escalas; mayor con la escala Efron. Sin embargo, cuando reconvertimos los valores a una escala centesimal para realizar el análisis de Bland-Altman, observamos una gran diferencia (hasta 5,77) entre ambas escalas, indicando que las puntuaciones según la escala Efron estaban levemente sobreestimadas comparadas con las de MC-D. Es decir, a pesar de obtener valores muy parecidos entre ambos observadores, ninguna de las escalas fue capaz de proveer consistentemente valores coincidentes (diferencias de $-2,6$ y $-4,05$ según Efron y MC-D, respectivamente). Este resultado ha sido observado también por numerosos autores (Schulze MM et al. 2008; Fieguth P & Simpson T. 2002; Efron N et al. 2001; Perez- Cabre E et al. 2004; Wolffsohn JS. 2004). Aún así, si tenemos que decantarnos por una de las dos escalas, nuestros resultados sostienen que la escala Efron fue capaz de puntuar más consistentemente que la MC-D (los LA fueron más acotados, la diferencia de medias de las puntuaciones entre observadores fue más baja y el coeficiente KP más alto).

Limitaciones

El K5M es, actualmente, el único dispositivo comercializado capaz de medir directa y objetivamente niveles de hiperemia ocular. Sin embargo, no puede distinguir entre una hiperemia conjuntival, episcleral o escleral, a diferencia de otros sistemas de graduación computarizados (Fieguth P & Simpson T. 2002; Peterson RC & Wolffsohn JS. 2007). Esta limitación es clínicamente relevante de cara a la evaluación de pacientes en la práctica clínica durante un proceso de diagnóstico diferencial. En nuestro estudio, dicha limitación carece relativamente de importancia, ya que la HO de los participantes correspondía a una hiperemia conjuntival, dado su contexto clínico. Hasta la fecha, el mecanismo exacto del procesamiento de las imágenes que realiza el aparato no ha sido divulgado por el fabricante. Nosotros no evaluamos la reproducibilidad de las medidas obtenidas con el K5M, si bien Wu S y col (Wu S et al. 2015) describieron una concordancia intra- e inter-observador de las mediciones excelente, mayor que la obtenida con las escalas subjetivas de graduación de la hiperemia.

La evaluación de la HO mediante las escalas es, esencialmente, una evaluación de la hiperemia bulbar. Los valores más concordantes con los aportados por el K5M fueron los sectores limbares y no los bulbares. Para obtener estos valores empleando el K5M, todos los sujetos fueron instruidos a mirar “al frente” de tal modo que la córnea estuviera centrada en la imagen y el software pudiera calcular los valores de HO. De otro modo, el software es incapaz de procesar la imagen “capturada”. Las ilustraciones y fotografías de las escalas Efron y MC-D, respectivamente, muestran sectores bulbares (la cornea no está en el centro de la imagen). Esta discrepancia en la orientación del ojo entre las fotografías obtenidas (cámara digital y K5M) y las imágenes de referencia (escalas) puede haber supuesto un sesgo en la evaluación, ya que no hemos apreciado la totalidad de la superficie bulbar de las imágenes (figura 6).

Un factor limitante a la hora de establecer comparaciones entre ambos métodos es la falta de unidades de medida similares. Por ello, la correlación mediante el test de Spearman es un método válido para establecer asociaciones entre ambos. Mediante este test, hemos evaluado su “asociación lineal”, concluyendo que existe una correlación directa y significativa, pero también moderada. La conversión centesimal de los valores a una escala de 0- 100 es un “artefacto” descrito por otros autores (Amparo F et al. 2013) para igualar las unidades de medida de ambos métodos,

y poder realizar un análisis de concordancia (grado de “similitud” en las puntuaciones). Aun así, resulta obvio que, sin realizar dicha conversión de los valores, no serían métodos de medida intercambiables: Las escalas emplean un sistema categórico de clasificación (hasta un valor máximo de 4 – Efron- o de 5 – MC-D), y el K5M emplea una escala continua con decimales (0,0- 4,0). En este aspecto, queremos recalcar la valía del K5M, ya que permite la asignación de un rango mayor de puntuaciones para niveles de HO parecidos, sin depender del juicio de un observador que elige, muchas veces de forma arbitraria, entre dos categorías de HO parecidas (ej: HO mínima o leve). Es decir, con el K5M podemos aumentar la precisión de la medición, lográndolo de una forma automática e instantánea (en el momento de la valoración). Esto supone una ventaja a la hora de evaluar pacientes durante su seguimiento (en la consulta tras la instauración de un tratamiento, ensayos clínicos, etc.), evitando la subjetividad o la realización de procesamientos informáticos posteriores a la visita.

■ 9.2. Patología de la superficie ocular de la muestra estudiada

En el presente estudio hemos documentado una mayor prevalencia de PSO en pacientes tratados con colirios hipotensores comparados con sujetos sanos no tratados. Los principales indicadores de PSO en el grupo tratado fueron mayores grados de HO, de tinción corneal (epiteliopatía corneal) y una mayor puntuación en el cuestionario OSDI. Sin embargo, los parámetros AML y TBUT-NI no fueron significativamente menores en el grupo tratado con respecto al grupo control. En términos generales, los principales determinantes de la puntuación en el test de OSDI y la epiteliopatía corneal, en el grupo de tratamiento, fueron el uso de medicaciones con conservante, un mayor número de gotas (carga terapéutica) durante tiempos prolongados y la edad avanzada. Como era esperado, el uso de prostaglandinas se asoció con una mayor HO.

144

La mediana de la puntuación del cuestionario OSDI fue de 10,24 en el grupo de tratamiento. A pesar de ser significativamente mayor que en el grupo control (2,5), no es un valor considerado como “patológico” (13- 100). Sin embargo, cuando los valores fueron reagrupados para realizar un análisis categórico, hasta un 41,71% del total de pacientes tratados presentó una puntuación en rangos anormales. Estudios transversales similares realizados en pacientes con HTO/GPAA han arrojado resultados parecidos: Fechtner RD y col (Fechtner RD et al. 2010) publicaron una prevalencia de un 48,8% de PSO (definida como una OSDI ≥ 13) en 630 pacientes; Leung EW y col (Leung EW et al. 2008) describieron un 59% de 101 pacientes y Valente C y col (Valente C et al. 2011) un 52% en 50 pacientes. En un estudio internacional y multicéntrico, García Feijoó J & Sampaolesi JR (García Feijoó J & Sampaolesi JR. 2012) describieron una prevalencia de 59,2% de pacientes con sintomatología significativa en 448 pacientes. Las medias/medianas de los valores del test de OSDI (informado como puntuación total y no como categorías de severidad clínica), en otros estudios con pacientes glaucomatosos, han sido levemente superiores a las nuestras: $18,97 \pm 9,5$ (Saade CE et al. 2015), 11,1 (5- 22,5) (Cvenkel B et al. 2015), 16,7 (Mathews PM et al. 2013). Mientras que algunos grupos de investigación no encontraron diferencias significativas con sujetos controles (sin tratamiento hipotensor) (Valente C et al. 2011; Cvenkel B et al. 2015; Ghosh S et al. 2012; Lemij HG et al. 2015) muchos otros sí han hallado diferencias, al igual que nosotros (Skalicky SE et al. 2012; Mathews PM et al. 2013; Saade CE et al. 2015; Garcia-Feijoo J & Sampaolesi JR. 2012). Estas diferencias pueden ser explicadas por los distintos datos demográficos, como la inclusión de varias razas (nuestra muestra solo contenía sujetos caucásicos), el sexo (se ha descrito una mayor prevalencia de PSO en mujeres de raza negra -Camp et al. 2015; Brewitt H & Sistani F. 2001), diferente duración de tratamiento (García Feijoó J & Sampaolesi JR. 2012), condiciones oculares previas o cirugías y desigual severidad del estadio glaucomatoso (Skalicky SE et al. 2012; Mathews PM et al. 2013).

La muestra analizada en el presente trabajo se compuso sólo de pacientes caucásicos, sin cirugías previas aparte de la catarata (en los seis meses previos al reclutamiento), con una misma distribución de sexos y, por lo general, sin un daño glaucomatoso avanzado. Además, no se incluyeron (pacientes diagnosticados con glaucomas secundarios, en los cuales determinadas medicaciones, como antiinflamatorios tópicos o cirugías complejas previas, podrían afectar a la SO y confundir los resultados obtenidos. Las mujeres de nuestro estudio presentaron puntuaciones más altas en el cuestionario OSDI, mayor prevalencia de epitelopatía corneal, menor AML y tiempos más acortados de TBUT-NI que los varones, pero sin diferencias estadísticamente significativas.

Muchos investigadores han tratado de asociar la carga del tratamiento tópico antiglaucomatoso con la PSO. Existe una gran controversia con respecto al impacto real del número de medicaciones o el uso de conservantes sobre los síntomas de PSO. Los factores explicativos que hallamos en nuestros modelos de regresión fueron una mayor edad y duración del tratamiento tópico y la presencia de epitelopatía corneal (tinción de la superficie corneal con fluoresceína). La edad avanzada se asoció con puntuaciones más altas, pero no con puntuaciones patológicas (≥ 13) (Tabla 15). Estos hallazgos son muy consistentes con publicaciones previas. Los pacientes de edad avanzada, independientemente de estar tratados con medicaciones hipotensoras tópicas, presentan a menudo PSO (Milanovic B et al. 2007; Servat JJ & Bernardino CR. 2011; Brewitt H & Sistani F. 2001). Tiempos largos de tratamiento también han sido descritos como agravantes de la sintomatología (Saade CE et al. 2015; Garcia-Feijoo J & Sampaolesi JR. 2012). La discrepancia entre signos y síntomas de PSO ha sido descrita en numerosos estudios, sobretodo en pacientes con diagnóstico de SOS (Lemp M et al. 2007), pero también en pacientes con glaucoma crónicamente expuestos a colirios hipotensores (Leung EW et al. 2008; Valente C et al. 2011; Cvenkel B et al. 2015, Ghosh S et al. 2012). De este modo, la severidad de la tinción corneal no se ha asociado, de modo consistente en diferentes trabajos, con mayores quejas o deterioro de la calidad de vida.

145

Valente C y col (Valente C et al. 2011) describieron que síntomas leves por PSO se correlacionaron sólo con las puntuaciones obtenidas con la tinción de verde lisamina y fluoresceína en pacientes tratados únicamente con β - bloqueantes tópicos. En nuestra muestra, 138 pacientes (65,2%) presentaron tinción corneal positiva (epitelopatía corneal) (≥ 1 en la escala Oxford), pero menos presentaron puntuaciones patológicas en el cuestionario OSDI [88 (41,71%)]. A pesar de esta discrepancia, sí observamos una alta correlación entre la presencia de epitelopatía corneal (que no en la severidad) y las puntuaciones obtenidas del cuestionario. Hubo pocos sujetos con puntuaciones en la escala de Oxford superiores a 2 (27,2%), por lo que dicha variable fue recodificada (0= no epitelopatía; 1= epitelopatía- ≥ 1) para la consecución de un análisis de regresión logística. La presencia de daño en la superficie corneal (escala de Oxford ≥ 1) se asoció con un incremento en la puntuación de OSDI de un 22,6% aproximadamente y un incremento en el riesgo de presentar una puntuación patológica (≥ 13) de 2,3 veces frente al hecho de no presentar epitelopatía corneal (puntuación 0 en la escala de Oxford). Además, cada punto de aumento en el cuestionario OSDI determinó un riesgo de presentar epitelopatía corneal de 1,06 (Odds Ratio). Por lo tanto, aquellos pacientes tratados que presentaron superficies corneales intactas sin tinción, apenas mostraron síntomas relacionados con una PSO.

La falta de correlación entre signos y síntomas se ha atribuido al efecto deletéreo del BAK sobre la sensibilidad corneal (Martone G et al. 2009; Kozobolis VP et al. 2005). Dicho efecto puede producirse por una reducción de la densidad de los nervios corneales subasales secundaria al uso a la medicación conservada (Martone G et al. 2009). Otros estudios no han hallado ninguna asociación entre el uso de colirios hipotensores conservados y los síntomas de PSO (Leung EW et al. 2008; Mathews PM et al. 2013; Valente C et al. 2011; Garcia-Feijoo J & Sampaolesi JR. 2012; Cvenkel B et al. 2015; Rossi GC et al. 2009). Sin embargo, otros grupos de investigación sí han hallado dicha asociación (Skalicky SE et al. 2012; Camp A et al. 2015; Saade CE et al. 2015;

Fechtner RD et al. 2010). Definitivamente, la influencia sobre la SO de la carga del tratamiento antiglaucomatoso se puede ver acompañada de síntomas relacionados con PSO, como irritación, sensación de arenilla, quemazón, fotofobia, etc. Sin embargo, es posible que se llegue a un “efecto techo” o “umbral”, a partir del cual un incremento en el número de gotas y un aumento del daño basal de la córnea o la conjuntiva, no repercute en un aumento significativo de los síntomas.

En nuestra muestra, un mayor número de gotas con conservante se asoció de forma significativa con una mayor puntuación en el cuestionario OSDI, pero sólo en el análisis univariable. La combinación de BAK y PQ determinaron una mayor probabilidad de presentar una puntuación patológica en el test de OSDI (modelo de regresión logística). Indirectamente, dicha combinación de productos (BAK y PQ) fue un factor muy determinante en la presencia de daño corneal que, como hemos comentado, sí ocasionó mayores síntomas.

La controversia existente sobre si la carga de tratamiento repercute en la sintomatología puede ser debida a la falta de protocolos de evaluación estandarizados. El cuestionario OSDI es útil en pacientes diagnosticados de SOS, pero existe falta de evidencia científica con respecto a su validación en pacientes con glaucoma. Este cuestionario presenta una naturaleza multidimensional, ya que evalúa el “discomfort” ocular, pero también limitaciones funcionales. Esto debe ser tenido en cuenta en pacientes con patologías concomitantes, como el glaucoma. Skalicky SE y col (Skalicky SE et al. 2012) publicaron en un estudio de corte transversal con grupo control, muy parecido al nuestro, mayores puntuaciones en este cuestionario en pacientes con mayor gravedad de daño glaucomatoso. Mathews PM y col (Mathews PM et al. 2013) describieron que por cada 5 decibelios (dB) de descenso en la desviación media del campo visual (CV) existía un incremento en el cuestionario de OSDI de 4,7 puntos, sin aumentar los síntomas relacionados con el “discomfort” ocular de los pacientes. Por lo tanto, concluyeron que los síntomas por PSO detectados mediante este test en pacientes tratados con colirios hipotensores, eran más debidos al daño glaucomatoso y la pérdida de sensibilidad en el CV que a la carga del tratamiento tópico, que actuaría como un factor de confusión. Los pacientes con daños más avanzados del nervio óptico son los más propensos a presentar politerapia, lo cual podría enmascarar los resultados concluidos por otros grupos de investigación, como los de Skalicky SE y col.

146

En la figura 19 se muestra un análisis estratificado, en función del uso de diferentes conservantes (ninguno, BAK, BAK + PQ), entre la puntuación en el test de OSDI y la presencia de epitelopatía corneal. Aún al no existir daño en la superficie corneal, el OSDI fue mayor en pacientes expuestos a BAK y PQ, que en aquellos expuestos sólo a BAK, y en estos aún mayor que en pacientes que empleaban colirios no conservados. En los modelos de regresión no observamos una asociación significativa entre el tipo de conservante y el OSDI, pero sí en la repercusión sobre el daño corneal.

Otros cuestionarios, referidos en la literatura, para documentar síntomas por PSO en glaucoma, son el Glaucoma Quality of Life-15 (GQL-15) (Skalicky SE et al. 2012), Dry Eye Questionnaire 5 (DEQ5) (Camp A et al. 2015), Impact of Dry Eye on Everyday Life (IDEEL) questionnaire (Camp A et al. 2015; Abetz L et al. 2015) y la Non-specific vision-related quality of life (QL) metric (Rossi GC et al. 2009). Entre ellos, el cuestionario IDEEL podría ser más preciso en pacientes glaucomatosos, ya que es menos dependiente de la intensidad del daño en el CV (Abetz L et al. 2011).

Nuestros resultados confirman el efecto perjudicial de los conservantes sobre la SO ya publicados por otros autores (Leung EW et al. 2008; Mathews PM et al. 2013; Saade CE et al. 2015; Cvenkel B et al. 2015). Muchos de ellos se refieren directamente a medicaciones con BAK. Nosotros observamos que no sólo el BAK, sino también la combinación de BAK y PQ, determinaban un incremento en el riesgo de padecer epitelopatía corneal. Concretamente, la adición de un medicamento conservado con PQ a uno conservado con BAK, incrementaba el riesgo (Odds Ratio) de 1,56

(BAK) a 5,09 (BAK + PQ). El incremento de 1 μ L/día de medicación conservada no aumentaba el riesgo. Aún así, a pesar de observar asociaciones significativas en los análisis univariados entre el daño del epitelio corneal y el número de gotas diarias con conservantes, número de principios activos y número de colirios, dichas asociaciones carecieron de significación estadística en el análisis de regresión logística. Una explicación plausible podría ser la recodificación de la variable que realizamos debido al bajo número de sujetos con daño elevado del epitelio corneal, de tal modo que sólo pudimos explorar posibles asociaciones entre la ausencia o presencia de dicho daño corneal, pero no entre diferentes grados de afectación (I-V según la escala Oxford). De forma indirecta, un mayor número de colirios o de principios activos utilizados podría conllevar, con mayor probabilidad, el uso de ambos tipos de conservantes.

La AML y el TBUT-NI no difirieron significativamente entre ambos grupos en nuestro estudio. Ninguna de las variables explicativas de la muestra se asoció significativamente con los valores de TBUT- NI. Como se ha expuesto en la introducción, numerosos estudios han documentado valores de BUT alterados medidos con fluoresceína (TBUT- F) (< 10 segundos –Lemp M et al. 2007) (Leung EW et al 2008; Cvenkel B et al. 2015; Martone G et al. 2009; Rossi GC et al. 2009; Dougherty BE et al. 2011; Baffa Ldo P et al. 2008), mientras que otros autores no encontraron alteraciones evidentes en sujetos tratados con medicaciones conservadas (Mathews PM et al. 2013; Lee SY et al. 2013; Uzunozmanoglu E et al. 2016). Sin embargo, sí hay estudios que afirman la asociación entre el uso de medicaciones con conservante y valores de TBUT-F menores (Cvenkel B et al. 2015, Tomić M et al. 2013). Las diferencias en las conclusiones de los estudios han sido atribuidas a numerosos factores: diferencias ambientales, fluctuaciones en la producción o evaporación de la lágrima durante el día, tratamiento concomitante con otras medicaciones sistémicas y la inclusión de grupos de pacientes con glaucoma muy heterogéneos (Mathews PM et al. 2013; Cvenkel B et al. 2015). Nosotros, en lugar de emplear la medición clásica del TBUT-F, empleamos el K5M para su medición (TBUT-NI). El valor medio en el grupo de tratamiento fue de 9.71 segundos. No existe en la actualidad ningún estudio publicado que evalúe la SO de pacientes glaucomatosos con este dispositivo, lo que dificulta establecer comparaciones. Los valores de TBUT-NI aportados por el K5M han sido descritos como fiables, con una buena reproducibilidad intra e inter- observador (Hong J et al. 2013). También existe controversia con respecto a la relación que guarda este nuevo parámetro con el TBUT-F, el método clásico de medida del tiempo de ruptura de la PL. Goto T y col (Goto T et al 2003) concluyeron que la videoqueratografía constituía un método más sensible de medición, capaz de detectar rupturas tardías de la PL (la sesión de captura dura hasta que el sujeto parpadea o, si esto no ocurre, hasta los 23 segundos). Best N y col. (Best N et al. 2012) y Hong J y col (Hong J et al. 2014) concluyeron que los tiempos de ruptura lagrimal medidos con el Keratograph en sujetos sanos eran menores que con fluoresceína, Este último estudio fue realizado, no obstante, en sujetos asiáticos y el tamaño muestral fue pequeño (40). En contraposición, un estudio reciente, realizado en 24 sujetos sanos, concluyó que el TBUT-NI medido con K5M era sustancialmente mayor que el TBUT-F. Teniendo en cuenta esta publicación, el TBUT-F en nuestra muestra debería ser incluso mayor de 9.71, lo cual es consistente con los valores de TBUT descritos en publicaciones previas (Valente C et al. 2011; Cvenkel B et al. 2015). Dado que el SOS y la PSO relacionada con la medicación antiglaucomatosa tópica son enfermedades edad- dependientes, se ha descrito la asociación entre mayor edad y TBUT más acortados (Lemp M et al. 2007). Sin embargo, nosotros no hallamos una asociación significativa entre ambas variables en nuestra muestra. Hong J y col tampoco hallaron una correlación significativa entre el TBUT-NI y la edad en sujetos sanos (R= 0,143).

La medición de la AML ha sido descrita como útil y fiable en pacientes con SOS (Zhou S et al. 2009; Tittler EH et al. 2011; Arriola-Villalobos P et al. 2015). Sin embargo, de nuevo existen discrepancias en la literatura referentes a su utilidad diagnóstica en pacientes con glaucoma. Acorde a los hallazgos generales en los indicadores de PSO de nuestra muestra (grados bajos

de tinción corneal, sintomatología o TBUT no reducido), los valores de la AML no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado y el grupo control. Nguyen P y col (Nguyen P et al. 2012) describieron una correlación alta entre estas medidas y los síntomas de PSO en pacientes con SOS. En nuestra muestra, las puntuaciones en el cuestionario OSDI no se correlacionaron con los valores de AML. De nuevo, la disparidad en la selección de la muestra y la diferente gravedad en el daño de la SO pueden explicar fácilmente estas diferencias. Hallamos una asociación débil e inversa, pero significativa, entre la concentración acumulada de conservante (CAC) y la AML, de tal modo que pacientes expuestos a mayores concentraciones de conservante presentaron meniscos algo más acortados. Tanto el BAK como el PQ han demostrado ser inductores de inflamación y toxicidad conjuntival (Clouzeau C et al. 2012; Pellinen P et al. 2012; Pimela T et al. 2012), lo que puede ocasionar una inflamación del borde libre palpebral y obstrucciones ductales de las glándulas de Meibomio, inestabilidad de la PL (Uzunosmanoglu E et al. 2016) y, consecuentemente, un acortamiento del ML. Aun así, dicha asociación significativa puede deberse al azar. Solo obtuvimos una correlación significativa con este parámetro, por lo que no procedió realizar ningún análisis multivariable ulterior para corregir posibles factores de confusión asociados.

Empleando el K5M, registramos una mayor HO en el grupo tratado que en el grupo control (para todos los valores registrados: HO global, BN, BT, LN, LT). Como era previsible, las prostaglandinas se asociaron a niveles más altos de hiperemia en todos los sectores excepto en el sector limbar nasal (LN), en el que, precisamente, los β -bloqueantes mostraron una mayor influencia, asociándose significativamente con niveles menores de HO LN. La edad se correlacionó directa y significativamente con los cinco valores de HO, pero su "impacto" (medido por el coeficiente β no estandarizado) fue mucho menor que el determinado por las prostaglandinas ($\beta = 0,010- 0,014$). Esta mayor HO se puede explicar por los efectos oxidantes asociados al envejecimiento que producen una mayor apoptosis e inflamación en la conjuntiva y al efecto vasodilatador localizado de las prostaglandinas (Yanagi M et al. 2016; Hellberg MR et al. 2001). Los β - bloqueantes producen el efecto contrario por vasoconstricción (Remis LL et al. 1984).

Analizando los niveles de HO por sectores observamos que el impacto de las prostaglandinas fue mucho mayor en el sector bulbar nasal ($\beta = 0,314$), mientras que la edad ("envejecimiento") influyó por igual en los cinco sectores. La lágrima sigue un recorrido fisiológico de temporal a medial hasta ser drenada por los "punctum" lagrimales. El mayor tiempo de contacto de la lágrima con la conjuntiva bulbar nasal podría explicar el mayor grado de HO inducido por las prostaglandinas en ese sector. Observamos que el número de gotas diarias y el número de gotas con conservante se asociaron a una HO mayor en los sectores nasales (limbar y bulbar, respectivamente) más que en los sectores temporales, en los que no se detectó ninguna asociación significativa. El efecto de tres o más gotas con conservante o tres o más gotas "en general" en los sectores nasales fueron prácticamente idénticos al producido por las prostaglandinas. Una mayor puntuación en el cuestionario OSDI se asoció significativamente con un incremento de los valores de HO LN; sin embargo, éste fue realmente escaso (0.007 por cada unidad de aumento en la puntuación del OSDI), lo cual carece en la práctica de significación clínica.

Lopes JF y col (Lopes JF et al. 2015) observaron una reducción en la HO y en los síntomas relacionados con la PSO en pacientes que cambiaron de un tratamiento conservado (latanoprost con BAK) a uno no conservado (travoprost con PQ). Además, la eliminación o, al menos, la reducción de la cantidad de BAK ha demostrado reducir la HO (Pisella PJ et al. 2002). Estos hallazgos sugieren que el BAK en medicaciones conservadas con prostaglandinas podría inducir una mayor HO, además de la ya provocada por la propia prostaglandina. En nuestra muestra, los pacientes tratados con medicaciones conservadas mostraron niveles más altos de HO que aquéllos tratados con medicaciones libres de conservantes, pero dicha variable ("tipo de conservante")

careció de significación estadística en el análisis multivariable. Es posible que los pacientes que usaran una medicación conservada sufrieran mayores signos o síntomas derivados de la PSO que pudieran haber llevado al abandono ulterior del tratamiento y, subsecuentemente, niveles más bajos de HO.

La mayoría de los pacientes de nuestra muestra estaban siendo tratados con prostaglandinas [(149 de 211 (70,62%)] (en monoterapia o en combinaciones fijas o no fijas con otros principios activos), lo cual afecta claramente al número de gotas diarias con conservante registrado. Por ello, los principales determinantes de HO en nuestra muestra, más que los conservantes, fueron la carga global de tratamiento (número de gotas diarias) y el uso de prostaglandinas.

Yanagi M y col (Yanagi M et al. 2016) diseñaron un estudio transversal para comparar la HO de 169 pacientes con glaucoma y 58 controles empleando un software de procesamiento de imágenes digitales. Los niveles de HO en sujetos tratados con prostaglandinas fueron mayores que los existentes en sujetos tratados con β -bloqueantes o controles sin tratamiento. No objetivaron mayores niveles de HO en pacientes tratados con prostaglandina y β -bloqueante que en pacientes tratados con prostaglandina y un inhibidor de la anhidrasa carbónica (IAC), sugiriendo que la vasodilatación producida por las prostaglandinas alcanza un “máximo efecto” sobre el cual es difícil conseguir efectos adicionales de otros medicamentos. En nuestra muestra no hallamos asociaciones significativas entre los niveles de HO y el tratamiento con IAC, como ha sido descrito en estudios previos (Adamsons IA et al. 1998). Asimismo, tampoco observamos asociaciones significativas entre la HO y el número de colirios, principios activos y combinaciones fijas o no fijas de medicamentos. Aún así, el número de gotas diarias (total y con conservantes) sí influyó en los sectores nasales, implicando al efecto de la “politerapia” en los niveles de HO.

El latanoprost ha sido descrito en un metaanálisis como una prostaglandina que produce menos HO que otras moléculas, como el bimatoprost o el travoprost (Honrubia F et al. 2009). En el presente estudio no comparamos el efecto de cada tipo de principio activo dentro de cada grupo farmacológico, ya que no se puede realizar modelos de regresión (análisis multivariables) sin haber registrado determinadas variables en la totalidad de la muestra. Kobayashi y col (Kobayashi et al. 2011) y Arcieri y col (Arcieri et al. 2005) describieron un pico de hiperemia a los dos y 15 días, respectivamente, tras el inicio del tratamiento con latanoprost, refiriendo que existía una tendencia a niveles más bajos con exposiciones más prolongadas. Dicha observación podría sugerir un “efecto de tolerancia” con el uso de las prostaglandinas a lo largo del tiempo. Debido al diseño transversal de nuestro estudio no pudimos analizar este aspecto, aunque no hallamos ninguna correlación entre el tiempo de tratamiento y los niveles de HO.

149

Limitaciones

Existen varias limitaciones en este segundo apartado del trabajo:

En primer lugar, los resultados expuestos son sólo aplicables a sujetos caucásicos con diagnóstico de HTO o GPAA, sin cirugías de glaucoma previas. Este “perfil” de paciente representa, en nuestro medio, a la mayoría de sujetos vistos en una consulta de glaucoma. Creemos que este aspecto, que limita la generalización de los resultados, puede ser, en realidad, un factor fortificador del estudio, ya que nos ha permitido homogeneizar la muestra y evitar diversos factores de confusión (tratamientos concomitantes, comorbilidades, etc).

En segundo lugar, se registró el tiempo de tratamiento desde el diagnóstico, pero no el tiempo de tratamiento con la terapia actual (en el momento de la visita). En algunos pacientes, la duración exacta del tratamiento (en meses) fue difícil de establecer (no figuraba de forma clara en la historia

clínica, el paciente no se “acordaba” o había sido referido de otro hospital). Las medicaciones previas al momento de la visita tampoco fueron registradas. Es posible que medicaciones pasadas, empleadas antes de la inclusión de los sujetos en el estudio, hayan influido en la SO y distorsionado la asociación de los indicadores de la PSO con las medicaciones registradas. Este sesgo se intentó minimizar ampliando el tiempo mínimo de tratamiento con la terapia “actual” (presente en el momento de la inclusión del estudio) en al menos 6 meses. La CAC fue calculada en función del tiempo total de tratamiento desde el diagnóstico, como si la terapia actual del paciente fuera única en el curso temporal y la distribución del conservante dentro del frasco fuera homogénea. Por ello, este cálculo fue eminentemente teórico. También existe la posibilidad de que una potencial falta de adherencia al tratamiento, en algunos pacientes, haya artefactado la asociación de algunos indicadores de PSO con varias variables explicativas del estudio (por ejemplo, con el TBUT- NI, con el que no se halló ninguna correlación significativa). Aun así, la mayoría de los pacientes incluidos habían presentado pocos cambios del tratamiento hipotensor previo, ya que no padecían estadios avanzados de la enfermedad (la existencia de antecedentes de cirugía de glaucoma fue uno de los criterios de exclusión).

Adicionalmente, es posible que los síntomas de discomfort, derivados de una PSO inducida por el tratamiento, no fueran observados en algunos pacientes, porque aquellos más sintomáticos hubieran sufrido cambios en el tratamiento. De nuevo, el hecho de incluir sujetos tratados al menos durante 6 meses con una misma pauta hipotensora, minimiza este sesgo. Controlamos el factor inducido por medicaciones tópicas concomitantes al no incluir sujetos tratados con otros colirios, pero no registramos el uso de medicaciones sistémicas que también pueden haber influido en la PSO (antidepresivos, antihistamínicos, diuréticos etc).

En tercer lugar, no registramos el estadio del glaucoma de los sujetos incluidos (bien de forma funcional con CV o de un modo estructural con OCT). Como se ha comentado previamente, el estadio del glaucoma influye en la variabilidad encontrada en el cuestionario de OSDI. Este cuestionario ha sido validado y ampliamente utilizado en numerosos estudios para evaluar los síntomas y la calidad de vida de pacientes con SOS o PSO debida a colirios hipotensores. Sin embargo, la utilidad de su uso en la práctica clínica resulta controvertida en determinadas situaciones. En muchas ocasiones los sujetos interrogados se ven obligados a elegir entre una respuesta u otra, muchas veces de forma arbitraria (ej: “En todo momento” vs “casi en todo momento”). Existen varios factores ajenos a los signos o síntomas de PSO que pueden influir en el resultado: la relación médico- paciente, el ambiente de la consulta en el que se realiza el test, la hora del día, la estación del año (una pregunta hace referencia a la incomodidad en los ojos durante la última semana en zonas con aire acondicionado, por lo que el paciente difícilmente podrá contestar si el interrogatorio se realiza en invierno), o el día exacto en el que se realiza el test (en el SOS está descrita una gran variabilidad de la sintomatología entre un día y otro) (Sullivan BD et al. 2012). Por todo ello, es difícil realizar modelos de regresión con alta predictibilidad para este parámetro, cuando sin duda existen muchas otras variables que serían necesarias para poder explicar la totalidad de la variabilidad de las puntuaciones. El “síntoma”, por definición, es la percepción subjetiva de una “dolencia o enfermedad”; es decir, es algo referido por el paciente. Su mayor o menor cuantía, así como su implicación en la “calidad de vida”, no deja de ser algo teñido de filosofía y que se influye por una gran cantidad de factores difícilmente cuantificables. Así, una reciente publicación concluía que los síntomas referidos en el SOS están más relacionados con el dolor no ocular, la depresión o un síndrome de estrés postraumático que con los propios parámetros de la PL (Galor A. et al. 2015).

En cuarto lugar, debido a la naturaleza observacional de nuestro estudio, no pudimos asegurar el cumplimiento terapéutico de todos los pacientes incluidos. La falta de adherencia al tratamiento [publicada según diferentes series entre un 30-80% (Schwartz GF & Quigley HA. 2008; Rossi GC

et al. 2010; Reardon G et al. 2011; Waterman H et al. 2013)] y la dificultad en el uso de colirios en la población anciana (Kass MA. 1985) podría explicar la falta de asociación significativa entre los conservantes y varias de las variables clínicas “resultado” registradas.

Una limitación parcial del estudio es la inclusión en el grupo control de un menor número de sujetos con respecto al grupo de tratamiento. La hipótesis fundamental o “alternativa” del presente apartado es la existencia de una mayor PSO en pacientes con tratamiento hipotensor tópico, la cual queda demostrada al haber hallado diferencias significativas entre ambos grupos en el cuestionario OSDI, grado de tinción corneal y nivel de HO. Un mayor tamaño muestral del grupo control podría haber arrojado diferencias estadísticamente significativas entre grupos para las variables TBUT-NI y AML.

Por último, no evaluamos la reproducibilidad de las mediciones registradas (AML, TBUT-NI, valores de HO, OSDI y grado de epitelopatía corneal con la escala Oxford). No obstante, los métodos empleados han sido descritos como válidos y reproducibles. La clasificación del grado de epitelopatía corneal según la escala Oxford ha sido validado previamente (Bron AJ et al. 2003), pero presenta una mayor variabilidad inter-observador. La evaluación de la superficie ocular por un segundo observador habría aportado puntuaciones más precisas. El diagnóstico de los participantes era conocido por el evaluador (pacientes con glaucoma/HTO vs sujetos controles), lo cual puede haber influido en la evaluación de los test subjetivos, principalmente en el grado de tinción corneal. No registramos el tiempo de instilación desde la última gota (noche previa en el caso de las prostaglandinas; la misma mañana de la visita en el caso de los AAA, IAC y los β -bloqueantes), lo que puede haber influido en los indicadores de PSO registrados.

■ 9.3. Dispersión de luz intraocular en la muestra de estudio

Como se ha comentado previamente en la sección “Material y Métodos”, en este análisis se incluyeron 160 pacientes tratados y 46 sujetos sanos, ya que no se pudo realizar el test del OQAS II al resto de los sujetos de la muestra por problemas técnicos con el equipo. A pesar de esta pequeña reducción en el tamaño muestral, encontramos diferencias significativas en los indicadores de PSO (HO, OSDI, epitelopatía corneal) entre los sujetos tratados y los sujetos controles.

El resultado más relevante en este apartado del trabajo es el hallazgo de diferencias estadísticamente significativas para la dispersión de luz intraocular (DLO; del inglés, OSI, Ocular light scattering) entre el grupo control y el grupo tratado, recalando así la idea de que los pacientes con HTO o GPAA presentan sistemas ópticos más deteriorados con mayor dispersión lumínica. La explicación más plausible para ello es la presencia de una mayor prevalencia de PSO en pacientes sometidos a tratamientos tópicos antiglaucomatosos crónicos (Leung EW et al. 2008; Anwar Z et al. 2013; Fechtner RD et al. 2010; Schein OD et al. 1997), como queda patente tras el hallazgo de diferencias significativas en el grado de hiperemia, epitelopatía corneal y síntomas por PSO con respecto al grupo control. De nuevo, la AML y el TBUT-NI no difirieron significativamente entre ambos grupos. Sin embargo, precisamente el TBUT-NI resultó ser la variable con mayor influencia sobre la DLO en el grupo tratado en nuestro modelo de regresión, con una relación inversa. Como se ha mencionado en la introducción, Díaz Valle y col (Díaz Valle et al. 2012) describieron un descenso de la DLO en pacientes con SOS tras el uso de colirios lubricantes. Estos mejoran la estabilidad lagrimal y prolongan su tiempo de ruptura (Olthoff CM et al. 2005).

Iijima A. y col describieron que valores de DLO superiores a 5 representan sistemas ópticos deficientes con gran dispersión lumínica (Iijima A et al. 2015). En nuestra muestra, sólo 48 de 160 sujetos (30%) bajo tratamiento hipotensor presentaron valores superiores a 5. En éstos, el BUT-NI medio fue de $8,2 \pm 4,24$. Como se ha comentado anteriormente, se ha descrito que un tiempo

medio de ruptura de la película lagrimal con fluoresceína (F-TBUT) menor a 10 segundos está asociado con PSO (Lemp M. et al. 2007). Del mismo modo, los valores de TBUT-NI en sujetos sanos son distintos en los diferentes estudios publicados. Mientras que unos autores refieren que con el Keratograph se obtienen tiempos más cortos que con el uso de fluoresceína (Best N et al. 2012; Hong J et al. 2014), otros señalan justo lo contrario y, por lo tanto, no deberían ser métodos de medida intercambiables (Lan W et al. 2014). El TBUT-F no fue medido en nuestro estudio. Nuestros resultados apuntan a recalcar el uso de colirios lubricantes para mejorar el estado de la SO en pacientes con HTO o GPAA, incrementando así el TBUT y, consecuentemente, mejorando su calidad visual mediante una disminución objetiva de la DLO.

Los valores de normalidad propuestos para la DLO varían en la literatura. Iijima A y col. publicaron una media de DLO de 0.899 ± 0.369 en 20 sujetos jóvenes sanos (Iijima A et al. 2015). Xu CC y col (Xu CC et al. 2015) describieron una media de 0.6 ± 0.42 en 119 sujetos, también jóvenes y sanos, sin patología ocular. Los valores de DLO en nuestro grupo control no siguieron una distribución normal [1.95 (0.7– 5)], lo que sugiere una mayor dispersión de los datos obtenidos. Los valores más elevados de DLO encontrados en nuestra muestra podrían ser explicados por una mayor edad de los sujetos incluidos que en los estudios mencionados (63.86 ± 10.34). El envejecimiento por sí mismo puede disminuir la función visual mediante varios mecanismos, entre ellos, el desarrollo de SOS, cataratas o degeneración macular (Alavi MV et al. 2016; Bi W et al. 2016).

Un estudio reciente describió un rango de DLO en sujetos mayores (73 ± 7 años) con bajo grado de catarata, entre 1 y 2 (Artal P et al. 2011), valores más consistentes con nuestros resultados. Aun así, la edad, por sí misma, no se asoció finalmente de forma significativa con la DLO en el modelo multivariable en el grupo tratado, aunque sí presentó dicha asociación significativa en la correlación univariable.

152

Ninguna de las variables categóricas registradas dentro del grupo tratado se asoció de forma significativa con la DLO (Tablas 17 y 18). Los valores de DLO no difirieron entre pacientes con un solo medicamento [3,0 (1,52– 5,57)], combinaciones fijas [3,4 (1,87– 5,7)] y combinaciones no fijas [2,9 (1,05– 4,95)]. Tampoco observamos diferencias en la DLO entre el número de gotas diarias, con y sin conservantes, número de colirios, número de principios activos o el tipo de los mismos. Del mismo modo, la CDC y la CAC no se asociaron con la DLO. Una de las explicaciones posibles para estos hallazgos, y limitación añadida del presente estudio ya comentada, es la existencia de una potencial falta de adherencia real al tratamiento (30- 80%) (Schwartz GF&Quigley HA. 2008) o dificultades para su uso en pacientes de edad avanzada (Kass MA. 1985). Dicha condición puede haber confundido la asociación real con la PSO y, por ello, su implicación en la variabilidad de la DLO.

La opacidad de medios en el dioptrio ocular, como por ejemplo la existencia de cataratas, incrementa los valores de la DLO (Artal P et al. 2011). Así, la existencia de catarata en los pacientes de nuestra muestra podría influir en la DLO. Los pacientes con glaucoma de nuestra muestra no presentaban catarata en estadios avanzados, ya que carecían de factores claros causales y no eran excesivamente mayores ($68,84 \pm 10,72$). Por otro lado, los pacientes pseudofáquicos habían sido operados con una antelación mínima de 6 meses previa a la inclusión del estudio (criterio de selección), lo cual determinó el hallazgo de opacificaciones leves de cápsula posterior en muchos de ellos. Ambos factores pueden haber contribuido a incrementar, ligeramente y de un modo parecido, la DLO en ambos grupos (fáquicos y pseudofáquicos), de tal modo que no se hallasen diferencias sustanciales en su distribución. Además, ambos grupos incluidos (tratados y no tratados) fueron apareados por la edad (no diferencias significativas).

Las limitaciones señaladas en la sección anterior son aplicables en ésta. A continuación sólo se comentarán las potenciales limitaciones del presente apartado.

En primer lugar, no se introdujo la refracción del paciente para determinar el grado de DLO. Muchos autores han utilizado el OQAS calculando la refracción previa del paciente con autorrefractometría, mientras que otros no, ya que el propio aparato es capaz de auto-corregir errores refractivos en un rango de -8D a +6D. (Artal P et al. 2011).

En segundo lugar, teóricamente, la DLO puede verse afectada por cualquier alteración en el medio ocular, desde cambios locales de la película lagrimal hasta cambios en la estructura retiniana. El daño glaucomatoso sobre la capa de fibras nerviosas de la retina podría contribuir a incrementar la DLO, junto con la PSO inducida por la carga del tratamiento tópico. Además, a pesar de hallar diferencias significativas en varios de los indicadores de PSO con respecto al grupo control (hiperemia, epitelopatía corneal y test de OSDI), el grado de afectación en el grupo tratado fue bajo. En efecto, el TBUT-NI resultó ser la variable explicativa con mayor influencia sobre la variabilidad del DLO en el grupo tratado, pero su media no fue significativamente menor que en el grupo control. Por lo tanto, deben existir otros factores no explorados que contribuyan a aumentar la DLO en pacientes con gotas hipotensoras.

Un problema técnico con el OQAS impidió el registro de la DLO en varios de los pacientes incluidos en el trabajo global de Tesis (concretamente, en 51 pacientes), lo cual limitó el tamaño muestral en el grupo tratado a 160, en lugar de los 211 incluidos en el apartado previo. Esta reducción del tamaño muestral ha podido condicionar los resultados obtenidos tanto en la estadística univariable como en la multivariable.

No se registró el grado de catarata ni de opacificación de la cápsula posterior de los sujetos incluidos, lo cual ha podido influir en los niveles de DLO registrados.

■ 9.4. Marcadores de inflamación lagrimal en pacientes tratados con latanoprost

Debido a la naturaleza crónica del glaucoma, muchos pacientes con esta enfermedad deben recibir un tratamiento tópico de por vida. Como se ha mencionado en la introducción, el objetivo actual de la terapia anti-glaucomatosa es reducir la PIO sin comprometer la calidad de vida de los pacientes (Skalicky SE et al. 2012; Bron AJ. et al. 2014). El uso de PGs como medicamento tópico conlleva diversos eventos adversos que a menudo son secundarios a la presencia de conservantes en las preparaciones oftálmicas (Baudin C. 2008; Leung EW et al. 2008). Además de los efectos adversos propios del principio activo (hiperemia ocular, hiperpigmentación cutánea, triquiasis etc), Los eventos adversos debidos a la presencia de conservante incluyen inflamación o deterioro de la córnea y molestias locales como irritación o sensación de cuerpo extraño, pudiendo dar lugar a la interrupción del tratamiento (Furrer P et al. 2002; Arias A et al. 2010; Fetchtner RD et al. 2010). En este sentido, existe una creciente preocupación desde hace varios años respecto al riesgo asociado al uso de conservantes en las medicaciones tópicas hipotensoras.

Por esta razón, el desarrollo de nuevas formulaciones anti-glaucomatosas sin conservantes parece una vía terapéutica exitosa para el tratamiento del glaucoma. Actualmente, están disponibles diferentes PGs sin conservantes, con una eficacia no inferior en la reducción de la PIO que sus homólogos conservados (Pisella PJ et al 2002; Esaki T et al. 2016; Takagi Y et al. 2016). Además, varios estudios han revelado que el cambio de un tratamiento preservado a uno libre de conservantes

mejora significativamente los signos y síntomas relacionados con la PSO (Henry JC et al. 2008; Keating GM. 2016). En este apartado del presente proyecto de investigación, nos hemos centrado en el latanoprost, la formulación oftálmica de PG más frecuentemente prescrita, debido a su alta tolerabilidad y un número reducido de efectos secundarios asociados con su uso (Orme M et al. 2012). Varios eventos adversos se han asociado a la presencia del BAK en la formulación del latanoprost (Orme M et al. 2012; Ishida N et al. 2006; Baudoin C et al. 2010). El latanoprost libre de conservantes (Monoprost^R) fue diseñado para mantener la potencia hipotensora del latanoprost al mismo tiempo que se reducían estos eventos adversos asociados. Una gran variedad de estudios apoya las ventajas de Monoprost^R como medicación tópica contra el glaucoma. En un estudio in vivo, Pauly y col. (Pauly A et al. 2012) objetivaron que la viabilidad de las células epiteliales era mayor después del tratamiento con latanoprost sin conservantes en comparación con el tratamiento con latanoprost preservado. Un ensayo multicéntrico aleatorizado demostró una eficacia equivalente entre el latanoprost preservado y la formulación libre de conservantes en la reducción de los niveles de PIO (Rouland J-F et al. 2013). Un metaanálisis de ensayos clínicos aleatorizados confirmó que el latanoprost libre de conservantes presenta una seguridad equivalente y reduce los eventos adversos, como la hiperemia conjuntival, en comparación con el latanoprost conservado (Cucherat M et al. 2014). Un estudio de fase II no encontró diferencias significativas entre el latanoprost con o sin conservante, en términos de seguridad y tolerancia del paciente (Aptel F et al. 2016). Además, la comercialización en un formato de dosis única garantiza la esterilidad de Monoprost^R.

154 Como hemos visto, varios estudios han revelado diferencias importantes entre el latanoprost conservado y no conservado, pero ninguno ha comparado directamente su impacto en los niveles de citoquinas de la PL. La inflamación es una causa y efecto clave de la aparición y progresión de la PSO, y puede ser monitorizada de forma fiable midiendo los niveles de citoquinas proinflamatorias. En este estudio, hemos comparado las concentraciones de citoquinas en la PL en pacientes tratados con Monoprost^R o Xalatan^R y sujetos sanos sin tratamiento tópico. Los resultados muestran que el tratamiento con Xalatan^R produce variaciones de los niveles de las citoquinas lagrimales. Sin embargo, con el tratamiento con Monoprost^R, sólo se objetivaron cambios leves que no alcanzaron la significación estadística.

Se determinó simultáneamente la concentración de 27 citoquinas empleando tecnología multiplex, eliminando así la variabilidad entre ensayos repetidos. El perfil de citoquinas de los pacientes tratados con Xalatan^R reveló un aumento significativo de IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF básico, PDGF-BB, Y TNF- α , comparado con sujetos sanos sin tratamiento. Entre ellos, PDGF-BB y TNF- α mostraron el mayor aumento en la concentración (1,9 veces) en los pacientes tratados con Xalatan^R, mientras que su expresión fue estadísticamente invariable en los pacientes tratados con Monoprost^R. El TNF- α es una proteína pleiotrópica que provoca diferentes respuestas celulares, como la muerte celular apoptótica o la inflamación (Wajant H et al. 2013).

Tanto la apoptosis como la inflamación participan de forma consistente en el origen de eventos adversos oculares asociados con el uso de conservantes en preparaciones oftálmicas. De hecho, el BAK es capaz de interactuar con los receptores de “muerte celular”, induciendo fenómenos de apoptosis e inflamación (Buron N et al. 2006; Aragona P et al. 2014). Este dato, junto con los niveles elevados de TNF- α en pacientes tratados con Xalatan^R, sugiere que la apoptosis también podría desempeñar un papel en estos efectos secundarios asociados. El TNF- α es, además, un reconocido marcador del síndrome del ojo seco (Willcox MDP et al. 2015; Luol et al. 2014). En consonancia, factores de crecimiento como PDGF-BB y FGF- básico desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento de la función corneal y desequilibrios en su expresión se han hallado en diferentes patologías oculares (Imanishi J et al. 2000; Bradley JC et al. 2008). Además, la IL-17 también se asocia con una mayor gravedad de diferentes patologías de la SO, como uveítis,

escleritis o el síndrome del ojo seco (Na K-S et al. 2012; Kang MH et al. 2011; Tan X et al. 2014). En general, los pacientes tratados con Xalatan presentaron una mayor expresión de diferentes marcadores de PSO, lo que puede explicar los síntomas asociados a su uso frente al empleo de la formulación sin conservante. Sin embargo, no había mayor expresión en lágrima de pacientes tratados con Xalatan^R de otros marcadores relevantes de la PSO, como IL- β 1 o IL-6, (Massingale ML et al. 2009). Esta discrepancia aparente podría explicarse considerando que las respuestas inflamatorias tempranas y tardías difieren mucho en su perfil de citoquinas. Este estudio se realizó en individuos que habían recibido el tratamiento tópico durante períodos de tiempo prolongados (de 6 a 120 meses). Este hecho representa un importante factor fortificador de nuestro estudio, ya que refleja el contexto real de los pacientes crónicamente expuestos a tratamientos anti-glaucomatosos. Por el contrario, los ensayos clínicos generalmente se realizan durante un corto plazo de tiempo, subestimando así los posibles efectos a largo plazo de las medicaciones.

No se observaron diferencias relevantes en las mediciones de la superficie ocular (tinción de la córnea con fluoresceína, hiperemia conjuntival global (K5M), NI-TBUT y altura del menisco lagrimal) entre los pacientes tratados con Xalatan^R y Monoprost^R. Además, los niveles de citoquinas y los mencionados parámetros clínicos de la PSO no se correlacionaron de forma estadísticamente significativa ni en el grupo de pacientes tratados con Xalatan^R ni en el grupo tratado con Monoprost^R. Por lo tanto, aunque la presencia del BAK no parece influir en estos marcadores de la SO, podría estar afectando a otras variables clínicas, como el éxito de una cirugía de glaucoma ulterior. La falta de correlación indica que el estado inflamatorio logrado después del tratamiento a largo plazo con Monoprost^R o Xalatan^R no se traduce directamente en diferencias detectables mediante los procedimientos exploratorios. Este hecho podría explicarse teniendo en cuenta la amplia variación de las duraciones del tratamiento, que podrían haber compensado las posibles diferencias en las mediciones clínicas entre ambos grupos. Esta posibilidad es congruente con estudios previos en los que la transición de latanoprost a tavoprost libre de BAK mostró que la hiperemia no se alteró significativamente en un mes, pero sí disminuyó significativamente tras 3-12 meses de tratamiento (Aihara M et al. 2012). Por lo tanto, sería interesante desvelar el perfil de citoquinas inflamatorias en PL de los pacientes en función de la duración del tratamiento, distinguir entre los eventos adversos agudos y crónicos derivados del uso de conservantes y establecer su correlación potencial con los marcadores de inflamación de la superficie ocular.

155

En conjunto, los resultados de este apartado del presente proyecto de investigación apoyan a estudios previos, manifestando los efectos beneficiosos de Monoprost^R, y destaca la importancia de evaluar el perfil de citoquinas para caracterizar los efectos inflamatorios de las medicaciones hipotensoras tópicas.

Limitaciones

Una limitación de este apartado del estudio es la falta de detección de los niveles basales de citoquinas antes del inicio del tratamiento. La naturaleza transversal del estudio nos impide conocer este dato. Sin embargo, como la selección de pacientes no se basó en las características clínicas ni en la intolerancia a los tratamientos previos, podemos suponer que los niveles de citoquinas estaban equilibrados entre ambos grupos. Se deberían realizar estudios longitudinales adicionales usando un diseño de cruce, cambiando de una medicación de latanoprost conservada a una libre de conservante, y viceversa. Al cuantificar los niveles de citoquinas antes y después de cada tratamiento, se podría descartar cualquier efecto basal.

10. CONCLUSIONES. *CONCLUSIONS*

157

10. Conclusiones. *Conclusions*

OBJETIVO 1

1. Los valores de hiperemia ocular (HO) aportados por el Keratograph 5M sobreestiman las puntuaciones obtenidas con las escalas Efron y MC-D, mostrando un grado de concordancia bajo (una vez transformadas las medidas a una escala centesimal común) y una correlación moderada.
2. Los valores de HO limbar nasal (LN) son los más concordantes con las puntuaciones obtenidas según la escala Efron.
3. La escala Efron muestra un nivel de acuerdo levemente superior a la escala MC-D con los valores de HO aportados con el Keratograph 5M.
4. La reproducibilidad entre observadores con cada una de las dos escalas es excelente, levemente superior con la escala Efron que con la MC-D. Asimismo, la reproducibilidad entre la escala Efron y MC-D es buena, pero menor que la hallada entre dos observadores para cada una de ellas.
5. La precisión del Keratograph 5M es mayor que las obtenidas con las puntuaciones categóricas obtenidas con las escalas de graduación subjetivas, ya que aporta valores continuos con un rango de posibilidades más amplio.
6. El grado de HO no influyó en las correlaciones y en la concordancia de las puntuaciones entre ambos métodos de medida (resultados parecidos en el grupo tratado y en el grupo control).

OBJETIVO 2

7. Existe una mayor prevalencia de patología de la superficie ocular (PSO) en pacientes tratados con colirios hipotensores frente a sujetos sanos. Los parámetros TBUT-NI y AML no difieren significativamente entre ambos grupos. Aún así, el grado de afectación global de la SO en los pacientes tratados es leve.
8. Los conservantes BAK y PQ tienen un gran impacto en la epiteliopatía corneal, de tal modo que aquéllos pacientes tratados con una combinación de ambos conservantes, presentaban un riesgo de padecer epiteliopatía corneal mucho mayor que los tratados sólo con BAK. Una mayor puntuación en el cuestionario OSDI determinó también un aumento del riesgo de padecer epiteliopatía corneal.
9. Los pacientes de mayor edad, con una duración más prolongada del tratamiento tópico y con daño del epitelio corneal, son los más propensos a quejarse de síntomas relacionados con la PSO. La edad, sin embargo, no se asocia con una puntuación patológica (>12) en el cuestionario OSDI.
10. Los niveles de HO fueron más altos en pacientes tratados que en los sujetos del grupo control. Los principales factores contribuyentes a una mayor HO en el grupo tratado fueron el uso de prostaglandinas, la edad avanzada y el uso de un mayor número de gotas (conservadas y totales) (≥ 3). Se detectó un mayor impacto de la carga de tratamiento en las puntuaciones de la hiperemia nasal que en las puntuaciones de hiperemia temporal.

OBJETIVO 3

11. Existe una mayor dispersión de luz intraocular (DLO) en pacientes tratados con colirios hipotensores frente a sujetos sanos no tratados. El TBUT-NI Es el principal factor que se asocia a la variabilidad de la DLO, de tal modo que aquellos pacientes con tiempos más acortados de la película lagrimal (PL) presentan mayor DLO.
12. No se observa una asociación entre los factores de tratamiento en el grupo de pacientes glaucomatosos y la DLO. Ésta, además de estar influenciada por la estabilidad de la PL, puede deberse a otros factores no estudiados.

OBJETIVO 4

13. Existen marcadores de inflamación en la película lagrimal de pacientes tratados con Latanoprost sin conservantes significativamente menores que en sujetos sanos, y que en pacientes tratados con latanoprost conservado.

OBJECTIVE 1

1. Redness scores (RS) provided by the Keratograph 5M overestimated the scores obtained with the Efron and McMonnies- Chapman Davies (MC-D) scales, showing low degree of agreement (once the measurements were converted to a common centesimal scale) and a moderate correlation.
2. The keratograph's limbar RS was fairly consistent with Efron scores.
3. The Efron scale showed a better level of agreement than the MC-D scale with the new device.
4. The interobserver reproducibility with each of the two scales is excellent, slightly higher with the Efron scale than with the MC-D. Likewise, interobserver reproducibility between the Efron and MC-D scale is good, but lower than that found between two observers for each one.
5. The Keratograph 5M is a more accurate method for measuring ocular hyperemia (OH) than the subjective grading scales. Its scores are continuous variables, which permits the assignment of different scores to images showing close levels of redness, instead of an independent observer choosing arbitrarily between two categories of a grading scale without the option of a halfway score.
6. The extent of ocular hyperemia did not influence the correlations and the agreement between the two methods of measurement (similar results in the treated group and in the control group).

OBJECTIVE 2

7. A higher prevalence of ocular surface disease (OSD) was observed in patients under topical treatment with IOP-lowering drugs than in untreated healthy controls. Nonetheless, the average OSD severity was low. The indicators non-invasive tear break-up time (NI-TBUT) (Keratoraph 5M) and low tear meniscus high (LTMH) (FD-OCT) were not useful to discriminate between treated patients and untreated controls.
8. The preservatives Benzalkonium chloride (BAK) and Polyquaternium (PQ) had a high impact on the results of the corneal staining test. The combination of BAK and PQ-I gave rise to a greater likelihood of corneal epithelial cell damage than the use of only BAK- containing medications.
9. Older age, longer treatment duration, and corneal epithelial cell damage were predictors of a higher ocular surface disease index (OSDI) score.
10. Ocular redness was more prevalent in treated glaucoma patients than control healthy subjects. In this population, the main factors contributing to this condition were an advanced age, more daily eye drops and treatment with prostaglandins. Considering all five RS provided by the Keratograph 5M, a greater impact of treatment burden on nasal hyperaemia scores than on scores for the temporal quadrant was observed.

OBJECTIVE 3

11. *A greater intraocular light scatter was observed in patients using eyedrops as IOP-lowering treatment compared with healthy individuals. The tear breakup time was the main factor found to determine ocular scattering index (OSI) variation in the treated patient group such that patients showing shorter TBUT times returned higher OSI values.*
12. *None of the treatment factors recorded in our patient group was found to be significantly associated with OSI. Intraocular light scattering, besides being due to the tear film abnormality, could be produced by other factors not studied.*

OBJECTIVE 4

13. *The lack of inflammation associated with preservative-free latanoprost treatment is likely responsible for its significant reduction of adverse events. These findings may have special relevance for patients receiving long-term treatment, and with OSDs.*

II. REPERCUSIÓN Y APORTACIONES

165

II. REPERCUSIÓN Y APORTACIONES

- El K5M emerge hoy en día como un aparato que aporta medidas de HO reproducibles, objetivas y automáticas en el momento de la evaluación. Este modo de cuantificación del grado de enrojecimiento ocular contrasta enormemente con la graduación clásica que se había hecho a partir de fotografías de la SO según las diferentes escalas, en las que se permite al evaluador distinguir solamente entre 5 ó 6 categorías. Aún así, su uso en la práctica clínica resulta más controvertido (relación coste- eficiencia, consumo de tiempo etc). Su utilidad radicaría fundamentalmente en la monitorización de pacientes en estudios longitudinales prospectivos. En el presente estudio, se ha observado que los valores de HO aportados por el K5M sobreestimaron las puntuaciones obtenidas con las escalas Efron y MC-D, mostrando un grado de concordancia bajo y una correlación moderada. Por lo tanto, no deben ser métodos de medida intercambiables durante el seguimiento de los pacientes. Proponemos que las escalas subjetivas de graduación de la HO son métodos reproducibles, cómodos y coste-eficientes, para uso en la práctica clínica diaria.
- Consideramos que hemos realizado una descripción extensa de los marcadores de la PSO en una gran cohorte de pacientes sometidos a un tratamiento hipotensor tópico crónico, empleando una tecnología moderna (FD-OCT, K5M), con la que podemos obtener valores objetivos y más reproducibles que las técnicas clásicas de medición de los marcadores de PSO.
- Los resultados de la presente Tesis están en consonancia con múltiples trabajos que avalan el efecto deletéreo del tratamiento hipotensor tópico sobre la SO. Tanto el “oftalmólogo general” como el “glaucomatólogo” deben conocer aquellos factores que se asocian con una mayor prevalencia o un mayor riesgo de PSO en estos pacientes. A pesar de que no hemos hallado una mayor prevalencia de PSO en pacientes tratados con latanoprost libre de conservantes, es posible que la falta de inflamación en la PL de estos sujetos sea responsable de su reducción significativa de eventos adversos en otros estudios publicados. Aunque existe controversia con respecto al impacto real de los conservantes en la práctica clínica, el peso de la evidencia científica apoya su efecto deletéreo sobre la SO. El tratamiento tópico hipotensor con formulaciones no conservadas debe considerarse siempre que exista PSO preexistente, en pacientes con politerapia, en aquellos pacientes con largos periodos de tratamiento previos o en aquellos que se prevea un tratamiento durante mucho tiempo (jóvenes). La evaluación clínica periódica del estado de la SO mediante cuestionarios de calidad de vida validados, examen del borde libre palpebral, tinciones córneo- conjuntivales, menisco lagrimal y TBUT, resulta imperativa en estas poblaciones.
- La mayor DLO en pacientes tratados con colirios hipotensores, frente a sujetos sanos no tratados, muestra un deterioro de la calidad visual en esta población. Se halló que aquellos pacientes con tiempos más acortados de ruptura de la PL presentaron una mayor DLO. Consecuentemente, proponemos que el uso de lágrimas artificiales para lograr la estabilidad de la PL y alargar el TBUT en estos pacientes, podría mejorar su calidad visual mediante una reducción de la dispersión lumínica en el medio intraocular. No se observó ninguna asociación entre los factores de tratamiento en el grupo de pacientes glaucomatosos y la DLO. Ésta, además de estar influenciada por la estabilidad de la PL, puede deberse a otros factores no estudiados (por ejemplo, opacidades intraoculares como desprendimientos posteriores del vítreo o una afectación de la capa de fibras nerviosas de la retina etc).

12. BIBLIOGRAFÍA

12. BIBLIOGRAFÍA

- Abetz L, Rajagopalan K, Mertzanis P, Begley C, Barnes R, Chalmers R; for the Impact of Dry Eye on Everyday Life (IDEEL) Study Group. *Health Qual Life Outcomes*. 2011; 9:111.
- Abusharha AA, Pearce EI. The effect of low humidity on the human tear film. *Cornea*. 2013;32(4):429–434.
- Adams J, Wilcox MJ, Trousdale MD, et al. Morphologic and physiologic effects of artificial tear formulations on corneal epithelial derived cells. *Cornea* 1992; 11: 234-41
- Adamsons IA, Polis A, Ostrov CS, et al. Two-year safety study of dorzolamide as monotherapy and with timolol and pilocarpine. Dorzolamide Safety Study Group. *J Glaucoma* 1998; 7: 395-401.
- Afonso AA, Monroy D, Stern ME, Feuer WJ, Tseng SC, Pflugfelder SC. Correlation of tear fluorescein clearance and Schirmer test scores with ocular irritation symptoms. *Ophthalmology*. 1999;106(4): 803–810.
- Aihara M, Otani S, Kozaki J, Unoki K, Takeuchi M, Minami K, et al. Long-term Effect of BAK-free Travoprost on Ocular Surface and Intraocular Pressure in Glaucoma Patients After Transition From Latanoprost. *J Glaucoma* 2012;21:60–4.
- Akingbehin T, Villada JR, Walley T. Metipranolol-induced adverse reactions: I. The rechallenge study. *Eye* 1992; 6 (3): 277-9 48.
- Allen MJ, Vos JJ. Ocular scattered light and visual performance as a function of age. *Am J Optom Arch Am Acad Optom*. 1967 Nov; 44 (11):717-27.
- Alm A, Grunden JW, Kwok KK. Five-year, multicentre safety study of fixed-combination latanoprost/timolol (Xalacom) for open-angle glaucoma and ocular hypertension. *J Glaucoma*. 2011; 20: 215-222.
- Altman DG. *Practical statistics for medical research*. New York: Chapman and Hall; 1991.
- Ammar DA, Noecker RJ, Kahook MY. Effects of benzalkonium chloride-preserved, polyquad-preserved, and sofZia-preserved topical glaucoma medications on human ocular epithelial cells. *Adv Ther* 2010; 27:837-45
- Amparo F, Wang H, Emami-Naeini P, Karimian P, Dana R. The Ocular Redness Index: a novel automated method for measuring ocular injection. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Jul 18; 54(7):4821-6.
- Ansari RR. Ocular static and dynamic light scattering: a noninvasive diagnostic tool for eye research and clinical practice. *J Biomed Opt*. 2004 Jan-Feb; 9(1):22-37.
- Anwar Z, Wellik SR, Galor A. Glaucoma therapy and ocular surface disease: current literature and recommendations. *Curr Opin Ophthalmol*. 2013 Mar; 24(2):136-43.
- Aptel F, Choudhry R, Stalmans I. Preservative-free versus preserved latanoprost eye drops in patients with open-angle glaucoma or ocular hypertension. *Curr Med Res Opin* 2016;32:1457–63.
- Aptel F, Cucherat M, Denis P. Efficacy and tolerability of prostaglandin-timolol fixed combinations: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Eur J Ophthalmol*. 2012; 22: 5-18.
- Aragona P, Aguenouz M, Rania L, Postorino E, Sommarino MS, Roszkowska AM, et al. Matrix metalloproteinase 9 and transglutaminase 2 expression at the ocular surface in patients with different forms of dry eye disease. *Ophthalmology* 2015; 122:62–71.
- Arcieri ES, Santana A, Rocha FN, Guapo GL, Costa VP. Blood-aqueous barrier changes after the use of prostaglandin analogues in patients with pseudophakia and aphakia: a 6-month randomized trial. *Arch Ophthalmol*. 2005 Feb; 123(2):186-92.
- Arias A, Schargel K, Ussa F, Canut MI, Robles A y B, Sánchez BM. Patient persistence with first-line antiglaucomatous monotherapy. *Clin Ophthalmol* 2010;4: 261–7.
- Arici MK, Arici DS, Topalkara A, Güler C. Adverse effects of topical antiglaucoma drugs on the ocular surface. *Clin Exp Ophthalmol*. 2000 Apr;28(2):113-7.

Aristodemou P, Baer R. Reversible cicatricial ectropion precipitated by topical brimonidine eye drops. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2008 Jan-Feb; 24 (1): 57-8

Arita R, Fukuoka S, Morishige N. New Insights Into the Lipid Layer of the Tear Film and Meibomian Glands. *Eye Contact Lens*. 2017 Apr 12.

Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Furuta A, Tomidokoro A, Aihara M, Amano S. Comparison of the long-term effects of various topical antiglaucoma medications on meibomian glands. *Cornea*. 2012 Nov; 31(11):1229-34.

Arriola-Villalobos P, Fernández-Vigo JI, Díaz-Valle D, Almendral-Gómez J, Fernández-Pérez C, Benítez-Del-Castillo JM. Lower Tear Meniscus Measurements Using a New Anterior Segment Swept-Source Optical Coherence Tomography and Agreement With Fourier-Domain Optical Coherence Tomography. *Cornea*. 2016 Nov 23.

Arriola-Villalobos P, Fernández-Vigo JI, Díaz-Valle D, Peraza-Nieves JE, Fernández-Pérez C, Benítez-Del-Castillo JM. Assessment of lower tear meniscus measurements obtained with Keratograph and agreement with Fourier-domain optical-coherence tomography. *Br J Ophthalmol*. 2015 Aug; 99(8):1120-5.

Artal P, Benito A, Pérez GM, Alcón E, De Casas A, Pujol J, Marín JM. PLoS One. An objective scatter index based on double-pass retinal images of a point source to classify cataracts. 2011 Feb 4; 6(2):e16823.

Asensio-Sánchez VM. Toxic epidermal necrolysis following dorzolamide eyedrops. *An Med Interna* 2008 Jan; 25 (1): 47-8
Asiedu K, Kyei S, Mensah SN, Ocansey S, Abu LS, Kyere EA. Ocular Surface Disease Index (OSDI) Versus the Standard Patient Evaluation of Eye Dryness (SPEED): A Study of a Nonclinical Sample. *Cornea*. 2016 Feb; 35(2):175-80.

Aung T, Laganovska G, Hernandez Paredes TJ, Branch JD, Tsorbatzoglou A, Goldberg I. Twice-daily brinzolamide/brimonidine fixed combination versus brinzolamide or brimonidine in open-angle glaucoma or ocular hypertension. *Ophthalmology*. 2014; 121: 2348–2355.

Avisar R, Menache R, Shaked P, Rubinstein J, Savir H. Lysozyme content of tears in patients with Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Am J Ophthalmol*. 1979;87:148-151.

Ayaki M, Iwasawa A, Inoue Y. Toxicity of antiglaucoma drugs with and without benzalkonium chloride to cultured human corneal endothelial cells. *Clin Ophthalmol*. 2010 Oct 21; 4:1217-22.

Ayaki M, Yaguchi S, Iwasawa A, Koide R. Cytotoxicity of ophthalmic solutions with and without preservatives to human corneal endothelial cells, epithelial cells and conjunctival epithelial cells. *Clin Experiment Ophthalmol* 2008; 36:553-9.

Baffa Ldo P, Ricardo JR, Dias AC, Módulo CM, Braz AM, Paula JS, Rodrigues Mde L, Rocha EM. Tear film and ocular surface alterations in chronic users of antiglaucoma medications. *Arq Bras Oftalmol*. 2008 Jan-Feb; 71(1):18-21.

Bailey IL, Bullimore MA, Raasch TW, Taylor HR. Clinical grading and the effects of scaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991; 32:422–432.

Bandlitz S, Purslow C, Murphy PJ, Pult H. Comparison of a new portable digital meniscometer and optical coherence tomography in tear meniscus radius measurement. *Acta Ophthalmol*. October 7, 2013.

Barnebey H, Kwok SY. Patients' acceptance of a switch from dorzolamide to brinzolamide for the treatment of glaucoma in a clinical practice setting. *Clin Ther* 2000 Oct; 22 (10): 1204-12.

Battershill PE, Sorkin EM. Ocular metipranolol: a preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in glaucoma and ocular hypertension. *Drugs* 1988; 36: 601-15.

Baudouin C, Labbé A, Liang H, Pauly A, Brignole-Baudouin F. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog Retin Eye Res*. 2010 Jul; 29(4):312-34.

Baudouin C, Liang H, Hamard P, Riancho L, Creuzot-Garcher C, Warnet J-M, et al. The ocular surface of glaucoma patients treated over the long term expresses inflammatory markers related to both T-helper 1 and T-helper 2 pathways. *Ophthalmology* 2008; 115:109–15.

Baudouin C, Pisella PJ, Fillacier K, et al. Ocular surface inflammatory changes induced by topical antiglaucoma drugs: human and animal studies. *Ophthalmology* 1999; 106:556-63.

- Baudouin C, Riancho L, Warnet JM, Brignole F. In vitro studies of antiglaucomatous prostaglandin analogues: travoprost with and without benzalkonium chloride and preserved latanoprost. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Sep;48(9):4123-8.
- Baudouin C. Allergic reaction to topical eyedrops. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2005 Oct; 5(5):459-63.
- Baudouin C. Detrimental effect of preservatives in eyedrops: implications for the treatment of glaucoma. *Acta Ophthalmol.* 2008 Nov;86(7):716-26.
- Baudouin C. Ocular surface and external filtration surgery: mutual relationships. *Dev Ophthalmol.* 2012;50:64-78.
- Beckman C, Abrahamsson M, Sjöstrand J, Hård S. Evaluation of a clinical glare test based on estimation of intraocular light scatter. *Optom Vis Sci.* 1991 Nov; 68(11):881-7.
- Becquet F, Goldschild M, Moldovan MS, et al. Histopathological effects of topical ophthalmic preservatives on rat corneconjunctival surface. *Curr Eye Res* 1998; 17: 419-25.
- Benelli U, Nardi M, Posarelli C, Albert TG. Tear osmolarity measurement using the TearLab Osmolarity System in the assessment of dry eye treatment effectiveness. *Cont Lens Anterior Eye.* 2010;33:61-67.
- Benítez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, Garcia-Sanchez J. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 Sep;45(9):3030-5.
- Benito A, Pérez GM, Mirabet S, Vilaseca M, Pujol J, Marín JM, Artal P. J. Cataract Refract Surg. 2011 Aug; 37 (8):1481-7. Objective optical assessment of tear-film quality dynamics in normal and mildly symptomatic dry eyes.
- Best N, Drury L, Wolffsohn JS. Clinical evaluation of the Oculus Keratograph. *Cont Lens Anterior Eye.* 2012 Aug;35(4):171-4.
- Bitton E, Keech A, Simpson T, et al. Variability of the analysis of the tear meniscus height by optical coherence tomography. *Optom Vis Sci* 2007; 84:903-8.
- Blackie CA, Solomon JD, Scaffidi RC, Greiner JV, Lemp MA, Korb DR. The relationship between dry eye symptoms and lipid layer thickness. *Cornea.* 2009;28(7):789-794.
- Boland MV, Ervin AM, Friedman DS, Jampel HD, Hawkins BS, Vollenweider D, Chelladurai Y, Ward D, Suarez-Cuervo C, R. K. Comparative effectiveness of treatments for open-angle glaucoma: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 158, 271-9 (2013).
- Bordel-Gómez MT, Sánchez-Estella J, Santos-Durán JC. Unilateral allergic contact dermatitis of the eyelid caused by lopimax. *Actas Dermosifiliogr* 2009 Dec; 100 (10): 917-8.
- Bradley JC, Bradley RH, McCartney DL, Mannis MJ. Serum growth factor analysis in dry eye syndrome. *Clin Experiment Ophthalmol* 2008; 36:717-20.
- Brandt, J. D., Beiser, J. A., Kass, M. A. & Gordon, M. O. Central Corneal Thickness in the Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS). *Ophthalmol* 108, 1779-1788 (2001).
- Brasnu E, Brignole-Baudouin F, Riancho L, Guenoun JM, Warnet JM, Baudouin C. In vitro effects of preservative-free tafluprost and preserved latanoprost, travoprost, and bimatoprost in a conjunctival epithelial cell line. *Curr Eye Res.* 2008 Apr;33(4):303-12.
- Brewitt H, Sistani F. *Surv Ophthalmol.* 2001 Mar; 45 Suppl 2: S199-202. Dry eye disease: the scale of the problem.
- Broadway DC, Grierson I, O'Brien C, Hitchings RA. Adverse effects of topical antiglaucoma medication. II. The outcome of filtration surgery. *Arch Ophthalmol.* 1994 Nov; 112(11):1446-54.
- Broman AT, Quigley HA, West SK, Katz J, Munoz B, Bandeen-Roche K, Tielsch JM, Friedman DS, Crowston J, Taylor HR, Varma R, Leske MC, Bengtsson B, Heijl A, He M, F. P. Estimating the rate of progressive visual field damage in those with open-angle glaucoma, from cross-sectional data. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 49, 66- 76 (2008).
- Bron AJ, Tomlinson A, Foulks GN, Pepose JS, Baudouin C, Geerling G, et al. Rethinking Dry Eye Disease: A Perspective on Clinical Implications. *Ocul Surf* 2014; 12: S1-S31.

- Buron N, Micheau O, Cathelin S, Lafontaine P-O, Creuzot-Garcher C, Solary E. Differential mechanisms of conjunctival cell death induction by ultraviolet irradiation and benzalkonium chloride. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47:4221–30.
- Camp A, Wellik SR, Tzu JH, Feuer W, Arheart KL, Sastry A, Galor A. Dry eye specific quality of life in veterans using glaucoma drops. *Cont Lens Anterior Eye*. 2015 Jun; 38(3):220-5. 2015 Feb 24.
- Caraccio TR, McGuigan MA. Benzalkonium chloride, in Dart RC (ed): *Medical toxicology*. New York, NY, Lippincott Williams & Wilkins, 2004, ed 3, pp 1255-7.
- Chauhan BC, Garway-Heath DF, Goñi FJ, Rossetti L, Bengtsson B, Viswanathan AC, H. A. Practical recommendations for measuring rates of visual field change in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 92, 569– 73 (2008).
- Chauhan BC, Mikelberg FS, Balaszi AG, LeBlanc RP, Lesk MR, T. G. C. G. S. G. Canadian Glaucoma Study: 2. risk factors for the progression of open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 126, 1030–6 (2008).
- Chew CK, Jansweijer C, Tiffany JM, Dikstein S, Bron AJ. An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: the Meibometer. *Curr Eye Res*. 1993;12:247-254.
- Cho P, Yap M. Schirmer test. I. A review. *Optom Vis Sci*. 1993 Feb; 70(2):152-6.
- Chung SH, Lee SK, Cristol SM, et al. Impact of short-term exposure of commercial eyedrops preserved with benzalkonium chloride on precorneal mucin. *Mol Vis* 2006; 12:415-21.
- Clouzeau C, Godefroy D, Riancho L, et al. Hyperosmolarity potentiates toxic effects of benzalkonium chloride on conjunctival epithelial cells in vitro. *Mol Vis* 2012; 18:851–863.
- Collin HB, Carroll N. Ultrastructural changes to the corneal endothelium due to benzalkonium chloride. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986; 64:226-31.
- Collin HB, Grabsch BE. The effect of ophthalmic preservatives on the healing rate of the rabbit corneal epithelium after keratectomy. *Am J Optom Physiol Opt* 1982; 59:215-22.
- Collin HB. Ultrastructural changes to corneal stromal cells due to ophthalmic preservatives. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986; 64:72-8.
- Corazza M, Virgili A, Mantovani L, et al. Allergic contact dermatitis from cross-reacting beta-blocking agents. *Contact Dermatitis* 1993 Mar; 28 (3): 188-9 35.
- Costagliola C, Prete AD, Incorvaia C, Fusco R, Parmeggiani F, Di Giovanni A. Ocular surface changes induced by topical application of latanoprost and timolol: a short-term study in glaucomatous patients with and without allergic conjunctivitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2001 Nov; 239(11):809-14.
- Cox JA, Mollan SP, Bankart J, Robinson R. Efficacy of antiglaucoma fixed combination therapy versus unfixed components in reducing intraocular pressure: a systematic review. *Br J Ophthalmol*. 2008; 92: 729-734.
- Cronau H, Kankanala RR, Mauger T. Diagnosis and management of red eye in primary care. *Am Fam Physician*. 2010; 81: 137–144.
- Cucherat M, Stalmans I, Rouland J-F. Relative Efficacy and Safety of Preservative-free Latanoprost (T2345) for the Treatment of Open-Angle Glaucoma and Ocular Hypertension. *J Glaucoma* 2014; 23:e69–75.
- Cvenkel B, Štunf Š, Srebotnik Kirbiš I, Strojjan Fležar M. Symptoms and signs of ocular surface disease related to topical medication in patients with glaucoma. *Clin Ophthalmol*. 2015 Apr 8; 9:625-31.
- Danjo Y, Lee M, Horimoto K, Hamano T. Ocular surface damage and tear lactoferrin in dry eye syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1994; 72:433- 437.
- De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, Rahman HT, Chang VY, Farley WJ, et al. Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon-gamma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48:2553–60.
- De Saint Jean M, Debbasch C, Brignole F, Rat P, Warnet JM, Baudouin C. Toxicity of preserved and unpreserved antiglaucoma topical drugs in an in vitro model of conjunctival cells. *Curr Eye Res*. 2000 Feb; 20(2):85-94.

- De Santis L. Preclinical overview of brinzolamide. *Surv Ophthalmol* 2000 Jan; 44 Suppl. 2: S119-29.
- De Waard PW, Ijspeert JK, van den Berg TJ, de Jong PT. Intraocular light scattering in age-related cataracts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992 Mar; 33(3):618-25.
- Debbasch C, Brignole F, Pisella PJ, et al. Quaternary ammoniums and other preservatives' contribution in oxidative stress and apoptosis on Chang conjunctival cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42:642-52.
- Delaney YM, Salmon JF, Mossa F, et al. Periorbital dermatitis as a side effect of topical dorzolamide. *Br J Ophthalmol* 2002 Apr; 86 (4): 378-80.
- Diaz-Valle D, Arriola-Villalobos P, García-Vidal SE, Sánchez-Pulgarín M, Borrego Sanz L, Gegúndez-Fernández JA, Benitez-Del-Castillo JM. Effect of lubricating eyedrops on ocular light scattering as a measure of vision quality in patients with dry eye. *J Cataract Refract Surg.* 2012 Jul; 38 (7):1192-7.
- Domingo Gordo B, Urcelay Segura JL, Conejero Arroyo J, et al. Corneal decompensation in patients with endothelial compromise treated with topical dorzolamide. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2002 Mar; 77 (3): 139-44.
- Dougherty BE, Nichols JJ, Nichols KK, et al. Rasch analysis of the Ocular Surface Disease Index (OSDI). *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Nov 7; 52 (12):8630-5.
- Efron N, Morgan PB, Jagpal R. Validation of computer morphs for grading contact lens complications. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2002 Jul; 22(4):341-9.
- Efron N, Morgan PB, Katsara SS. Validation of grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic Physiol Opt* 2001; 21: 17-29.
- Efron N. Grading scales. *Optician* 2000; 219: 44-5.
- Epstein R, Brown SV, Dennis RF, et al. Combination of systemic acetazolamide and topical dorzolamide. *Ophthalmology* 1998; 105: 1581-2.
- Epstein SP, Chen D, Asbell PA. Evaluation of biomarkers of inflammation in response to benzalkonium chloride on corneal and conjunctival epithelial cells. *J Ocul Pharmacol Ther* 2009; 25:415.
- Esaki Y, Shimazaki A, Pellinen P. Ocular Tolerability of Preservative-Free Tafluprost and Latanoprost: and Comparative Study. *Open Ophthalmol J* 2016; 10:146-53.
- Farris RL. The dry eye: its mechanism and therapy, with evidence that contact lens is a cause. *CLAO J.* 1986; 12(4):234-246.
- Fechtner RD, Godfrey DG, Budenz D, Stewart JA, Stewart WC, Jasek MC. Prevalence of ocular surface complaints in patients with glaucoma using topical intraocular pressure-lowering medications. *Cornea.* 2010 Jun; 29(6):618-21.
- Fechtner RD, Realini T. Fixed combinations of topical glaucoma medications. *Curr Opin Ophthalmol.* 2004; 15: 132-135.
- Feenstra RP, Tseng SC. Comparison of fluorescein and rose Bengal staining. *Ophthalmology.* 1992; 99:605-617.
- Feldman RM. Conjunctival hyperemia and the use of topical prostaglandins in glaucoma and ocular hypertension. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2003 Feb; 19(1):23-35.
- Fellman RL, Sullivan EK, Ratliff M, et al. Comparison of travoprost 0.0015% and 0.004% with timolol 0.5% in patients with elevated intraocular pressure: a 6-month, masked, multicenter trial. *Ophthalmology.* 2002; 109:998-1008.
- Ferrari G, Rabiolo A, Bignami F, Sizzano F, Palini A, Villa C, Rama P. Quantifying Ocular Surface Inflammation and Correlating It With Inflammatory Cell Infiltration In Vivo: A Novel Method. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015 Nov 1; 56(12):7067-75.
- Fieguth P, Simpson T. Automated measurement of bulbar redness. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002 Feb; 43(2):340-7.
- Fiore PM, Jacobs IH, Goldberg DB. Drug-induced pemphigoid: a spectrum of diseases. *Arch Ophthalmol* 1987 Dec; 105 (12): 1660-3.

Francis BA, Du LT, Berke S, Ehrenhaus M, Minckler DS, Cosopt Study Group. Comparing the fixed combination dorzolamide-timolol (Cosopt) to concomitant administration of 2% dorzolamide (Trusopt) and 0.5% timolol – a randomized controlled trial and a replacement study. *J Clin Pharm Ther*. 2004; 29: 375-380.

Franssen L, Coppens JE, van den Berg TJ. Compensation comparison method for assessment of retinal straylight. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006 Feb; 47(2):768-76.

Friedlaender MH, Breshears D, Amoozgar B, Sheardown H, Senchyna M. The dilution of benzalkonium chloride (BAK) in the tear film. *Adv Ther*. 2006 Nov-Dec; 23(6):835-41.

Friedman DS, Wilson MR, Liebmann JM, Fechtner RD, W. R. An evidence-based assessment of risk factors for the progression of ocular hypertension and glaucoma. *Am J Ophthalmol* 19–31 (2004). [a].

Friedman DS, Wolfs RC, O'Colmain BJ, Klein BE, Taylor HR, West S, Leske MC, Mitchell P, Congdon N, K. J. Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. *Arch Ophthalmol*. 122, 532– 538 (2004).[b]

Fujikado T, Kuroda T, Maeda N, Ninomiya S, Goto H, Tano Y, Oshika T, Hirohara Y, Mihashi T. Light scattering and optical aberrations as objective parameters to predict visual deterioration in eyes with cataracts. *J Cataract Refract Surg*. 2004 Jun; 30(6):1198-208.

Furrer P, Mayer JM, Gurny R. Ocular tolerance of preservatives and alternatives. *Eur J Pharm Biopharm* 2002;53:263–80.

Galor A, Felix ER, Feuer W, Shalabi N, Martin ER, Margolis TP, Sarantopoulos CD, Levitt RC. Dry eye symptoms align more closely to non-ocular conditions than to tear film parameters. *Br J Ophthalmol*. 2015 Aug;99(8):1126-9.

Garcia-Feijoo J, Sampaolesi JR. A multicenter evaluation of ocular surface disease prevalence in patients with glaucoma. *Clin Ophthalmol*. 2012; 6:441-6.

Ghosh S, O'Hare F, Lamoureux E, Vajpayee RB, Crowston JG. Prevalence of signs and symptoms of ocular surface disease in individuals treated and not treated with glaucoma medication. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2012 Sep-Oct; 40 (7):675-81.

Gilbard JP, Farris RL, Santamaria J. Osmolarity of tear microvolumes in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol*. 1978;96:677-681.

Goldberg I, Goldberg H. Betaxolol eye drops: a clinical trial of safety and efficacy. *Aust N Z J Ophthalmol* 1995 Feb; 23 (1): 17-24.

Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, Heuer DK, Higginbotham EJ, J. C. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 120, 714–720 (2002).

Gordon RN, Liebmann JM, Greenfield DS, et al. Lack of cross-reactive allergic response to brimonidine in patients with known apraclonidine allergy. *Eye* 1998; 12: 697-700.

Goren MB, Goren SB. Diagnostic tests in patients with symptoms of keratoconjunctivitis sicca. *Am J Ophthalmol*. 1988;106:570-574.

Goto T, Zheng X, Klyce SD, Kataoka H, Uno T, Karon M, Tatematsu Y, Bessyo T, Tsubota K, Ohashi Y. A new method for tear film stability analysis using videokeratography. *Am J Ophthalmol*. 2003 May; 135(5):607-12.

Green K, Hull DS, Vaughn ED, et al. Rabbit endothelial response to ophthalmic preservatives. *Arch Ophthalmol* 1977; 95:2218-21.

Grieshaber MC, Mozaffarieh M, F. J. What is the link between vascular dysregulation and glaucoma? *Surv Ophthalmol*. 52 Suppl 2, 144–54 (2007).

Grubbs JR Jr, Tolleson-Rinehart S, Huynh K, Davis RM. A review of quality of life measures in dry eye questionnaires. *Cornea*. 2014;33(2):215–218.

Grus FH, Sabuncuo P, Augustin A, Pfeiffer N. Effect of smoking on tear proteins. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2002;240(11):889–892.

Güell JL, Pujol J, Arjona M, Diaz-Douton F, Artal P. Optical Quality Analysis System; Instrument for objective clinical evaluation of ocular optical quality. *J Cataract Refract Surg*. 2004 Jul; 30 (7):1598-9.

- Halkiadakis I, Kontadakis GA, Tsiakou D, Patsea E, Mitropoulos P, Kandarakis AS. Effect of Glaucoma Medication in Tear Film Osmolarity of Patients Without Symptoms of Ocular Discomfort. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2015 Jul-Aug; 31(6):330-4.
- Hamrah P, Alipour F, Jiang S, Sohn JH, Foulks GN. Optimizing evaluation of lissamine green parameters for ocular surface staining. *Eye (Lond)*. 2011; 25(11):1429-1434.
- Hashemi H, Khabazkhoob M, Kheirkhah A, et al. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. *Clin Experiment Ophthalmol*. August 8, 2013. [Epub ahead of print].
- Hegde V, Robinson R, Dean F, et al. Drug-induced ectropion: what is best practice? *Ophthalmology* 2007 Feb; 114(2): 362-6.
- Hellberg MR, Sallee VL, McLaughlin MA, et al. Preclinical efficacy of travoprost, a potent and selective FP prostaglandin receptor agonist. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2001 Oct; 17(5):421-32.
- Helton J, Storrs FJ. Pilocarpine allergic contact and photocontact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1991 Aug; 25(2): 133-4.
- Henriksen BS, Kinard K, Olson RJ. Effect of intraocular lens glistening size on visual quality. *J Cataract Refract Surg*. 2015 Jun; 41(6):1190-8.
- Henry JC, Peace JH, Stewart JA, Stewart WC. Efficacy, safety, and improved tolerability of travoprost BAK-free ophthalmic solution compared with prior prostaglandin therapy. *Clin Ophthalmol* 2008; 2:613-21.
- Herreras JM, Pastor JC, Calonge M, Asensio VM. Ocular surface alteration after long-term treatment with an antiglaucomatous drug. *Ophthalmology*. 1992 Jul; 99(7):1082-8.
- Higginbotham E, Feldman R, Stiles M, Dubiner H, Fixed Combination Investigative Group. Latanoprost and timolol combination therapy vs monotherapy. *Arch Ophthalmol* 2002; 120:915-22.
- Higginbotham EJ, Gordon MO, Beiser JA, Drake MV, Bennett GR, W.M. The Ocular Hypertension Treatment Study: topical medication delays or prevents primary open-angle glaucoma in African American individuals. *Arch Ophthalmol* 122, 813-820. (2004).
- Hommer A, Ganfort Investigators Group I. A double-masked, randomized, parallel comparison of a fixed combination of bimatoprost 0.03%/timolol 0.5% with non-fixed combination use in patients with glaucoma or ocular hypertension. *Eur J Ophthalmol*. 2007; 17: 53-62.
- Hong J, Bielory L. Allergy to ophthalmic preservatives. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009 Oct; 9(5):447-53.
- Hong J, Liu Z, Hua J, Wei A, Xue F, Yang Y, Sun X, Xu J. Evaluation of age-related changes in noninvasive tear breakup time. *Optom Vis Sci*. 2014 Feb; 91(2):150-5.
- Hong J, Sun X, Wei A, Cui X, Li Y, Qian T et al. Assessment of tear film stability in dry eye with a newly developed keratograph. *Cornea*. 2013 May; 32(5):716-21.
- Hong J, Zhu W, Zhuang H, et al. In vivo confocal microscopy of conjunctival goblet cells in patients with Sjogren's syndrome dry eye. *Br J Ophthalmol*. 2010; 94:1454-1458.
- Honrubia F, García-Sánchez J, Polo V, de la Casa JM, Soto J. Conjunctival hyperaemia with the use of latanoprost versus other prostaglandin analogues in patients with ocular hypertension or glaucoma: a meta-analysis of randomised clinical trials. *Br J Ophthalmol*. 2009 Mar; 93(3):316-21.
- Ibrahim OM, Matsumoto Y, Dogru M, Adan ES, Wakamatsu TH, Goto T, Negishi K, Tsubota K. The efficacy, sensitivity, and specificity of in vivo laser confocal microscopy in the diagnosis of Meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology*. 2010; 117:665-72.
- Ichijima H, Petroll WM, Jester JV, Cavanagh HD. Confocal microscopic studies of living rabbit cornea treated with benzalkonium chloride. *Cornea* 1992; 11:221-5.
- Iijima A, Shimizu K, Kobashi H, Saito A, Kamiya K. Repeatability, Reproducibility, and Comparability of Subjective and Objective Measurements of Intraocular Forward Scattering in Healthy Subjects. *Biomed Res Int*. 2015; 2015:925217.

Imanishi J, Kamiyama K, Iguchi I, Kita M, Sotozono C, Kinoshita S. Growth factors: Importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19:113–29.

Ingram PR, Pitt AR, Wilson CG, et al. A comparison of the effects of ocular preservatives on mammalian and microbial ATP and glutathione levels. *Free Radic Res* 2004; 38:739-50.

Inoue K, Okugawa K, Kato S, Inoue Y, Tomita G, Oshika T, Amano S. Ocular factors relevant to anti-glaucomatous eyedrop-related keratoepitheliopathy. *J Glaucoma*. 2003 Dec; 12(6):480-5.

Jackson WB. Differentiating conjunctivitis of diverse origins. *Surv Ophthalmol* 1993 Jul-Aug; 38 Suppl.: 91-104.

Jaenen N, Baudouin C, Pouliquen P, et al. Ocular symptoms and signs with preserved and preservative-free glaucoma medications. *Eur J Ophthalmol* 2007; 17:341-9.

Januleviciene I, Derkac I, Grybauskiene L, et al. Effects of preservative-free tafluprost on tear film osmolarity, tolerability, and intraocular pressure in previously treated patients with open-angle glaucoma. *Clin Ophthalmol* 2012; 6:103–109.

Jappe U, Uter W, Menezes de Pádua CA, Herbst RA, Schnuch A. Allergic contact dermatitis due to beta-blockers in eye drops: a retrospective analysis of multicentre surveillance data 1993-2004. *Acta Derm Venereol*. 2006; 86(6):509-14.

Johnson DH, Epstein DL, Allen RC, et al. A one-year multicenter clinical trial of pilocarpine gel. *Am J Ophthalmol* 1984; 97: 723-9

Johnson DH, Kenyon KR, Epstein DL, Van Buskirk EM. Corneal changes during pilocarpine gel therapy. *Am J Ophthalmol*. 1986 Jan 15; 101(1):13-5.

Johnson DH, Yoshikawa K, Brubaker RF, Hodge DO. The effect of long-term medical therapy on the outcome of filtration surgery. *Am J Ophthalmol*. 1994 Feb 15; 117(2):139-48.

Johnson DH. Progress in glaucoma: early detection, new treatments, less blindness. *Ophthalmology* 110, 1271–2 (2003).

Jordan A, Baum J. Basic tear flow. Does it exist? *Ophthalmology*. 1980; 87:920–930.

Kamiya K, Shimizu K, Saito A, Igarashi A, Kobashi H. Comparison of optical quality and intraocular scattering after posterior chamber phakic intraocular lens with and without a central hole (Hole ICL and Conventional ICL) implantation using the double-pass instrument. *PLoS One*. 2013 Jun 25; 8(6):e66846.

Kang MH, Kim MK, Lee HJ, Lee H II, Wee WR, Lee JH. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases. *J Korean Med Sci* 2011; 26:938–44. doi:10.3346/jkms.2011.26.7.938.

Kashkouli MB, Pakdel F, Amani A, Asefi M, Aghai GH, Falavarjani KG. A modified Schirmer test in dry eye and normal subjects: open versus closed eye and 1-minute versus 5-minutes tests. *Cornea*. 2010; 29(4): 384–387.

Kashkouli MB, Rezaee R, Nilforoushan N, et al. Topical antiglaucoma medications and lacrimal drainage system obstruction. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2008 May-Jun; 24 (3): 172-5.

Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK 2nd, Wilson MR, G. M. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 120, 701–13 (2002).

Kass MA. Compliance and prognosis in glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 1985 Apr; 103(4):504.

Katz LJ. Brimonidine tartrate 0.2% twice daily vs timolol 0.5% twice daily: 1-year results in glaucoma patients. Brimonidine Study Group. *Am J Ophthalmol*. 1999 Jan; 127(1):20-6.

Kaufman HE, Vamell ED, Thompson HW. Latanoprost increases the severity and recurrence of herpetic keratitis in the rabbit. *Am J Ophthalmol* 1999; 127: 531-6.

Kawase K, Lin W, Aoyama Y, et al. Effects of timolol-related ophthalmic solutions on cultured human conjunctival cells. *Jpn J Ophthalmol* 2010; 54:615-21.

Keating GM. Tafluprost Ophthalmic Solution 0.0015 %: A Review in Glaucoma and Ocular Hypertension. *Clin Drug Investig* 2016; 36:499–508.

- Kijlstra A, Jeurissen SH, Koning KM. Lactoferrin levels in normal human tears. *Br J Ophthalmol*. 1983;67:199-202.
- Kobayashi H, Kobayashi K. A correlation between latanoprost-induced conjunctival hyperemia and intraocular pressure-lowering effect. *J Glaucoma*. 2011 Jan; 20(1):3-6.
- Koh S, Ikeda C, Watanabe S, Oie Y, Soma T, Watanabe H, Maeda N, Nishida K. Effect of non-invasive tear stability assessment on tear meniscus height. *Acta Ophthalmol*. 2015 Mar; 93(2):e135-9.
- Kohlhaas M, Mammen A, Richard G. Change in corneal sensitivity after topical dorzolamide administration: a comparative study. *Ophthalmologie*. 1997 Jun; 94 (6): 424-7.
- Konstas AG, Maltezos AC, Gandi S, Hudgins AC, S. W. Comparison of 24-hour intraocular pressure reduction with two dosing regimens of latanoprost and timolol maleate in patients with primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 128, 15–20 (1999).
- Konstas AG, Quaranta L, Realini T. Overview of the travoprost /timolol BAK-free fixed combination. *Expert Opin Pharmacother*. 2012; 13: 757-766.
- Kook MS, Lee K. Increased eyelid pigmentation associated with use of latanoprost. *Am J Ophthalmol* 2000 Jun; 129 (6): 804-6.
- Kozobolis VP, Detorakis ET, Maskaleris G et al. Corneal sensitivity changes following the instillation of latanoprost, bimatoprost, and travoprost eyedrops. *Am J Ophthalmol*. 2005 Apr; 139 (4):742-3.
- Labbé A, Terry O, Brasnu E, Van Went C, Baudouin C. Tear film osmolarity in patients treated for glaucoma or ocular hypertension. *Cornea*. 2012 Sep;31(9):994-9.
- Lamberts DW, Foster CS, Perry HD. Schirmer test after topical anesthesia and the tear meniscus height in normal eyes. *Arch Ophthalmol*. 1979;97(6):1082–1085.
- Lan W, Lin L, Yang X, Yu M. *Optom Vis Sci*. 2014 Dec; 91(12):1412-8. Automatic noninvasive tear breakup time (TBUT) and conventional fluorescent TBUT.
- Lark KK, Pasha AS, Yan X, et al. The effect of latanoprost and brimonidine on rabbit subconjunctival fibroblasts. *J Glaucoma* 1999 Feb; 8 (1): 72-6.
- Lee K, Ahn JM, Kim EK, Kim TI. Comparison of optical quality parameters and ocular aberrations after wavefront-guided laser in-situ keratomileusis versus wavefront-guided laser epithelial keratomileusis for myopia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2013 Sep;251(9):2163-9.
- Lee K, Sohn J, Choi JG, Chung SK. Optical quality in central serous chorioretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 Dec 2; 55(12):8598-603.
- Lee R, Yeo S, Aung HT, Tong L. Agreement of noninvasive tear break-up time measurement between Tomey RT-7000 Auto Refractor-Keratometer and Oculus Keratograph 5M. *Clin Ophthalmol*. 2016 Sep 16; 10:1785-1790.
- Lee SY, Wong TT, Chua J et al. Effect of chronic anti-glaucoma medications and trabeculectomy on tear osmolarity. *Eye (Lond)*. 2013 Oct; 27(10):1142-50.
- Leibowitz HM. The red eye. *N Engl J Med*. 2000; 343:345–351.
- Lemij HG, Hoevenaars JG, van der Windt C, Baudouin C. Patient satisfaction with glaucoma therapy: reality or myth? *Clin Ophthalmol*. 2015 May 4; 9:785-93.
- Lemp M, Baudouin C, Baum J, Dogru M, Foulks GN, Kinoshita S, Laibson P, McCulley J, Murube J, Pflugfelder SC, Rolando M, Tavakoli A. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). *Ocul Surf*. 2007 Apr; 5(2):75-92.
- Lemp MA, Bron AJ, Baudouin C, Benítez Del Castillo JM, Geffen D, Tauber J, Foulks GN, Pepose JS, Sullivan BD. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol*. 2011 May; 151(5):792-798.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2010.10.032. Epub 2011 Feb 18. Gupta R, Vernon SA. An unusual appearance of limbal conjunctival follicles in a patient on brimonidine and dorzolamide. *Eye (Lond)* 2005 Mar; 19 (3): 356-8.

- Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* 1995; 21:221- 232.
- Leske MC, Heijl A, Hyman L, B. B. Early Manifest Glaucoma Trial: design and baseline data. *Ophthalmol* 106, 2144–2153 (1999).
- Leung EW, Medeiros FA, Weinreb RN. Prevalence of ocular surface disease in glaucoma patients. *J Glaucoma.* 2008 Aug;17(5):350-5.
- Liang H, Pauly A, Riancho L, Baudouin C, Brignole-Baudouin F. Toxicological evaluation of preservative-containing and preservative-free topical prostaglandin analogues on a three-dimensional-reconstituted corneal epithelium system. *Br J Ophthalmol.* 2011 Jun; 95(6):869-75.
- Lichter PR, Musch DC, Gillespie BW, Guire KE, Janz NK, Wren PA, M. R. Interim clinical outcomes in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study comparing initial treatment randomized to medications or surgery. *Ophthalmology* 108, 1943–53 (2001).
- Lin YY, Carrel H, Wang JJ, et al. Effect of tear film break-up on higher order aberrations of the anterior cornea in normal, dry, and post-LASIK eyes. *J Refract Surg.* 2005;21(5):S525–S529.
- Liu, S, Lin, Y. & Liu, X. Meta-Analysis of Association of Obstructive Sleep Apnea. *J Glaucoma* 25, 1–7 (2016).
- Lopes JF, Hubatsch DA, Amaris P. Effect of benzalkonium chloride-free travoprost on intraocular pressure and ocular surface symptoms in patients with glaucoma previously on latanoprost: an open-label study. *BMC Ophthalmol.* 2015 Nov 12; 15:166.
- Lopez Bernal D, Ubels JL. Quantitative evaluation of the corneal epithelial barrier: effect of artificial tears and preservatives. *Curr Eye Res* 1991; 10:645-56.
- Luo L, Li D-Q, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4293–301. doi:10.1167/iovs.03-1145.
- 180 Maas S, Ros FE, De Heer LJ, De Keizer RJ. Long-term treatment with Pilogel/beta-blocker in glaucoma patients. *Int Ophthalmol.* 1991 Jul;15(4):281-4.
- Martone G, Frezzotti P, Tosi GM, et al. An in vivo confocal microscopy analysis of effects of topical antiglaucoma therapy with preservative on corneal innervation and morphology. *Am J Ophthalmol.* 2009 Apr; 147(4):725-735.
- Martone G, Frezzotti P, Tosi GM, Traversi C, Mittica V, Malandrini A, Pichierrri P, Balestrazzi A, Motolese PA, Motolese I, Motolese E. An in vivo confocal microscopy analysis of effects of topical antiglaucoma therapy with preservative on corneal innervation and morphology. *Am J Ophthalmol.* 2009 Apr; 147(4):725-735.e1.
- Massingale ML, Li X, Vallabhajosyula M, Chen D, Wei Y, Asbell PA. Analysis of inflammatory cytokines in the tears of dry eye patients. *Cornea.* 2009; 28:1023- 1027.
- Mathews PM, Ramulu PY, Friedman DS, Utine CA, Akpek EK. Evaluation of ocular surface disease in patients with glaucoma. *Ophthalmology.* 2013 Nov; 120(11):2241-8.
- McMonnies CW, Chapman-Davies A. Assessment of conjunctival hyperemia in contact lens wearers. I. *Am J Optom Physiol Opt* 1987; 64:246–50.
- McNab AA. Lacrimal canalicular obstruction associated with topical ocular medication. *Aust N Z J Ophthalmol* 1998 Aug; 26 (3): 219-23.
- Mietz H, Esser JM, Welsandt G, et al. Latanoprost stimulates secretion of matrix metalloproteinases in tenon fibroblasts both in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003 Dec; 44 (12): 5182-8.
- Mietz H, Niesen U, Kriegelstein GK. The effect of preservatives and antiglaucomatous medication on the histopathology of the conjunctiva. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994; 232: 561-5.
- Mietz H, Schlotzer-Schrehardt U, Strassfeld C, et al. Effect of latanoprost and timolol on the histopathology of the rabbit conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001 Mar; 42 (3): 679-87.

- Milanovic B, DanaR, SullivanDA, Schaumberg DA. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life *Am J Ophthalmol*. 2007; 143: 409-15.
- Miller KL, Walt JG, Mink DR, Satram-Hoang S, Wilson SE, Perry HD, Asbell PA, Pflugfelder SC. Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Arch Ophthalmol*. 2010 Jan; 128(1):94-101.
- Mirza SK, Higginbotham EJ. Iatrogenic glaucoma therapy failure: the adverse effects of topical antiglaucoma medication treatment outcome. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2009 Jan;2(1):87-99.
- Mocan MC, Uzunosmanoglu E, Kocabeyoglu S, Karakaya J, Irkec M. The Association of Chronic Topical Prostaglandin Analog Use With Meibomian Gland Dysfunction. *J Glaucoma*. 2016 Sep; 25 (9):770-4.
- Montés-Micó R. Role of the tear film in the optical quality of the human eye. *J Cataract Refract Surg*. 2007 Sep; 33(9):1631-5.
- Morales J, Shihab ZM, Brown SM, et al. Herpes simplex virus dermatitis in patients using latanoprost. *Am J Ophthalmol* 2001 Jul; 132 (1): 114-6.
- Moreno M, Villena A, Cabarga C, et al. Impression cytology of the conjunctival epithelium after antiglaucomatous treatment with latanoprost. *Eur J Ophthalmol* 2003 Jul; 13 (6): 553-9.
- Moschos MM, Chatziralli IP, Siasou G, Papazisis L. [Visual problems in young adults due to computer use]. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2012; 229(4):379–381. German.
- Motolko MA. Comparison of allergy rates in glaucoma patients receiving brimonidine 0.2% monotherapy versus fixed-combination brimonidine 0.2%-timolol 0.5% therapy. *Curr Med Res Opin*. 2008; 24: 2663-2667.
- Mullins RJ, Lones R, Dutta B. Lichenoid drug eruption secondary to topical timolol and dorzolamide eye-drops. *Australas J Dermatol* 2004 May; 45 (2): 151-2.
- Munshi V, Ahluwalia H. Erythema multiforme after use of topical dorzolamide. *J Ocul Pharmacol Ther* 2008 Feb; 24 (1): 91-3.
- Na K-S, Mok J-W, Kim JY, Rho CR, Joo C-K. Correlations between tear cytokines, chemokines, and soluble receptors and clinical severity of dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5443–50. doi:10.1167/iovs.11-9417.
- Nakamura Y, Sotozono C, Kinoshita S. Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res*. 1998;17:673-676.
- Nanavaty MA, Stanford MR, Sharma R, Dhital A, Spalton DJ, Marshall J. Use of the double-pass technique to quantify ocular scatter in patients with uveitis: a pilot study. *Ophthalmologica*. 2011; 225(1):61-6.
- Narioka J, Ohashi Y. Effects of beta-adrenergic antagonist on width of nasolacrimal drainage system lumen. *J Ocul Pharmacol Ther* 2007 Oct; 23 (5): 467-75.
- Nenciu A, Stefan C, Ardelean C. Structural and immunohistochemical changes of conjunctiva induced by topical glaucoma medication. *Oftalmologia* 2004; 48 (1): 35-42.
- Nguyen P, Huang D, Li Y, Sadda SR, Ramos S, Pappuru RR, Yiu SC. Correlation between optical coherence tomography-derived assessments of lower tear meniscus parameters and clinical features of dry eye disease *Cornea*. 2012 Jun; 31(6):680-5.
- Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The reliability and validity of McMonnies Dry Eye Index. *Cornea* 2004;23:365-71.
- Noecker R, Miller KV. *Ocul Surf*. 2011 Jul; 9(3):159-62. Benzalkonium chloride in glaucoma medications.
- Noguchi T, Kawasaki S, Mizoue S, et al. Mechanism of blurred vision after brinzolamide instillation. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2010 Apr; 114 (4): 369-73.
- Nordstrom BL, Friedman DS, Mozaffari E, Quigley HA, Walker AM. Persistence and adherence with topical glaucoma therapy. *Am J Ophthalmol*. 2005; 140: 598-5e1.
- Norn MS. Lissamine green. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1973; 51:483-491.
- Norn MS. Vital staining of the cornea and conjunctiva; with a mixture of fluorescein and rose bengal. *Am J Ophthalmol*. 1967;64: 1078-1080.

- Novack GD, Kelley EP, Lue JC. A multicenter evaluation of levobunolol (Vistagan) in Germany. *Ophthalmologica* 1988; 197:90-6.
- O'Donnell BF, Foulds IS. Contact allergy to beta-blocking agents in ophthalmic preparations. *Contact Dermatitis* 1993 Feb; 28 (2): 121-2.
- Olthoff CM, Schouten JS, van de Borne BW, Webers CA. Noncompliance with ocular hypotensive treatment in patients with glaucoma or ocular hypertension an evidence-based review. *Ophthalmology*. 2005; 112:953–961.
- Orme M, Collins S, Loftus J. Long-term medical management of primary open-angle glaucoma and ocular hypertension in the UK: optimizing cost-effectiveness and clinic resources by minimizing therapy switches. *J Glaucoma* 2012; 21:433–49.
- Osborne SA, Montgomery DM, Morris D, et al. Alphagan allergy may increase the propensity for multiple eye-drop allergy. *Eye (Lond)* 2005 Feb; 19 (2): 129-37.
- Paimela T, Ryhanen T, Kauppinen A, et al. The preservative polyquaternium-1 increases cytotoxicity and NF-kappaB linked inflammation in human corneal epithelial cells. *Mol Vis* 2012; 18:1189–1196.
- Palmowski AM, Ruprecht KW. The cornea and systemic diseases. *Curr Opin Ophthalmol*. 1995;6(4):17–20.
- Patel SC, Spaeth GL. Compliance in patients prescribed eyedrops for glaucoma. *Ophthalmic Surg*. 1995; 26: 233-236.
- Pauly A, Roubeyx C, Liang H, Brignole-Baudouin F, Baudouin C. In vitro and in vivo comparative toxicological study of a new preservative-free latanoprost formulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Dec 13; 53(13):8172-80.
- Peace JH, Ahlberg P, Wagner M, Lim JM, Wirta D, Branch JD. Polyquaternium-1-Preserved Travoprost 0.003% or Benzalkonium Chloride-Preserved Travoprost 0.004% for Glaucoma and Ocular Hypertension. *Am J Ophthalmol*. 2015 Aug; 160(2):266-274.e1.
- Pellinen P, Huhtala A, Tolonen A, et al. The cytotoxic effects of preserved and preservative-free prostaglandin analogs on human corneal and conjunctival epithelium in vitro and the distribution of benzalkonium chloride homologs in ocular surface tissues in vivo. *Curr Eye Res* 2012; 37:145–154.
- Perez- Cabre E, Millan MS, Abril HC, Otxoa E. Image processing of standard grading scales for objective assessment of contact lens wear complications. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 2004; 5622:107- 12.
- Peterson RC, Wolffsohn JS. Objective grading of the anterior eye. *Optom Vis Sci*. 2009 Mar; 86(3):273-8.
- Pisella PJ, Debbasch C, Hamard P, Creuzot-Garcher C, Rat P, Brignole F, Baudouin C. Conjunctival proinflammatory and proapoptotic effects of latanoprost and preserved and unpreserved timolol: an ex vivo and in vitro study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004 May; 45(5):1360-8.
- Pisella PJ, Fillacier K, Elena PP, et al. Comparison of the effects of preserved and unpreserved formulations of timolol on the ocular surface of albino rabbits. *Ophthalmic Res* 2000; 32:3-8.
- Pisella PJ, Pouliquen P, Baudouin C. Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative free glaucoma medication. *Br J Ophthalmol*. 2002 Apr; 86(4):418-23.
- Pozarowska D, Pozarowski P, Darzynkiewicz Z. Cytometric assessment of cytostatic and cytotoxic effects of topical glaucoma medications on human epithelial corneal line cells. *Cytometry B Clin Cytom* 2010 Mar; 78 (2): 130-7.
- Prieto PM, Vargas-Martín F, Goelz S, Artal P. Analysis of the performance of the Hartmann-Shack sensor in the human eye. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. 2000 Aug; 17(8):1388-98.
- Quaranta L, Biagioli E, Riva I, et al. Prostaglandin Analogs and Timolol-Fixed Versus Unfixed Combinations or Monotherapy for Open-Angle Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2012.
- Quigley, H. A. Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol* 80, 389–393 (1996).
- Quinto GG, Camacho W, Behrens A. Postrefractive surgery dry eye. *Curr Opin Ophthalmol*. 2008; 19(4):335–341.

Realini T, Nguyen QH, Katz G, Dubiner H. Fixed-combination brinzolamide 1%/brimonidine 0.2% vs monotherapy with brinzolamide or brimonidine in patients with open-angle glaucoma or ocular hypertension: results of a pooled analysis of two phase 3 studies. *Eye (Lond)*. 2013;27:841–847.

Reardon G, Kotak S, Schwartz GF. Objective assessment of compliance and persistence among patients treated for glaucoma and ocular hypertension: a systematic review. *Patient Prefer Adherence* 2011; 5:441–463.

Renieri G, Fuhrer K, Scheithe K, et al. Efficacy and tolerability of preservative free eye drops containing a fixed combination of dorzolamide and timolol in glaucoma patients. *J Ocul Pharmacol Ther* 2010; 26:597–603.

Rocha EM, Mantelli F, Nominato, Bonini S. Hormones and dry eye syndrome: an update on what we do and don't know. *Curr Opin Ophthalmol*. 2013;24(4):348–355.

Rolando M. Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. *Chibret International Journal of Ophthalmology*. 1984;2:32-41.

Rosenberg LF, Krupin T, Tang LQ, et al. Combination of systemic acetazolamide and topical dorzolamide in reducing intraocular pressure and aqueous humor formation. *Ophthalmology* 1998; 105: 88-93.

Rossi GC, Pasinetti GM, Scudeller L, Tinelli C, Milano G, Bianchi PE. Monitoring adherence rates in glaucoma patients using the Travatan Dosing Aid. A 6-month study comparing patients on travoprost 0.004% and patients on travoprost 0.004%/timolol 0.5% fixed combination. *Expert Opin Pharmacother* 2010;11(4):499-504.

Rossi GC, Tinelli C, Pasinetti GM, Milano G, Bianchi PE. Dry eye syndrome-related quality of life in glaucoma patients. *Eur J Ophthalmol*. 2009 Jul-Aug; 19(4):572-9.

Rouland J-F, Traverso CE, Stalmans I, Fekih L El, Delval L, Renault D, et al. Efficacy and safety of preservative-free latanoprost eyedrops, compared with BAK-preserved latanoprost in patients with ocular hypertension or glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2013; 97:196–200.

Rulo AH, Greve EL, Hoyng PF. Additive effect of latanoprost, a prostaglandin F2a analogue, and timolol in patients with elevated intraocular pressure. *Br J Ophthalmol* 1994; 78: 899-902 167.

Saade CE, Lari HB, Berezina TL, Fechtner RD, Khouri AS. Topical glaucoma therapy and ocular surface disease: a prospective, controlled cohort study. *Can J Ophthalmol*. 2015 Apr; 50(2):132-6.

Sánchez-Pulgarín M, Martínez-de-la-Casa JM, García-Feijoó J, et al. [Comparative study of the pressure lowering efficacy and variations in the ocular pulse amplitude between fixed combinations of dorzolamide/timolol and brinzolamide/timolol]. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2011; 86: 149-153.

Savini G, Barboni P, Zanini M. The incidence and risk factors for developing dry eye after myopic LASIK. *Am J Ophthalmol*. 2006; 142(2): 355–356.

Schein OD, Munoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol*. 1997; 124(6):c723–728

Scherzer ML, Liehneova I, Muñoz-Negrete FJ, Schnober. Travoprost 0.004%/timolol 0.5% fixed combination in patients transitioning from fixed or unfixed bimatoprost 0.03%/timolol 0.5%. *Adv Ther*. 2011; 28: 661-670.

Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol*. 2000 May; 118(5):615-21.

Schmidl D, Witkowska KJ, Kaya S, Baar C, Faatz H, Nepp J, Unterhuber A, Werkmeister RM, Garhofer G, Schmetterer L. The association between subjective and objective parameters for the assessment of dry-eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015 Feb 3; 56 (3):1467-72.

Schulze MM, Hutchings N, Simpson TL. The conversion of bulbar redness grades using psychophysical scaling. *Optom Vis Sci*. 2010 Mar; 87(3):159-67.

Schulze MM, Hutchings N, Simpson TL. The perceived bulbar redness of clinical grading scales. *Optom Vis Sci*. 2009 Nov; 86(11):E1250-8.

- Schulze MM, Hutchings N, Simpson TL. The Use of Fractal Analysis and Photometry to Estimate the Accuracy of Bulbar Redness Grading Scales. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Apr; 49(4):1398-406.
- Schwartz GF, Quigley HA. Adherence and persistence with glaucoma therapy. *Surv Ophthalmol*. 2008; 53(Suppl 1):S57-S68.
- Scruggs JT, Whiteside-Michel J, Brodsky MC. The teardrop sign: a rare dermatological reaction to brimonidine. *Br J Ophthalmol* 2000 Jun; 84 (6): 671-2.
- Scuderi G, Contestabile MT, Gagliano C, Iacovello D, Scuderi L, Avitabile T. Effects of phytoestrogen in postmenopausal women with dry eye syndrome: a randomized clinical trial. *Can J Ophthalmol*. 2012; 47(6):489-492.
- Seider N, Miller B, Beiran I. Topical glaucoma therapy as a risk factor for nasolacrimal duct obstruction. *Am J Ophthalmol* 2008 Jan; 145 (1): 120-3.
- Servat JJ, Bernardino CR. Effects of common topical antiglaucoma medications on the ocular surface, eyelids and periorbital tissue. *Drugs Aging* 2011; 28: 267-282.
- Shahidi M, Yang Y, Rajagopalan AS, Alexander KR, Zekha R, Fishman GA. A method for differentiating ocular higher-order aberrations from light scatter applied to retinitis pigmentosa. *Optom Vis Sci*. 2005 Nov; 82 (11):976-80.
- Shen M, Li J, Wang J, Ma H, Cai C, Tao A, Yuan Y, Lu F. Upper and lower tear menisci in the diagnosis of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Jun; 50(6):2722-6.
- Sherwood M, Brandt J, Bimatoprost Study Groups 1 and 2. Six-month comparison of bimatoprost once-daily and twice-daily with timolol twice-daily in patients with elevated intraocular pressure. *Surv Ophthalmol* 2001; 45 suppl 4:S361-8.
- Shida N, Odani-Kawabata N, Shimazaki A, Hara H. Prostanoids in the therapy of glaucoma. *Cardiovasc Drug Rev* 2006; 24:1-10.
- Shimazaki J, Hanada K, Yagi Y, et al. Changes in ocular surface caused by antiglaucomatous eyedrops: prospective, randomised study for the comparison of 0.5% timolol v 0.12% unoprostone. *Br J Ophthalmol* 2000 Nov; 84 (11): 1250-4.
- Shoji T, Sato H, Mizukawa A, Hirota N, Enoki T, Kojima T, Kanda T, T. M. Hypotensive effect of latanoprost/timolol versus travoprost/timolol fixed combinations in NTG patients: a randomized, multicenter, crossover clinical trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54, 6242-7 (2013).
- Silver LH. Clinical efficacy and safety of brinzolamide (Azopt), a new topical carbonic anhydrase inhibitor for primary open angle glaucoma and ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 1998 Sep; 126 (3): 400-8.
- Skalicky SE, Goldberg I, McCluskey P. Ocular surface disease and quality of life in patients with glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2012 Jan; 153 (1):1-9.e2.
- Sodhi PK, Verma L, Ratan J. Dermatological side effects of brimonidine: a report of three cases. *J Dermatol* 2003 Sep; 30 (9): 697-700.
- Sodhi PK, Verna L, Ratan SK. Contact dermatitis from topical bimatoprost. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 50.
- Stefan C, Dumitrica DM. Ocular surface dysfunction in glaucoma. *Oftalmologia* 2008; 52 (3): 114-9.
- Steuhl KP, Knorr M, Frohn A, et al. Effect of anti-glaucoma eyedrops on cell differentiation of the conjunctiva. *Fortschr Ophthalmol* 1991; 88 (6): 865-9
- Stewart WC, Stewart JA, Day DG, et al. Efficacy and safety of the latanoprost/timolol maleate fixed combination vs concomitant brimonidine and latanoprost therapy. *Eye* 2004; 18:990-5.
- Stewart WC, Stewart JA, Nelson LA. Ocular surface disease in patients with ocular hypertension and glaucoma. *Curr Eye Res*. 2011 May; 36 (5):391-8.
- Stjemschantz JW, Albert DM, Hu DN, et al. Mechanism and clinical significance of prostaglandin-induced iris pigmentation. *Surv Ophthalmol* 2002 Aug; 47 Suppl. 1: S162-75

- Strahlman E, Tipping R, Vogel R. A double-masked, randomized 1-year study comparing dorzolamide (Trusopt), timolol, and betaxolol. *International Dorzolamide Study Group. Arch Ophthalmol* 1995 Aug; 113 (8): 1009-16.
- Strempel I. The influence of topical beta-blockers on the breakup time. *Ophthalmologica* 1984; 189 (3): 110-5.
- Sugrue MF, Mallorga P, Schwam H, et al. A comparison of L-671,152 and MK-927, two topically effective ocular hypotensive carbonic anhydrase inhibitors, in experimental animals. *Curr Eye Res* 1990 Jun; 9 (6): 607-15.
- Sullivan BD, Crews LA, Sönmez B, de la Paz MF, Comert E, Charoenrook V, de Araujo AL, Pepose JS, Berg MS, Kosheleff VP, Lemp MA. Clinical utility of objective tests for dry eye disease: variability over time and implications for clinical trials and disease management. *Cornea*. 2012 Sep;31(9):1000-8
- Tabbara KF, Okumoto M. Ocular ferning test. A qualitative test for mucus deficiency. *Ophthalmology*. 1982;89: 712- 714.
- Takagi Y, Osaki H, Yamashita T, Kai Y. Prospective Observational Post-marketing Study of Tafluprost 0.0015%/Timolol 0.5% Combination Ophthalmic Solution for Glaucoma and Ocular Hypertension: Short-Term Efficacy and Safety. *Ophthalmol Ther* 2016.
- Takahashi N. Quantitative cytotoxicity of preservatives evaluated in cell culture with Chang's human conjunctival cells--effect of temperature on cytotoxicity. *Jpn J Ophthalmol* 1982; 26:234-8.
- Tan X, Sun S, Liu Y, Zhu T, Wang K, Ren T, et al. Analysis of Th17-associated cytokines in tears of patients with dry eye syndrome. *Eye* 2014; 28:608–13. doi:10.1038/eye.2014.38.
- Tanimura H, Minamoto A, Narai A, et al. Corneal edema in glaucoma patients after the addition of brinzolamide 1% ophthalmic suspension. *Jpn J Ophthalmol* 2005 Jul-Aug; 49 (4): 332-3 125.
- Tapie R. Etude biomicroscopique des glandes de meibomius. *Ann Oculistique*. 1977; 210:637–648.
- Tauber J, Melamed S, Foster CS. Glaucoma in patients with ocular cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 1989 Jan;96 (1): 33-7.
- Terry RL, Schnider CM, Holden BA, et al. CCLRU standards for success of daily and extended wear contact lenses. *Optom Vis Sci*. 1993;70:234-243.
- Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, J. J. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma: the Baltimore Eye Survey. *JAMA* 266, 369–374. (1991).
- Tittler EH, Bujak MC, Nguyen P, et al. Between-grader repeatability of tear meniscus measurements using Fourier-domain OCT in patients with dry eye. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2011; 42: 423–7.
- Tomić M, Kaštelan S, Soldo KM, et al. Influence of BAK-preserved prostaglandin analog treatment on the ocular surface health in patients with newly diagnosed primary open-angle glaucoma. *Biomed Res Int*. 2013; 2013:603782.
- Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(4):2006–2049.
- Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:4309–4315.
- Tornheim PA. Use of a vapor pressure osmometer to measure brain osmolality. *J Neurosci Methods*. 1980;3:21-35.
- Tressler CS, Beatty R, Lemp MA. Ocul Surf. 2011 Jul; 9(3):140-58. Preservative use in topical glaucoma medications.
- Tripathi BJ, Tripathi RC. Cytotoxic effects of benzalkonium chloride and chlorobutanol on human corneal epithelial cells in vitro. *Lens Eye Toxic Res* 1989;6: 395-403.
- Trope GE, Liu GS, Basu PK. Toxic effects of topically administered Betagan, Betoptic, and Timoptic on regenerating corneal epithelium. *J Ocul Pharmacol* 1988. Winter; 4 (4): 359-66
- Uusitalo H, Chen E, Pfeiffer N, et al. Switching from a preserved to a preservative-free prostaglandin preparation in topical glaucoma medication. *Acta Ophthalmol* 2010; 88:329–336.

Uzunosmanoglu E, Mocan MC, Kocabeyoglu S, et al. Meibomian Gland Dysfunction in Patients Receiving Long-Term Glaucoma Medications. *Cornea*. 2016 Aug; 35(8):1112-6.

patients. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2011 Jun; 27(3):281-5.

Van Bijsterveld OP. Diagnostic tests in the Sicca syndrome. *Arch Ophthalmol*. 1969;82:10-14.

Van Buskirk EM. Corneal anesthesia after timolol maleate therapy. *Am J Ophthalmol* 1979 Oct; 88 (4): 739-43.

Vanley GT, Leopold IH, Gregg TH. Interpretation of tear film breakup. *Arch Ophthalmol*. 1977;95(3):445-448.

Varma R, Lee PP, Goldberg I, K. S. An assessment of the health and economic burdens of glaucoma. *Am J Ophthalmol* 144, 533-540. (2011).

Vilaseca M, Arjona M, Pujol J, Issolio L, Güell JL. Optical quality of foldable monofocal intraocular lenses before and after injection: comparative evaluation using a double-pass system. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Aug; 35(8):1415-23.

Vold SD, Evans RM, Stewart RH, Walters T, Mallick S. A one-week comfort study of BID-dosed brinzolamide 1%/ timolol 0.5% ophthalmic suspension fixed combination compared to BID-dosed dorzolamide 2%/timolol 0.5% ophthalmic solution in patients with open-angle glaucoma or ocular hypertension. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2008; 24: 601-605.

Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ* 2003; 10:45-65.

Wand M, Ritch R, Isbey Jr EK, et al. Latanoprost and periocular skin color changes. *Arch Ophthalmol* 2001 Apr; 119 (4): 614-5.

Wandel T, Charap AD, Lewis RA, et al. Glaucoma treatment with once-daily levobunolol. *Am J Ophthalmol* 1986; 101: 298-304.

Waterman H, Evans JR, Gray TA, Henson D, Harper R. Interventions for improving adherence to ocular hypotensive therapy. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;4:CD006132.

186

Wei Y, Gadaria-Rathod N, Epstein S, Asbell P. Tear cytokine profile as a noninvasive biomarker of inflammation for ocular surface diseases: standard operating procedures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:8327-36.

Widengard I, Maepea O, Alm A. Effects of latanoprost and dipivefrin, alone or combined, on intraocular pressure and on blood-aqueous barrier permeability. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 404-6.

Willcox MDP, Zhao Z, Naduvilath T, Lazon de la Jara P. Cytokine changes in tears and relationship to contact lens discomfort. *Mol Vis* 2015;21:293-305.

Wilson WS, Duncan AJ, Jay JL. Effect of benzalkonium chloride on the stability of the precorneal tear film in rabbit and man. *Br J Ophthalmol* 1975; 59: 667-9.

Wolffsohn JS. Incremental nature of anterior eye grading scales determined by objective image analysis. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1434-8.

Wong J, Lan W, Ong LM, Tong L. Non-hormonal systemic medications and dry eye. *Ocul Surf*. 2011;9(4):212-226.

Wu S, Hong J, Tian L, Cui X, Sun X, Xu J. Assessment of Bulbar Redness with a Newly Developed Keratograph. *Optom Vis Sci*. 2015 Aug; 92(8):892-9.

Xiao XW, Hao J, Zhang H, Tian F. Optical quality of toric intraocular lens implantation in cataract surgery. *Int J Ophthalmol*. 2015 Feb 18; 8(1):66-71.

13. ANEXOS

13. ANEXOS

I. Carta de aceptación del Proyecto de Investigación por el Comité de Ética del Hospital Clínico San Carlos de Madrid.



CEIC Hospital Clínico San Carlos

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

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 17/06/2015, acta 6.2/15 ha evaluado la propuesta del promotor/investigador referida al estudio:

Título: "Estudio de la superficie ocular en pacientes con glaucoma"

Que en este estudio:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto por el **Dr. José María Martínez de la Casa** como investigador principal en el Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos.

Lo que firmo en Madrid, a 18 de junio de 2015



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

CONSENTIMIENTO INFORMADO



Título del estudio: ESTUDIO DE LA SUPERFICIE OCULAR EN PACIENTES CON TRATAMIENTO TÓPICO HIPOTENSOR

Yo (nombre y apellidos):

He podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente información sobre el mismo.

He hablado con el Dr. Francisco Pérez Bartolomé (investigador).
Comprendo que mi participación es voluntaria. Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mi atención médica.

Presto libremente mi conformidad para participar en este estudio.

Firma del participante:

Fecha:

Firma del investigador:

Fecha:



Contents lists available at ScienceDirect

The Ocular Surface

journal homepage: www.theocularsurface.com



Tear cytokine profile of glaucoma patients treated with preservative-free or preserved latanoprost



Jose M. Martinez-de-la-Casa, PhD ^{a, b, *}, Francisco Perez-Bartolome, MD ^a,
 Elena Urcelay, PhD ^c, Jose L. Santiago, PhD ^c, Javier Moreno-Montañes, PhD ^d,
 Pedro Arriola-Villalobos, PhD ^a, Jose M. Benitez-del-Castillo, PhD ^{a, b},
 Julian Garcia-Feijoo, PhD ^{a, b}

^a Ophthalmology Department, Hospital Clínico San Carlos, Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC), Madrid, Spain

^b Ramon Castroviejo Institute, Universidad Complutense, Madrid, Spain

^c Immunology Department, Hospital Clínico San Carlos, Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC), Madrid, Spain

^d Ophthalmology Department, Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 December 2016
 Received in revised form
 21 March 2017
 Accepted 21 March 2017

Keywords:

Cytokine
 Glaucoma
 Inflammation
 Latanoprost
 Preservatives
 Ocular surface disease

ABSTRACT

Purpose: To determine variations in cytokine levels of glaucoma patients treated either with preservative-free latanoprost or preserved latanoprost, relative to healthy individuals.

Methods: Tear samples were collected from 39 healthy subjects, 20 glaucoma patients treated with preserved latanoprost, and 20 patients treated with preservative-free latanoprost. A set of 27 inflammatory cytokines was analyzed in each group, including interleukin (IL)-1 β , IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, eotaxin, fibroblast growth factor (FGF) basic, granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), granulocyte monocyte colony stimulating factor (GM-CSF), interferon (IFN)- γ , interferon gamma-induced protein (IP)-10, monocyte chemo attractant protein (MCP)-1/MCAF, macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α , MIP-1 β , platelet-derived growth factor (PDGF)-BB, regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES), tumor necrosis factor (TNF)- α and vascular endothelial growth factor (VEGF). Cytokine concentrations were obtained by the Bio-Plex Human Cytokine Immunoassay. Non-invasive tear breakup time (NI-TBUT), tear meniscus height, corneal fluorescein staining, conjunctival hyperemia and ocular surface disease index (OSDI) were assessed in patients treated with preservative-free and preserved latanoprost.

Results: The levels of IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF basic, PDGF-BB, and TNF- α were significantly higher in patients receiving preserved latanoprost, compared to normal controls ($p < 0.05$). The expression of all the cytokines studied remained statistically invariable in patients receiving preservative-free latanoprost, compared to healthy subjects ($p > 0.05$). Ocular surface parameters were not significantly different in both glaucoma groups, and no correlation between these clinical parameters and cytokine levels was observed.

Conclusions: Treatment with preserved latanoprost has a direct impact on tear cytokine levels, whereas this effect is not observed upon preservative-free latanoprost instillation.

© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

Ocular surface disease in patients under topical treatment for glaucoma

Francisco Pérez-Bartolomé^{1,2}, Jose María Martínez-de-la-Casa^{1,2}, Pedro Arriola-Villalobos^{1,2}, Cristina Fernández-Pérez³, Vicente Polo⁴, Julián García-Feijó^{1,2}

¹Ophthalmology Department, Hospital Clínico San Carlos, Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC), Madrid - Spain

²Ophthalmology Department, Ramon Castroviejo Institute, Universidad Complutense, Madrid - Spain

³Department of Epidemiology and Preventive Medicine, Hospital Clínico San Carlos, Complutense University of Madrid, Madrid - Spain

⁴Department of Ophthalmology, Hospital Miguel Servet, Zaragoza - Spain

ABSTRACT

Purpose: To examine the relationship between ocular surface disease (OSD) and topical antiglaucoma therapy. **Methods:** A total of 211 eyes of 211 patients with open-angle glaucoma or ocular hypertension on topical medication were recruited over 10 months. Controls were 51 eyes of 51 healthy age- and sex-matched volunteers. In each patient, we recorded the intraocular pressure-lowering eyedrops used, the number of medications used, and daily and cumulative preservative concentrations (PC). Main outcome measures were fluorescein corneal staining score (Oxford scale), lower tear meniscus height (LTMH) (spectral-domain optical coherence tomography), noninvasive tear film breakup time (NI-TBUT) (Oculus Keratograph 5M), and OSD symptom questionnaire index (OSDI).

Results: Compared to controls, significantly higher OSDI (median [interquartile range] 10.24 [4.54-18.94] vs 2.5 [0-12.5]; $p < 0.001$) and corneal staining (≥ 1 : 64.93% vs 32.61%; $p < 0.001$) scores were recorded in the medication group. The NI-TBUT and LTMH failed to vary between the groups ($p > 0.05$). A higher daily PC was associated with a lower LTMH ($R = -0.142$; $p = 0.043$). In the medication group, multivariate analysis identified correlations between benzalkonium chloride (BAK) (odds ratio [OR] 1.56) and BAK plus polyquaternium-containing drops (OR 5.09) or higher OSDI (OR 1.06) and abnormal corneal staining test results and between older age (mean ratio [MR] 1.05), longer treatment duration (MR 1.02), or corneal staining presence (MR 1.22) and a higher OSDI score.

Conclusions: Ocular surface disease was more prevalent in the medication group. The main factors impacting OSD were drops with preservatives, longer treatment duration, and older age.

Keywords: Fourier-domain optical coherence tomography, Glaucoma medications, Keratograph 5M, Ocular surface disease

Introduction

Glaucoma is a chronic, progressive optic neuropathy. The most significant risk factor for developing glaucoma and for its progression is elevated intraocular pressure (IOP) (1, 2). This means that topical IOP-lowering eyedrops are the first-line therapy for glaucoma, with most patients requiring treatment throughout their lives.

The term ocular surface disease (OSD) describes a wide spectrum of conditions such as dry eye syndrome (DES), eyelid

disease, conjunctivitis, and keratitis (3). Ocular surface disease is frequently observed in glaucoma patients and is thought to be the consequence of the chronic use of IOP-lowering eyedrops (4, 5). As a comorbidity of glaucoma, OSD has been held responsible for poor treatment adherence (6) and worsening of patient quality of life (6, 7). In treated glaucoma patients, abnormal tear film function has been detected using objective tests such as fluorescein corneal staining, tear film breakup time (TBUT), osmolarity, or meibomian gland score, although the severity of symptoms varies widely among studies (8-11). Both OSD and glaucoma are age-related diseases (7, 12), though individuals with glaucoma show a higher prevalence of OSD than do those without glaucoma (13).

There is increasing evidence to suggest that the preservatives used in antiglaucoma medications may worsen the signs and symptoms of OSD. Benzalkonium chloride (BAK) is one of the first preservatives introduced and is currently the most widely used ophthalmic preservative. Several *in vitro* and animal studies have shown that solutions containing BAK cause corneal neurotoxicity, tear film disruption, and trabecular meshwork damage (14, 15). As a less harmful preservative,

Accepted: March 30, 2017

Published online:

Corresponding author:

Francisco Pérez-Bartolomé
Department of Ophthalmology
Hospital Clínico San Carlos
Prof. Martín Lagos Av, S/N
28040 Madrid, Spain
Franciscoperezbartolome@gmail.com

Ocular Redness Measured with the Keratograph 5M in Patients Using Anti-Glaucoma Eye Drops

Francisco Pérez Bartolomé^{1,2}, Jose María Martínez de la Casa^{1,2}, Pedro Arriola Villalobos^{1,2}, Cristina Fernández Pérez³, Vicente Polo⁴, Ruben Sánchez Jean^{1,2}, and Julián García Feijó^{1,2}

¹Ophthalmology, Hospital Clínico San Carlos, Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC), Madrid, Spain, ²Ramon Castroviejo Institute, Universidad Complutense, Madrid, Spain, ³Department of Epidemiology and Preventive Medicine, Hospital Clínico San Carlos, Universidad Complutense, Madrid, Spain, and ⁴Department of Ophthalmology, Hospital Miguel Servet, Zaragoza, Spain

ABSTRACT

Purpose: To examine correlations between ocular redness measured with the new topographer Keratograph 5M and the use of topical anti-glaucoma medication. **Methods:** A total of 211 eyes of 211 patients with open-angle glaucoma or ocular hypertension on topical medication and 51 eyes of 51 healthy volunteers were recruited over 10 months. Outcome variables were keratograph redness scores (RS): overall, bulbar temporal (BT), bulbar nasal (BN), limbar temporal (LT), and limbar nasal (LN). In each subject, we also recorded the intraocular pressure-lowering eye drops used, daily doses and daily and cumulative preservative concentrations, fluorescein corneal staining score (OXFORD), lower tear meniscus height (Fourier-domain OCT), non-invasive tear film breakup time (Keratograph 5M), and ocular surface disease questionnaire index (OSDI). **Results:** Higher RS were recorded in the medication than control group ($P < 0.01$ all scores). Within the medication group, older patients returned greater RS ($P < 0.05$ all scores). Prostaglandin was a strong predictor of higher scores, except LN RS. A higher OSDI was associated with a higher LN RS ($\beta = 0.007$; $P < 0.05$), while the use of β -blockers was linked to a lower LN RS ($\beta = -0.225$; $P < 0.05$). The use of ≥ 3 daily eye drops with preservative gave rise to a higher BN RS and ≥ 3 daily eye drops to a higher LN RS ($\beta = 0.366$, $P < 0.01$; $\beta = 0.296$, $P < 0.05$, respectively). **Conclusion:** Keratograph 5M can objectively detect the hyperaemia induced by glaucoma medication. The factors contributing to ocular redness were advanced age, more daily eye drops (nasal sectors), a higher OSDI, and prostaglandin as the medication used.

Keywords: Fourier-domain OCT, glaucoma medication, Keratograph 5M, ocular hyperaemia, primary open angle glaucoma

INTRODUCTION

Ocular redness, or conjunctival hyperaemia (CH), is one of the most consistent signs of the ocular response to a pathologic stimulus, and a cardinal finding in an array of ocular surface disorders such as conjunctivitis, moderate-severe blepharitis, dry eye disease, and traumatic abrasions, among others.^{1,2} However, CH can also be a common side-effect of most topical anti-glaucoma medications, especially prostaglandins.^{3–6} For patients with ocular hypertension or glaucoma, besides being a cosmetic problem, the onset of CH

may reflect an ocular surface disease (OSD), which could lead to non-adherence to treatment and may also compromise the outcome of filtration surgery.⁶ Further, given that most patients require lifelong treatment and follow-up care, a lack of compliance and persistence with their medication will mean a higher risk of elevated IOP and, therefore, of progression to blindness.

In clinical practice, CH levels are often measured using subjective grading scales. Despite the quick and easy use of these methods, some limitations have been reported, such as the inclusion of different steps and

Received 26 January 2017; revised 1 October 2017; accepted 15 October 2017

Correspondence: Francisco Pérez Bartolomé, Department of Ophthalmology, Hospital Clínico San Carlos, Prof. Martín Lagos Av, S/N, Madrid 28040, Spain. E-mail: Franciscoperezbartolome@gmail.com

*Esta Tesis se escribió en El Escorial, el lugar que albergó los felices veranos de mi infancia.
Rodeado por las obras pictóricas de mi padre ya jubilado, en el cuarto que me vio crecer,
la luz tenue de los días fríos de invierno penetra por la ventana,
esclarece mis pensamientos... y me relaja.*

