

11234

4
2ej



**ASOCIACION PARA EVITAR LA
CEGUERA EN MEXICO, I.A.P.**

HOSPITAL DR. LUIS SANCHEZ BULNES

**EFFECTO DE LA DORZOLAMIDA TOPICA
SOBRE EL ENDOTELIO Y ESPESOR
CORNEALES DE CONEJOS**

**T E S I S
D U E P R E S E N T A**

DRA. ERIKA ESCALONA CAAMAÑO

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA DE
CIRUJANO OFTALMOLOGO**

MEXICO, D. F.

1999

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

220085



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

PAGINACION DISCONTINUA



Asesores de Tesis

Dr. José Antonio Paczka Zapata

Médico Adscrito del Servicio de Glaucoma de la Asociación para Evitar la Ceguera en México, Hospital "Dr. Luis Sánchez Bulnes". Universidad Nacional Autónoma de México.

Dr. Jorge Ozomo Zárate

Médico Adscrito del Servicio de Córnea de la Asociación para Evitar la Ceguera en México, Hospital "Dr. Luis Sánchez Bulnes". Universidad Nacional Autónoma de México.

A mis padres por su apoyo, amor y confianza

INDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	2
III.	ANTECEDENTES	3
IV.	JUSTIFICACION	4
V.	HIPOTESIS	5
VI.	OBJETIVOS	6
VII.	SUJETOS Y METODOS	7
VIII.	RESULTADOS	9
IX.	DISCUSION	10
X.	CONCLUSIONES	12
XI.	TABLAS Y FIGURAS	14
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	21

I. RESUMEN

Se desarrolló un modelo experimental de estrés corneal en conejos para evaluar el efecto de la aplicación tópica de hidrocioruro de Dorzolamida al 2% sobre el espesor y la morfología del endotelio corneales. Se estudiaron 20 ojos de 10 conejos; los ojos derechos fueron sometidos a estrés corneal y los ojos izquierdos fueron tomados como controles. Seis conejos recibieron Dorzolamida al 2% y 4 conejos recibieron placebo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos de tratamiento en los valores de paquimetría corneal, densidad celular, tamaño celular promedio y hexagonalidad celular, sin embargo, clínicamente fueron evidentes cambios morfológicos importantes en los ojos operados que recibieron Dorzolamida.

II. INTRODUCCION

Los inhibidores de la anhidrasa carbónica (IAC), tienen la propiedad de disminuir la presión intraocular (PIO) al inhibir la secreción de bicarbonato por el epitelio del cuerpo ciliar y por lo tanto disminuyen o suprimen la producción del humor acuoso.(1) Los IAC orales fueron los primeros en utilizarse con buenos resultados pero con un gran número de reacciones adversas sistémicas (malestar general, fatiga, pérdida de peso, parestesias, discrasias sanguíneas, entre otros) lo cual llevó, a partir de la década de los 80's, al desarrollo de inhibidores de la anhidrasa carbónica tópicos. (2). El MK-927, la Sezolamida y el hidrocloreuro de Dorzolamida son los primeros IAC tópicos que han demostrado tener una buena eficacia clínica tanto como monoterapia como terapia adjunta en pacientes con glaucoma e hipertensión ocular, sin presentar efectos metabólicos adversos.(1- 4) El hidrocloreuro de Dorzolamida ha demostrado ser el más potente de estos agentes tópicos (3, 4, 5) y el más selectivo para la isoenzima II (CA II) de la anhidrasa carbónica, la cual es la isoenzima predominante en el epitelio ciliar (6, 7, 8), así como para la isoenzima IV unida a membrana (CA IV) la cual se ha demostrado recientemente que se encuentra presente en el epitelio no pigmentado del cuerpo ciliar. (6, 7, 9)

III. ANTECEDENTES

Se ha demostrado que la anhidrasa carbónica se encuentra distribuida en otros tejidos del globo ocular como en córnea, cristalino, epitelio pigmentado de retina y células de Müller (1, 10). Existe la evidencia de la presencia de CA IV en el endotelio corneal. (11, 12) Basados en lo anterior, los IAC en teoría, tienen el efecto potencial de inhibir la función endotelial corneal, lo que puede resultar en un aumento en el contenido corneal de agua y por lo tanto de aumentar el espesor corneal. (13) En 1993, se llevó a cabo un estudio sobre la seguridad y eficacia de la Dorzolamida en donde Wilkerson (4) demostró que había un incremento pequeño pero estadísticamente significativo del grosor corneal, sin embargo, dicho hallazgo no fue clínicamente significativo y además no se encontraron cambios en el conteo de células endoteliales. Por otra parte, en estudios animales de un año de seguimiento, no se han encontrado efectos deletéreos en la córnea por el uso de Dorzolamida (información no publicada). En otro estudio realizado por Strahlman et al (3), en el que se comparó la efectividad del tratamiento con Dorzolamida, Betaxolol y Timolol, no se encontraron diferencias a la exploración biomicroscópica entre estos tres medicamentos, lo que sugiere que la Dorzolamida pudiera no tener efectos adversos en la córnea o el cristalino. Por otro lado, Konowal y cols. documentaron cuatro casos de descompensación corneal irreversible en pacientes con función endotelial limítrofe.(14) Por lo anterior consideramos que es importante llevar a cabo un estudio prospectivo, controlado, a largo plazo en sujetos sanos, con el fin de investigar el efecto de la Dorzolamida sobre el conteo de células endoteliales y espesor corneal.

IV. JUSTIFICACION

Ya que la anhidrasa carbónica es una enzima que se encuentra en diversos tejidos del ojo incluyendo la córnea, consideramos que los inhibidores de la anhidrasa carbónica pueden tener un efecto adverso potencial sobre la función del endotelio corneal, lo que podría representar una grave complicación para su uso a largo plazo en seres humanos. Considerando que el realizar un estudio prospectivo sobre el uso de este medicamento a largo plazo y sus efectos adversos en córneas de pacientes sanos conlleva una serie de inconvenientes éticos, se decidió crear un modelo experimental de estrés corneal en ojos de conejos Nueva Zelanda y realizar un estudio experimental sobre el uso de Dorzolamida al 2% en córneas con edema y afección endotelial.

V. HIPOTESIS

El empleo tópico de Dorzolamida 2% tres veces al día por lo menos durante un mes, induce perpetuación del edema corneal y cambios en el número y morfología de las células endoteliales corneales.

VI. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la Dorzolamida al 2% sobre el endotelio y el espesor de córneas sanas y edematosas en conejos Nueva Zelanda.

Objetivos Específicos

1. Desarrollar un modelo de estrés corneal.
2. Medir el efecto de la Dorzolamida 2% sobre los índices de microscopía especular.
3. Medir el efecto de la Dorzolamida 2% sobre el espesor corneal.
4. Comparar las mediciones entre ojo control y ojo problema de cada conejo.
5. Comparar las mediciones entre los dos subgrupos de estudio.
6. Comparar las mediciones en los ojos de cada conejo antes y después de la aplicación del medicamento.

VII. SUJETOS Y METODOS

Se desarrolló un diseño experimental factorial de 2x2x3, en veinte ojos de diez conejos chinchilla adultos, sanos, de entre 2 y 3 kilogramos de peso.

Con el objeto de inducir un daño endotelial controlado, se empleó un modelo de estrés corneal que consistió en la realización de ocho incisiones radiadas del 100% de espesor corneal central, con centro óptico de dos milímetros. Dicho modelo se encuentra validado por cambios morfológicos de interpretación clínica llevados a cabo por un experto. Todos los ojos derechos de los conejos fueron sometidos a este procedimiento y los ojos izquierdos fungieron como controles. El procedimiento quirúrgico fue realizado por el mismo cirujano en todos los conejos.

Se establecieron, de manera aleatoria, dos subgrupos de tratamiento: el subgrupo A (n=6) recibió hidrocloreto de Dorzolamida al 2% en ambos ojos, cada ocho horas durante tres semanas, a partir de la conclusión del procedimiento quirúrgico; el subgrupo B (n=4) recibió Metilcelulosa al 0.5% como placebo, en el mismo esquema que el subgrupo A. Todos los ojos de los diez conejos fueron tratados de manera idéntica con una combinación de Tobramicina y Dexametasona en suspensión, aplicada cada ocho horas, durante dos semanas.

Los ojos fueron evaluados desde el punto de vista oftalmológico, al inicio y al final del seguimiento, para comprobar la ausencia de patología en segmento anterior. Se les realizó paquimetría ultrasónica con el paquímetro ultrasónico Compuscan-P de Storz y análisis de microscopía especular con el equipo Topcon-SP 1000 de no contacto con análisis IMAGENet Rev-3.52 b. Estas evaluaciones fueron realizadas en ambos ojos, un día antes del procedimiento quirúrgico y fueron repetidas siete y veintiún días después de realizada la cirugía. Todas las mediciones fueron realizadas sin tener conocimiento del grupo al que estaba asignado cada conejo.

Las variables dependientes estudiadas fueron las siguientes: paquimetría corneal (μm), promedio del tamaño celular (μ^2), densidad celular (cel/mm^2) y hexagonalidad celular (%).

La información recolectada se compiló en una base de datos electrónica; se procesó y analizó con el programa SPSS versión 6.0. Se empleó estadística descriptiva: como medida de tendencia central se utilizó el promedio y como medida de dispersión la desviación estándar (D.E.) Finalmente, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de mediciones repetidas. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como significativo.

VIII. RESULTADOS

Se estudiaron un total de veinte ojos de diez conejos. Las mediciones de la paquimetría por ojos y subgrupos se muestra en la Tabla 1. No se demostró significancia estadística mediante el análisis de varianza factorial de mediciones repetidas. En las tablas 2, 3 y 4 se describen detalladamente las determinaciones ($\text{media} \pm \text{D.E.}$) de las variables obtenidas con el estudio de microscopía especular en ojos operados y controles, por subgrupos. La figura 1 muestra el cambio en hexagonalidad celular por ojos y subgrupos. El cambio en hexagonalidad per se es significativo al comparar ojos operados y no operados ($p < 0.05$), sin embargo, no existe un efecto estadísticamente significativo ($p = 0.37$), con respecto al tipo de tratamiento al realizar el análisis de varianza. Las figuras 2 y 3 muestran los cambios en densidad celular y tamaño celular promedio en ojos operados y controles por grupos de tratamiento. Con el uso de ANOVA de mediciones repetidas, no se muestran resultados estadísticamente significativos en ninguno de estos grupos ($p = 0.94$ y $p = 0.81$ respectivamente). Al analizar las variaciones porcentuales por ojo y subgrupo, se encontraron variaciones no significativas.

IX. DISCUSSION

Se ha demostrado que la anhidrasa carbónica además de estar presente en el epitelio ciliar, se encuentra distribuida en otros tejidos del ojo, tales como endotelio corneal, cristalino y epitelio pigmentado de retina, entre otros. (1, 10)

Los inhibidores de la anhidrasa carbónica tópicos tienen el efecto potencial de inhibir a la isoenzima IV de la anhidrasa carbónica, presente en el endotelio corneal (8,9), con el consiguiente riesgo de inhibir su función deshidratante, lo que podría resultar teóricamente, en un aumento del espesor corneal.(11, 12)

En estudios realizados sobre ojos de perros, de un año de seguimiento, no se encontraron efectos adversos en la córnea por el uso de Dorzolamida (E.A.L. 1991, información no publicada).(4) Wang y cols., por otro lado, reportan cambios en el flujo transendotelial de córneas de gatos.(15) En el presente grupo de experimentación, no demostramos cambios estadísticamente significativos en ninguna de las variables estudiadas, sin embargo, se observaron cambios clínicos importantes en la morfología celular cuando se analizaron fotografías clínicas.

Consideramos que con los resultados obtenidos, no se puede excluir que la Dorzolamida tenga efectos negativos sobre el endotelio corneal y es necesario analizar varias razones. Es posible que el modelo de estrés corneal inducido por la queratotomía radiada no lleve al endotelio a un grado de daño tal que pudiera convertirse en irreversible con el uso de Dorzolamida. Por otro lado, el endotelio de los conejos a diferencia del endotelio de los humanos, tiene capacidad de mitosis ante cualquier estímulo dañino por lo que su capacidad de recuperación es muy grande, lo que explica la poca variación encontrada en el conteo de células endoteliales. (16)

También es importante tomar en cuenta que en el endotelio de los conejos existe un mayor número de sitios de la bomba Na-K ATPasa que en el humano (proporción 3:1.5), por lo que se puede inferir un mayor poder de deshidratación corneal.(17) Debe considerarse también que el empleo de esteroides tópicos en el presente modelo experimental, pudo inducir una acción compensadora de la función corneal y consecuentemente de su morfología a través de su efecto antiinflamatorio. Finalmente debe tomarse en cuenta la posibilidad de que la Dorzolamida no tenga un efecto clínicamente significativo sino únicamente en situaciones de daño endotelial extremo.

X. CONCLUSIONES

Consideramos que se debe continuar explorando esta controversia, modificando el modelo experimental y aumentando el tamaño de la muestra. En tanto este punto es aclarado, parece razonable recomendar cautela en el uso del clorhidrato de Dorzolamida al 2% en circunstancias clínicas en las que existan córneas con daño endotelial avanzado.

XI. TABLAS Y FIGURAS

ITALIA PAGINA

No.

73

Tabla 1. Paquimetría ($\mu\text{m} \pm \text{D.E.}$) en ojos operados y controles por subgrupos

	OPERADOS		SANOS	
	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)
Tiempo				
Preop	0.38 \pm 0.0	0.39 \pm 0.03	0.38 \pm 0.01	0.41 \pm 0.03
Día 7	0.39 \pm 0.02	0.38 \pm 0.0	0.37 \pm 0.0	0.38 \pm 0.0
Día 21	0.38 \pm 0.0	0.38 \pm 0.01	0.40 \pm 0.03	0.38 \pm 0.01

μm = micrómetros

D.E.= desviación estándar

NS= no significativo

ANOVA de mediciones repetidas

p= NS

Tabla 2. Hexagonalidad (%±D.E.) en ojos operados y controles por subgrupos

	OPERADOS		SANOS	
	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)
Preop	93.0±8.7	96.5±4.3	88.5±11.5	97.5±5.0
Día 7	72.8±23.7	63.5±36.6	79.3±12.8	86.0±18.4
Día 21	51.5±34.9	86.2±10.0	62.8±33.1	73.5±13.2

%=porcentaje

D.E.=desviación estándar

Tabla 3. Densidad celular (cel/mm²) en ojos operados y controles por subgrupos

	OPERADOS		SANOS	
	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)
Preop	3833±326	3807±228	3761±328	3791±290
Día 7	3710±443	3632±452	3617±335	3682±433
Día 21	3593±493	3554±397	3594±332	3584±324

cel/mm²= células por milímetro cuadrado
D.E.= desviación estándar

Tabla 4. Tamaño celular promedio ($\mu^2 \pm D.E.$) en ojos operados y controles por subgrupo

Tiempo	OPERADOS		SANOS	
	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)	Dorzolamida (n=6)	Placebo (n=4)
Preop	262±23	249±33	274±40	272±18
Día 7	271±34	277±33	274±30	270±32
Día 21	279±59	288±49	270±35	271±16

μ^2 =micrómetros cuadrados
D.E.=desviación estándar

FIGURA 1.
Hexagonalidad (%) en ojos operados y controles por tratamiento.
ANOVA de mediciones repetidas; $p=0.37$

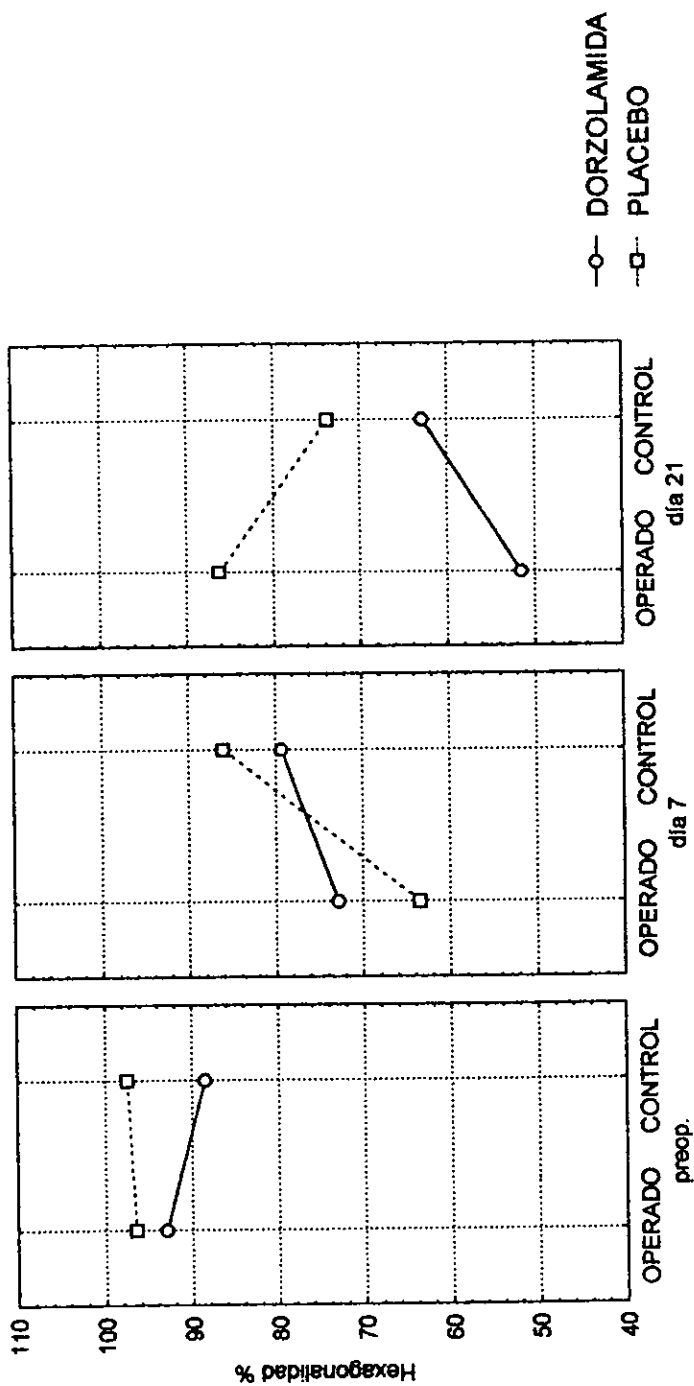
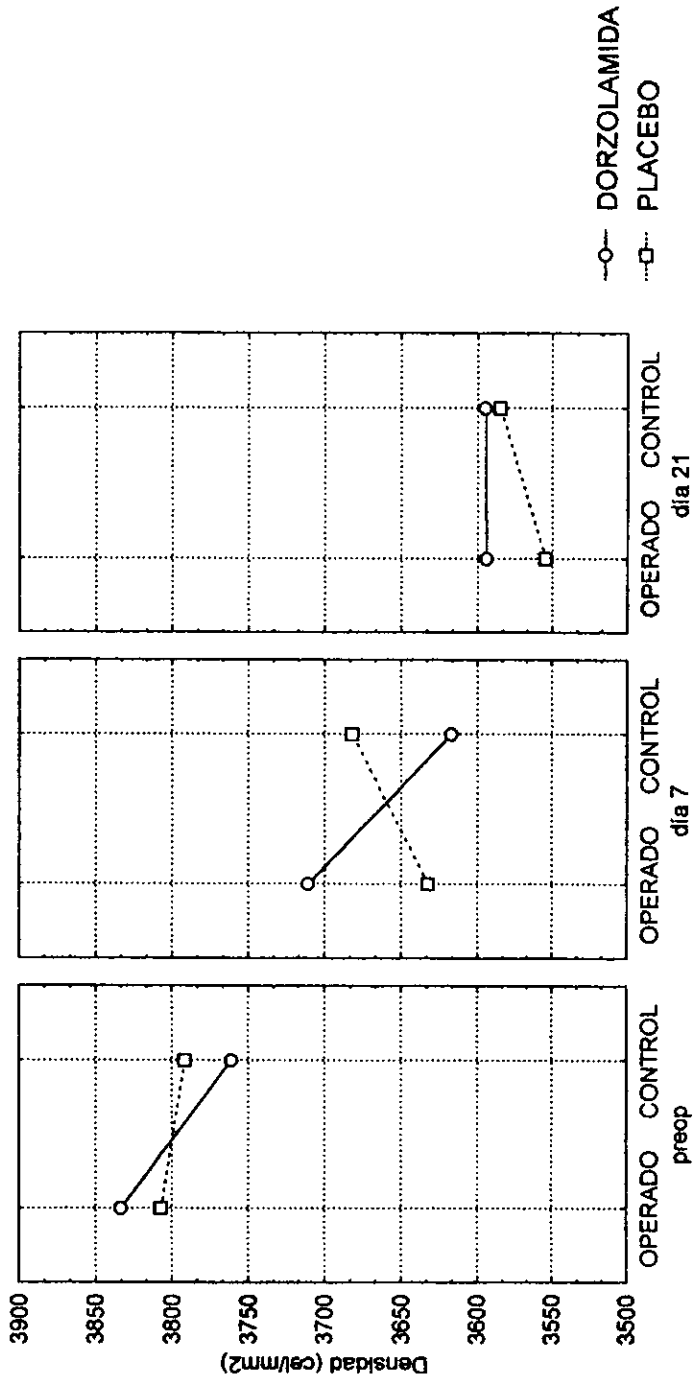


FIGURA 2.

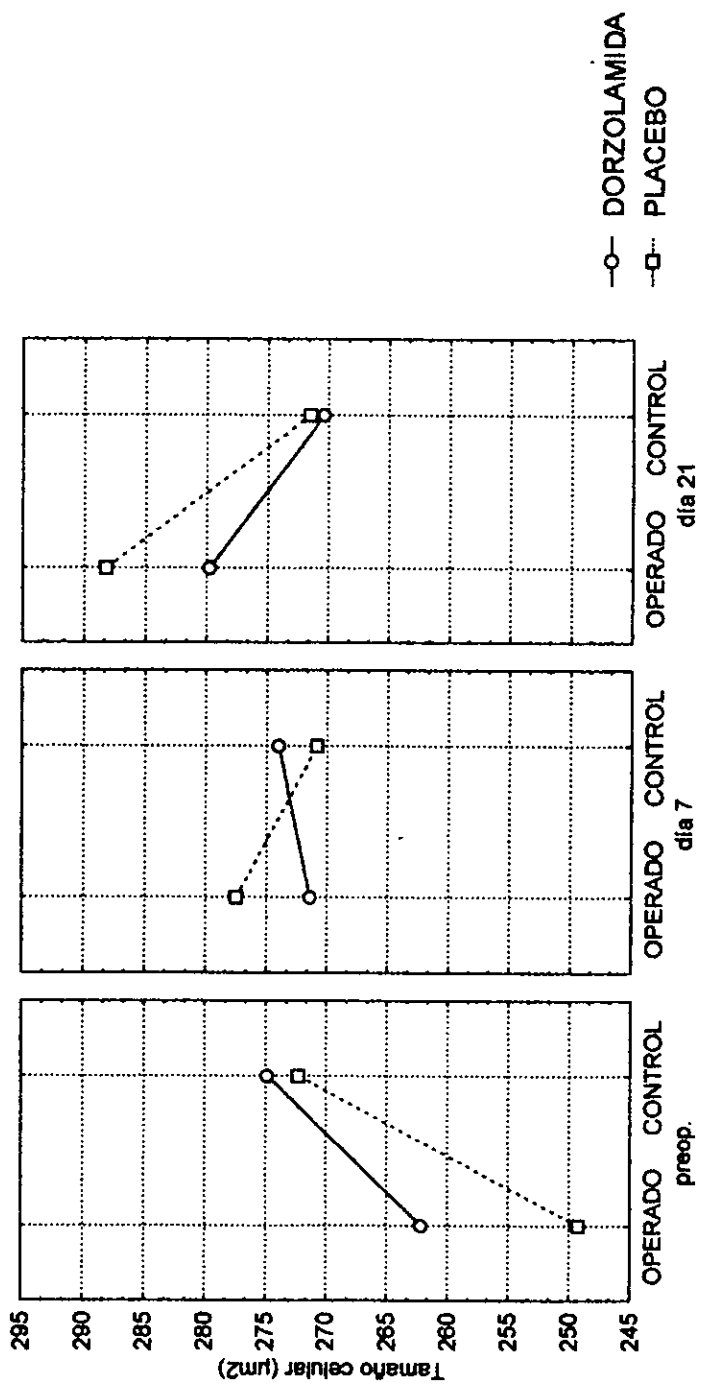
Densidad celular (cel/mm²) en ojos operados y controles por tratamiento.
ANOVA de mediciones repetidas; $p=0.94$



**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

FIGURA 3.

Tamaño celular promedio (μm^2) en ojos operados y controles por tratamiento.
ANOVA de mediciones repetidas; $p= 0.81$



XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lippa, E.: Carbonic Anhydrase Inhibitors. En: Ritch, R.; ed. *The Glaucomas*. Mosby, St. Louis, 1996: pp 1463.
2. Lippa, E.; Carlson, L.; Ehinger, B.: Dose Response and Duration of Action of Dorzolamide, a Topical Carbonic Anhydrase Inhibitor. *Arch Ophthalmol* 1992; 110: 495.
3. Strahlman, E.; Tipping, R.; Vogel, R.: A Double-Masked, Randomized 1-Year Study Comparing Dorzolamide (Trusopt), Timolol and Betaxolol. *Arch Ophthalmol* 1995; 113: 1009.
4. Wilkerson, M.; Cyrilin, L.; Lippa, E.: Four-Week Safety and Efficacy Study of Dorzolamide, a Novel Active Topical Carbonic Anhydrase Inhibitor. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 1343.
5. Lippa, E.; Schuman, J.; Higginbotham, E.: MK-507 versus Sezolamide. Comparative Efficacy of Two Topically Active Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Ophthalmol* 1991; 98(3): 308.
6. Schwan, H.; Hornick, C.; Michelson, S.: Identification on Partial Purification of a Sodium Dodecyl Sulfate Resistant Carbonic Anhydrase Activity from the Rabbit Ciliary Process. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34 (suppl): 930.
7. Sly, W.; Baldwin, J.; Habecker, C.: A Study of the In Vitro Inhibition of Human Carbonic Anhydrase Isoenzymes I, II and IV. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34(suppl): 970.
8. Wistrand, P.; Schenholm, M.; Lonnerholm, G.: Carbonic Anhydrase Isoenzymes CA I and CA II in the Human Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 419.

9. Maren, T.; Wynns, G.; Wistrand, P.: Properties of Carbonic Anhydrase (CA) IV, the Membrane-Bound Enzyme in Secretory Tissues. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34(suppl): 930.
10. Filatov, V.; Guyer, D.; Kalgatgi, K.: Penetration of Topical Carbonic Anhydrase Inhibitor, MK-927 into the Retina and Retinal Pigment Epithellum of a Rabbit. *Invest Ophthalmol* 1994; 35(suppl): 1426.
11. Shi, X.; Candia, O.; Zamudio, A.: Physiological Evidence for a Membrane-Bound Carbonic Anhydrase in the Corneal Epithelium. *Invest Ophthalmol* 1994; 35(suppl): 1401.
12. Sugrue, H.; Funk, E.; Lazarides, P.: Evidence for a Role of Membrane-Bound Carbonic Anhydrase in Intraocular Pressure Regulation in Rabbits. *Invest Ophthalmol* 1994; 35(suppl): 1400.
13. Bonanno, J.: Role of Carbonic Anhydrase in pH Regulation in Bovine Corneal Endothelium. *Invest Ophthalmol* 1994; 35(suppl): 1404.
14. Konowal, A.; Epstein, R.: Irreversible corneal decompensation in patients treated with topical dorzolamide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37(3):S79.
15. Wang, Y.; Zhan, G.: Fluorophotometric study of acetazolamide inhibition of fluid transport across cat corneal endothelium in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36(4): S299.
16. Prince, J.: Cornea, trabecular region and sclera. En: Reddy, D.; ed. *The Rabbit in Eye Research*, Charles C. Thomas, 1992: p. 86.
17. Pepose, J.; Ubels, J.: The Cornea. En: Hart, W.; ed. *Physiology of the Eye. Clinical Application*, Mosby Year Book St. Louis, 1992. p.29.