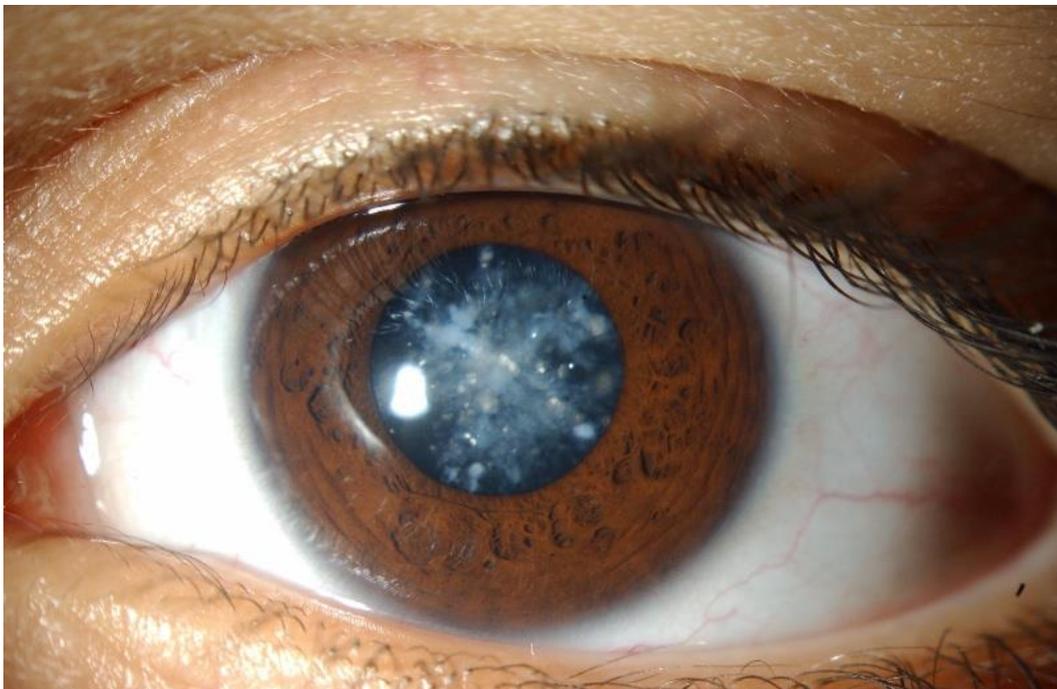


Trabajo de Fin de Grado
Grado en Medicina
Curso académico 2020-2021

Evaluación del envejecimiento del cristalino (LensAging): Reproducibilidad



Autores: Eduardo Belda de Zárate y Borja Acosta González
Tutoras: Dra. Marta González Hernández y Dra. Alicia Pareja Ríos
Facultad de Ciencias de la Salud, Sección de Medicina

ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
1. El Cristalino.....	2
1.1 Anatomía y fisiología.....	2
1.2 Metabolismo del cristalino.....	2
1.3 Modificaciones con la edad.....	4
2. Cataratas. Definición y tipos.....	4
2.1 Formación de cataratas asociada a la edad. Fisiopatología.....	5
2.1.1 Catarata Nuclear esclerótica.....	5
2.1.2 Catarata cortical.....	6
2.1.3 Catarata subcapsular.....	7
2.2 Formación de cataratas asociada a la diabetes. Fisiopatología.....	7
2.3 Clínica de las cataratas.....	8
2.4 Diagnóstico de las cataratas.....	8
2.5 Tratamiento de las cataratas.....	9
3. Colorimetría.....	11
HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.....	13
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	13
MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	26
CONCLUSIONES.....	26
¿QUÉ HEMOS APRENDIDO REALIZANDO EL TFG?.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	28

RESUMEN

Introducción: La catarata es una de las principales responsables de discapacidad visual a nivel mundial. Aunque su etiología exacta se desconoce, su aparición está íntimamente ligada a la edad y a algunas enfermedades sistémicas como la diabetes. A día de hoy no existe un método objetivo para su diagnóstico cuantitativo. **Objetivos:** Comprobar la reproducibilidad de las medidas colorimétricas (RGB) de los vasos a su paso por la cabeza del nervio óptico y de la estimación colorimétrica de la edad del cristalino (que refleja el grado de cataratas), en sujetos normales y diabéticos. **Material y métodos:** Se estimó la edad desde los valores RGB de 58 retinografías de ojos normales y de 59 de ojos diabéticos mediante análisis de regresión. La reproducibilidad de estas estimaciones, así como de los valores RGB se comprobó en 195 imágenes de ojos normales y 216 de ojos diabéticos. **Resultados:** La edad biológica, puede deducirse desde los valores RGB conociendo la absorción del cristalino con un valor de $r=0.911$ en ojos normales y de $r=0.614$ en diabéticos. La reproducibilidad fue respectivamente de $R^2=0.97$ y 0.92 , mucho mayor que la de los valores de RGB aislados. **Conclusiones:** La edad biológica de sujetos normales puede estimarse desde los valores RGB de retinografías, con buena reproducibilidad, dentro de un rango de iluminación óptima. Esta reproducibilidad es muy superior a la de los componentes con los que se calcula. En ojos diabéticos la dispersión fue mayor, así como la estimación del envejecimiento del cristalino.

Palabras clave: Catarata, diabetes, vasos, nervio óptico, colimetría.

ABSTRACT

Introduction: Cataract is one of the main causes of visual impairment worldwide. Although its exact etiology is unknown, its onset is closely linked to age and some systemic diseases such as diabetes. There is currently no objective method for its quantitative diagnosis. **Objectives:** To test the reproducibility of colorimetric measurements (RGB) of the vessels passing through the optic nerve head and of the colorimetric estimation of the lens age (which reflects the degree of cataract), in normal and diabetic subjects. **Material and methods:** Age was estimated from the RGB values of 195 retinographies of normal eyes and 216 of diabetic eyes by regression analysis. The reproducibility of these estimates as well as of the RGB values was tested on 58 pairs of images of normal and 59 diabetic eyes. **Results:** The biological age can be deduced from the RGB values with a value of $r=0.911$ in normal eyes and $r=0.614$ in diabetic eyes. The reproducibility was respectively $R^2=0.97$ and 0.92 , much higher than those of isolated RGB values. **Conclusions:** The biological age of normal subjects can be estimated from retinograph RGB values, with good reproducibility, within an optimal illumination range. This reproducibility is far superior to that of the components from which it is calculated. In diabetic eyes the dispersion was higher, as well as the estimation of the aging of the crystalline lens.

Keywords: cataract; diabetes, vessels, optic nerve, colorimetry.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife, España

T: 900 43 25 26

ull.es

INTRODUCCIÓN

1. El Cristalino.

1.1 Anatomía y fisiología.

El cristalino es un tejido epitelial muy especializado con forma de lente biconvexa. Es transparente, avascular, sin inervación, positiva y otorga en torno al 30% del poder de refracción total del ojo.¹ Está situado tras el iris y por delante del humor vítreo, separando el segmento anterior del ojo del segmento posterior. En el cristalino se pueden distinguir dos partes, el núcleo y la corteza; y cabe destacar que el desarrollo del mismo presenta dos fases, la prenatal y la postnatal.² Durante la etapa prenatal, hasta aproximadamente 3 meses después del nacimiento, se desarrollan el núcleo y las capas que éste contiene, sin embargo, durante el periodo postnatal se desarrollará en su totalidad la corteza.³

Su función principal consiste en aportar la capacidad para enfocar objetos situados a diferentes distancias. Para realizar su función, el cristalino, requiere que su epitelio sea transparente, con un índice de refracción superior al del medio, y debe tener superficies refractivas con la curvatura adecuada.⁴ Al ser el poder de refracción de esta lente variable, permite que podamos enfocar tanto objetos cercanos como lejanos.⁵ A esta capacidad de enfocar se le denomina poder de acomodación, y cuando esta se pierde, se denomina presbicia.⁶

Este poder de acomodación se realiza gracias a que el cristalino se encuentra sujeto al músculo ciliar a través de la zónula (ligamento suspensorio y zónula de Zinn), compuesta en su mayoría por fibrilina.^{7,8,9,10} Por lo tanto, cuando el músculo ciliar se contrae, la zónula se relaja, y el cristalino aumenta su curvatura, permitiendo que se haga más positivo, pudiendo así enfocar objetos más cercanos. Por contraposición, cuando el músculo ciliar se relaja, la zónula se contrae, y el cristalino se aplana, permitiendo enfocar objetos más lejanos.

Para mantener la transparencia y un alto índice de refracción, las fibras del cristalino se configuran con una gran ordenación alineadas estrechamente, con espacio intercelular mínimo y acumulando altas concentraciones de proteínas citoplasmáticas, las cristalinas. Esto, junto con la ausencia de orgánulos de las células presentes en el eje óptico, permite el paso de la luz por la lente con la mínima dispersión.^{11,12,13}

1.2 Metabolismo del cristalino

Como consecuencia de la ausencia de vascularización, el cristalino posee una concentración de O₂ mucho más baja en comparación con cualquier otra del organismo, y es por ello por lo que su metabolismo depende de la glucólisis.^{14,15} La glucosa procede del humor acuoso, donde se mantienen sus niveles por difusión facilitada a través del epitelio. El mayor problema lo presentan las células que

no tienen contacto ni con el epitelio ni con la cápsula del cristalino, puesto que los nutrientes deben alcanzar dichas células por difusión.^{16,17,18}

Al obtener la energía mediante la glucólisis, su producto final será el ácido láctico, esto hace que se acumule el lactato y produzca una disminución considerable del pH intracelular de las fibras más profundas con respecto a las periféricas.^{19,20} Es por ello que los distintos procesos sensibles al pH varían según la región del cristalino.²¹ Por ejemplo, se ha demostrado como en las fibras más profundas, con una gran disminución del pH, se produce una proteólisis de la conexina alfa-8, la cual produce una desensibilización frente al propio pH.²²

Con respecto a las células epiteliales y a las fibras más superficiales, cabe destacar que sí presentan mitocondrias, con lo cual pueden utilizar la vía oxidativa.^{23,17}

Sin embargo, las células del cristalino de las capas profundas no tienen mitocondrias, sino complejos enzimáticos viejos. En estas células se mantendrá un equilibrio entre la oxidación de los lípidos de la membrana y de las proteínas citoplasmáticas con la difusión desde las células más superficiales del cristalino de moléculas protectoras frente a la oxidación.²⁴

Al obtener energía a través de la glucólisis y con la formación de ATP, finalmente se generan radicales libres. Destaca la formación de peróxido de hidrógeno durante la fosforilación oxidativa, el cual genera potentes radicales libres cuando se une a iones ferrosos.^{25,26} Por ello, uno de los mecanismos de defensa del cristalino frente a la oxidación consiste en tener altas concentraciones de transferrina en el humor acuoso, uniéndose a los iones ferrosos y evitando así formar radicales libres.²⁷

El mecanismo de defensa principal del cristalino frente a la oxidación se basa en el glutatión. En condiciones normales presenta una concentración en torno a 4-6 mMol, y cuando hay un descenso en su concentración se producirán lesiones celulares y cataratas de manera acelerada.^{28,29,30} Este glutatión es sintetizado por las células epiteliales y las fibras superficiales, y es transportado hasta el cristalino por el humor acuoso.^{31,32,30} Las células profundas deberán obtener la mayor parte del mismo a través de la difusión de las fibras más superficiales.^{33,30}

Con la edad, la velocidad de difusión entre las capas superficiales y profundas del cristalino va disminuyendo paulatinamente.³³

A toda esta situación se le añade otro gran problema, y es que las proteínas solo se sintetizan en las fibras superficiales. Las proteínas de las fibras profundas, generadas durante la embriogénesis, deberán mantener una estabilidad durante décadas. En ciertas condiciones podría ocurrir una acumulación de lesiones a este nivel, generando una disminución de la actividad enzimática, provocando así una alteración de la estructura de las fibras cristalinas, así como de las proteínas conformantes del citoesqueleto o de las enzimas. Todo ello favorecerá a que haya una tendencia a la agregación, desembocando en cataratas.

1.3 Modificaciones con la edad

El cristalino, a medida que pasan los años, va sufriendo ciertas modificaciones que terminan repercutiendo en su funcionalidad. Se produce un aumento progresivo del diámetro del cristalino, así como una disminución de la tensión zonular, secundaria a la incapacidad de la musculatura ciliar (pérdida de la capacidad de acomodación).³⁴ Esta situación, junto al aumento de la curvatura del cristalino, denominada aberración esférica no corregida, desemboca en un aumento progresivo de la distancia focal interfiriendo así en la funcionalidad normal del cristalino, denominándose presbicia.^{35,36}

Dicha disminución de la acomodación, está predispuesta por una reducción de la tensión zonular, secundaria al crecimiento continuo del cristalino,³⁷ además de que hay una disminución progresiva de la capacidad elástica de la cápsula del cristalino, acompañada de que merma la capacidad de deformarse cuando son sometidas a fuerzas de rotación. Se observa también, un aumento de la curvatura del cristalino con la edad, además de un desplazamiento anterior del anclaje zonular.^{38,39} Por último, hay que destacar que el cristalino se endurece con la edad.³⁴

2. Cataratas. Definición y tipos.

Se define como catarata a cualquier opacificación del cristalino. Pero se dice que es aquella opacificación que disminuye la visión del paciente. Generalmente se produce por una desorganización de las células del cristalino, o por agregación de proteínas que se depositan en su interior afectando a su transparencia.^{40,41} Por su origen se distinguen en cataratas congénitas o adquiridas.

Las cataratas congénitas pueden ser hereditarias (autosómica dominante, recesiva, esporádica o ligada al sexo) o debidas a lesiones embrionarias (Rubeola, paperas, hepatitis, toxoplasmosis). Entre las cataratas adquiridas se distinguen las seniles (más del 90%), las derivadas de enfermedades generales (diabetes mellitus, insuficiencia renal...), las secundarias (a heterocromía, vasculitis retiniana...), postquirúrgicas, postraumáticas y tóxicas.

Por su localización se dividen en nucleares, corticales y subcapsulares posteriores. Por su estadio se definen como incipientes, maduras e hiper maduras.

En 2014 se estimó que existían 95 millones de personas con discapacidad visual debido a las cataratas.⁴² Se han realizado estudios poblacionales a gran escala donde se evidencia que la prevalencia de las cataratas aumenta con la edad, desde el 3-9% con 55-64 años hasta el 92-96% a partir de los 80 años.^{43,44,45} Además, son la principal causa de ceguera en los países de renta media de ingresos medios y bajos, donde representan el 50% de la ceguera, y en los países desarrollados son responsables de más del 90% de los años de vida ajustados por discapacidad (AVAD/DALYs).⁴⁶ Esta medida expresa años de vida perdidos por muerte prematura, y años vividos con una discapacidad de severidad y duración especificadas. Un DALY es, por tanto, un año de vida saludable perdido.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

Las cataratas pediátricas son una de las causas más frecuentes de ceguera infantil tratable, con una prevalencia estimada que oscila entre 1-6 /10.000 nacidos vivos.⁴⁷ Las cataratas congénitas representan la mayoría de los casos pediátricos y el 5-20% de la ceguera infantil en todo el mundo, pero el 22-30% de la ceguera infantil en los países en desarrollo.⁴⁰

2.1 Formación de cataratas asociada a la edad. Fisiopatología.

El cristalino presenta un crecimiento característico. Durante el período embriológico las células que lo conforman se encuentran más centrales, y las que se encuentran más superficiales son aquellas que tienen un tiempo de vida de semanas o meses.

La etiología de los cambios en el cristalino relacionados con la edad no se conoce del todo, pero se supone que es multifactorial. Encontramos tres tipos principales de cataratas relacionadas con la edad y cada una de ellas se define por su apariencia clínica: nuclear, cortical y subcapsular posterior. Estas variantes se pueden presentar individualmente o de forma combinada. Los cambios en ambos ojos son bilaterales, pero comúnmente asimétricos.^{48,49,50}

2.1.1 Catarata Nuclear esclerótica

La catarata nuclear representa una exageración de los cambios involutivos normales. Se asocia a miopía, provocada por un incremento del índice refractivo del núcleo, de este modo pacientes ancianos son capaces de leer de cerca sin corrección refractiva, pero sí la necesitan para ver nítidamente de lejos. Esta catarata se caracteriza por un tono amarillento debido al depósito de pigmento (urocromo),⁴² y se observa como un haz oblicuo en la lámpara de hendidura. En formas avanzadas el núcleo se vuelve marrón o incluso negro. En estos casos más graves la catarata ha progresado tanto que existe una mayor pérdida de visión, además de presentar en algunos casos una discriminación anómala del color y del contraste.⁴²



Figura 1. Esclerosis nuclear mínima. Tomado de Bowling B. Kanski's Clinical Ophthalmology: a systematic approach. 8Ed. Sydney. New South Wales Australia. Elsevier Limited;1988 [actualizado en 2016]. Página 270.

2.1.2 Catarata cortical

La catarata cortical puede afectar a la corteza anterior, posterior o ecuatorial. Las opacidades empiezan como hendiduras y vacuolas entre las fibras cristalinas causadas por hidratación cortical. Las opacificaciones formadas se presentarán en el cuadrante nasal inferior, con mayor frecuencia. El síntoma más común en este tipo de catarata es el deslumbramiento.

A medida que envejece el cristalino se forman los llamado radios corticales, opacidades discretas que pueden desarrollarse en la corteza del cristalino, pero por lo general no causan síntomas visuales a menos que estas opacidades involucren todo el eje visual o toda la corteza, en cuyo caso se observaría el cristalino de color blanco (cristalino maduro).⁴²



Figura 2. Catarata cortical. Tomado de Bowling B. Kanski's Clinical Ophthalmology: a systematic approach. 8Ed. Sydney. New South Wales Australia. Elsevier Limited;1988 [actualizado en 2016]. Página 271.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

2.1.3 Catarata subcapsular

Esta catarata se asocia a metaplasia fibrosa del epitelio cristalino. Esta opacidad se localiza por delante de la cápsula posterior y presenta un aspecto granular o de placa a la iluminación oblicua en lámpara de hendidura. Debido a su localización, esta opacidad afecta especialmente a la visión. Un de los síntomas más frecuentes referido por pacientes afectados de esta catarata son los deslumbramientos.⁵¹

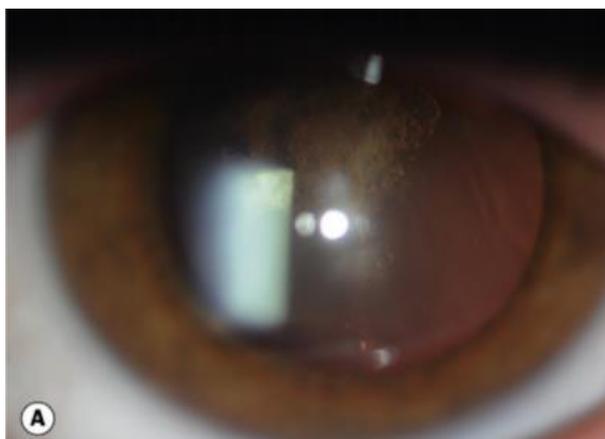


Figura 3. Catarata subcapsular posterior. Tomado de Bowling B. Kanski's Clinical Ophthalmology: a systematic approach. 8Ed. Sydney. New South Wales Australia. Elsevier Limited;1988 [actualizado en 2016]. Página 270.

2.2 Formación de cataratas asociada a la diabetes. Fisiopatología.

La formación de las cataratas en los pacientes diabéticos, está directamente relacionada con las complicaciones y efectos microvasculares producidos en la misma. La manera más fiable de medir la glucemia es con la hemoglobina glicosilada (HbA1c); por tanto, a mayor valor de la misma habrá un mayor riesgo de sufrir complicaciones. En el caso específico de las cataratas se ha observado cómo la desarrollan el 2.5-6.5 % de los diabéticos con una HbA1c<6%, definida como bien controlada, en contraposición con el 8.1-25.5 % que la pueden desarrollar en caso de HbA1c>10% (muy mal controlada). Dentro de esta clasificación, cada 1% de aumento en la HbA1c supone un incremento significativo del riesgo de desarrollar cataratas.⁵²

Este aumento de glucosa en sangre produce, a su vez, una elevación del contenido de glucosa en el humor vítreo, alterando así el metabolismo del cristalino. En consecuencia, la DM afecta tanto a la transparencia del cristalino como a su índice de refracción y capacidad o amplitud de acomodación. Se sabe que a nivel proteico además de la opacificación del cristalino, se producen distintas modificaciones postraduccionales (PTM) en varias proteínas. Las PTM juegan un papel esencial en la opacificación del cristalino. Las reacciones que tienen lugar incluyen fosforilación, desamidación, racemización, truncamiento, acetilación y metilación.⁴⁶

De este modo, los pacientes diabéticos presentan cambios similares en el cristalino que una persona sin diabetes, pero la edad de aparición a la que se presentan estos cambios es más temprana. Las cataratas son más frecuentes y aparecen más precozmente, y están consideradas como la causa principal de pérdida visual entre los diabéticos adultos.^{53,54,55}

2.3 Clínica de las cataratas

La formación de una catarata, así como sus síntomas generalmente son procesos insidiosos, entre su sintomatología encontramos:

- Visión nublada o brumosa.
- Visión borrosa.
- Visión distorsionada.
- Intensos deslumbramientos con luz brillante.
- Disminución de contraste.
- Cambios en la percepción del color (el cristalino actúa como filtro amarillo).
- Miopización.
- Diplopia monocular (suele ser rara).

Estos síntomas se producen con una frecuencia de alrededor del 30% en las cataratas nucleares especialmente en miopías elevadas; 50% en cataratas corticales y un 20% en cataratas subcapsulares.⁵⁶

2.4 Diagnóstico de las cataratas

La agudez visual se evalúa mediante escalas de optotipos, donde se muestran letras negras sobre un fondo blanco (contraste 100%), al paciente se le coloca a más de 6 metros (infinito óptico) para medir la agudeza visual de lejos. Existen otras pruebas que miden la pérdida de sensibilidad del ojo al contraste y a los deslumbramientos, pero son poco utilizadas en la práctica clínica diaria.

El límite de agudeza visual binocular para el carnet de conducir en la mayoría de países es de 0.4, por lo que durante mucho tiempo fue el estándar para la indicación de cirugía de cataratas. En los últimos años esto ha cambiado y se tienen en cuenta otras necesidades visuales del paciente, indicándose la cirugía más precozmente.⁵⁷

Además, se debe realizar un examen oftalmológico completo, donde se debe incluir la medición de la presión intraocular, examen con lámpara de hendidura y dilatar la pupila para observar cristalino, vítreo y el fondo de ojo.⁴⁸ La realización de biometría permite calcular la potencia de la lente intraocular adecuada para que el paciente quede emétrope tras la cirugía.

En general, una catarata solo es clínicamente relevante si la función visual del paciente ha disminuido sustancialmente, con lo que la presencia de la catarata sin clínica no justifica una intervención quirúrgica. La cirugía de cataratas es uno de los tratamientos y procedimientos más utilizados en muchos países. Actualmente, no existe un método para revertir o retrasar el desarrollo de cataratas, aunque se están realizando varias investigaciones al respecto.⁵⁸

2.5 Tratamiento de las cataratas

A pesar de que la cirugía es altamente eficaz en el tratamiento de las cataratas, esta patología sigue siendo una de las principales causas de baja visión y ceguera en todo el mundo.⁴² Esta cirugía consiste en la colocación de una lente intraocular, tras retirar el cristalino opacificado.⁵⁸ Está indicado operar aquellas opacidades que avanzan hasta un grado suficiente como para dificultar las actividades cotidianas esenciales. El método estándar para la extracción de las cataratas es la facoemulsificación.

Protocolo para la facoemulsificación:

Preparación del ojo, mediante un anestésico tópico junto con una instilación de povidona yodada al 5% o con clorhexidina en el saco conjuntival y una correcta limpieza de párpados, haciendo hincapié en las pestañas, todo esto durante 3 minutos.

Colocación de paños adhesivos, que eviten que las pestañas y los bordes palpebrales queden dentro del campo quirúrgico e inserción de un blefaróstato.

Las incisiones se realizan dependiendo del cirujano, algunos hacen una sola paracentesis, aunque otros profesionales efectúan hasta dos paracentesis. La incisión principal se suele realizar en el eje corneal más curvo o en la zona temporal del ojo. Posteriormente, se realiza una capsulorrexis circular continua con un cistitomo y una aguja doblada o una pinza capsular. Se separa el núcleo de la corteza de la cápsula mediante hidrodisección para así poder manipular con mayor facilidad el núcleo. La emulsificación y el aspirado del cristalino pueden seguir tres tipos diferentes de técnicas.

- “Divide y vencerás”, se crean dos surcos perpendiculares. En uno de estos surcos se coloca la punta del “faco” y en el opuesto el segundo instrumento. Y a partir de cuadrantes se va aplicando fuerza en sentidos opuestos, para así emulsificar y aspirar cada uno de estos cuadrantes.
- Técnica de “faco chop”, es la más rápida y la que consume menos recursos, pero es la técnica más difícil de aprender. El resultado, el núcleo se divide en varios fragmentos que están listos para su emulsificación.
- Por último, existe otra técnica que combina las dos anteriores “stop and chop”

Retirada de la corteza del cristalino. Los restos de material cortical se sujetan cuidadosamente mediante vacío, se despegan de la cápsula en dirección centripeta y finalmente se aspiran.

Por último, se rellena el saco capsular de viscoelástico cohesivo que mantendrá el espacio virtual que hemos creado ya que ahora no hay cristalino. Se introduce un cartucho de inyector cargado a través de la incisión principal y se inyecta lentamente la Lente Intraocular (LIO). Para finalizar se sellan las paracentesis y la incisión principal mediante suero fisiológico en el estroma corneal (hidrosellado). Al final de la intervención puede realizarse medidas profilácticas, como inyección intracameral de antibióticos (es la más usada), inyección subconjuntival de antibióticos y corticoides o instalación de antibioterapia tópica o una combinación de ellas.

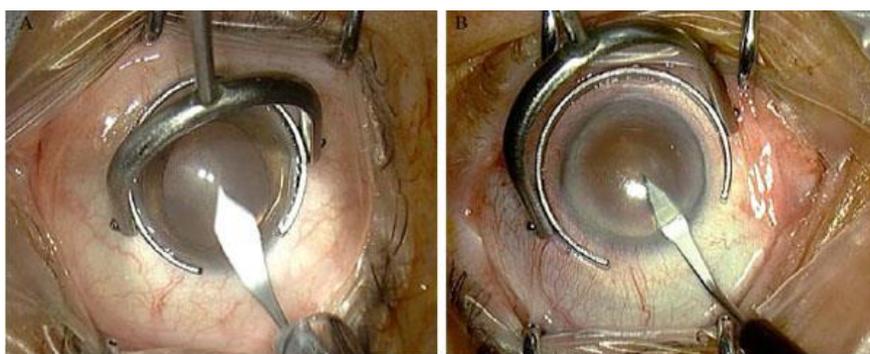


Figura 4. Realización de la incisión principal: Izquierda con una amplitud de 2.8mm en la derecha 1.8mm. Tomado de Capella M.J., Barraquer E. *Estudio comparativo entre cirugía de catarata por microincisión coaxial y facoemulsificación estándar*. Arch Soc Esp Oftalmol. 2010; 85 (8): 268-273.

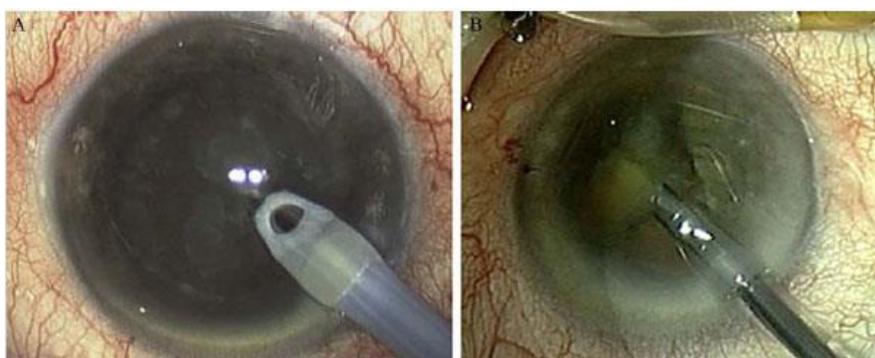


Figura 5. Inserción, a través de la incisión principal, de la punta del facoemulsificador cubierta con el protector de silicona. Tomado de Capella M.J., Barraquer E. *Estudio comparativo entre cirugía de catarata por microincisión coaxial y facoemulsificación estándar*. Arch Soc Esp Oftalmol. 2010; 85 (8): 268-273.

La inmensa cantidad de pacientes con cataratas en todo el mundo dificulta enormemente el tratamiento quirúrgico global, lo que ha llevado a buscar alternativas no quirúrgicas para retrasar, prevenir o impedir la formación de cataratas.⁴² Se ha visto que de forma profiláctica una protección del ojo a alta dosis de luz UV o evitar el tabaco son algunas de las alternativas que retrasan su formación. Estudios en la India, cuya población tiene unos niveles de Vitamina C bajos, concluyen que existe una asociación inversa entre la vitamina C plasmática y la formación de las cataratas.

Se ha estudiado la implicación de mutaciones en la sintasa lanosterol, enzima de la vía de síntesis del colesterol, en cataratas congénitas recesivas, proponiendo un estudio con terapia de gotas de esta enzima.⁵⁹ El lanosterol es una enzima anfipática, que se encuentra sobre todo en altas concentraciones en el cristalino, y que posee capacidad para solubilizar agregados de "células mutante tipo wild del cristalino" que se asocian con las formas hereditarias y con las cataratas asociadas a la edad.⁴² En estos estudios se consigue revertir la agregación de estas células en el cristalino y solubilizar las fibras de amiloides, eliminando la opacidad en lentes de conejos y perros con cataratas de etiología natural.⁶⁰ Un análisis fisicoquímico realizado en este mismo estudio demuestra, que el lanosterol interrumpe la agregación de γ D-crystallin mediante la unión de las regiones hidrofóbicas. Sin embargo, el resultado del lanosterol en cataratas asociadas a la edad no fueron buenos.⁶¹ Otro hecho prometedor es la demostración de un grupo de chaperonas farmacológicas que pueden revertir la agregación de α A- and α B-crystallins in vitro tanto en lentes de ratones como en humanos.^{62,63,64} Las chaperonas actúan como moléculas pequeñas que inhiben el "misfolding" y la agregación de proteínas, en un futuro podría ser el tratamiento de la catarata.

Aunque estos resultados preliminares con terapias como el lanosterol y las chaperonas son prometedores, todavía son tratamientos que se encuentran en estudio.

3. Colorimetría

Además de ser fundamental para el enfoque de las imágenes en la retina, el cristalino tiene la función de reducir la llegada a ella de radiaciones de 295-400 nm, por resultar fototóxicas para la retina. Esta función de absorción contribuye a lo largo de la vida, entre otros procesos, a cambios en su composición, en su densidad, en su transparencia, y en su propia capacidad de absorción de la luz.

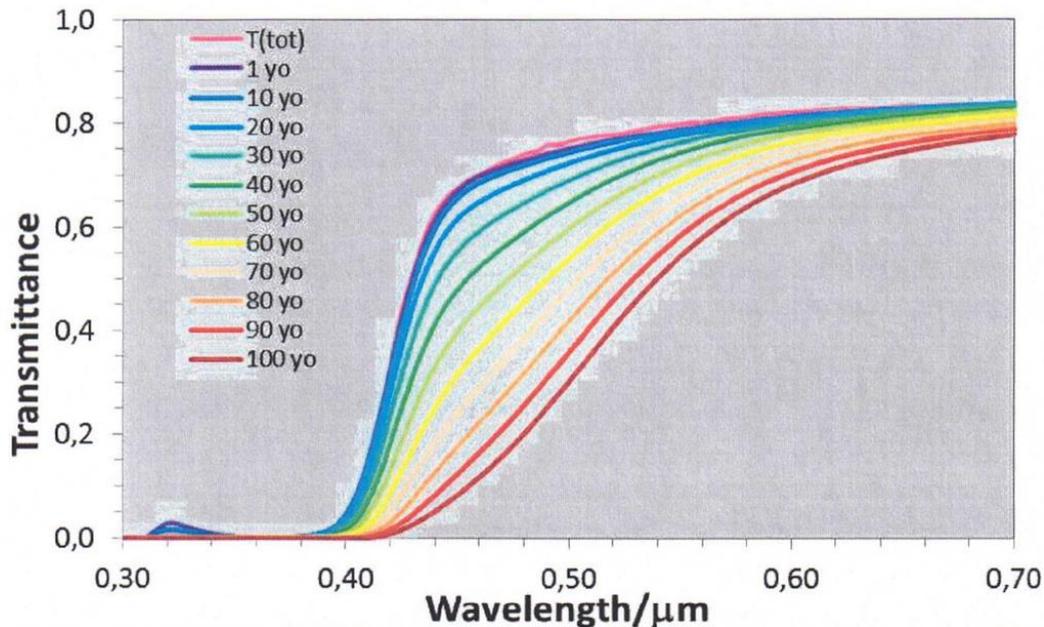


Figura 6.- Curvas de transmitancia total del ojo humano con la edad. Tomado de “A Computerized Approach to Transmission and Absorption Characteristics of the Human Eye standard by Commission Internationale de L'Eclairage.”⁶⁴

Es bien sabido que con la edad el cristalino incrementa su absorción de radiaciones azules en mucha mayor medida que el resto del espectro, es decir la densidad promedio del cristalino aumenta linealmente de 400 nm en 0.12 unidades de densidad por década entre los 20 a 60 años y sigue aumentando en 0.40 unidades de densidad por década a partir de los 60 años.⁶³ La mayor absorción de luz de longitud de onda corta provoca que la lente parezca amarilla. Usando la fotografía de Scheimflug, se ha demostrado que los pacientes con diabetes tienen mayor densidad óptica que aquellos pacientes que no son diabéticos. Se ha confirmado que la coloración amarillenta del cristalino aumentaba con la edad y con la diabetes a un ritmo similar al de sujetos no diabéticos mayores de 60 años.⁵³

Esto induce cambios en la percepción del color a lo largo de la vida, y especialmente cuando se desarrollan cataratas. En general y especialmente en determinados pacientes, como los diabéticos, estos cambios ocurren antes de la opacificación de la lente, y es de interés clínico estudiarlos, no solo por ser indicativos de su futura evolución, sino por producir alteraciones visuales como, por ejemplo, en la percepción del color.⁶¹

HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

La hipótesis principal del estudio es la existencia de desarrollo precoz de cataratas en pacientes diabéticos en comparación con la población "normal" o no diabética, que podría ser comprobado mediante el análisis colorimétrico de fotos de fondo de ojo con buena reproducibilidad.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

No existen actualmente métodos cuantitativos fiables para medir el envejecimiento del cristalino. Las indicaciones quirúrgicas de cataratas se basan exclusivamente en la disminución subjetiva de la agudeza visual. Una valoración objetiva podría ser de ayuda en esta toma de decisiones.

Esto ha motivado el estudio de la estimación de la edad el cristalino mediante el estudio colorimétrico de la vascularización del nervio óptico, con muestras obtenidas en estudios previos para el desarrollo y evaluación del método Laguna ONhE.⁶⁵⁻⁷⁴ Dicho método estima la cantidad relativa de hemoglobina en la cabeza del nervio óptico, implicada en la patogenia del glaucoma mediante colorimetría. Estos estudios han sido promovidos y realizados en colaboración con la empresa INSOFT S.L, y apoyados por el Instituto Carlos III (FIS-FondosFEDER).

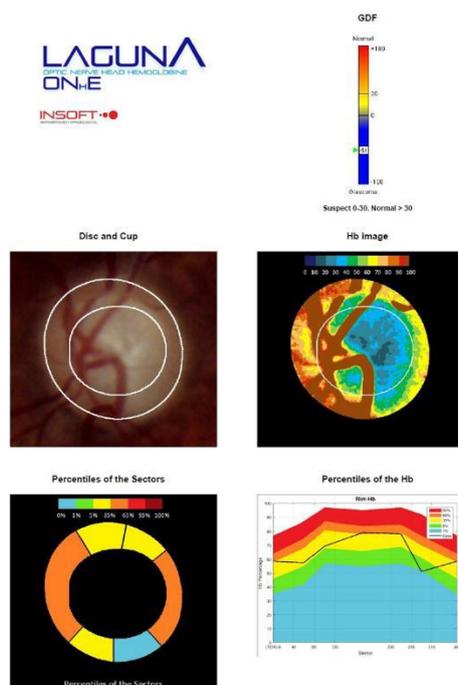


Figura 7. Página de impresión de resultados gráficos de Laguna ONhE. Cortesía de la Dra. Marta González Hernández

C/ Padre Herrera s/n
 38207 La Laguna
 Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

Bajo la premisa de que el color de los vasos del nervio óptico podría servir para estimar el incremento en la absorción del color azul que ocurre con la edad en el cristalino y con su deterioro de cualquier otro origen, el estudio se basa en el conjunto de la información que proporciona el color rojo, verde y azul de los vasos (RGB). Para ello se aprovechó que Laguna OnHE segmenta del resto de la retinografía, mediante procesos de Deep Learning, la cabeza del nervio óptico y los vasos dentro de éste. Asimismo proporciona los valores RGB medios de los vasos segmentados, en formato Xcel.⁷⁵

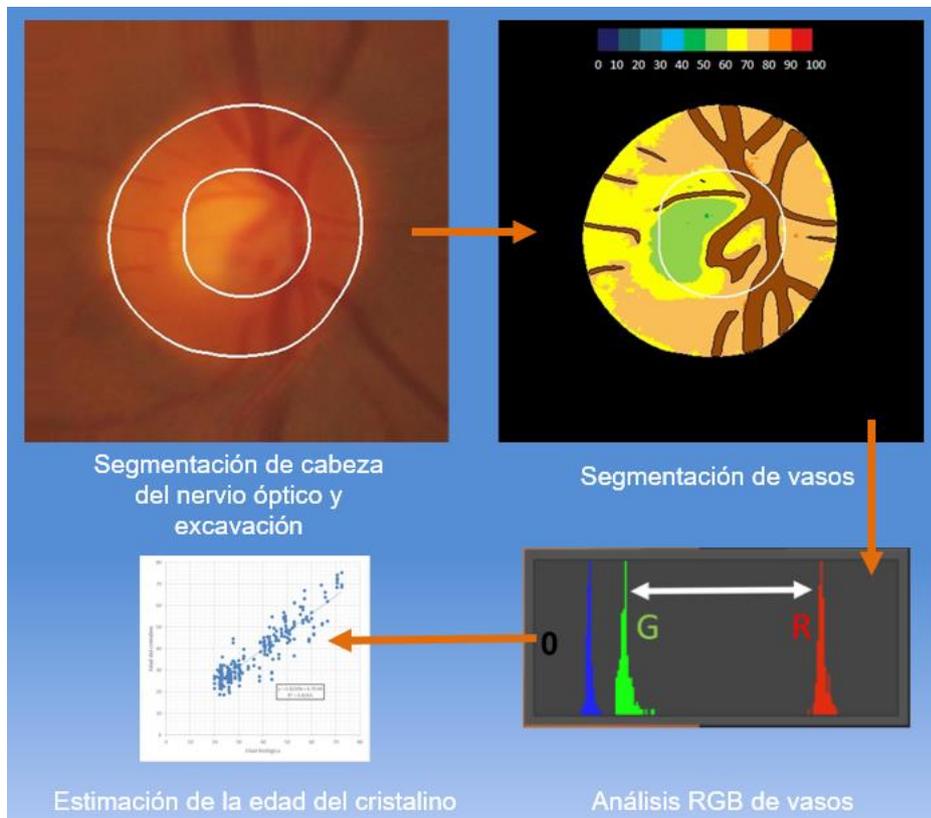


Figura 8.- Resumen gráfico del proceso para la estimación de la edad del cristalino desde retinografías. Cortesía de la Dra. Marta González Hernández.

El objetivo principal de este trabajo fue comprobar la reproducibilidad de las medidas RGB de los vasos a su paso por la cabeza del nervio óptico y de la estimación de la edad del cristalino (que refleja el nivel de cataratas) por colorimetría, a partir de dichos valores, en sujetos normales y diabéticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo consistió en un estudio analítico retrospectivo de amplia muestra, tanto de ojos diabéticos como “normales”, para el análisis de fotografías del fondo ocular realizadas a través de un retinógrafo.

Se han incluido voluntarios sanos y pacientes diabéticos con diverso grado de evolución de la enfermedad, hasta completar aproximadamente 140 casos.

La equiparación de ambas muestras por edades no pareció demasiado necesaria, dado que era de esperar desviaciones en el estado del cristalino más dependientes de los años de evolución del proceso y de su grado de control metabólico, que de la edad de los pacientes. No obstante, se ha obtenido una muestra equilibrada de pacientes con diabetes tipo 1 y tipo 2 con diversos grados de evolución respecto al inicio de la enfermedad y diferentes niveles de control glucémico.

Los criterios de elección de los sujetos fueron los siguientes:

- Grupo normal: Voluntarios sin patología conocida que afecte a la visión, con agudeza visual igual o mayor de 0.5. Equivalente esférico en la refracción no superior a 5 dioptrías. Presión intraocular normal y sin antecedentes de cirugía ocular.
- Grupo diabético: Sujetos diagnosticados de diabetes en cualquiera de sus formas y estadios evolutivos, aunque se ha previsto que la muestra favorezca la inclusión de sujetos con mal control, y evolución prolongada, dado que son los que acuden con mayor probabilidad al servicio de oftalmología del Hospital Universitario de Canarias.

Los criterios de exclusión han sido los siguientes:

- En los sujetos normales: Quedan excluidos aquellos con agudeza visual inferior a 0.5, equivalente esférico en la refracción superior a 5 dioptrías o enfermedades concomitantes que afecten a la visión. De modo general se excluirán los pacientes operados de cataratas, salvo para su estudio específico pre y postoperatorio. La agudeza visual no será un criterio excluyente dado que estos pacientes sufren con frecuencia diversos grados de retinopatía, sin relación con el estado del cristalino. Además, se pretende comparar la AV con el grado de absorción del cristalino en los sujetos no diabéticos.
- En ambos grupos se excluyeron también los pacientes que hubieran sufrido cualquier otro tipo de intervención quirúrgica penetrante sobre el globo ocular (p.e. vitrectomías o trabeculectomías), aunque podría establecerse un estudio específico de la influencia de estas intervenciones sobre el cristalino en futuros estudios.

A los pacientes que cumplieran todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión se les solicitó su consentimiento informado por escrito y, en caso de menores o disminuidos se recogió el de sus padres o tutores legales.

Además, se contempló la retirada de los sujetos del estudio en el caso de que cumplieran criterios de exclusión o cuando así lo solicitaran.

Con respecto a la recogida de datos, se han recolectado los datos personales básicos habituales (esencialmente edad y sexo) y se han recogido, como variables secundarias, los parámetros esenciales del examen ocular (agudeza visual, refracción, presión intraocular) y los datos relativos a su enfermedad (antigüedad, hemoglobina glicosilada, complicaciones renales, retinianas etc.) Las imágenes y los datos se tabularon para ser analizados. Se evitó cualquier referencia que pueda identificar al sujeto a la hora de introducirlo en los programas de cálculo de la absorción cromática del cristalino y de análisis estadístico.

Los datos e imágenes fueron almacenados en soporte informático para ser analizados utilizando programas propios de análisis de la información de las imágenes, esencialmente basados en Excel, MatLab, así como estadística convencional. A todos los sujetos se les adjudicó un código al ser incluidos en el estudio, de manera que se garantizara el anonimato.

Todos los exámenes y pruebas se han realizado en el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario de Canarias.

Respecto a los aspectos éticos, el estudio realizado no significa ningún riesgo para los sujetos participantes. Especialmente el método de medida de la absorción cromática del cristalino se basa en la obtención, totalmente atraumática y no invasiva, de fotografías del fondo de ojo, con un grado de incomodidad para el paciente que significa solamente el deslumbramiento momentáneo por un flash fotográfico.

Se solicitó el preceptivo consentimiento informado, otorgado de forma libre, de cada sujeto, antes de su participación en el estudio, habiendo sido aprobado por el comité de ética de la investigación con medicamentos (CEIM) del Complejo Hospitalario Universitario de Canarias.

RESULTADOS

Las imágenes analizadas fueron extraídas de las obtenidas en el entorno del proyecto "Evaluación del envejecimiento del cristalino (LensAging)" (CHUC_2018_ 1 O). Dentro de ese proyecto, se ha estimado la edad biológica de los sujetos partiendo de los valores RGB de los vasos a su paso por la cabeza del nervio óptico.

Las imágenes fueron obtenidas con varios niveles de flash, para valorar su influencia en los resultados. En consecuencia, los casos fueron ordenados según la intensidad de rojo (componente R), de menor a mayor, por ser el mejor indicador de luminancia de la imagen, dada la baja absorbancia de la hemoglobina al rojo. En un principio, focalizándonos solo en los pacientes normales. Esta decisión tuvo su origen en la observación de que las imágenes con valores o intensidades mayores en la componente B, saturaban en la componente R y, por otro lado, al elegir casos con valores muy bajos de R, la componente B quedaba con muy poco rango para poder obtener medidas cuantificables. Ha de tenerse en cuenta que el componente B es fundamental dado que es el que presenta mayores cambios con el envejecimiento del cristalino.

Debido a estas limitaciones en los extremos de las posibles intensidades, se buscó un rango intermedio, en el que se produjera el mínimo error estándar al deducir la edad mediante regresión lineal, resultando el rango óptimo los valores de R comprendidos entre 147.6 y 235.2. En este intervalo se situaron 216 imágenes de 159 ojos de 85 sujetos diabéticos y 195 imágenes de 168 ojos de 91 normales.

La edad estimada del cristalino, en la población normal, se calculó mediante regresión lineal según la ecuación: $\text{Edad estimada} = 27.25 + (-0.366 \cdot R) + (1.556 \cdot G) + (-1.59 \cdot B)$. Esto significa que, en los sujetos normales, puede deducirse la edad biológica desde la absorción del cristalino, cuantificada por nuestro método, con un error estándar de $SE=5.931$ años y un coeficiente de determinación de $R^2=0.83$ ($r=0.911$).

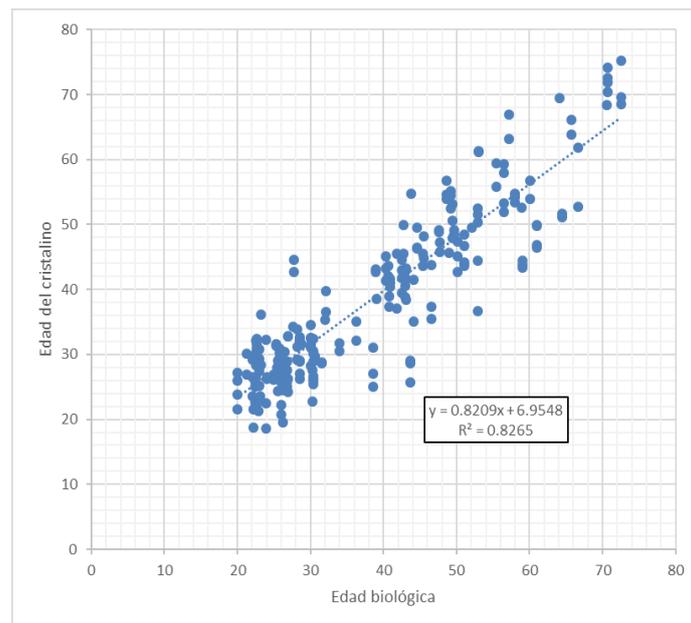


Figura. 9.- Edad estimada en sujetos normales en relación a su edad biológica.

En el caso de los pacientes diabéticos, la estimación de la edad del cristalino, utilizando una ecuación específica fue: $\text{Edad estimada} = 33.9 + (-0.138 * R) + (0.715 * G) + (-0.973 * B)$. Produjo un $\text{SE}=10.25$, un $R^2=0.43$ ($r=0.65$). Sin embargo, parece más adecuado, para establecer una comparación equivalente, utilizar la fórmula obtenida en sujetos normales, la cual produce un error estándar de $\text{SE}=10.556$ y $R^2=0.378$ ($r=0.614$).

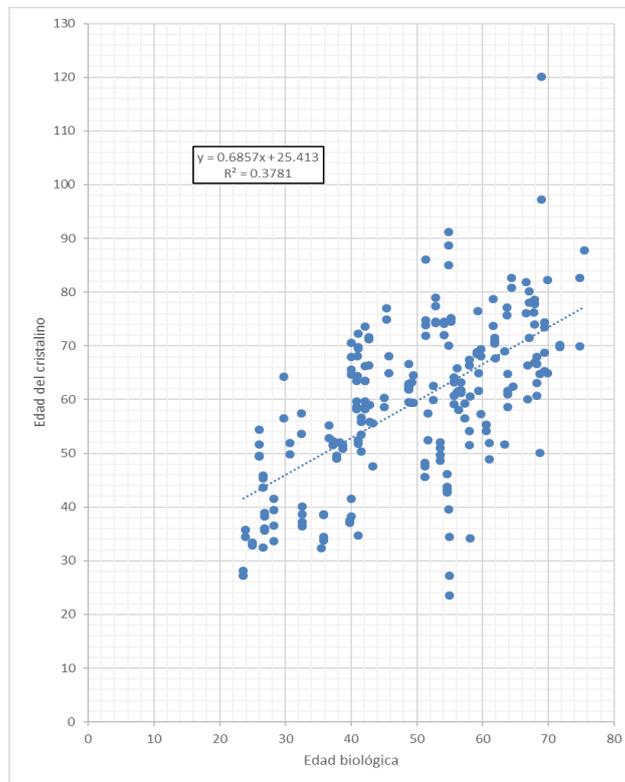


Figura 10.- Edad estimada en pacientes diabéticos en relación a su edad biológica.

Las diferencias en los coeficientes de correlación que se muestran en las gráficas fueron altamente significativas ($P < 0.0001$).

Estas fueron las imágenes de partida para el estudio de reproducibilidad. Pero, dado que se habían utilizado muy diversas intensidades de flash, una vez se aparearon, solo las imágenes de 58 ojos normales y 59 diabéticos quedaban emparejadas dentro de este rango óptimo de valores de R.

Las imágenes se ordenaron en dos grupos (test y retest) para cada población (normales y diabéticos). Siendo el grupo “test” el de menor iluminación en ambos casos.

Los rangos (valores medios y desviación estándar SD) de los índices estudiados se representan en la Tabla 1, tanto para la población normal como para la diabética.

		R1	R2	G1	G2	B1	B2	EDAD EST 1	EDAD EST 2
NORMALES	PROMEDIOS	180.15	206.30	80.61	98.70	28.97	41.96	40.72	38.65
	SD	20.08	23.34	12.31	15.72	11.34	15.27	13.20	14.38
DIABÉTICOS	PROMEDIOS	168.18	204.11	72.15	93.79	12.82	24.50	57.60	59.55
	SD	16.37	17.86	10.37	11.41	8.17	12.17	12.60	15.63

Tabla 1.- Rango de las variables estudiadas en la población normal y diabética.

La diferencia media test-retest para los valores de R, de G, de B, de la edad estimada y de los niveles de flash para ambos grupos se resume en la Tabla 2.

DIFERENCIA TEST-RETEST					
	R	G	B	EDAD ESTIMADA (años)	NIVEL DE FLASH
NORMALES	26.15	18.08	12.98	2.07	2.91
DIABÉTICOS	35.93	21.64	11.68	3.84	2

Tabla 2. Diferencias test-retest para los valores RGB, edad estimada y nivel de flash en los grupos normal y diabético.

El coeficiente de determinación R^2 de las rectas de regresión de las variables de test y retest de ambos grupos para los índices estudiados se resume en la Tabla 3. Ha de tenerse en cuenta que la diferencia de rangos entre las variables influye en el resultado de la regresión.

COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN R^2				
	R	G	B	EDAD ESTIMADA (años)
NORMALES	0.07	0.012	0.048	0.97
DIABÉTICOS	0.48	0.56	0.76	0.92

Tabla 3. Coeficiente de determinación (R^2) de las rectas de regresión de las variables de test y retest de ambos grupos.

Las rectas de regresión para los tres componentes RGB y la edad estimada, en el grupo normal, se muestran en las siguientes gráficas.

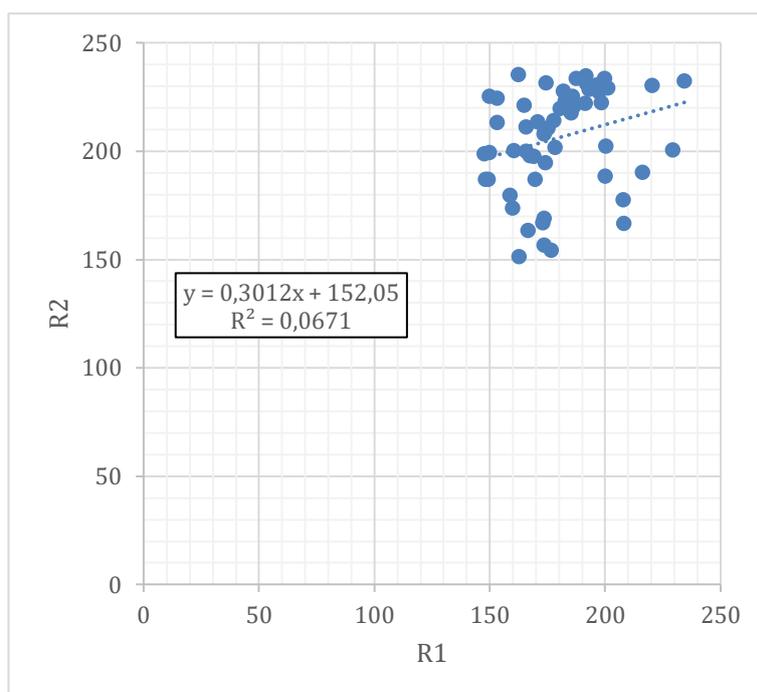


Figura 11.- Recta de regresión para los valores test y retest del valor de rojo (R) en la población normal.

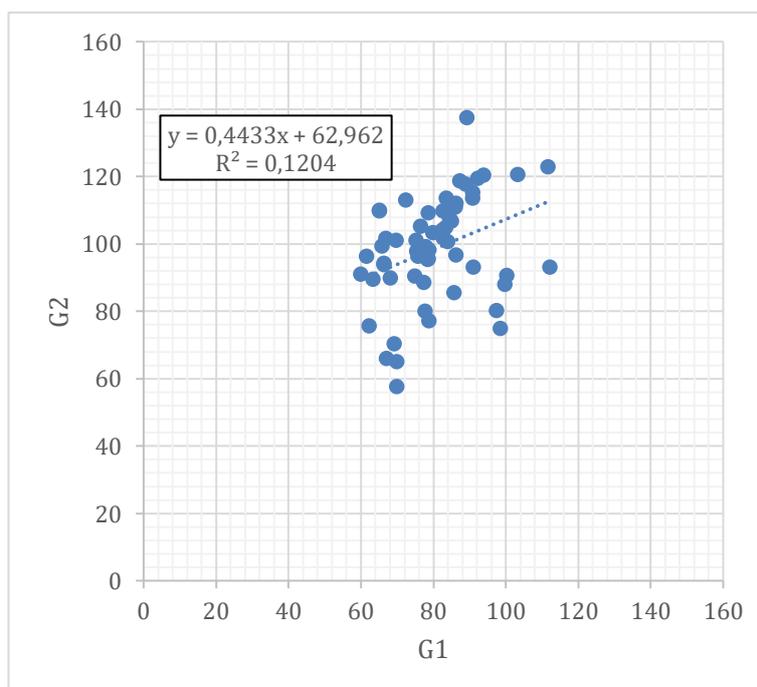


Figura 12.- Recta de regresión para los valores test y retest del valor de verde (G) en la población normal.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

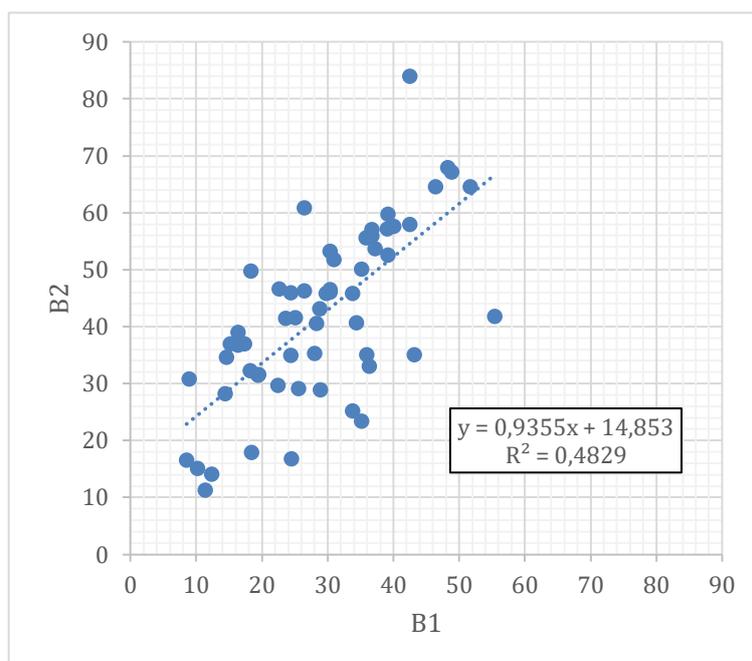


Figura 13.- Recta de regresión para los valores test y retest del valor de azul (B) en la población normal.

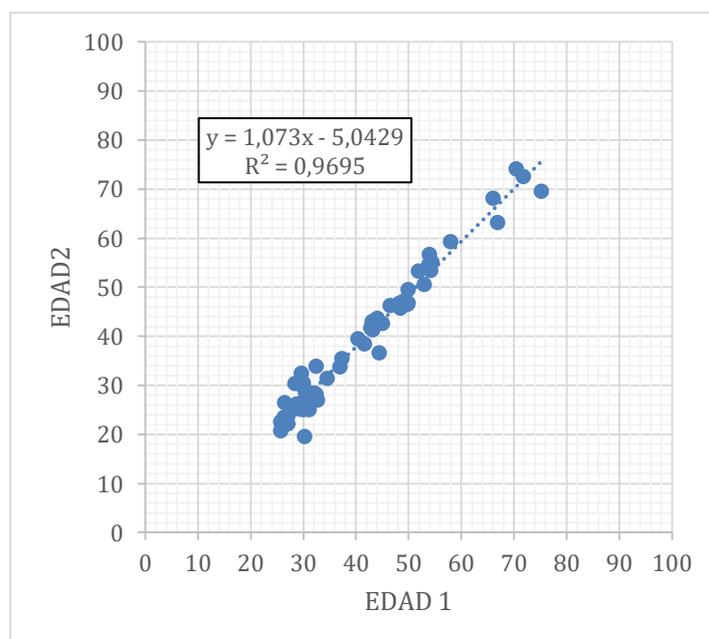


Figura 14.- Recta de regresión para los valores test y retest de la edad estimada en la población normal.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

Obsérvese que, la reproducibilidad del resultado final (edad) es muy superior a la de los componentes con los que se calcula, demostrando existir una relación interna entre ellos. Para verificar esta hipótesis se estudió la relación entre las variables G y B, mediante la fórmula $(G-B)/G$, obteniéndose una reproducibilidad mucho mayor que la de sus componentes.

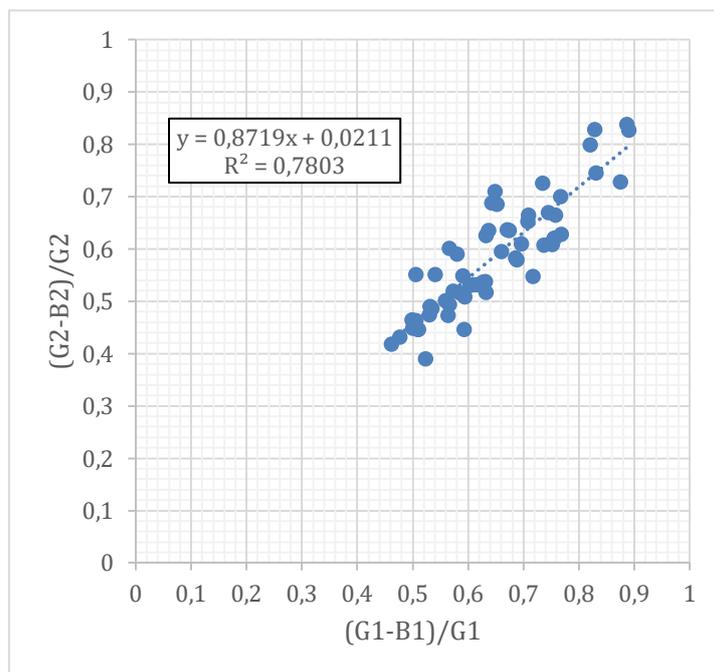


Figura 15.- Recta de regresión para los valores test y retest de la relación $(G-B)/G$ en la población normal.

Las rectas de regresión para los tres componentes RGB y la edad estimada, en el grupo diabético se muestran en las siguientes gráficas.

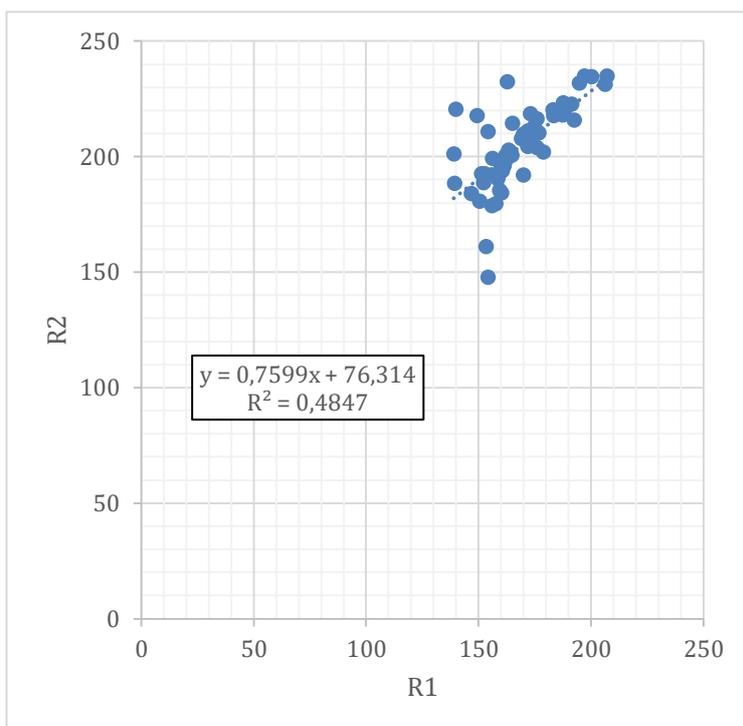


Figura 16.- Recta de regresión para los valores test y retest del valor de R en la población diabética.

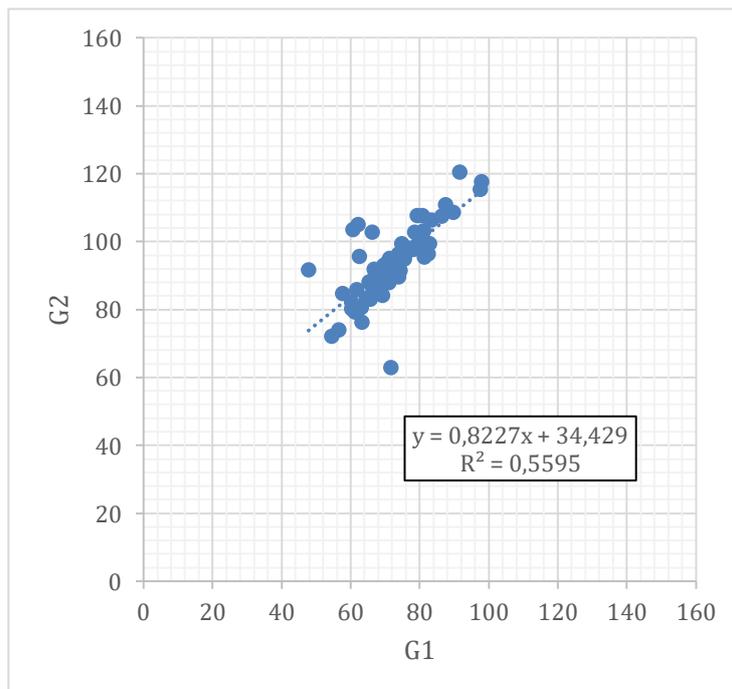


Figura 17.- Recta de regresión para los valores test y retest del valor de G en la población diabética.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

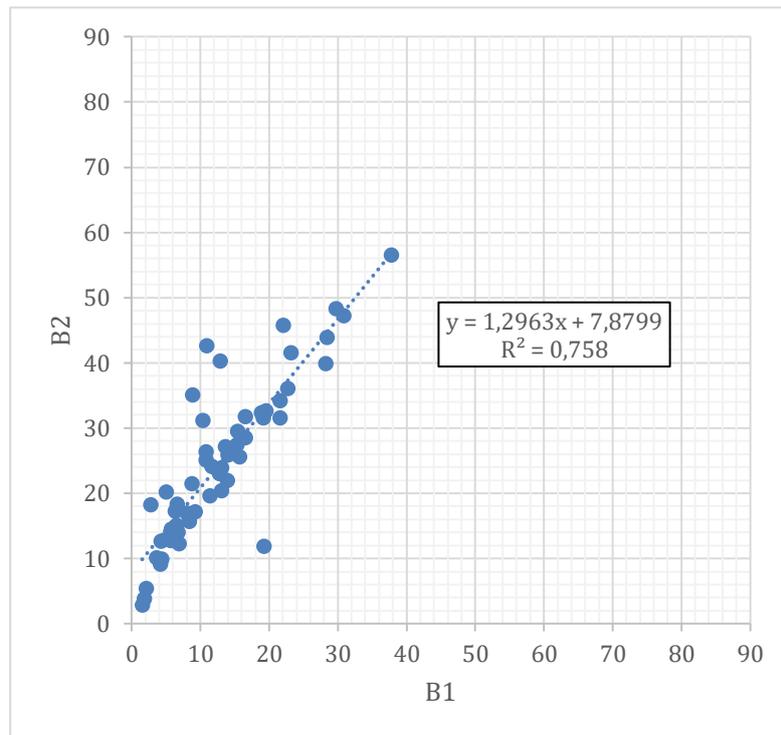


Figura 18.- Recta de regresión para los valores test y retest del valor de B en la población diabética.

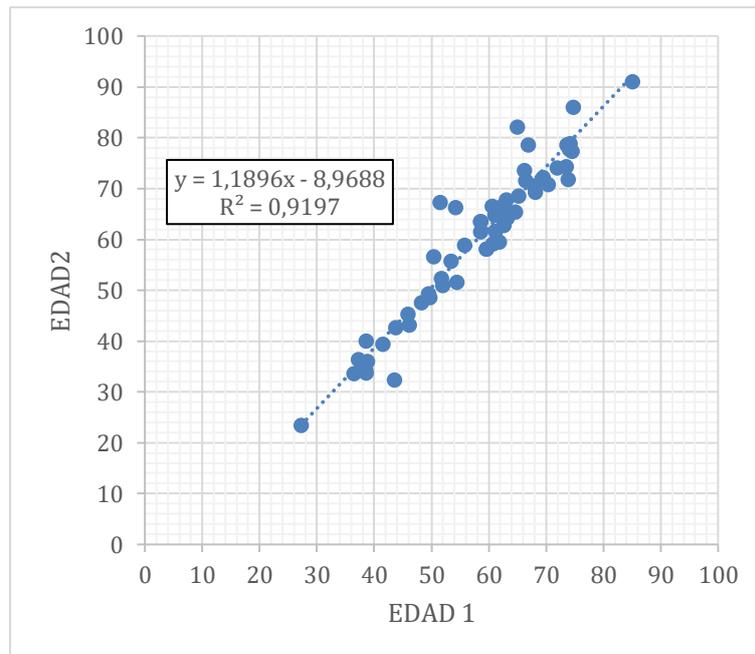


Figura 19.- Recta de regresión para los valores test y retest de la edad estimada en la población diabética.

El coeficiente de correlación intraclass (ICC) es una modificación del coeficiente de correlación de Pearson para valores apareados en el mismo sujeto. Se calcula por mínimos cuadrados (es decir, estimando las diferencias en la población causadas por inconstancia en un conjunto determinado de medidas), obtenidos a través del análisis de la varianza. Se utiliza para evaluar la fiabilidad inter-observador, test-retest e intra-observador, y generalmente difiere poco del Pearson.

El coeficiente de correlación intraclass (calculado con MedCalc) fue de $ICC=0.98$ con un intervalo de confianza (IC) del 95% de $IC=0.9681$ a 0.9887 para la población normal y de $ICC=0.94$ con IC de 0.8956 a 0.9625 en la población diabética ($P=0.0035$). Es decir que la reproducibilidad es ligeramente inferior en los pacientes diabéticos, a pesar de tener menor diferencia test-retest en los niveles de flash.

Efectivamente esta constancia depende de la reproducibilidad de las relaciones entre variables, que es mayor que la de ellas analizadas individualmente. Al igual que en los sujetos normales, este hecho podemos comprobarlo en los diabéticos graficando la reproducibilidad de la relación (G-B)/G.

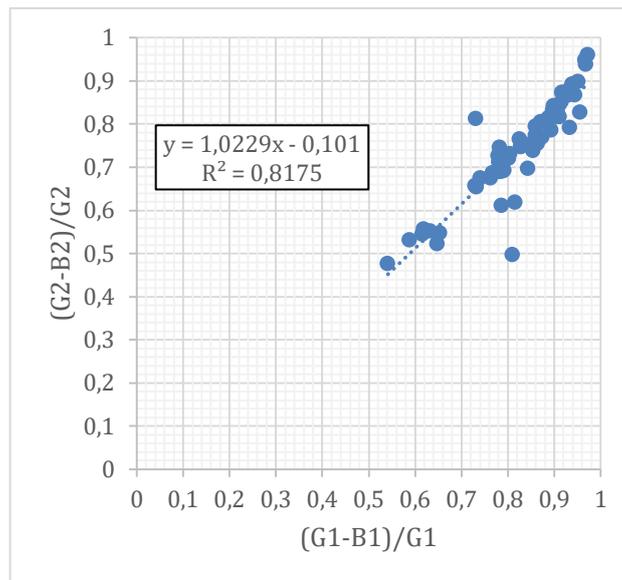


Figura 20.- Recta de regresión para los cocientes test y retest (G-B/G)

DISCUSIÓN

Las medidas RGB que obtiene la cámara de fondo de ojo dependen de cuatro factores, tres de los cuales pueden considerarse relativamente constantes. Estos tres son: la composición espectral de la fuente de iluminación, la absorción de la hemoglobina y la respuesta del detector fotográfico. La composición espectral de la fuente y la respuesta del detector pueden tener cambios relativamente moderados con la intensidad, que pueden valorarse por la cantidad de rojo, cuya absorción es baja tanto para la hemoglobina como para el cristalino. La absorción de la hemoglobina puede considerarse constante. Al medirse sobre vasos arteriales y venosos se corresponderá con una media de sus curvas de absorción oxidada y reducida. El cuarto factor, que es el que induce una mayor variabilidad es la absorción del cristalino, que actúa dos veces: en el trayecto de la iluminación y en el de la luz reflejada por el fondo de ojo. Por lo tanto, los resultados obtenidos pueden ser achacados a este último factor: la absorción espectral del cristalino y sus cambios con la edad.

CONCLUSIONES

Los casos fueron ordenados de menor a mayor intensidad de rojo, siendo este el componente R, debido a que se le considera el mejor indicador de iluminación de la imagen. Se estableció un rango óptimo del mismo para evitar problemas de saturación de la imagen a valores elevados; o, por el contrario, de difícil interpretación a valores muy bajos.

En los sujetos normales, puede deducirse la edad biológica desde la absorción del cristalino, cuantificada por el método propuesto con buena reproducibilidad. En ojos diabéticos la dispersión fue mayor, así como la estimación del envejecimiento del cristalino.

Con las fórmulas se aprecia un aumento de la dispersión de los valores cromáticos en las retinografías de pacientes diabéticos en relación a los sujetos normales y, en general, un mayor envejecimiento del cristalino, con respecto a la edad biológica.

Importantes diferencias en los valores RGB, producidos por diferentes niveles de flash, produjeron cambios modestos en la estimación de la edad.

La reproducibilidad del resultado final (edad) es muy superior a la de los componentes con los que se calcula, demostrando existir una relación interna entre ellos; evidenciada mediante el estudio de la relación entre componentes G y B con la fórmula $(G-B)/G$.

Comparando el coeficiente de relación obtenido en los sujetos diabéticos respecto a los sujetos normales, se evidencia que la reproducibilidad es ligeramente inferior en los pacientes diabéticos, a pesar de tener menor diferencia test-retest en los niveles de flash.

Los valores de R^2 para los índices RGB de ambas poblaciones fue baja, pero algo mayores en el grupo diabético, probablemente debido a las menores diferencias en el nivel de flash de ese grupo. Sin embargo, la reproducibilidad de la edad estimada en ambas poblaciones fue muy buena, lo que refleja que la relación entre las tres variables entre sí se mantiene relativamente constante, independientemente del nivel de flash utilizado.

Habrá que determinar en el futuro, aumentando el tamaño de la muestra, si estos resultados se mantienen para los diferentes tipos y grados de diabetes y de cataratas, así como si la estabilidad de las estimaciones se puede reproducir en otras marcas de retinógrafos.

¿QUE HEMOS APRENDIDO REALIZANDO EL TFG?

Durante la realización del presente TFG hemos adquirido las siguientes competencias:

- Realizar una búsqueda sistemática en PubMed y sintetizar la información más importante.
- Manejar bases de datos.
- Presentar la bibliografía siguiendo el método Vancouver.
- Conocer la etiología, diagnóstico y tratamiento de los problemas visuales asociados a las cataratas en la población.
- Interpretar resultados estadísticos y sacar conclusiones sobre los mismos.
- Realizar tablas estadísticas usando el programa MedCalc.
- Realizar una discusión crítica de todo el trabajo realizado.
- Ordenar y preparar información para su presentación escrita y oral.

- Adquirir mayores conocimientos sobre programas informáticos como Word y Power Point para la realización y presentación de trabajos académicos y científicos.
- Trabajar en equipo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Wolffsohn JS, Davies LN. Presbyopia: Effectiveness of correction strategies. *Prog Retin Eye Res.* 2019 Jan; 68:124-143. doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.09.004. Epub 2018 Sep 19. PMID: 30244049.
- 2.- Scammon RE, Hesdorffer MB; Growth in mass and volume of the human, lens in postnatal life, *Arch Ophthalmol.* 1937; 17(1):104-112.
- 3.- Augusteyn RC. On the growth and internal structure of the human lens. *Exp Eye Res.* 2010 Jun;90(6):643-654. doi: 10.1016/j.exer.2010.01.013. Epub 2010 Feb 18. PMID: 20171212; PMCID: PMC2871961.
- 4.- Atchison DA, Smith G. *Optics of the Human Eye.* Oxford: Butterworth Heinemann; 2000. eBook ISBN: 9780702038099
- 5.- Borja D, Manns F, Ho A, Ziebarth N, Rosen AM, Jain R, Amelinckx A, Arrieta E, et al. Optical power of the isolated human crystalline lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 Jun;49(6):2541-2548. doi: 10.1167/iovs.07-1385. Epub 2008 Mar 3. PMID: 18316704; PMCID: PMC2785024.
- 6.- Farnsworth PN, Mauriello JA, Burke-Gadomski P, Kulyk T, Cinotti AA. Surface ultrastructure of the human lens capsule and zonular attachments. *Invest Ophthalmol.* 1976 Jan;15(1):36-40. PMID: 1245377.
- 7.- Wheatley HM, Traboulsi EI, Flowers BE, Maumenee IH, Azar D, Pyeritz RE. Immunohistochemical localization of fibrillin in human ocular tissues. Relevance to the Marfan syndrome. *Arch Ophthalmol.* 1995 Jan;113(1):103-109. doi: 10.1001/archoph.1995.01100010105028. PMID: 7826283.
- 8.- Mecham RP, Hinek A, Cleary EG, Kucich U, Lee SJ, Rosenbloom J. Development of immunoreagents to ciliary zonules that react with protein components of elastic fiber microfibrils and with elastin-producing cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988 Mar 15;151(2):822-826. doi: 10.1016/s0006-291x(88)80355-3. PMID: 3279956.
- 9.- Streeten BW. The zonular insertion: a scanning electron microscopic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977 Apr;16(4):364-375. PMID: 844993.
- 10.- Streeten BW, Licari PA. The zonules and the elastic microfibrillar system in the ciliary body. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1983 Jun;24(6):667-681. PMID: 6682838.
- 11.- Bassnett S. Mitochondrial dynamics in differentiating fiber cells of the mammalian lens. *Curr Eye Res.* 1992 Dec;11(12):1227-1232. doi: 10.3109/02713689208999548. PMID: 1490341.
- 12.- Piatigorsky J. Lens differentiation in vertebrates. A review of cellular and molecular features. *Differentiation.* 1981;19(3):134-53. doi: 10.1111/j.1432-0436.1981.tb01141.x. PMID: 7030840.
- 13.- Bassnett S, Mataic D. Chromatin degradation in differentiating fiber cells of the eye lens. *J Cell Biol.* 1997 Apr 7;137(1):37-49. doi: 10.1083/jcb.137.1.37. PMID: 9105035; PMCID: PMC2139849.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

- 14.- Helbig H, Hinz JP, Kellner U, Foerster MH. Oxygen in the anterior chamber of the human eye. *Ger J Ophthalmol*. 1993 May;2(3):161-164. PMID: 8334391.
- 15.- McLaren JW, Dinslage S, Dillon JP, Roberts JE, Brubaker RF. Measuring oxygen tension in the anterior chamber of rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998 Sep;39(10):1899-909. Erratum in: *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999 Nov;40(12):2779. PMID: 9727413.
- 16.- Kinoshita JH, Kern HL, Merola LO. Factors affecting the cation transport of calf lens. *Biochim Biophys Acta*. 1961 Mar 4;47:458-466. doi: 10.1016/0006-3002(61)90541-8. PMID: 13756148.
- 17.- Winkler BS, Riley MV. Relative contributions of epithelial cells and fibers to rabbit lens ATP content and glycolysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991 Aug;32(9):2593-2598. PMID: 1869412.
- 18.- Chylack LT Jr, Friend J. Intermediary metabolism of the lens: a historical perspective 1928-1989. *Exp Eye Res*. 1990;50(6):575-582.
- 19.- Bassnett S, Duncan G. Direct measurement of pH in the rat lens by ion-sensitive microelectrodes. *Exp Eye Res*. 1985 Apr;40(4):585-590. doi: 10.1016/0014-4835(85)90080-6. PMID: 4007073.
- 20.- Mathias RT, Riquelme G, Rae JL. Cell to cell communication and pH in the frog lens. *J Gen Physiol*. 1991 Dec;98(6):1085-1103. doi: 10.1085/jgp.98.6.1085. PMID: 1783895; PMCID: PMC2229073.
- 21.- Bassnett S, Croghan PC, Duncan G. Diffusion of lactate and its role in determining intracellular pH in the lens of the eye. *Exp Eye Res*. 1987 Jan;44(1):143-147. doi: 10.1016/s0014-4835(87)80032-5. PMID: 3556449.
- 22.- Lin JS, Eckert R, Kistler J, Donaldson P. Spatial differences in gap junction gating in the lens are a consequence of connexin cleavage. *Eur J Cell Biol*. 1998 Aug;76(4):246-250. doi: 10.1016/s0171-9335(98)80002-2. PMID: 9765054.
- 23.- Turrens JF, Alexandre A, Lehninger AL. Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys*. 1985 Mar;237(2):408-414. doi: 10.1016/0003-9861(85)90293-0. PMID: 2983613.
- 24.- Truscott RJ. Age-related nuclear cataract: a lens transport problem. *Ophthalmic Res*. 2000 Sep-Oct;32(5):185-194. doi: 10.1159/000055612. PMID: 10971179.
- 25.- Devamanoharan PS, Ramachandran S, Varma SD. Hydrogen peroxide in the eye lens: radioisotopic determination. *Curr Eye Res*. 1991 Sep;10(9):831-838. doi: 10.3109/02713689109013879. PMID: 1790713.
- 26.- Spector A, Garner WH. Hydrogen peroxide and human cataract. *Exp Eye Res*. 1981 Dec;33(6):673-681. doi: 10.1016/s0014-4835(81)80107-8. PMID: 7318962.
- 27.- McGahan MC, Fleisher LN. Inflammation-induced changes in the iron concentration and total iron-binding capacity of the intraocular fluids of rabbits. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1988;226(1):27-30. doi: 10.1007/BF02172712. PMID: 3257741.
- 28.- Calvin HI, Medvedovsky C, David JC, Broglio TM, Hess JL, Fu SC, Worgul BV. Rapid deterioration of lens fibers in GSH-depleted mouse pups. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991 May;32(6):1916-1924. PMID: 2032811.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

- 29.- Reddan JR, Giblin FJ, Kadry R, Leverenz VR, Pena JT, Dziedzic DC. Protection from oxidative insult in glutathione depleted lens epithelial cells. *Exp Eye Res.* 1999 Jan;68(1):117-127. doi: 10.1006/exer.1998.0606. PMID: 9986749.
- 30.- Reddy VN. Glutathione and its function in the lens--an overview. *Exp Eye Res.* 1990 Jun;50(6):771-778. doi: 10.1016/0014-4835(90)90127-g. PMID: 2197112.
- 31.- Kannan R, Yi JR, Zlokovic BV, Kaplowitz N. Molecular characterization of a reduced glutathione transporter in the lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995 Aug;36(9):1785-1792. PMID: 7635653.
- 32.- Kannan R, Yi JR, Tang D, Zlokovic BV, Kaplowitz N. Identification of a novel, sodium-dependent, reduced glutathione transporter in the rat lens epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996 Oct;37(11):2269-2275. PMID: 8843923.
- 33.- Sweeney MH, Truscott RJ. An impediment to glutathione diffusion in older normal human lenses: a possible precondition for nuclear cataract. *Exp Eye Res.* 1998 Nov;67(5):587-595. doi: 10.1006/exer.1998.0549. PMID: 9878221.
- 34.- Glasser A, Campbell MC. Presbyopia and the optical changes in the human crystalline lens with age. *Vision Res.* 1998 Jan;38(2):209-229. doi: 10.1016/s0042-6989(97)00102-8.
- 35.- Koretz JF, Handelman GH. How the human eye focuses. *Sci Am.* 1988 Jul;259(1):92-99. doi: 10.1038/scientificamerican0788-92. PMID: 3070746.
- 36.- Atchison DA. Accommodation and presbyopia. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1995 Jul;15(4):255-272. PMID: 7667018.
- 37.- Weale RA. PRESBYOPIA. *Br J Ophthalmol.* 1962 Nov;46(11):660-668. doi: 10.1136/bjo.46.11.660. PMID: 18170829; PMCID: PMC510263.
- 38.- Farnsworth PN, Shyne SE. Anterior zonular shifts with age. *Exp Eye Res.* 1979 Mar;28(3):291-297. doi: 10.1016/0014-4835(79)90091-5. PMID: 436977.
- 39.- Pierscionek BK, Weale RA. The optics of the eye-lens and lenticular senescence. A review. *Doc Ophthalmol.* 1995;89(4):321-335. doi: 10.1007/BF01203708. PMID: 7493534.
- 40.- Liu YC, Wilkins M, Kim T, Malyugin B, Mehta JS. Cataracts. *Lancet.* 2017 Aug 5;390(10094):600-612. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30544-5. Epub 2017 Feb 25. PMID: 28242111.
- 41.- Bobrow JC, Breadsley TL, Jick SL, et al. *Lens and cataract.* San Francisco: American Academy of Ophthalmology, 2015–16.
- 42.- Bowling B. Kanski's Clinical Ophthalmology: a systematic approach. 8Ed. Sydney. New South Wales Australia. Elsevier Limited;1988 [actualizado en 2016]. Página 270.
- 43.- Mitchell P, Cumming RG, Attebo K, Panchapakesan J. Prevalence of cataract in Australia: the Blue Mountains eye study. *Ophthalmology.* 1997 Apr;104(4):581-588. doi: 10.1016/s0161-6420(97)30266-8. PMID: 9111249.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

- 44.- Chua J, Koh JY, Tan AG, Zhao W, Lamoureux E, Mitchell P, et al. Ancestry, Socioeconomic Status, and Age-Related Cataract in Asians: The Singapore Epidemiology of Eye Diseases Study. *Ophthalmology*. 2015 Nov;122(11):2169-2178. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.06.052. Epub 2015 Aug 6. PMID: 26256834.
- 45.- Varma R, Torres M; Los Angeles Latino Eye Study Group. Prevalence of lens opacities in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmology*. 2004 Aug;111(8):1449-1456. doi: 10.1016/j.ophtha.2004.01.024. PMID: 15288970.
- 46.- Rao GN, Khanna R, Payal A. The global burden of cataract. *Curr Opin Ophthalmol*. 2011 Jan;22(1):4-9. doi: 10.1097/ICU.0b013e3283414fc8. PMID: 21107260.
- 47.- Pichi F, Lembo A, Serafino M, Nucci P. Genetics of Congenital Cataract. *Dev Ophthalmol*. 2016;57:1-14. doi: 10.1159/000442495. Epub 2016 Apr 1. PMID: 27043388.
- 48.- Asbell PA, Dualan I, Mindel J, Brocks D, Ahmad M, Epstein S. Age-related cataract. *Lancet*. 2005 Feb 12-18;365(9459):599-609. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17911-2. PMID: 15708105.
- 49.- Davis G. The Evolution of Cataract Surgery. *Mo Med*. 2016 Jan-Feb;113(1):58-62. PMID: 27039493; PMCID: PMC6139750.
- 50.- Onyiaorah AA, Kizor NN, N Nwosu SN. Self-reported confidence with ocular examination and management of eye diseases by general medical practitioners. *Niger J Clin Pract*. 2020 Sep;23(9):1254-1259. doi: 10.4103/njcp.njcp_674_19. PMID: 32913165.
- 51.- Shu DY, Ong K, Lovicu FJ. Histopathology of Subcapsular Cataract in a Patient with Atopic Dermatitis. *Optom Vis Sci*. 2017 Feb;94(2):270-276. doi: 10.1097/OPX.0000000000001011. PMID: 27801692.
- 53.- Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000 Aug 12;321(7258):405-412. doi: 10.1136/bmj.321.7258.405. PMID: 10938048; PMCID: PMC27454.
- 53.- Nielsen NV, Vinding T. The prevalence of cataract in insulin-dependent and non-insulin-dependent-diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1984 Aug;62(4):595-602. doi: 10.1111/j.1755-3768.1984.tb03972.x. PMID: 6385608.
- 54.- Klein BE, Klein R, Moss SE. Prevalence of cataracts in a population-based study of persons with diabetes mellitus. *Ophthalmology*. 1985 Sep;92(9):1191-1196. doi: 10.1016/s0161-6420(85)33877-0. PMID: 4058882.
- 55.- Sociedad Española de Retina y Vítreo. Manejo de las complicaciones oculares de la diabetes. Retinopatía Diabética y Edema Macular (Tercera revisión). “Guías de Práctica Clínica de la SERV”. Disponible en www.serv.es
- 56.- Lang GK, Amann J. *Oftalmología: texto y atlas en color*. 2Ed. España: Masson; 2002. ISBN: 84-458-1110-X
- 57.- Becker R, Teichler G, Gräf M. Reproducibility of visual acuity assessment in normal and low visual acuity. *Strabismus*. 2007 Jan-Mar;15(1):3-6. doi: 10.1080/09273970601172435. PMID: 17523039.
- 58.- Johnston RL, Taylor H, Smith R, Sparrow JM. The Cataract National Dataset electronic multi-centre audit of 55,567 operations: variation in posterior capsule rupture rates between surgeons. *Eye (Lond)*. 2010 May;24(5):888-893. doi: 10.1038/eye.2009.195. Epub 2009 Aug 14. PMID: 19680280.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

- 59.- Shanmugam PM, Barigali A, Kadaskar J, Borgohain S, Mishra DK, Ramanjulu R, Miniya CK. Effect of lanosterol on human cataract nucleus. *Indian J Ophthalmol*. 2015 Dec;63(12):888-890. doi: 10.4103/0301-4738.176040. PMID: 26862091; PMCID: PMC4784074.
- 60.- Zhao L, Chen XJ, Zhu J, Xi YB, Yang X, Hu LD, et al. Lanosterol reverses protein aggregation in cataracts. *Nature*. 2015 Jul 30;523(7562):607-611. doi: 10.1038/nature14650. Epub 2015 Jul 22. Erratum in: *Nature*. 2015 Oct 22;526(7574):595. PMID: 26200341.
- 61.- Venkatesh R, Gurav P, Tibrewal S. Comment to: Effect of lanosterol on human nuclei. *Indian J Ophthalmol*. 2016 Jun;64(6):475. doi: 10.4103/0301-4738.187689. PMID: 27488164; PMCID: PMC4991188.
- 62.- Makley LN, McMenimen KA, DeVree BT, Goldman JW, McGlasson BN, Rajagopal P, et al. Pharmacological chaperone for α -crystallin partially restores transparency in cataract models. *Science*. 2015 Nov 6;350(6261):674-677. doi: 10.1126/science.aac9145. PMID: 26542570; PMCID: PMC4725592.
- 63.- Commission Internationale De Leclairage International (CIE). "A computerized approach to transmission and absorption characteristics of the human eye." CIE 203:2012 (incl. Erratum). ISBN:978-3-902842-43-5
- 64.- Pokorny J, Smith VC, Lutze M. Aging of the human lens. *Appl Opt*. 1987 Apr 15;26(8):1437-1440. doi: 10.1364/AO.26.001437. PMID: 20454339.
- 65.- Gonzalez de la Rosa, M.; Gonzalez-Hernandez, M.; Sigut, J. et al. Measuring haemoglobin levels in the optic nerve head: comparisons with other structural and functional parameters of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013, 54, 482-489.
- 66.- Pena-Betancor, C.; Gonzalez-Hernandez, M.; Fumero-Batista, F. et al. Estimation of the relative amount of haemoglobin in the cup and neuroretinal rim using stereoscopic color fundus images. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015, 56, 1562-1568.
- 67.- Rodriguez Una, I.; Mendez Hernandez, C.D.; Saenz-Frances, F. et al. Correlacion de la relacion excavacion/papila medida mediante HRT-III, SD-OCT y el dispositivo de colorimetria fotografica Laguna ONhE. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2015, 90, 212-219.
- 68.- Mendez-Hernandez, C.; Rodriguez-Una, I.; Gonzalez-de-la Rosa, M. et al. Glaucoma diagnostic capacity of optic nerve head haemoglobin measures compared with spectral domain OCT and HRT III confocal tomography. *Acta Ophthalmol* 2016, 94, 697-704.
- 69.- Gonzalez de la Rosa, M.; Gonzalez-Hernandez, M.; Mendez, C. et al. Glaucoma imaging: Measuring haemoglobin levels in the optic nerve head for glaucoma management. In *Glaucoma Imaging*; Editor Ferreras, A.; Springer: Heidelberg, 2016; pp. 265-280.
- 70.- Mendez-Hernandez, C.; Garcia-Feijoo, J.; Arribas-Pardo, P. et al. Reproducibility of optic nerve head haemoglobin measures. *J Glaucoma* 2016, 25, 348-354.
- 71.- Medina-Mesa, E.; Gonzalez-Hernandez, M.; Sigut, J. et al. Estimating the amount of haemoglobin in the neuroretinal rim using color images and OCT. *Current Eye Res* 2016, 41, 798-805.
- 72.- Perucho-Gonzalez, L.; Mendez Hernandez, C.D.; Gonzalez-de-la-Rosa, M. et al. Preliminary study of the differences in optic nerve head haemoglobin measures between patients with and without childhood glaucoma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2017, 54, 387-394.

C/ Padre Herrera s/n
38207 La Laguna
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

ull.es

73.- Gonzalez-Hernandez, M.; Sigut Saavedra, J.; Gonzalez de la Rosa, M. Relationship between retinal nerve fiber layer thickness and haemoglobin present in the optic nerve head in glaucoma. *J Ophthalmol* 2017, 2340236.

74.- Gonzalez-Hernandez, D.; Diaz-Aleman, T.; Perez-Barbudo, D. et al. Segmentation of the optic nerve head based on Deep Learning to determine its haemoglobin content in normal and glaucomatous subjects. *J Clin Exp Ophthalmol* 2018, 9, 1000760.

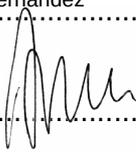
75.- Gonzalez-de-la-Rosa M, Gonzalez-Hernandez M, Rodriguez-Esteve P, Mendez-Hernandez C. Preliminary results of a new method for measuring the spectral absorption of the crystalline lens in vivo. *J Cataract Refract Surg.* 2018;44(4).

Trabajo Fin de Grado
Conformidad para la presentación de la memoria y defensa

Dr/Drs. Dra. **Marta González Hernández** y Dra. **Alicia Pareja Ríos**, tutor/tutores del trabajo realizado por el alumno(s)/a(s) **Eduardo Belda de Zárate y Borja Acosta González** con el título “**Evaluación del envejecimiento del cristalino (LensAging): Reproducibilidad**”, damos nuestra aprobación para la presentación de la memoria y a su defensa como Trabajo Fin de Grado.

La Laguna, 29 de mayo de 201.


Firmado Marta Gonzalez Hernandez


Firmado Alicia Pareja Ríos