

11234  
B  
E3

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO.



**COLAGENASA E INHIBIDOR TISULAR DE LAS METALOPROTEINASAS  
EN HUMOR ACUOSO DE PACIENTES CON GLAUCOMA.**

TESIS DE POSTGRADO

que para obtener el Diploma de

OFTALMOLOGA

PRESENTA

DRA. MARTA GINEBRA SERRABOU

MEXICO, D.F.

1992.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	10
DISCUSION.....	11
CONCLUSIONES.....	13
BIBLIOGRAFIA.....	14

## INTRODUCCION

El objetivo central en la investigación del glaucoma es localizar e identificar la causa, o causas, de la disminución de la facilidad de flujo de salida del humor acuoso en los ojos glaucomatosos. Esto requiere la identificación de los sitios de principal resistencia al flujo de salida del acuoso en ojos normales, así como la comprensión de cómo el humor acuoso pasa a través de estos tejidos (1). Un tejido que ha recibido especial interés en esta búsqueda es la malla trabecular, y en particular, la matriz extracelular (2,3,4). La matriz extracelular es el soporte estructural que permite que grupos de células funcionen como tejido. La matriz extracelular está compuesta de macromoléculas específicas ensambladas en relaciones geométricas dando soporte, flexibilidad, elasticidad y superficie a los tejidos que compone. Los cambios en su estructura están claramente relacionados con cambios en el desarrollo, envejecimiento, enfermedad y varios aspectos del comportamiento celular, por lo que actualmente su estudio se ha convertido en el punto principal de interés de muchos laboratorios (5,2).

Existe aparentemente una continuidad entre las moléculas de la matriz extracelular, la membrana celular y el interior de la célula. Por esto, muchas funciones celulares son dependientes y son reguladas por la matriz extracelular, la cual proporciona un andamio para la migración celular, sitios de unión para la adhesión celular e instrucciones para su diferenciación. La arquitectura de los tejidos y órganos también depende de la biosíntesis y degradación de la matriz extracelular, así como el crecimiento, la forma y el mantenimiento de los mismos. Por todo esto, los cambios patológicos en un tejido u órgano estarán también relacionados con cambios en la regulación de la biosíntesis o degradación de las moléculas de la matriz extracelular.

Los principales componentes de la matriz extracelular son colágena, elastina, proteoglicanos y factores de unión. Todas éstas son grandes macromoléculas estructurales que existen fuera de la célula sin aparente actividad enzimática, produciendo estas macromoléculas durante la vida, las células se

encuentran en constante contacto e interacción con su propia matriz extracelular, así como la producida por otras células vecinas. En algunos tejidos el recambio de la matriz extracelular es lento, por ejemplo en el hueso, cartílago, tendones y quizás esclera. En otros tejidos ocurre un recambio más rápido, por ejemplo en la pérdida de tejido conectivo. Sin embargo, el recambio de los componentes de la matriz extracelular está regulado y es dependiente de hormonas, factores de crecimiento y otras influencias tróficas y ambientales (5).

Hay dos tipos principales de matriz extracelular: la membrana basal y la matriz intersticial. La membrana basal es un tipo único pero universal de matriz extracelular que separa la célula responsable de su síntesis de la matriz intersticial subyacente, normalmente el estroma. La membrana basal es depositada en uno de los lados de las células epiteliales y endoteliales, usualmente la superficie basal, y alrededor de la grasa, músculo y células de Schwann. La membrana basal o lámina basal tiene 100 nm. de grosor aproximadamente y es una capa continua de matriz extracelular compuesta de colágena, proteínas no colágenas y proteoglicanos.

Funcionalmente la membrana basal provee sitios de unión para una capa de células, barrera de filtración para el movimiento de las moléculas, y, debido a su flexibilidad y elasticidad sirve de interfase entre diferentes tipos de tejidos con diferentes cualidades físicas.

La matriz intersticial es característica del tejido conectivo y es sintetizada por células de la familia de los fibroblastos, como los osteoblastos y condroblastos. La matriz intersticial rodea células de tipos similares separando unas de otras, y tiene la responsabilidad primaria del mantenimiento de la forma de un órgano. Está compuesta de un complejo esqueleto de colágenas, fibras elásticas, proteoglicanos y glicoproteínas, las cuales proveen fuerza y soporte mecánico al órgano o tejido, así como dan soporte a los vasos sanguíneos y nervios del tejido.

La colágena es la proteína fibrilar más abundante en el cuerpo humano y uno de los mayores

componentes de la matriz extracelular. Frecuentemente se clasifica de acuerdo a la organización de sus supramoléculas en fibrosa, no fibrosa y filamentosa. La colágena fibrosa es característica de las matrices intersticiales, comprende la colágena tipo I, II y III. Los tipos V y K también se incluyen dentro de este grupo pero no están bien caracterizadas. La principal representante de la colágena no fibrosa es la tipo IV, el mayor componente de las membranas basales. Las colágenas filamentosas forman el componente microfibrilar presente en muchos tejidos, siendo la de tipo VI la más importante.

Aunque la colágena tiene un papel estructural en la mayoría de los tejidos estas moléculas se encuentran continuamente en recambio en la matriz extracelular. La biosíntesis, secreción y degradación de la colágena son complejos procesos que ofrecen bastantes sitios potenciales para su regulación. La alteración en estos procesos normales por defectos inherentes o adquiridos pueden causar disfunción resultando cierta variedad de cambios patológicos.

La elastina es la proteína fibrilar presente en la matriz extracelular de muchos tejidos. Se encuentra organizada en forma de fibras elásticas y funciona como una goma fisiológica que absorbe la distensión mecánica con perfecta recuperación de su forma. Se encuentra presente en el ojo, particularmente en el trabéculo, zónula del cristalino y en la lámina cribosa.

Los proteoglicanos son macromoléculas complejas que consisten en un núcleo de proteína con uno o más tipos de cadenas de glicosaminoglicanos. Estos forman el material amorfo de la matriz extracelular. Poseen carga eléctrica negativa y se encuentran asociados a grandes cantidades de agua. Esta propiedad de los proteoglicanos es debida a las cadenas de glicosaminoglicanos. Se reconocen cinco tipos de glicosaminoglicanos: ácido hialurónico, heparán sulfato, dermatán sulfato, condroitín sulfato y keratán sulfato. El único que existe por sí solo es el ácido hialurónico. Estas moléculas son rápidamente sintetizadas y degradadas, por lo que tienen un importante papel potencial en la plasticidad y remodelación de la matriz extracelular.

Las macromoléculas más conocidas dentro del grupo de los factores de unión son la fibronectina y laminina. Ambas son importantes para la adhesión normal de las células a sus sustratos y para la unión celular después de una agresión y reparación de tejidos (5).

La secreción de proteinasas específicas capaces de degradar selectivamente los componentes de la matriz extracelular se cree que es el mecanismo que inicia y regula el recambio de la matriz extracelular. La collagenasa intersticial, gelatinasa y estromielisina o proteoglicanasa, son miembros de la familia de las metaloproteinasa de la matriz extracelular. Estas enzimas tienen suficiente diversidad en especificidad de sustratos para llevar a cabo esta disrupción inicial de la matriz. Son activas en pH neutro y son secretadas por varios tipos de células. La collagenasa intersticial degrada la colágena I, II, III. Las gelatinasas degradan colágena intersticial desnaturalizada, laminina, fibronectina, y tipos nativos de colágena tipo IV y V. La estromielisina divide los proteoglicanos en dos o más fragmentos y también es activa contra la laminina, fibronectina, colágena tipo IV y varias protefnas globulares.

La expresión de estas metaloproteinasa está regulada por una gran variedad de moduladores de división celular, migración y remodelación de la matriz extracelular. Adicionalmente raramente se observa liberación no controlada de proteinasas por las células. Concomitantemente con la secreción de estas metaloproteinasa se secretan glicoprotefnas específicas que son inhibidores tisulares de las metaloproteinasa (ITMPs) en forma regular por distinto tipo de células. El número de los distintos ITMPs no está aclarado. Estos inhibidores se unen firmemente a las metaloproteinasa e inhiben a todos los miembros de esta familia. La proporción ITMP/metaloproteinasa es de probable significancia fisiológica en el control de la composición y longevidad de los componentes de la matriz extracelular y consecuentemente de varios comportamientos celulares (2).

La principal ruta de salida del humor acuoso del ojo es el sistema canalicular o convencional (6). Al abandonar el humor acuoso la cámara anterior del ojo, el líquido pasa a través de la malla

trabecular y el tejido yuxtacanalicular, a través de la pared interna del canal de Schlemm y hacia el interior de la luz del canal. Del canal, el humor acuoso pasa a través de los canales colectores y se mezcla con la sangre en las venas episclerales. Hay una reducción en la presión hidrostática entre la cámara anterior y el canal de Schlemm; debido a esto, el principal componente de la resistencia al flujo del humor acuoso debe estar localizado en algún lugar entre estos dos puntos.

En el glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) la elevación de la presión intraocular se debe a una disminución del flujo de humor acuoso a través de las vías de salida. La disminución del flujo de humor acuoso se debe a un aumento en la resistencia, la cual, ocurre aparentemente en las áreas corneoesclerales de la malla trabecular o del tejido yuxtacanalicular.

La malla trabecular funciona como un filtro capaz de permitir el flujo del humor acuoso mientras retira desechos celulares y partículas de materia. También funciona como válvula de un sentido para el flujo del humor acuoso hacia el exterior del ojo, previniendo el reflujo del canal de Schlemm hacia el interior del ojo, el cual puede ocasionalmente contener sangre. El flujo del humor acuoso puede estar influenciado por la tensión en la malla trabecular, la cual se origina en el músculo ciliar, por la acción de varias drogas útiles en el tratamiento del glaucoma y por la misma arquitectura del tejido como si fuera gobernada por sus componentes macromoleculares.

La malla trabecular es tejido conectivo similar a una esponja, formado por bandas trabeculares las cuales se engruesan gradualmente conforme aumenta la distancia a la cámara anterior, por esto los espacios intratrabeculares se estrechan a medida que el humor acuoso fluye. Esta malla circular que llena la cámara anterior se convierte eventualmente en tejido yuxtacanalicular, rico en matriz extracelular y células, pero sin espacio aparente para el flujo del humor acuoso. Por esto las propiedades de la matriz extracelular de estos tejidos conectivos puede contribuir significativamente a la resistencia normal al flujo del humor acuoso en el glaucoma y en respuesta a medicamentos (5).



El GPAA se cree que es debido a obstrucción del flujo del humor acuoso a través de la malla trabecular, sin embargo, la etiopatogenia de esta enfermedad permanece desconocida (2,6), y actualmente en gran controversia (4). Las células de la malla trabecular humanas realizan diversas actividades que contribuyen a la función normal del trabéculo, de entre ellas, recientemente se ha empezado a explorar la actividad metabólica de biosíntesis y degradación de elementos del tejido conectivo, que se ha hipotetizado pudiera ser el blanco del daño funcional en el GPAA (2,4,7). De esta manera se ha propuesto que el daño funcional que caracteriza al tejido trabecular en el GPAA pudiera ser un caso equivalente al que sucede en las fibrosis parenquimatosas en las que existe sustitución celular por depósito de tejido conectivo (8,9). Nuestro grupo reportó por primera vez la existencia de una metaloproteínasa con actividad colagenolítica en el humor acuoso de pacientes con catarata (7), esta enzima ha mostrado ser participante activa en el recambio de la colágena, el principal componente de la matriz extracelular, bajo condiciones normales, y se ha involucrado una disminución de su actividad en el desarrollo de la fibrosis (10). Esta proteínasa pertenece a la familia de las metaloproteínas de la matriz extracelular, que incluye a varias enzimas que muestran selectividad por sustratos de la matriz extracelular.

La influencia del humor acuoso en las funciones de la malla trabecular permanece aún en controversia (11). Herschler y col. postularon la presencia de un factor inhibitorio para la proliferación de los fibroblastos en el humor acuoso de pacientes normales, pero que éste se encuentra ausente en algunos pacientes con glaucoma (12). Nosotros describimos en un estudio previo la presencia de una colagenasa latente de bajo peso molecular en el humor acuoso obtenido de pacientes con catarata (7). En este sentido el uso del humor acuoso como un indicador de las características del microambiente que rodea al trabéculo podría ser explorado y asociar algunas de sus características con las alteraciones en el metabolismo de tejido conectivo presente en el tejido trabecular.

En el presente estudio cuantificamos la actividad colagenolítica así como la cantidad de ITMP inmunorreactivo en humor acuoso obtenido de pacientes con GPAA, glaucoma crónico de ángulo cerrado (GCAC), glaucoma congénito, glaucoma neovascular y de pacientes control.

## **OBJETIVOS**

Los objetivos del presente trabajo son:

- Determinar la actividad colagenolítica y la cantidad de ITMP inmunorreactivo en las muestras de humor acuoso obtenidas de cinco grupos de pacientes: GPAA, GCAC, glaucoma congénito, glaucoma neovascular y grupo control.
- Efectuar una comparación de los resultados obtenidos en cada uno de los cuatro primeros grupos y el grupo control.
- Establecer si existe alguna relación entre los valores de la actividad colagenolítica y del ITMP inmunorreactivo.
- Analizar el valor del estudio del metabolismo del tejido conectivo en el humor acuoso como indicador de las mismas funciones metabólicas que tienen lugar en el trabéculo.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Muestras de humor acuoso**

Se obtuvieron muestras de humor acuoso de cinco grupos de pacientes sometidos a cirugía intraocular. El primer grupo se integró por muestras de pacientes con diagnóstico clínico completo de GPAA (n=10). El segundo grupo fueron muestras de humor acuoso en pacientes con diagnóstico de GCAC, los cuales tenían iridectomía periférica previa sin respuesta al tratamiento médico (n=6). El tercer grupo lo forman muestras de acuoso en pacientes con glaucoma congénito (n=4). El cuarto grupo lo integran muestras de acuoso de pacientes con glaucoma neovascular (n=4), y el quinto grupo, considerado como grupo control fueron muestras de acuoso de pacientes con catarata senil sin otra patología ocular subyacente, a los cuales se les realizó extracción extracapsular de catarata (n=17). En todos los grupos las muestras de humor acuoso fueron tomadas como la primera maniobra intraocular; se aspiró el humor acuoso con una jeringa de 1 ml. unida a una aguja de calibre 27. Se tuvo cuidado en no tocar el cristalino, iris o endotelio corneal, sin aplanar totalmente la cámara anterior y se conservaron a -70 C hasta su uso. Debido al pequeño volumen de una de las muestras control, no se pudieron realizar todas las determinaciones en dicha muestra. En todos los pacientes se obtuvo consentimiento expreso previo a la cirugía y el protocolo fue aprobado por el comité local de Ética e Investigación.

### **Actividad colagenolítica**

La actividad colagenolítica (MMP-1) de las muestras de humor acuoso fue determinada con el método de Terato y cols. que utiliza colágena marcada con anhídrido acético -3H (13). El sustrato fue preparado de acuerdo al método publicado en forma previa. Los experimentos fueron realizados en duplicados utilizando de 10 a 20  $\mu$ l. de cada muestra contra 30 mg. de colágena tipo I (actividad

específica de  $1.5 \times 10$  dpm/mg.). Se agregó un amortiguador de Tris 50 mM, pH 7.4 con Na Cl 0.15 M, Ca Cl<sub>2</sub> 20 mM y azida de sodio 0.02% (amortiguador TNC). La reacción fue detenida con EDTA 80 mM, este inhibidor fue agregado a algunos tubos en el tiempo cero y éstos utilizados como referencia basal. La colágena no degradada fue precipitada con dioxano/metanol, separada por centrifugación a 10,000 x g durante 10 min., y una alícuota del sobrenadante contada con un contador de centelleo líquido (Beckman LS-100, 59% de eficiencia). Se consideró actividad colagenolítica a aquella inhibible con EDTA y los resultados se expresan como ug. de colágena degradada/mg. de proteína incubada.

#### Ensayo inmunoenzimático para inhibidor tisular de metaloproteinasas (ITMP-1)

Para la cuantificación del ITMP-1 en las muestras de humor acuoso se utilizó el inmunoensayo desarrollado por Kodama y cols. (14). Este ensayo utiliza dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra diferentes porciones de la molécula de ITMP. El primer anticuerpo se encuentra inmovilizado en las placas de poliestireno y el segundo anticuerpo se encuentra acoplado a peroxidasa. Esta es la variante "sandwich" del ensayo inmunoenzimático (ELISA). Los resultados se expresan en ug/ml.

#### Estadística

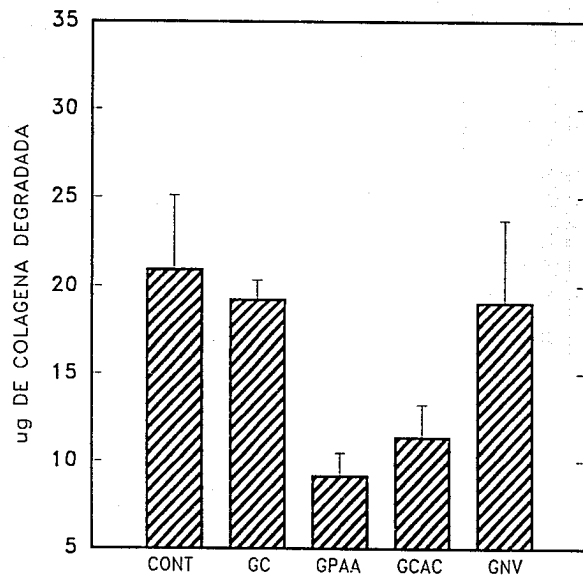
Los resultados fueron analizados por el test U de Mann Whitney.

## RESULTADOS

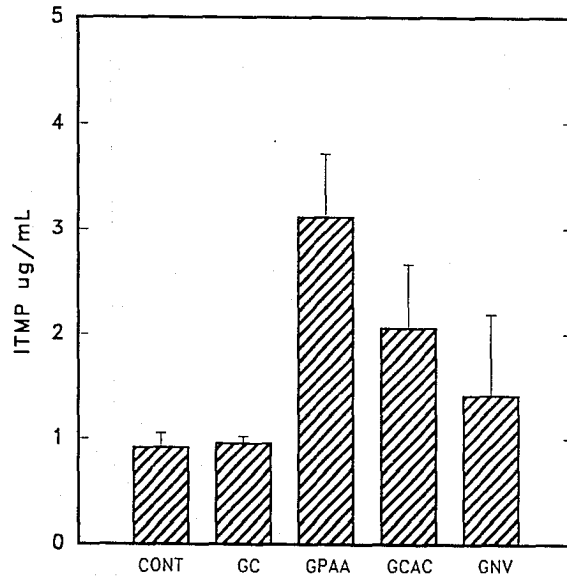
Se detectó actividad colagenolítica en todas las muestras de humor acuoso de los grupos analizados; los resultados se expresan como promedio + desviación estándar. El grupo de GPAA (n=10) mostró actividad colagenolítica de  $9.12 \pm 1.433$  ug. de colágena degradada; este valor fue significativamente menor que el encontrado en el grupo control que fue de  $20.94 \pm 4.14$  ug. de colágena degradada (n=17), (p<0.0001). La actividad colagenolítica del grupo de GCAC fue de  $11.31 \pm 1.88$  ug. de colágena degradada (n=6), también considerablemente menor que el grupo control (p=0.0004). La actividad enzimática del grupo de glaucoma congénito fue de  $19.19 \pm 1.16$  ug. de colágena degradada, y el de glaucoma neovascular con  $18.98 \pm 4.71$  ug. de colágena degradada (n=4 en ambos grupos); estos valores no fueron estadísticamente diferentes al grupo control. (v.gráfica 1).

Se detectó ITMP inmunorreactivo en todos los grupos. El humor acuoso del grupo control contiene  $0.91 \pm 0.13$  ug. de ITMP/ml. (n=16). En las muestras de GPAA el contenido de ITMP inmunorreactivo fue de  $3.11 \pm 0.58$  ug./ml. y fue significativamente mayor que en el grupo control (p<0.0001). En las muestras de humor acuoso de pacientes con GCAC el ITMP fue de  $2.05 \pm 0.61$  ug/ml. y fue también significativamente mayor que en el grupo control (p=0.0004). El contenido de ITMP para los dos grupos restantes fue de  $1.41 \pm 0.77$  ug./ml. para el glaucoma neovascular y de  $0.95 \pm 0.06$  ug./ml. para el glaucoma congénito, ninguno de estos dos grupos fue significativamente diferente al normal (v.gráfica 2).

## ACTIVIDAD COLAGENOLITICA EN HUMOR ACUOSO



### ITMP INMUNORREACTIVO



## DISCUSION

El estudio de la fisiopatología del GPAA ha incluido el estudio del humor acuoso como un microambiente en el que deberían verse reflejadas las modificaciones metabólicas y/o funcionales de la malla trabecular (12). Este tejido se ha propuesto como blanco de las alteraciones en esta enfermedad y recientemente se ha demostrado que el trabéculo de pacientes con GPAA muestra alteraciones de tejido conectivo compatibles con fibrosis (6), entidad caracterizada por depósito anormal de elementos moleculares de la matriz extracelular, con pérdida de la funcionalidad celular (10,14). En este sentido nuestro grupo se ha interesado en buscar indicadores bioquímicos que permitan explorar la existencia de dicho tipo de alteraciones en el trabéculo. El estudio de la actividad colagenolítica y de la concentración de ITMP han demostrado ser útiles en el estudio de otras condiciones caracterizadas por fibrosis (15,16).

Los grupos estudiados fueron comparados con un control compuesto por pacientes con catarata senil, sometidos a extracción extracapsular de catarata y que no presentaban otra patología ocular subyacente; aunque el humor acuoso de estos pacientes no debería considerarse estrictamente como normal, muchos estudios limitados por consideraciones éticas se han llevado a cabo en este tipo de líquido y han sido referidos como controles (12).

Nuestro estudio confirma la existencia de actividad colagenolítica y de ITMP inmunorreactivo en el humor acuoso normal, por otro lado, muestra que en los casos con GPAA la actividad colagenolítica se encuentra disminuida y el ITMP inmunorreactivo aumentado en comparación con el grupo control. Este hallazgo permite sustentar la hipótesis de que existe una alteración del metabolismo del tejido conectivo en el microambiente representado por el humor acuoso de los pacientes con GPAA. Al encontrar disminuida la actividad de la colagenasa, la enzima que degrada el componente molecular más abundante del tejido conectivo, permite proponer un mecanismo que explica el depósito de tejido conectivo en el trabéculo, mediado por una degradación



disminuida de colágena. En apoyo a lo anterior, encontramos aumentada la concentración del inhibidor fisiológico de este grupo de enzimas (ITMP) y de este modo podríamos sugerir en forma adicional que la baja actividad de la collagenasa detectada en el humor acuoso se encuentra mediada por un aumento en la cantidad de su inhibidor local.

Aunque el propósito de nuestro estudio no era investigar sobre la fisiopatología de otros tipos de glaucoma, los datos obtenidos en el análisis de los distintos grupos estudiados, permiten complementar y apoyar la hipótesis que involucra un metabolismo anormal de colágena en los casos con GPAA, ya que como se muestra en los grupos restantes con excepción del GCAC, los datos de actividad enzimática y ITMP inmunorreactivo no son diferentes del control. Por su parte, aunque el GCAC tiene una fisiopatología diferente del GPAA, también es sabido que puede existir un factor combinado de GPAA con cierre del ángulo, formación de sinequias anteriores y daño al trabéculo (6,17,18) lo que nos explicaría en el grupo de GCAC la presencia de daño en el trabéculo reflejada como una alteración en el recambio de los elementos de la matriz extracelular. En particular, los pacientes incluidos en el grupo de GCAC fueron sometidos a trabeculectomía debido a un GCAC no controlable, ya con iridectomías periféricas previas, por lo que en ellos se podría explicar la presencia de daño trabecular.

Hemos demostrado que en el humor acuoso de pacientes con GPAA la actividad colagenolítica se encuentra disminuida considerablemente y el ITMP se encuentra proporcionalmente aumentado. Esto viene a ser un apoyo "in vivo" de los estudios "in vitro" realizados recientemente en células de trabéculo mantenidas en cultivo y se ha demostrado que dichas células expresan varias de las enzimas del grupo de las metaloproteinasas de la matriz extracelular y del ITMP (2,3). Esto sugiere que un evento molecular, como sería una reducción o desorganización en el recambio de la matriz extracelular fuera la causa de una reducción en el flujo del humor acuoso en el GPAA, secundario a una fibrosis del trabéculo (2). Este trabajo, también apoya la validez del estudio del humor acuoso como indicador de ciertas funciones metabólicas del trabéculo, con las implicaciones que esto supone tanto a nivel de investigación como para su utilización como diagnóstico en un futuro.

## CONCLUSIONES

- En el humor acuoso de pacientes con GPAA la actividad colagenolítica se encuentra considerablemente disminuida y el ITMP inmunorreactivo considerablemente aumentado respecto al grupo control.

- En el humor acuoso de pacientes con GCAC la actividad colagenolítica se encuentra considerablemente disminuida y el ITMP inmunorreactivo considerablemente aumentado respecto al grupo control.

-No hay diferencias considerables en las determinaciones de actividad colagenolítica y de ITMP inmunorreactivo en las muestras de humor acuoso de los pacientes con glaucoma neovascular y glaucoma congénito respecto al grupo control.

-Existe una relación inversa entre los valores de la actividad colagenolítica y el ITMP inmunorreactivo.

-Consideramos válido el estudio de la actividad colagenolítica y del ITMP inmunorreactivo en el humor acuoso de pacientes con glaucoma como indicador de la capacidad de degradación de la colágena del trabéculo en dichos pacientes.

-Los resultados obtenidos en este estudio apoyan la hipótesis de que en el GPAA existe un trastorno en el metabolismo de la colágena del trabéculo con disminución de la degradación de la misma y consecuente fibrosis, lo cual se refleja en el humor acuoso obtenido de pacientes con diagnóstico de GPAA.

## **BIBLIOGRAFIA**

1- Ethier RC, Kamm RD, Johnson M, Pavao AF, and Anderson JP: Further studies on the flow of aqueous humor through microporous filters. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:739-746.

2- Alexander PJ, Samples JR, Van Buskirk ME, and Ascott TS: Expression of matrix metalloproteinases and inhibitor by human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32:172-180.

3- Yun AJ, Murphy CG, Polansky JR, Newsome DA, and Alvarado JA: Proteins secreted by human trabecular cells. Glucocorticoid and other effects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:2012-2022.

4- Finkelstein I, Trope GE, Basu PK, Hasany SN, and Hunter WS: Quantitative analysis of collagen content and aminoacids in trabecular meshwork. *Br J Ophthalmol* 1990; 74:280-282.

5- Ritch R, Shield MB and Krupin T: The extracellular matrix of the trabecular meshwork and the optic nerve head. In *The Glaucomas*, The CV. Mosby Co., Baltimore 1989; pp 163-176.

6- Shields MB: Dinámica del humor acuoso. In *Glaucoma*, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires 1987; pp 15-53.

7- Vadillo-Ortega F, González-Avila G, Chevez P y col.: A latent collagenase in human aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:332-335.

8- Selman M, Montañó M, Ramos C, and Chapela R: Concentration, biosynthesis and degradation of collagen in idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 1986;41:355.

9- González-Avila G, Vadillo-Ortega F, and Pérez Tamayo R: Experimental diffuse interstitial renal fibrosis. A biochemical approach. *Lab Invest* 1988;59:254.

10- Pérez-Tamayo R: Pathology of collagen degradation. *Am J Pathol* 1978;92:507.

11- Joseph JP, Grierson I, and Hitchings RA: Chemotactic activity of aqueous humor; A cause of failure of trabeculectomies?. *Arch Ophthalmol* 1989; 107:69-74.

12- Herschler J, Caflin AJ, and Fiorentino G: The effect of aqueous humor on the growth of subconjunctival fibroblasts in tissue culture and its implications for glaucoma surgery. *Am J Ophthalmol* 1980;89:245-249.

13- Terato K, Nagai Y, Kawanishi K, and Yamamoto S: A rapid assay method of collagenase activity using <sup>14</sup>C-labeled soluble collagen as substrate. *Biochim Biophys Acta* 1976; 445:753-762.

14- Vadillo-Ortega F, González G, Villanueva C, Bañales J, and Selman M: Human amniotic fluid modulation of collagenase production in cultured fibroblasts. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:664-668.

15- Seyer JM: Mediators of increased collagen synthesis in fibrosing organs. *Fund Appl Toxicol* 1985;5:228.

16- Postlethwaite AE, Smith GN, Mainardi CI, Seyer JM, and Kanfg AH: Lymphocyte modulation of fibroblasts function in vitro: Stimulation and inhibition of collagen production by different effector molecules. *J Immunol* 1984;132:2470.

17- Garner LL: Combined glaucoma. In Tonography and the Glaucomas, Charles C Thomas publisher, Springfield Il. 1965;pp 210-221.

18- Ritch R, Shields MB, and Krupin T: Angle-closure glaucoma. In The Glaucomas, The CV Mosby Co., Baltimore 1989; pp 843-853.