



Universidad
Zaragoza

ESTUDIO MEDIANTE PAQUIMETRÍA ULTRASÓNICA DEL ESPESOR CORNEAL EN LA ESPECIE CANINA

ÁNGEL LUIS ORTILLÉS GONZALO

(DIRECTOR-TUTOR: DR. JOSÉ BENITO RODRÍGUEZ GÓMEZ)

MEMORIA PROYECTO FIN DE MÁSTER

MÁSTER OFICIAL DE INICIACIÓN A LA INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS VETERINARIAS

CURSO 2011-12



Unidad de Cirugía
Departamento de
Patología Animal
Universidad Zaragoza



Hospital
Veterinario
Universidad Zaragoza

Autor: ÁNGEL LUIS ORTILLÉS GONZALO

Título: **EVALUACIÓN DEL ESPESOR CORNEAL EN LA ESPECIE CANINA**

Memoria Proyecto Fin de Máster (Curso 2011/2012)

Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza

(C/ Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza, España)

“El éxito es conseguir lo que persigues, la felicidad querer lo que consigues”

ANÓNIMO

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Jose Benito Rodríguez Gómez, por su constante apoyo y consejo, por abrirme las interesantes puertas de la Oftalmología Veterinaria, y por brindarme la oportunidad de seguir aprendiendo día a día. Al Dr. Jose Ángel Cristóbal Bescós, por la confianza depositada en mí para iniciar un proyecto que supone una de las etapas más importantes en mi corta vida profesional. Al Dr. Jose Antonio Gámez Vintaned, por su ánimo, su paciente ayuda, y por aportarme parte de su exitosa experiencia en el mundo de la investigación. A la Dra. Begoña Calvo Calzada y a la Dra. Elena Lanchares Sancho, por su predisposición y apoyo desinteresado desde el primer momento que me inicié en el mundo de la investigación. A Dña. Amaya de Torre Martínez, por su ayuda, disposición y colaboración en cada momento, así como por permitirme trabajar a su lado aprendiendo cada día algo nuevo. Y en definitiva, a todos los animales que hacen posible cada día que la ciencia avance en beneficio de todos.

TABLA DE CONTENIDO

✓ RESUMEN	9
✓ INTRODUCCIÓN	13
- OBJETIVOS DE ESTUDIO	15
- LUGAR DE REALIZACIÓN	15
- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
✓ METODOLOGÍA	39
- MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL	41
- ESTUDIO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	47
✓ RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
- ESPESOR CENTRAL DE LA CÓRNEA (ECC)	51
- ESPESOR DORSAL DE LA CÓRNEA (EDC)	54
- ESPESOR VENTRAL DE LA CÓRNEA (EVC)	57
- ESPESOR LATERAL DE LA CÓRNEA (ELC)	60
- ESPESOR MEDIAL DE LA CÓRNEA (EMC)	63
- VARIABILIDAD DEL ESPESOR CORNEAL EN LOS PUNTOS ESTABLECIDOS	66
- COMPARACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
✓ CONCLUSIONES	71
- FUTUROS OBJETIVOS Y LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	73
✓ REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
✓ APÉNDICE I	87
✓ APÉNDICE II	95

RESUMEN

La paquimetría ultrasónica es una técnica fiable y aplicativa, desde el punto de vista clínico, en la determinación del espesor corneal en la especie canina, ya que permite la toma de datos precisos de forma rápida y no afectados por el movimiento ocular, y para la que no se requiere necesariamente sedación o anestesia general. Además, presenta una alta repetibilidad entre observadores y entre sesiones. Así, es una técnica útil de forma rutinaria en el diagnóstico y tratamiento médico y quirúrgico de patologías del segmento ocular anterior, y concretamente, de la estructura corneal.

El objetivo principal del presente estudio es determinar los valores medios del espesor corneal en la especie canina mediante el uso de dicha técnica, así como comprobar la existencia de correlación entre el espesor corneal, la edad y el peso. Además, se pretende establecer el grado de variación que presenta el espesor corneal central respecto al periférico.

En la realización del mismo, se utiliza un total de 16 perros de raza Beagle, todas hembras castradas, con edades comprendidas entre los 2 y 7 años. A cada uno de los animales se le realiza previamente un examen físico general y oftalmológico específico, así como un test de fluoresceína, para descartar la presencia de alteraciones del epitelio corneal que puedan interferir en los valores reales registrados. Bajo anestesia tópica ocular, se realiza la medición del espesor corneal mediante paquimetría ultrasónica en 5 puntos preestablecidos del mapa corneal (central, dorsal, ventral, lateral y medial). Posteriormente, se procede al análisis bioestadístico de los datos obtenidos.

Los resultados obtenidos muestran un valor medio del espesor corneal es de 588,81 μm en el punto central, de 665,2 μm en el punto dorsal, de 633,03 μm en el punto ventral, de 654,13 μm en el punto lateral y de 620,31 μm en el punto medial. Tras el exhaustivo análisis de los datos, no se observan diferencias estadísticamente significativas en el espesor corneal entre ambos ojos, para cada uno de los puntos estudiados (central, dorsal, ventral, lateral y medial), pudiéndose establecer valores medios de cada punto e individuo referidos a ambos ojos. Por otra parte, no se observa variación del espesor corneal central ni periférico relacionada con la edad ni con el peso del individuo, para la especie y raza estudiada. Por último, el centro de la estructura corneal presenta un espesor significativamente menor que el existente en puntos más periféricos de la misma, tanto en el ojo derecho como en el izquierdo.

INTRODUCCIÓN

✓ OBJETIVOS DE ESTUDIO

- Determinar los valores medios del espesor corneal *in vivo*, en perros oftalmológicamente sanos de la raza Beagle (hembras castradas), en distintos puntos preestablecidos de la estructura corneal, y comprobar la variabilidad existente entre los mismos.
- Establecer las correlaciones estadísticas y variabilidad de los valores del espesor corneal, obtenidos por medición en distintos puntos simétricos de la córnea, con las variables edad y peso.
- Comparar la coincidencia o correlación de las medias estadísticas obtenidas, con los estudios publicados para dicha especie, raza, edad, sexo y peso.
- Verificar la adecuación e idoneidad de la paquimetría ultrasónica como técnica de medición del espesor corneal en la especie canina.
- Determinar la importancia de la paquimetría ultrasónica como técnica útil y aplicable de forma rutinaria, desde el punto de vista clínico, para el diagnóstico y tratamiento médico y quirúrgico de patologías del segmento ocular anterior, y concretamente de la estructura corneal.
- Establecimiento de futuras líneas de investigación en el campo de la paquimetría corneal, basadas principalmente en datos estadísticos que incluyan diferentes razas, además de variables como sexo, edad, y peso.

✓ LUGAR DE REALIZACIÓN

FACULTAD DE VETERINARIA (UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA)

- Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza
- Unidad de Cirugía del Departamento de Patología animal

✓ REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La córnea es el elemento refractivo más importante del dioptrio ocular. Para que esta importante función pueda ser desempeñada, la cualidad de la transparencia ha de mantenerse de forma constante y ser capaz de enfrentarse a los cambios que el crecimiento y envejecimiento natural de los tejidos van a provocar durante la vida, así como tener la capacidad de regenerarse frente a las diferentes agresiones externas que la vida va a deparar.

Todas las estructuras de lo que hoy llamamos superficie ocular, tienen como principal objetivo el mantenimiento adecuado de la estructura corneal, sin la cual la transparencia, y con ello la función visual del ojo, quedaría seriamente comprometida. La superficie ocular es una unidad funcional donde los párpados, aparato lagrimal, conjuntiva y limbo, se comportan como un todo para el mantenimiento de la córnea. La transparencia corneal exige el mantenimiento de su hidratación, oxigenación, nutrición, eliminación de elementos de desecho, barrera inmune y capacidad de reparación.

➤ APROXIMACIÓN ANATÓMICA, FISIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LA CÓRNEA

La córnea se forma a partir de la porción externa del tejido mesodérmico, forma junto a la esclera la capa externa o túnica fibrosa del ojo, recubre una sexta parte de la superficie total del globo ocular y ocupa una posición central. Es una estructura transparente, avascular, sin color, ricamente innervada que puede provocar intenso dolor a su contacto, y no presenta vasos linfáticos u otros canales para fluidos¹⁻³ (Figura 1).

Las dos principales características de la córnea son su transparencia y su función como superficie de refracción, que permite una transmisión y enfoque óptimo de la luz sobre la retina. Además, actúa como una barrera física entre el medio ambiente y el interior del ojo^{4,5}.

Por su carácter avascular, los requerimientos de oxígeno para su actividad metabólica provienen del aire atmosférico que se disuelve en el film lagrimal, durante el parpadeo, al cerrarse los párpados, el oxígeno penetra también desde los capilares de la conjuntiva. La mayoría de los nutrientes como hidratos de carbono, vitaminas, aminoácidos y otros sustratos, alcanzan la córnea a través del endotelio y, en menor medida, desde las arcadas vasculares limbares. Algunos factores de crecimiento, elementos inmunes y otros productos como el

retinol, son segregados por la glándula lagrimal y alcanzan la córnea a través de las lágrimas. El CO₂ y otros productos de desecho metabólico, pueden eliminarse bien a través del endotelio vía cámara anterior y humor acuoso, o bien a través del film lagrimal o incluso de los vasos limbares^{4,6}.

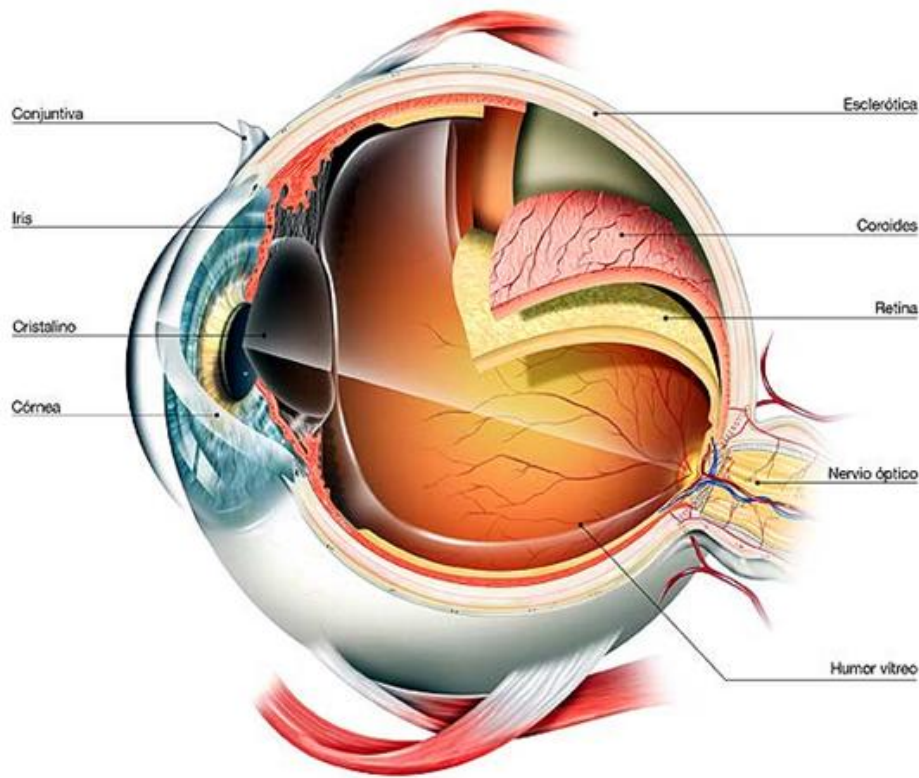


Figura 1. Estructura básica del globo ocular.

(<http://www.drsofer.com>)

La córnea cuando es observada a simple vista tiene una forma ligeramente elíptica, siendo más largo su diámetro horizontal que el vertical. Sin embargo, cuando la observamos tras su disección, desde su cara posterior, esta tiene un aspecto circular con ambos diámetros, vertical y horizontal, de similares longitudes³.

Tanto su diámetro como su grosor, van aumentando durante el desarrollo por el engrosamiento y crecimiento en número de las láminas de colágena. Por norma general, la córnea es más delgada en el centro y va aumentando su grosor hacia el limbo³.

El radio de curvatura de la córnea es significativamente menor que el radio de curvatura que por término medio presenta la esclera, el resultado es una zona de transición entre ambas estructuras, formando el llamado surco escleral, donde la córnea, que es más curva, se

transforma y aplanada al convertirse en esclera³. En la especie canina, la córnea presenta una forma elíptica, con un radio de curvatura promedio de 8,5 mm y un rango del radio de curvatura horizontal de 13 a 15 mm y vertical de 12 a 16 mm⁷.

Es fundamental conocer no sólo la estructura general del globo ocular sino también las particularidades de la anatomía corneal, para poder entender así tanto sus principios fisiológicos como su funcionalidad en el conjunto del sentido de la visión.

De ésta forma, podemos distinguir diversas zonas en su extensión: limbo, córnea periférica y córnea central. Pero, sin duda, lo más relevante es su disposición estructural en capas concéntricas y las características de cada una de ellas. Así, la córnea presenta un total de cuatro capas, que desde la capa más externa a la más interna son: epitelio y membrana de Bowman, estroma corneal, membrana basal de Descemet y endotelio corneal⁵⁻⁷(Figura 2).

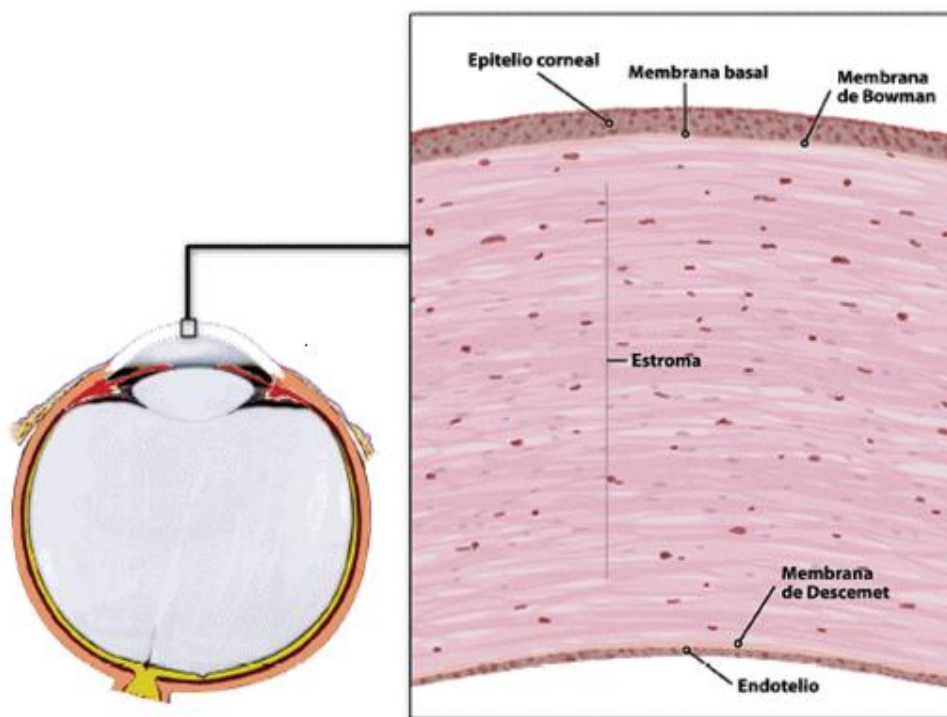


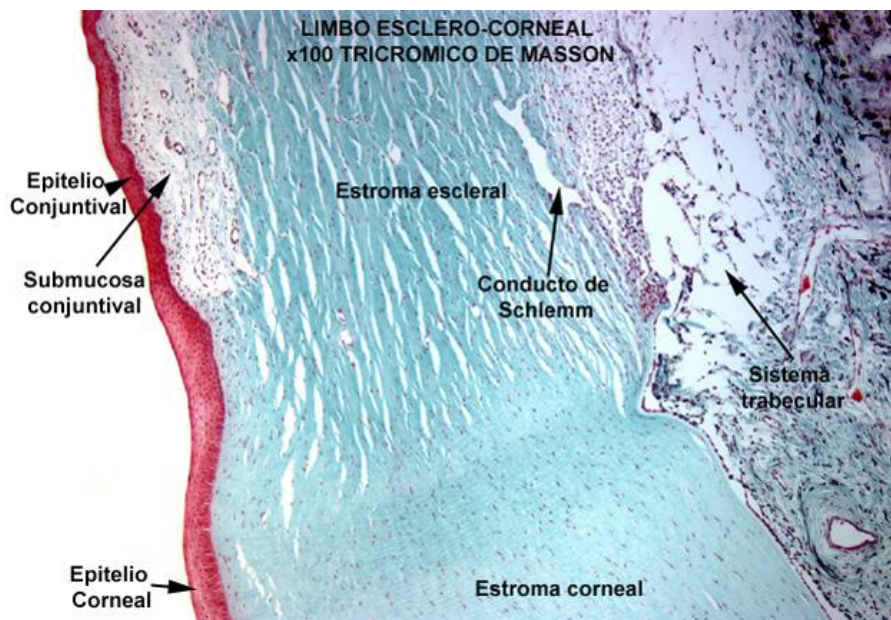
Figura 2. Esquema de la estructura en capas de la córnea.

(<http://www.scielo.isciii.es>)

En la zona de transición entre esclera y córnea, se sitúa una región especial denominada **limbo**, que muestra un color azulado que lo identifica con facilidad. Tiene gran importancia por ser el lugar donde se encuentran las «*Stem-cell*» o células madre epiteliales, y posiblemente también las endoteliales, en su interior se encuentra el trabeculum para la salida del humor

acuoso, aquí se sitúan las células inmunocompetentes y es donde tienen su origen diversos tumores³. Esta zona anatómica presenta además otras múltiples e importante funciones, como la nutrición de la córnea periférica, la cicatrización corneal, la inmunovigilancia de la superficie y las respuestas de hipersensibilidad⁸.

Su epitelio es pues la zona de transición entre el epitelio conjuntival columnar y el corneal estratificado. Típicamente, se producen pliegues de conjuntiva con vasos sanguíneos de forma radial, que se alternan con otros de epitelio corneal y que se denominan empalizadas de Vogt, y se estima que es exactamente aquí donde se localizan las «*Stem-cells*» o células madre³ (Fotografía 1).



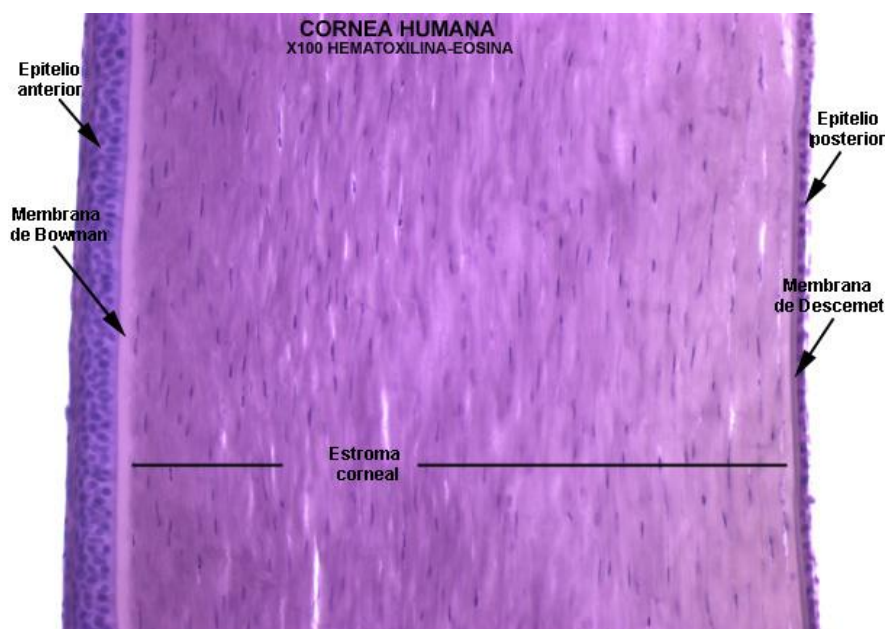
Fotografía 1. Localización y estructura del limbo corneal. Microscopía óptica (x 100).

(Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Argentina)

Así pues, el limbo corneal es el lugar de origen de las células con capacidad para repoblar el epitelio corneal tras su pérdida. Las «*Stem-cells*» o células madre se caracterizan por tener una larga vida, con ciclo celular corto y alto potencial de proliferación. Además, poseen una alta actividad mitótica y carecen de marcadores de queratina, quedando por tanto fenotípicamente diferenciadas^{9,10}.

Estas células proliferan de dos maneras: la primera de ellas consiste en su desplazamiento centrípeto hacia la zona central de la córnea, diferenciándose en «*Transient Amplifying cells* (TAC)», que pasan a constituir el estrato basal del epitelio corneal y que producirán células

postmitóticas suprabasales, llamadas células aladas o «*Wing cells*», que ocupan el estrato medio del epitelio corneal. Las células madre tienen alta capacidad de diferenciación, mientras que las células TAC tienen alta capacidad de proliferación. La segunda forma es mediante proliferación en dirección vertical, con ella se desarrolla la función de barrera⁸.



Fotografía 2. Estructura en capas de la córnea. Microscopía óptica (x 100).
(Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Argentina)

A continuación, se procede a explicar las características básicas de cada una de las capas que componen la estructura corneal (Fotografía 2):

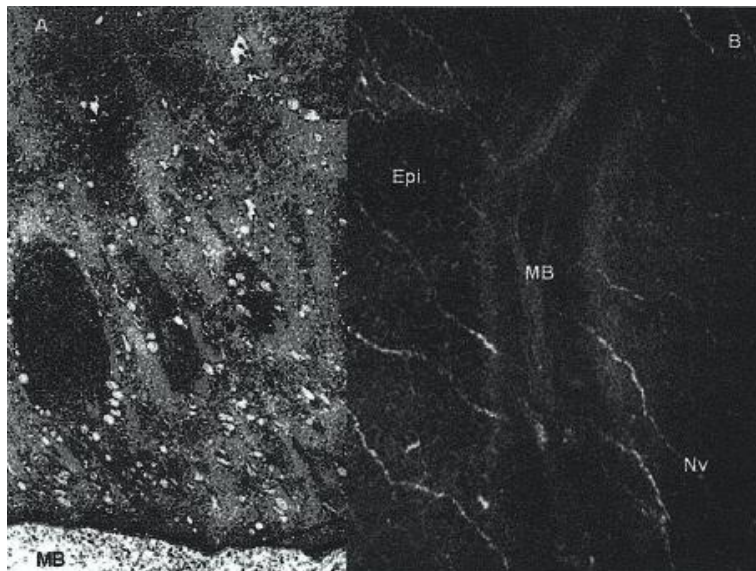
- **EPITELIO CORNEAL**

Es un epitelio escamoso, estratificado y no queratinizado, no secretor, transparente, y para que se mantengan en la mejores condiciones, es fundamental que este continuamente bañado por una película lagrimal precorneal adecuada en cantidad y estructura funcional. Tiene la doble función de barrera frente al medio exterior, así como ser una superficie óptica homogéneamente suave y lisa para la refracción, que consigue gracias a esa interacción con la película lagrimal⁵⁻⁷.

Su grosor en los carnívoros menores es de 25 a 40 μm ⁵. Esta formado por células bien diferenciadas que se continúan desde el epitelio de la conjuntiva tras su transición por el limbo. En él podemos diferenciar 3 tipos de células (basales, aladas o poliédricas y escamosas superficiales no queratinizadas) que forman, a su vez, tres capas del epitelio corneal⁵⁻⁸:

- Capa basal

Es una única capa de células cuboides o columnares, de base plana y ápex en forma de cúpula. Están unidas entre sí de forma muy estrecha, por lo que el núcleo de las mismas es desplazado a su porción celular apical. Está situada en la zona más profunda del epitelio, y sus células presentan capacidad de mitosis y segregan colágeno tipo IV y VII, laminina, heparina y pequeñas cantidades de fibronectina, fibrina y proteoglicano de heparán sulfato, constituyentes fundamentales de su membrana o lámina basal^{4,13}. Dicha membrana o lámina basal está situada justo por debajo de la capa basal corneal, y presenta una estructura y composición similar a la de las láminas basales de otros epitelios escamosos⁵ (Fotografía 3).



Fotografía 3. Capa basal del epitelio corneal. A: microscopía electrónica de transmisión (x3000), se observa membrana basal (Mbs) y membrana de Bowman (MB). B: microscopía confocal (x400), se observa epitelio basal (Epi), membrana de Bowman y membrana basal epitelial (MB), plexo nervioso basal (Nv).

(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 23.)

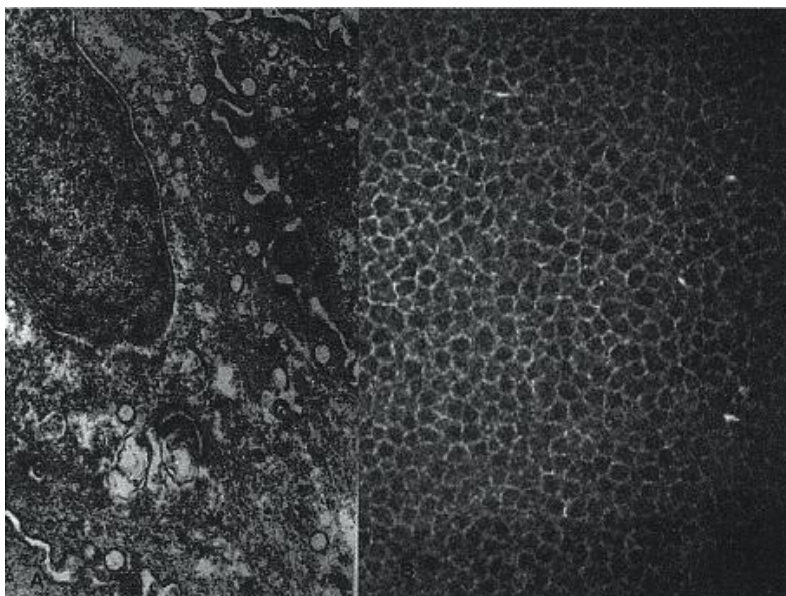
Por otro lado, las células basales presentan un nivel de actividad metabólica y de síntesis mayor que el de las células más superficiales y, por tanto, poseen un citoplasma lleno de filamentos que constituyen su citoesqueleto, así como organelas (mitocondrias, retículo endoplásmico y aparato de Golgi), y también reservas importantes de glucógeno^{5,6}.

Es importante tener en cuenta, que son la única fuente de células nuevas que se incorporan al epitelio corneal. Su origen, como se ha mencionado, reside en las células madre localizadas en la capa basal del epitelio del limbo corneal^{3,8}.

Las células basales, y por tanto todo el epitelio, se encuentran fuertemente unidas a la lámina basal, a la membrana de Bowman subyacente y al estroma por medio de hemidesmosomas^{5,14}. Los hemidesmosomas, en la lámina basal, se unen a las fibras de colágeno denominadas fibrillas de anclaje (colágeno tipo VII), penetrando en el estroma y ramificándose de forma intrincada entre las fibrillas de colágeno, para finalizar en unas estructuras denominadas palcas de anclaje¹⁴. Por su parte, las células basales, aladas y superficiales se encuentran unidas entre sí mediante desmosomas¹⁵.

- Capa media

Esta capa está constituida por células de la capa basal que proliferan desplazándose verticalmente hacia la superficie corneal tras su división celular, de forma que dan lugar a dos o tres capas de células poliédricas o aladas («*Wing-cells*»). Denominadas así por sus prolongaciones laterales, forman una fase intermedia de diferenciación del epitelio corneal, y se encuentran histológicamente entre las células basales y las superficiales^{5,6} (Fotografía 4).



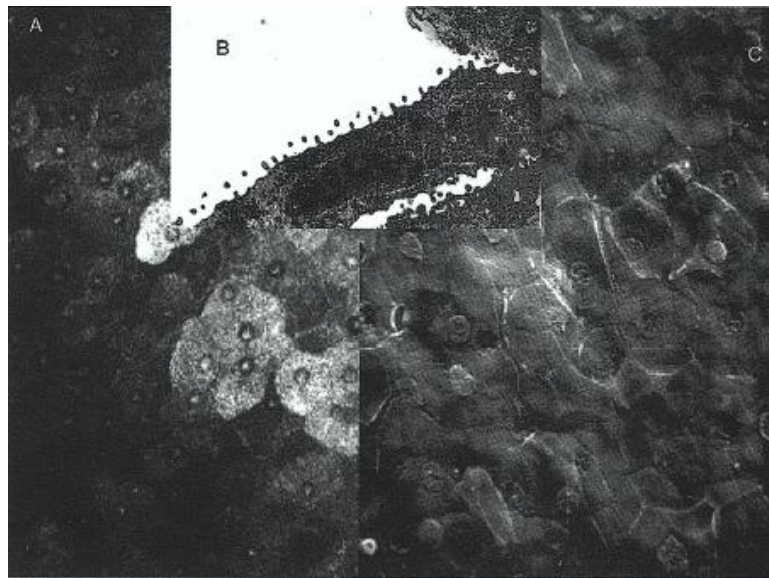
Fotografía 4. Estrato epitelial intermedio, células aladas («*Wing-cells*»). A: microscopía electrónica de transmisión (x15000), se observa núcleo, diversas organelas y desmosomas, algunos de ellos degenerados. B: microscopía confocal (x400), se observa arquitectura regular «en mosaico» típica de este estrato.

(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 23.)

Se caracterizan por su abundancia en tonofilamentos de queratina intracelular, no expresando citoesqueleto queratinizado típico de las células epidérmicas, causa por la que este epitelio es denominado no queratinizado⁴.

- Capa superficial

Está formada por cuatro o cinco capas de células más superficiales y aplanadas, que forman la barrera epitelial, y presentan una diferenciación y degeneración de carácter terminal a partir de las capas anteriormente mencionadas, como queda demostrado por su escasez relativa de organelas celulares, su bajo nivel de ácido ribonucleico y por la condensación de la cromatina celular⁶. Éstas células acaban desprendiéndose en un proceso que da lugar al recambio de todo el epitelio aproximadamente en 7 -10 días^{5,11,12} (Fotografías 5 y 6).



Fotografía 5. Epitelio corneal superficial en descamación con alteraciones nucleares. A: microscopía confocal (x400).

B: microscopía electrónica de transmisión (x8000). C: Microscopía electrónica de barrido (x600).

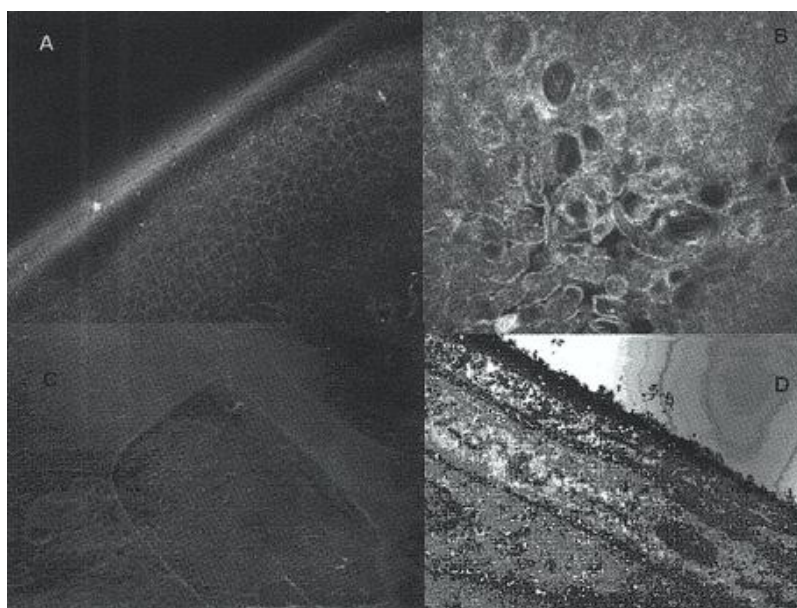
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 21.)

Los estudios de microscopia electrónica de barrido de la superficie de la córnea en animales (ratón, conejo, gato, perro y mono), las han descrito como una trama irregular de células poligonales, planas de bordes lisos, que se han clasificado como células, pequeñas y grandes, o claras y oscuras. Las primeras corresponden a células jóvenes (pequeñas y claras) que han alcanzado recientemente la superficie corneal, mientras que las segundas (grandes y oscuras) son células maduras que se encuentran en proceso de descamación^{4,5}.

En determinados puntos se observan los denominados “orificios de descamación”, que corresponden a áreas en las que una célula epitelial está en proceso de desprendimiento de la superficie corneal, y forma de esta manera un orificio a través del cual es posible observar la célula superficial adyacente^{16,17}.

Pese al proceso de muerte y desprendimiento que sufren este tipo de células, la gran estabilidad de la organización de la estructura del epitelio corneal, hace que estas células formen una barrera eficiente y esencial entre la película precorneal y las porciones internas de la córnea^{4,5}.

Esta barrera evita el movimiento de fluidos desde la película lagrimal hacia el estroma y protege además de posibles infecciones por patógenos. La capa epitelial más superficial se especializa en mantener el film lagrimal, mediante la formación de microplacas y microvillis¹⁸⁻²⁰.



Fotografía 6. Estrato superficial corneal. A: microscopía confocal (x400), se observa sección oblicua de epitelio con células superficiales, estratos medio y basal. B: microscopía confocal (x400), se observan células superficiales degeneradas y en descamación. C: microscopía electrónica de barrido (x3000), se observa bajo el lecho de una célula recién descamada, la nueva célula del estrato superficial con una buena población de microvillis. D: microscopía electrónica de transmisión (x3000), se observan las células del estrato más superficial, aplanadas y con numerosos microvillis, en la capa más superficial muestra restos de la mucina que los recubre.

(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 24.)

El conjunto del film lagrimal tiene un grosor variable, contiene mucina, agua y una capa lipídica, entre otros, aunque dentro de la capa acuosa se encuentran mucinas formadoras de gradiente y con capacidad de formar geles, junto a otros componentes como lisozima, IgA y transferrina^{4,5}. Este film lagrimal tiene entre sus objetivos el de mantener la salud de la superficie, prevenir posibles infecciones, y formar una interfase con el aire ópticamente de alta calidad para una buena visión. Las alteraciones de estos componentes podrían provocar enfermedad de la superficie ocular.

A modo de resumen, se podría decir entonces que el epitelio corneal se encuentra en un estado de permanente renovación, en el que sus células más superficiales se descaman y caen en el film lagrimal, que las elimina. Para ello, las células del estrato basal realizan mitosis, se irán transformando en su proceso de maduración hasta células aladas y finalmente en células aplanadas superficiales²¹⁻²³. El elemento de fricción durante el parpadeo es el que provoca la descamación de aquellas células que están en el plano más superficial.

Así pues, además de las mitosis de las células de la capa basal epitelial, el epitelio corneal se mantiene mediante la migración de nuevas células basales a partir del limbo corneal. En conjunto, el epitelio corneal es mantenido por el balance entre la mitosis de las células basales y las nuevas células que emigran desde limbo, para reponer las que continuamente son descamadas desde el estrato más superficial en cada parpadeo²⁴. Cuando este equilibrio se ve afectado aparecen alteraciones de la cicatrización epitelial corneal.

Como particularidad importante cabe recalcar que, tanto en el ser humano como en animales, se ha encontrado que el epitelio, aunque carece de melanocitos, presenta células inmuno-competentes. La capa basal epitelial de la periferia de la córnea, muestra una subpoblación de células que derivan de las células de vigilancia inmune de la médula ósea, y que expresan antígenos de histocompatibilidad (MHC) tipo II y moléculas co-estimuladoras²⁵. Este tipo celular ha sido denominado célula de Langerhans²⁶, cuya función principal es la de «presentación de antígenos», con una gran capacidad para iniciar una respuesta dependiente de linfocitos T²⁷. También se ha descrito que en el centro de la córnea existe esta misma subpoblación celular, aunque aparentemente «inmadura», ya que estas células de Langerhans tendrían menor expresión de MHC II y moléculas co-estimuladoras, si bien en determinadas circunstancias (inflamación, traumas) puede desarrollar la señalización para activar los linfocitos T²⁸.

- ESTROMA CORNEAL

El estroma es también denominado sustancia propia de la córnea. Tiene en su composición un alto contenido en agua (78% de hidratación) y representa el 90% del espesor corneal. Su función es mantener las características ópticas y estructurales de la córnea, y ello lo consigue gracias al tipo de estructura y composición que posee⁵⁻⁷. Su organización esta basada en una estructura laminar compuesta de proteínas celulares y extracelulares solubles e insolubles²⁹.

La composición del estroma corneal si elimináramos su hidratación sería^{5-7,30,31}: colágeno 68%, queratocitos 10%, proteoglicanos 9%, sales, glicoproteínas y otras sustancias.

El colágeno, principal componente estromal, es una proteína estructural no hidrosoluble que forma la base estructural del tejido conectivo (matriz extracelular). El colágeno corneal, junto al resto de elementos estromales (agua, proteoglicanos y queratocitos), es funcionalmente determinante para el mantenimiento de la transparencia corneal, debido a la alta especificidad y la configuración estructural que posee, aportando además resistencia a las fuerzas de tensión, ya que dichas fibrillas y filamentos ocupan toda la extensión corneal³¹.

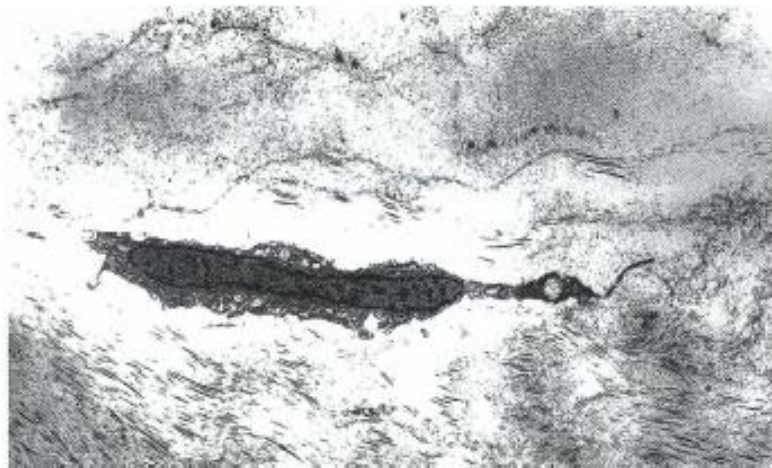
Las moléculas de colágeno están formadas por una triple hélice de 3 cadenas alfa y se conocen hasta 19 tipos, debido a las diferentes combinaciones de cadenas alfa. El tipo más común es el que se va agregando en bandas y ordenando de forma paralela, y que posteriormente es estabilizado mediante estructuras de unión por enlaces intermoleculares covalentes³¹.

Las fibras de colágeno suelen ser heterotípicas, ya que están compuestas por dos o más tipos de moléculas de colágeno. Las fibrillas del estroma corneal se copolimerizan con colágenos de tipo I, II y V^{32,33}. El colágeno tipo VI es el cuarto tipo de colágeno del estroma corneal, y funcionalmente actúa como puente que une lamelas entre sí, cruzándose entre ellas. También es posible encontrar fibras de colágeno (moléculas de colágeno tipos XII y XIV) que actúan junto con las fibrillas intralamelares de unión^{34,35}.

Se estima que en el centro de la córnea hay menor cantidad de lamelas de colágena en relación a la periferia, modificando así el grosor de una y otra zona³⁶. Estas lamelas se describen como paralelas a la superficie y cruzadas en dirección ortogonal unas sobre otras, existiendo variaciones según las zonas. En el tercio anterior del estroma, estas son más delgadas, más estrechas y de orientación más oblicua, con extensiones verticales y horizontales de entrecruzamiento. En los dos tercios posteriores de la córnea, se presentan más gruesas y amplias, así como con una orientación más paralela de las lamelas con solo entrecruzamiento horizontal³⁷.

Todas estas lamelas de colágena parecen atravesar la córnea de limbo a limbo, donde se vuelven formando un anillo alrededor de la córnea, que mantiene la curvatura de la cornea mientras se enlaza con el colágeno limbar^{36,38}.

Los queratocitos representan el segundo mayor componente del peso de la córnea seca, situándose entre las láminas de colágena y formando un sincitio cerrado y altamente organizado que mantiene unidas a las fibras de colágeno. Derivan de la cresta neural y llegan a la córnea durante la segunda oleada mesenquimal en el desarrollo embrionario¹. Entre sus funciones, esta también la de elaborar las láminas y matriz extracelular, así como ser los precursores de los fibroblastos en los procesos de curación en el caso de presentarse lesiones corneales⁵⁻⁷.



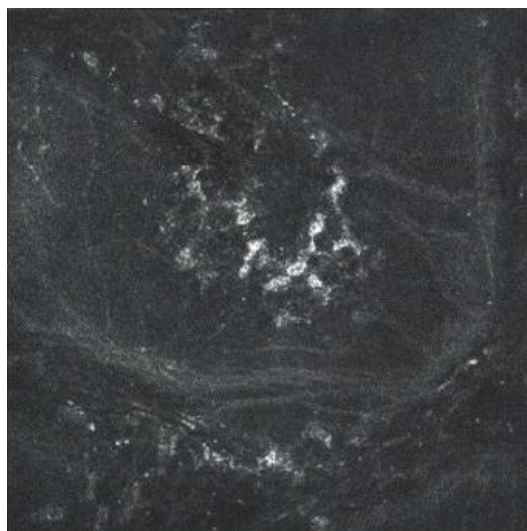
Fotografía 7. Queratinocito. Microscopía electrónica de transmisión (x4000), observamos un queratocito entre lamelas estromales con su núcleo y sus prolongaciones.

(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 25.)

Se encuentran comunicados entre sí por uniones presentes en sus prolongaciones dendríticas, y representan del 1 al 40% del volumen estromal³⁹. Desde un punto bidimensional, su sección transversal presenta una forma aplanada, cuerpo celular con organelas intracitoplasmáticas, y se encuentran descansando entre las lamelas de colágena (Fotografía 7). En su forma tridimensional, son cuerpos estrellados con numerosos procesos de aspecto dendrítico que se extienden desde este cuerpo⁴⁰.

Estas células muestran un activo metabolismo por su riqueza de organelas. Los queratocitos del estroma anterior muestran el doble de mitocondrias que los de los dos tercios posteriores, lo que se correlaciona con el nivel de oxígeno en la córnea, resultando también mayor su número y densidad en relación con los estratos más profundos. Los queratocitos se encuentran bien ordenados espacialmente en todos los niveles. Además, mediante microscopía confocal, se ha observado una disminución de la densidad de los queratocitos con la edad y los años de vida^{41,42}.

Los proteoglicanos son glicoproteínas hidrosolubles y representan el tercer componente del peso de la córnea seca. Estos constituyen una matriz hidrofílica que tiene como función primera mantener el volumen corneal, manteniendo el orden espacial de las fibras de colágeno, y siendo resistentes a las fuerzas de compresión. Cada proteoglicano está compuesto de un núcleo de proteína, unido mediante enlace covalente a un polisacárido aniónico de simple cadena llamado glicosaminoglicano (GAG). Se ordenan tridimensionalmente por su elemento proteico, que se une mediante enlace no-covalente a las fibras de colágeno a través de todo el tejido. Este núcleo proteico no-covalente se une a las fibras de colágeno por zonas específicas en su porción periférica, mediante un núcleo proteico con cadenas laterales de dermatan-sulfato unidas a zonas con queratan-sulfato^{43,44}.



Fotografía 8. Estroma superficial y membrana de Bowman. Microscopía confocal (x400), se observan numerosos núcleos de queratocitos.

(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 25.)

En la córnea, la membrana de Bowman es una estructura estromal acelular de posible origen ectodérmico, cuyo colágeno se encuentra poco ordenado, especialmente si lo comparamos con la exquisita organización de tipo enrejado del estroma celular secundario que deriva de la cresta neural¹ (Fotografía 8).

Esta formación tridimensional de la colágena estromal de la córnea a nivel de la membrana de Bowman, es una estructura compuesta de fibras de colágeno alineadas de forma aleatoria, mientras que a nivel del resto del estroma es una estructura ordenada de direcciones paralelas, formando series de lamelas sucesivas^{36,37}. Una alteración o pérdida de la membrana de Bowman da lugar a una cicatriz, debido a que ésta carece de capacidad de regeneración⁵.

En el estroma podemos encontrar 3 tipos de células, además de queratocitos que son las predominantes, células dendríticas «profesionales», células dendríticas «no-profesionales» e histiocitos^{41,42}. Estas otras células parecen jugar un papel importante en la tolerancia o inicio de reacción inmune mediada por células, además, los histiocitos jugarían un papel importante en la inmunidad mediada por células efectoras fagocíticas.

- ENDOTELIO CORNEAL

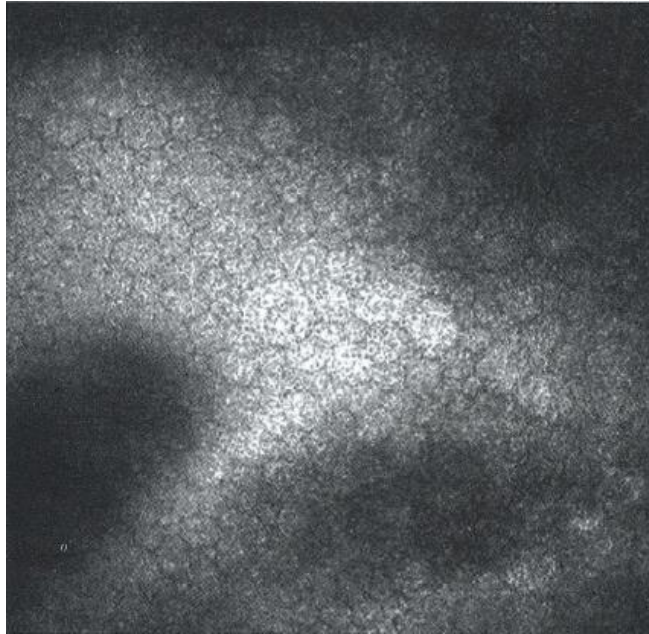
El endotelio corneal deriva de la cresta neural¹. Sus células hexagonales, localizadas en la cara posterior de la córnea, forman una única capa y se sitúan como un irregular mosaico con un espacio intercelular constante entre ellas⁵ (Fotografías 9 y 10).

Este espacio contiene uniones intercelulares «*macula occludens*» y uniones laterales, formando una barrera incompleta entre el estroma corneal y el humor acuoso⁴⁻⁷. Tal vez esto haga parecer que resulta una barrera ineficiente, pero resulta que la mayoría de los nutrientes necesarios para el metabolismo corneal proceden del humor acuoso, por lo que resulta razonable que así ocurra.

El agua y solutos traspasan el endotelio debido a los gradientes osmóticos y a la presión hidrostática, sin embargo, las células endoteliales poseen una enzima, la adenosina trifosfatasa, activada por una bomba de electrolitos $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa dependiente, que contrarresta el flujo de agua al interior de la córnea, siendo esencial en la preservación del estado normal de relativa deshidratación del estroma corneal, y fundamental para la transparencia de la córnea^{4,5,7}.

Las células endoteliales contienen numerosas organelas citoplasmáticas, sobre todo mitocondrias, sugiriendo que tienen la segunda tasa más alta de metabolismo aerobio celular, solo precedido por los fotorreceptores retinianos⁴⁵.

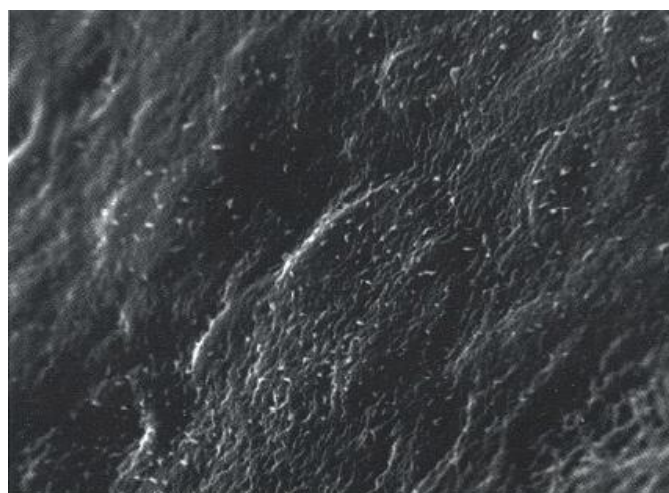
Debido a su limitada capacidad reproductiva, sabemos que hay una disminución progresiva de la densidad celular endotelial central en relación con la edad en dos fases, una rápida y otra lenta^{46,47}. El endotelio mantiene su estructura mediante la migración y expansión de las células supervivientes, y ocurre que muchas de estas células hexagonales alteran su forma (pleomorfismo) y su tamaño celular se modifica, aumentando su tamaño para ocupar el área dejada por las que se eliminan por la edad (polimegatismo)⁴⁷.



Fotografía 9. Endotelio corneal. Microscopía confocal (x400), se observa una estructura homogénea de células con su clásica forma hexagonal regular.

(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 28.)

A pesar de la normal pérdida celular con la edad del endotelio, parece no existir un incremento de la permeabilidad normal en córneas más ancianas, solo cuando se reduce mucho dicha densidad o existe un daño celular agudo, esta puede incrementarse. Si permanecen suficientes células viables como para emigrar y repoblar la zona dañada, se restablecerán las uniones intercelulares y se restaurará la función de barrera endotelial⁴⁷.



Fotografía 10: Microvillos de la cara posterior del endotelio corneal. Microscopía electrónica de barrido (x5000); se observan los microvillos del endotelio en la cara posterior del mismo, en contacto con el humor acuoso.

(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 28.)

Una función secundaria del endotelio es la secreción de matriz extracelular, creando la membrana de Descemet (membrana basal del endotelio corneal). Aunque algunas fibrillas del estroma posterior se unen a esta membrana, no existen complejos de unión o de adhesión en ella. Es una membrana muy elástica y fuerte, compuesta de colágeno tipos IV y VIII, así como glicoproteínas (fibronectina, laminina, trombospodina). En el nacimiento tiene un gran grosor, presenta numerosos espacios, y esta formada por fibras colágenas en banda. Tras el nacimiento, se va añadiendo nueva membrana durante el crecimiento, aunque resulta distinta de la inicial, ya que no presenta bandas y contiene fibras de colágena de pequeño diámetro, que se alinean en una matriz en enrejado^{5-7,48}.

➤ **FACTORES DE INFLUENCIA EN EL ESPESOR CORNEAL**

Existen algunos factores fisiológicos como especie, raza, sexo, edad o momento del día que, pese a no afectar a la integridad de la córnea de forma directa, si pueden suponer un cambio en sus dimensiones o propiedades en un momento determiando^{49,50,51-53}.

Además de estos, existe otro grupo de factores patológicos que sí llega a producir variación o alteración en las propiedades de la córnea^{54,55}. Por otra parte, hay determinados fármacos y otros agentes químicos que, si bien no producen modificaciones permanentes, si las pueden producir de forma inmediatamente posterior a su administración, desapareciendo su efecto si su aplicación es suprimida.

✓ **FACTORES FISIOLÓGICOS**

- **Edad-Raza**

Es uno de los principales factores estudiados que pueden influir en el espesor de la córnea. La influencia y relevancia de este factor depende fundamentalmente de la especie estudiada.

En la especie humana, los datos publicados son un tanto contradictorios, ya que mientras determinados estudios muestran que existe un adelgazamiento corneal a medida que avanza la edad de los pacientes^{52,56}, otros autores establecen que no existen pruebas concluyentes que permitan correlacionar estadísticamente la edad de los pacientes con los cambios en el espesor corneal^{57,58}.

Los datos publicados relacionados con la especie canina y felina, han establecido una correlación estadísticamente significativa que determina un incremento del espesor corneal a medida que aumenta la edad de los animales^{49,59,60}.

En cuanto a la raza, se establece que existe un incremento significativo del espesor corneal en individuos de razas de mayor tamaño^{49,59}, así como también en aquellos de mayor peso⁴⁹.

- Sexo

Respecto a la influencia del sexo sobre el espesor corneal, en varios estudios se ha indicado que en la especie canina, los machos presentan córneas de un mayor grosor que las hembras^{49,59}. Sin embargo, en la especie felina no se presenta dicha diferencia entre machos y hembras⁵⁰. En el caso de estudios realizados en caballos, se ha determinado una baja correlación entre la edad y el espesor corneal, no llegándose a encontrar una diferencia estadísticamente significativa entre machos y hembras^{51,61,62}.

- Variaciones diurnas

Las modificaciones diurnas del espesor corneal han sido publicadas en multitud de especies, entre las que cabe destacar el conejo⁶³, el gato⁶⁴, los primates⁶⁵, y el ser humano⁶⁶.

A primeras horas del día, existe un espesor corneal mayor debido al cierre de los párpados durante las horas de sueño. Ello se produce por una restricción en la llegada de oxígeno atmosférico a la superficie de la córnea, lo cual induce la activación del metabolismo anaeróbico, que por sí mismo causa un incremento de la concentración de lactato dentro del estroma corneal, generando así un gradiente osmótico que atrae agua al interior de la córnea⁶⁷, por lo que se produce un engrosamiento en torno a un 5%. Éste fenómeno es denominado edema nocturno.

✓ FACTORES PATOLÓGICOS

En estado normal, la córnea sana está íntimamente relacionada e influenciada por la película lagrimal precorneal, el humor acuoso, la presión intraocular (PIO) y por los párpados. Cualquier modificación en alguno de estos factores puede ocasionar alteraciones a nivel de la estructura corneal⁴. Dependiendo de la alteración ocular, el espesor corneal puede sufrir un engrosamiento o adelgazamiento más o menos acentuado.

En cualquier especie, y como es lógico pensar, toda aquella alteración que curse con edema corneal presentará un aumento del espesor corneal, y aunque la paquimetría no es fundamental en su diagnóstico, si es considerada de interés en el seguimiento de dichas alteraciones. Un ejemplo importante es la Diabetes Mellitus, ya que las personas que padecen ésta enfermedad sufren cambios en el espesor corneal, debido a una mayor permeabilidad del endotelio corneal⁶⁸, hecho que también ha sido demostrado en perros con ésta patología, en los que se ha observado una diferencia estadísticamente significativa del espesor corneal central, aumentando éste respecto a perros libres de la enfermedad⁶⁹.

Las principales alteraciones que cursan con una disminución del espesor corneal son el queratocono⁷⁰ y la queratoconjuntivitis seca⁷¹, hecho no descrito en animales en la bibliografía consultada.

✓ FÁRMACOS

El espesor de la córnea puede también verse afectado por la administración de anestésicos, anticolinérgicos, simpaticomiméticos y simpaticolíticos⁷²⁻⁷⁵. Entre ellos destacan fármacos tales como midriáticos⁷², anestésicos tópicos^{73,74} y beta-adrenérgicos⁷⁵.

Se ha establecido que el uso de oxibuprocaina 0,4% no afecta significativamente al espesor corneal, sin embargo, sí produce variaciones individuales significativas, tanto de incremento como de disminución del espesor corneal⁷⁴. Por otra parte, se ha observado que el uso de proparacaina 0,5% produce un incremento significativo del espesor corneal central de hasta un 2,9%, detectable durante los 15 minutos siguientes a la instilación, con un pico máximo a los 2 minutos⁷³. Se ha estudiado además el efecto de la instilación de una asociación de tropicamida 0,5% (anticolinérgico) y fenilefrina 0,5% (alfa-estimulante) sobre el espesor corneal, estableciendo que el uso de esta combinación produce un aumento significativo del espesor corneal en los pacientes, entre un 3,68% y un 5,09% del espesor corneal total medido 1,5 horas después de la instilación de la asociación⁷².

Otro de los estudios publicados, valora el espesor corneal bajo el efecto de fármacos activos sobre receptores alfa y beta adrenérgicos (simpaticomiméticos y simpaticolíticos) usando para ello fenilefrina 10% (alfa-estimulante), fentolamina 10% (alfa-bloqueante), isoprenalina 0,5% (beta-estimulante) y timolol 5% (beta-bloqueante), estableciendo que los medicamentos que actúan sobre los receptores alfa adrenérgicos no modifican el espesor corneal, mientras que los beta

adrenérgicos sí lo modifican, produciéndose una disminución (beta-estimulante) o engrosamiento (beta-bloqueante) del espesor corneal, sugiriendo por ello que los receptores endoteliales beta-adrenérgicos juegan un papel importante en la regulación del espesor corneal⁷⁵.

➤ TÉCNICAS Y APLICABILIDAD DE LA PAQUIMETRÍA

Se denomina paquimetría a la técnica con la cual se realiza la medición del espesor corneal “in vivo”. Los primeros estudios de paquimetría se remontan a los realizados en el ojo humano por Blix (1880).

En la actualidad, existen gran variedad de técnicas que permiten establecer el espesor corneal. Son clasificadas primariamente de acuerdo a la información que se obtiene de éstas, por lo que obliga a diferenciarlas en técnicas paquimétricas cualitativas o cuantitativas.

Tabla I. Técnicas de paquimetría.

(Molleda C. Evaluación clínica del espesor central de la córnea y la presión intraocular en el perro [tesis doctoral].

Córdoba: Universidad de Córdoba; 2009. p. 23.)

Técnicas cualitativas		Técnicas cuantitativas
Directas	Indirectas	
Biomicroscopía óptica	Agudeza visual	Paquimetría óptica
	Función de sensibilidad al contraste	Paquimetría Ultrasónica
	Valoración de la dispersión de luz	Microscopía especular
	Formación de halos	Biomicroscopía ultrasónica
		Microscopía confocal
		Paquimetría topográfica
		Topografía paquimétrica
		Interferometría
		Topografía tridimensional
		Rasterofotogrametría
* Modificado de Parafita et al., 2000.		

A su vez, es posible en las técnicas cualitativas reconocer dos tipos, de acuerdo al método utilizado para su valoración. Si ésta se realiza por una observación directa de la córnea, o si su evaluación se realiza por la presencia de parámetros que son dependientes del estado de la córnea sin necesidad de su observación directa, por lo que se les denominan técnicas cualitativas directas o indirectas, respectivamente⁷⁶ (Tabla I).

Las técnicas utilizadas tradicionalmente para establecer el espesor corneal en animales han sido las de tipo cuantitativo, ya que se adaptan con mayor facilidad a las características propias de cada especie animal y no requieren de una respuesta consciente o de la agudeza visual del paciente. De entre éstas, la paquimetría óptica y la ultrasónica han sido las más empleadas.

✓ PAQUIMETRÍA ÓPTICA

Esta técnica es utilizada principalmente para medir el espesor central de la córnea (ECC) en humanos, y en la actualidad está siendo reemplazada por técnicas con mayores prestaciones tecnológicas⁷⁶. Se basa en un sistema desdoblador de imagen adaptado a la lámpara de hendidura, que permite obtener un valor del espesor de la sección óptica observada cuando las imágenes de la superficie anterior y posterior de la córnea coinciden. Este valor es asociado al índice de refracción y a la curvatura corneal, y esto permite establecer el valor del espesor corneal^{76,77}.



Fotografía 11. Paquímetro óptico modelo Slit Lamp BX 900 (MMC Optical, Kastrup, Denmark).

(<http://www.mmcoptical.dk>)

La principal desventaja para su utilización en animales, es la necesidad de experiencia o alto entrenamiento del observador, así como la necesidad de que el tejido corneal siempre sea translúcido^{78,79}. Además, se debe garantizar el alineamiento perpendicular del paquímetro a la superficie de la córnea y una correcta fijación del paciente, lo que frecuentemente es difícil, siendo entonces la necesidad de sedación otra desventaja a considerar para su uso en animales.

Debido a todo ello, existe una limitación en el uso de la paquimetría óptica en los animales, por lo que esta técnica únicamente se ha utilizado en estudios de investigación con animales de laboratorios como ratas, ratones y conejos⁸⁰, y en un trabajo que permitió establecer el espesor corneal en gatos bajo anestesia general⁸¹, pero no se han publicados trabajos relacionados con la paquimetría óptica en el perro.

✓ PAQUIMETRÍA ULTRASÓNICA

El uso de los ultrasonidos en las investigaciones oftalmológicas se remonta a los trabajos realizados por Mundt y Húghees (1956)⁸². Uno de estos métodos es la paquimetría ultrasónica, que frente a la paquimetría óptica, presenta algunas ventajas como son la rapidez, objetividad, facilidad de uso, movilidad del instrumento¹⁵, mayor precisión en la medición del espesor corneal^{49,50} y una alta repetibilidad entre observadores y entre sesiones⁸³.

Se basa en un emisor de ultrasonidos que, al contactar con la córnea, emite unas ondas ultrasónicas y recibe la reflexión “eco” de la interfaz córnea/humor acuoso, donde se produce un cambio de las propiedades acústicas (impedancia acústica) del medio de propagación, lo cual es recibido y procesado por el paquímetro⁷⁶. En función del tiempo de latencia transcurrido entre la emisión y la recepción de los ecos, y teniendo en cuenta la velocidad de calibrado para el medio (córnea), se obtiene el espesor corneal mediante la siguiente relación⁷⁶: $\text{Espesor} = \frac{1}{2} (\text{Tiempo de latencia} \times \text{Velocidad de Calibrado})$.

La técnica de medición con paquimetría ultrasónica únicamente requiere de anestesia tópica ocular. La sonda debe ubicarse perfectamente perpendicular a la superficie corneal, intentando un leve contacto con la película lagrimal precorneal, cuya finalidad es que esta sirva de unión entre la sonda y la córnea, para garantizar la recepción del eco proveniente de la superficie posterior de la córnea. En general, la oblicuidad al colocar la sonda impedirá que sean registrados los ecos, por lo que no se producirá una medida en el paquímetro. Los movimientos oculares que se producen en los animales sin sedación o anestesia general,

pueden producir errores que afecten a la precisión de la técnica. A pesar de ello, existen estudios realizados en conejos que demuestran que estas variaciones debidas al movimiento son despreciables⁵⁸.

El uso de la paquimetría ultrasónica también ha sido descrita en caballos^{51,54,61}, gatos^{50,84} y perros^{49,55,85}.



Fotografía 12. Paquímetro ultrasónico modelo DGH 5100E (Pachette™, DGH Technology Inc., Pennsylvania, USA).

(<http://www.dghkoi.com>)

➤ VALORACIÓN DEL ESPESOR CORNEAL EN LA ESPECIE CANINA

Como se ha mencionado con anterioridad, la paquimetría ultrasónica es de fácil realización en los animales domésticos, altamente reproducible y posee una baja variación interobservador^{49,50,79}. No se ve influida de manera significativa por los súbitos, bruscos e impredecibles movimientos de la cabeza o del ojo, como ocurre frecuentemente en los perros, por lo que ha sido el principal método utilizado para establecer el espesor corneal en esta especie^{51,54,61,84}.

Los estudios hasta ahora realizados del espesor corneal en la especie canina son resumidos en la Tabla II.

En primer lugar, se establece que la parte central es el área de menor espesor de la córnea, mientras que de las áreas periféricas, la de mayor espesor se presenta en el cuadrante dorsal, seguido por el cuadrante lateral⁴⁹. El valor medio del espesor corneal central en la especie canina se ha establecido entre 499 y 660 μm ^{49,59,69,85-87}.

Por otro lado, se ha establecido que no se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los valores de espesor corneal obtenidos entre los ojos derecho e izquierdo de un mismo animal^{49,59,87}.

Sin embargo, se ha establecido que existe una diferencia estadísticamente significativa de acuerdo al sexo, donde los machos presentan un espesor corneal mayor que el de las hembras^{49,59}. De este mismo modo, se presentan variaciones directamente proporcionales de acuerdo al peso corporal, existiendo un menor espesor corneal en animales de menor peso corporal y viceversa⁴⁹. Respecto al espesor corneal y la edad, cabe destacar que en la especie canina se presenta un aumento significativo del espesor corneal a medida que aumenta la edad⁴⁹. Por otra parte, hay que recalcar que los cachorros al momento de abrir los ojos por primera vez (10-15 días de vida), presentan un espesor corneal mayor que a los 8 meses de edad⁸⁵.

Tabla II. Espesor corneal en la especie canina (µm).

(Molleda C. Evaluación clínica del espesor central de la córnea y la presión intraocular en el perro [tesis doctoral].

Córdoba: Universidad de Córdoba; 2009. p. 30.)

	Central	Dorsal	Lateral	Autor
n= 7	620	--	--	Stapleno y Peiffer , 1979
n=14	660			Gwin et al., 1983
N=35 (66 ojos)	611	--	--	Gwendolyn et al., 2006
Machos	569	616	597	Gilger et al., 1991
Hembras	535	569	553	Gilger et al., 1991
Machos	519,7	--	--	Montiani-Ferreira et al., 2003
Hembras	499,0	--	--	Montiani-Ferreira et al., 2003
≤1 año (n= 20)	520	557	540	Gilger et al., 1991
>1 y <7años (n=29)	560	612	581	Gilger et al., 1991
> 7 años	597	671	643	Gilger et al., 1991
>10 y ≤ 15 días	646,5	--	--	Svaldenienė et al., 2003
< 8 meses	581,92	--	--	Svaldenienė et al., 2003
≤ 7 Kg (n=24)	540	588	570	Gilger et al., 1991
>7 y ≤18 Kg (n= 23)	552	610	577	Gilger et al., 1991
>18 kg (n=28)	589	648	622	Gilger et al., 1991
Raza: Labradores	519,2	--	--	Montiani-Ferreira et al., 2003
Raza: Beagle/Briard	499,6	--	--	Montiani-Ferreira et al., 2003

METODOLOGÍA

Todos los procedimientos planteados se llevarán a cabo bajo licencia y autorización aprobada por el Comité Ético Asesor para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza.

El cuidado y uso de animales, se realizará de acuerdo con la Política Española de Protección Animal RD 1201/05, que cumple con la Directiva Europea 86/609 relativa a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

✓ **MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL**

▪ **SELECCIÓN DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

Para llevar a cabo el estudio se seleccionan perros de raza Beagle (*Canis familiaris*). De reconocida utilidad en el mundo de la investigación, esta raza es seleccionada para la realización del presente estudio tanto por su facilidad de manipulación como por el elevado número de animales del que se dispone de esta misma raza. Además, la existencia de estudios sobre paquimetría ultrasónica corneal en esta especie, y en concreto en esta raza, permitirán hacer una posterior comparación estadística del presente trabajo con los mismos.

Tabla III. Clasificación del número de animales según edad.

	≤ 2 años	> 2 y < 6 años	≥ 6 años
Nº Animales	2	8	6

Tabla IV. Clasificación del número de animales según peso.

	≤ 13 Kg	> 13 y < 16 Kg	≥ 16 Kg
Nº Animales	5	7	4

Todos los animales seleccionados proceden del Servicio de Apoyo a la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza (Instalaciones caninas, Facultad de Veterinaria).

Se utiliza un total de 16 perros de raza Beagle, todas hembras castradas, con edades comprendidas entre los 2 y 7 años.

A cada animal se le asigna un número de registro y se anota su edad y peso, para poder así tener un control completo de los mismos que sea útil a la hora establecer a posteriori relaciones estadísticas de los datos obtenidos. Para ello, se dispone y se hace uso de plantillas prediseñadas para la toma de datos (Anexo).

Para el análisis de los valores del espesor corneal, los perros son agrupados según la edad en ≤ 2 años, > 2 y < 6 años, ≥ 6 años, y según el peso en ≤ 13 Kg, > 13 y < 16 Kg, y ≥ 16 Kg (Tablas III y IV).

▪ EXAMEN FÍSICO GENERAL Y EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

En el momento del inicio del estudio, se considera que todos los animales seleccionados se encuentran bajo estricto control veterinario, con historial clínico libre de enfermedades oculares, y no presentan signos clínicos de enfermedades sistémicas u oculares.

Para ello, a cada animal se le realiza un examen físico general y una exploración oftalmológica básica, consistente en la valoración de la respuesta de amenaza, reflejos palpebrales y fotomotores directos y consensuados, tonometría de aplanación para la medición de la presión intraocular, examen con lámpara de hendidura del segmento anterior (superficie ocular, cámara anterior, iris y cristalino), y oftalmoscopia indirecta y directa para examinar el segmento posterior (cuerpo vítreo y fondo de ojo) (Fotografía 13, 14, 15 y 16).



Fotografía 13. Oftalmoscopia indirecta (valoración segmento posterior).

*OFTALMOSCOPIO INDIRECTO: Heine omega 100®, Heine Optotechnik GmbH&Co, Germany.



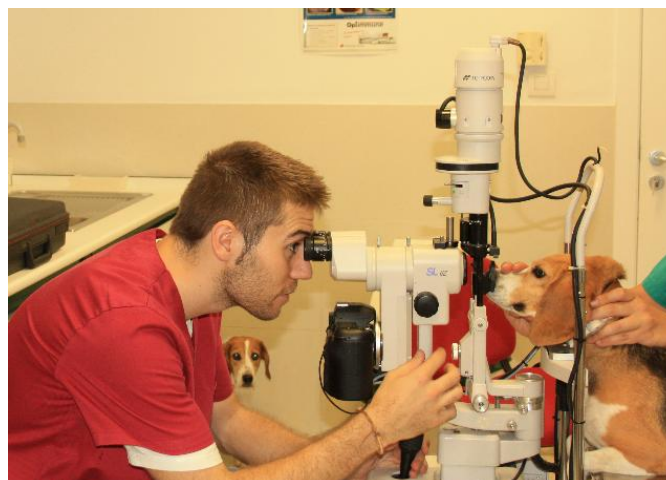
Fotografía 14. Tonometría de aplanación (medición de la presión introcular).

*TONÓMETRO DE APLANACIÓN: Tono-Pen XL®, Medtronic Inc., USA.



Fotografía 15. Oftalmoscopia directa (valoración segmento posterior).

*OFTALMOSCOPIO DIRECTO: Heine beta 200®, Heine Optotechnik GmbH&Co, Germany.



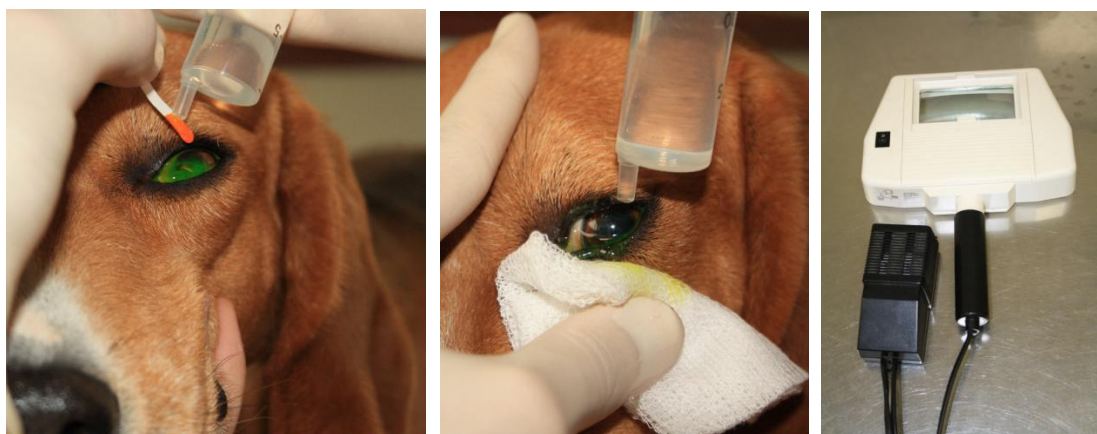
Fotografía 16. Examen con lámpara de hendidura del segmento anterior.

*LÁMPARA DE HENDIDURA: Topcon SL-8Z®, Topcon Corp., Spain.

▪ TEST DE FLUORESCÉINA

Dicho test, entre otras muchas aplicaciones tanto en Oftalmología como en otras disciplinas, sirve para valorar la integridad de la estructura corneal, y en concreto del epitelio de la córnea. La fluoresceína sódica es un colorante hidrosoluble de color naranja que desprende luz verde fluorescente en condiciones alcalinas (p.ej. en contacto con suero fisiológico o con la película lagrimal). Es altamente lipófoba e hidrófila, de forma que cuando se aplica sobre la superficie del ojo no se mantendrá en contacto con las membranas celulares del epitelio corneal (que contienen lípidos), sino que sólo se adherirá y será absorbida por cualquier porción de estroma corneal expuesto (de naturaleza hidrófila).

De esta manera, y como las directrices del proyecto marcan, sólo se aceptan animales cuyo test de fluoresceína es negativo, y por tanto, en los que no se observe ningún tipo de alteración o discontinuidad de la estructura corneal que indique pérdida del epitelio o cualquier otra capa corneal (Fotografía 17).



Fotografía 17. Realización del test de fluoresceína (instilación de fluoresceína y lavado con suero fisiológico) y lámpara de Wood utilizada para evidenciar reflejo verde fluorescente mediante luz ultravioleta.

*TIRAS DE FLUORESCÉINA: Fluoresceína®, Haag-Streit Internacional, Switzerland.

*LÁMPARA WOOD: Lámpara UV Wood de mano Luxo®, Luxo Española S.A., Spain.

▪ ANESTESIA TÓPICA OCULAR

Se realiza mediante instilación de dos gotas de oxibuprocaina y tetracaína en cada globo ocular, con un tiempo de espera de 10 minutos tras su aplicación antes de comenzar las manipulaciones y toma de medidas (Fotografía 18).



Fotografía 18. Instilación del colirio anestésico.

*ANESTÉSICO TÓPICO OCULAR: Colircusi anestésico doble®, Alcon Cusi S.A., Spain.

▪ PAQUIMETRÍA ULTRASÓNICA

El funcionamiento de la paquimetría ultrasónica es similar a cualquier otro tipo de equipo que utilice un sistema de envío y recepción de vibraciones acústicas o sonoras de una frecuencia superior a 16 MHz (ultrasonidos). En este caso se utiliza una sonda rígida de 1,5 mm, con un área de contacto de 1,76 mm² y se usa una frecuencia de 20 MHz (Fotografía 19). La velocidad del ultrasonido utilizada es de 1640 m/s. Las medidas tomadas registran el espesor de todas las capas de la cornea, desde el epitelio al endotelio.



Fotografía 19. Paquímetro ultrasónico y sonda de medición.

*PAQUÍMETRO ULTRASÓNICO: DGH 500 Pachette™, DGH Technology Inc., USA.

Los puntos de medición se determinan sobre un mapa corneal previamente establecido, en el que se pretenden ver las diferencias no sólo en el valor numérico del espesor corneal en los diferentes puntos, sino también la evolución del grosor desde la zona corneal central hacia la periferia. Se escogen 5 puntos simétricos entre sí, 1 punto central y 4 en la periferia corneal (dorsal, ventral, lateral y medial), estableciéndose siempre un mismo orden de toma de medidas, y siendo tomadas éstas por un mismo observador en cada uno de los animales para reducir así las modificaciones generadas por variaciones en el factor humano (Apéndice I).

- **Procedimiento**

En primer lugar, se inmoviliza la cabeza del sujeto y de manera cuidadosa se procede a la apertura de los párpados superior e inferior, evitando ejercer ningún tipo de presión sobre el globo ocular. Previamente a cualquier toma de medidas, se realiza un lavado del globo ocular objeto del estudio mediante suero salino fisiológico para arrastrar todo tipo de partículas y secreciones que pudieran dar interferencias tanto en el funcionamiento del equipo como en el registro de mediciones.

Las mediciones se registran en micrómetros, y para que cada medida sea significativa, en cada uno de los puntos a medir se realizan cinco tomas, de manera que en la medición final registrada de un solo punto se recoge una media de las cinco medidas previas. Entre las mediciones realizadas en cada córnea se realiza una limpieza de la sonda con alcohol de 96°, que posteriormente se lava con suero salino fisiológico.

A la hora de la toma de medidas, es importante guardar la perpendicularidad sobre la córnea en las distintas zonas que se pretenda medir, así como no ejercer una presión excesiva, para no modificar la medida del espesor y que los registros sean así lo más reales posible (Fotografía 20).



Fotografía 20. Toma de medidas del espesor corneal (sonda perpendicular).

✓ ESTUDIO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

La base de datos que recoge la totalidad de medidas realizadas sobre las distintas variables se reflejada de forma detallada en el Apéndice I. Dichos datos son utilizados para llevar a cabo el análisis estadístico de forma estandarizada según los objetivos previamente planteados.

Como procedimiento inicial, y para cada uno de los cinco puntos de medida del espesor corneal (central, dorsal, ventral, lateral y medial), se realizan pruebas t de Student para muestras pareadas sobre los datos tomados tanto en el ojo derecho como en el izquierdo, con el objetivo de verificar la existencia (si $P < 0,05$, para un intervalo de confianza del 95%) o no (si $P > 0,05$, para un intervalo de confianza del 95%) de diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los valores de ojo derecho e izquierdo. Una vez demostrada, mediante esta prueba estadística, la no existencia de diferencias significativas entre ojo derecho e izquierdo para ninguno de los cinco puntos de medición, puede asumirse que los datos pareados de cada animal sean tratados como uno solo, para lo que se calcula su media aritmética.

A continuación, se realiza un análisis descriptivo de los datos; en primer lugar, de los correspondientes al espesor corneal en el ojo derecho y en el izquierdo de cada animal, por separado para cada ojo; a continuación, de los valores medios de los dos ojos de cada animal. Todo ello realizado para las cinco medidas de espesor practicadas en los cinco puntos preestablecidos de la córnea. Como complemento a dicha información, se incluye un histograma para cada valor medio del espesor corneal en cada punto analizado.

La comparación estadística de las medias del espesor corneal en cada uno de los puntos preestablecidos con los grupos de edad y peso se lleva a cabo mediante el test paramétrico ANOVA para un factor (con determinación de la homogeneidad de varianzas u homocedasticidad), utilizando como tests *post hoc* Bonferroni y HSD de Tukey. Para ello, previamente se comprueba la normalidad de las variables utilizadas (peso, edad y medias del espesor corneal en los cinco puntos) mediante la aplicación de la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (con $P > 0,05$ indicativo de normalidad). La prueba ANOVA permite determinar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre más de dos medias de las distintas variables de estudio. Respectivamente: si $P < 0,05$ (para un intervalo de confianza del 95%), se deduce la no igualdad de medias (existencia de diferencias

estadísticamente significativas); si $P > 0,05$ (para un intervalo de confianza del 95%), se deduce la igualdad de medias (no existencia de diferencias estadísticamente significativas).

Posteriormente, se realiza una comparación estadística entre los valores del espesor corneal central y los de cada uno de los puntos periféricos, mediante pruebas t de Student para muestras independientes sobre los datos tomados tanto en el ojo derecho como en el izquierdo, con el objetivo de verificar la existencia (si $P < 0,05$, para un intervalo de confianza del 95%) o no (si $P > 0,05$, para un intervalo de confianza del 95%) de diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los valores centrales y periféricos.

Por último, mediante el coeficiente de correlación de Pearson (R^2), se establece y analiza la relación existente entre los valores medios del espesor corneal en los diferentes puntos preestablecidos (central, dorsal, ventral, lateral y medial) con las categorías de edad y peso, como información complementaria a las conclusiones extraídas del análisis mediante ANOVA.

En los resultados que se muestran a continuación se reflejan, para cada uno de los puntos corneales de medida preestablecidos, los valores medios obtenidos del estudio de los 32 globos oculares ($n=16$), tanto en el ojo izquierdo como en el derecho, además de los valores obtenidos por la media de ambos. Así mismo, y también para cada punto, se determina la relación existente entre los valores medios del espesor corneal y los grupos de edad y peso propuestos. Finalmente, se representa el estudio de variabilidad del espesor entre la zona central y periférica de la córnea en los individuos analizados.

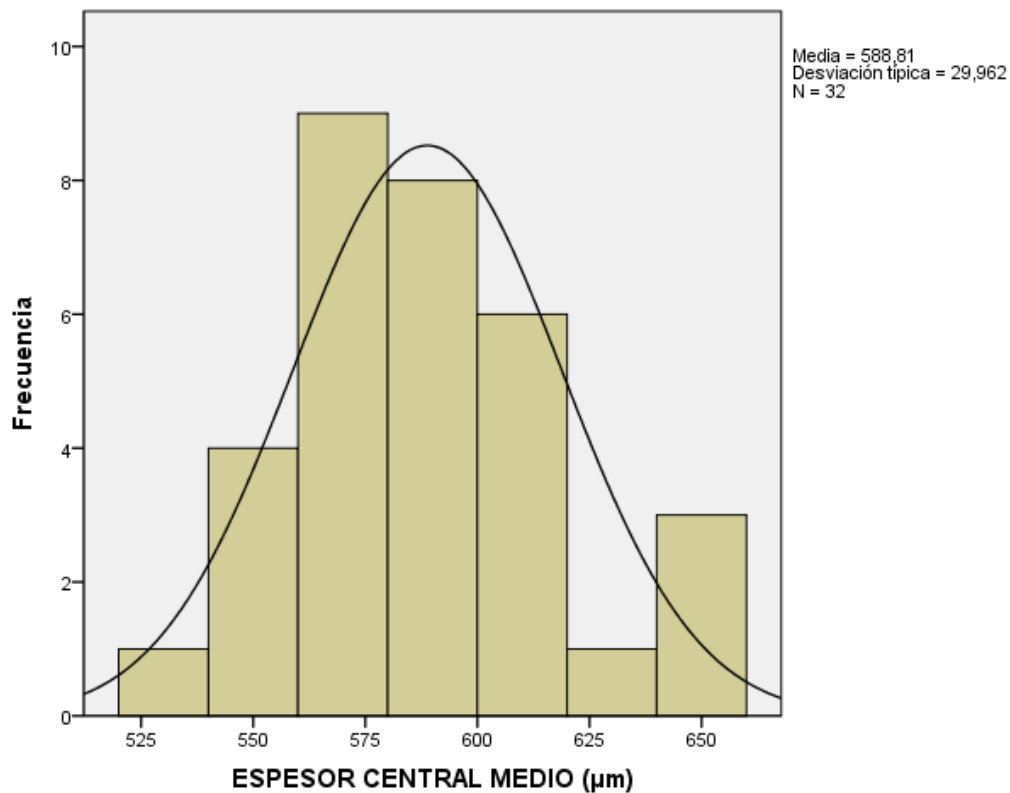
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. ESPESOR CENTRAL DE LA CÓRNEA (ECC)

Tras el estudio de las medidas en los 32 ojos de los 16 animales estudiados, **el valor medio del ECC \pm desviación estándar es de $588,81 \pm 29,96 \mu\text{m}$** (Tabla V y Gráfica 1). Los valores del ECC medios \pm desviación estándar de los ojos derecho e izquierdo son $587,38 \pm 30,38 \mu\text{m}$ y $590,25 \pm 30,46 \mu\text{m}$ respectivamente, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ojos ($P=0,342$). Los valores límite del ECC se encuentran entre un valor máximo de $657 \mu\text{m}$ y un mínimo de $538 \mu\text{m}$.

Tabla V. Valores medios del espesor corneal central (ECC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados.

ECC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
O. derecho	16	587,38	30,38	538	657
O. izquierdo	16	590,25	30,46	542	655
Total	32	588,81	29,96	538	657



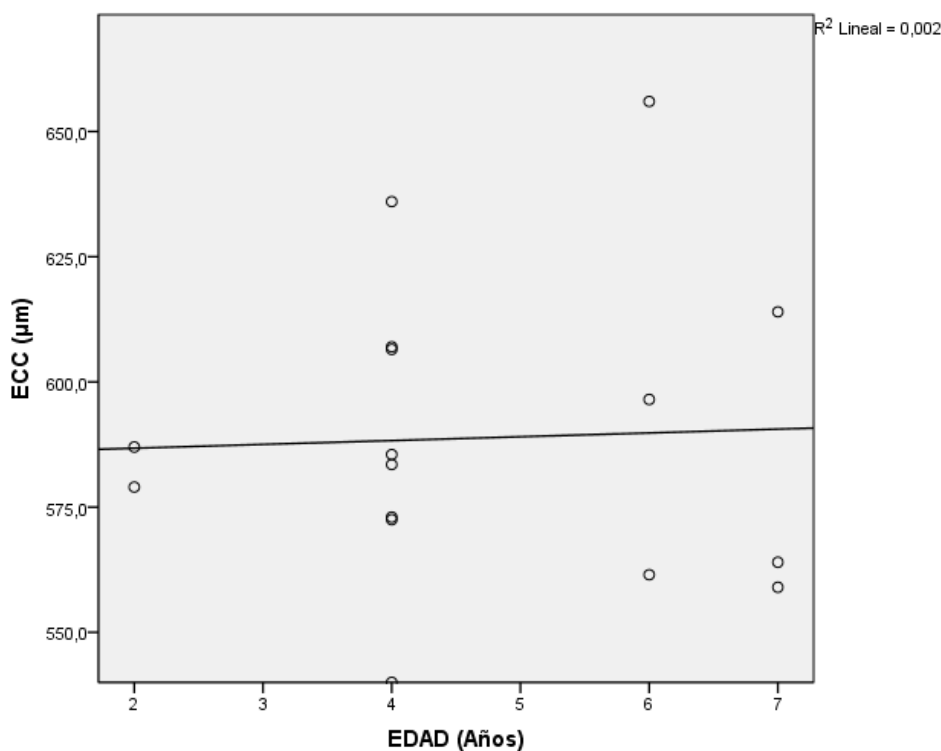
Gráfica 1. Histograma poblacional del ECC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio).

○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL ECC Y CATEGORÍA DE EDAD**

Tras la verificación de la normalidad de las variables edad ($P=0,138$) y media del ECC ($P=0,868$), el estudio estadístico y la comparación de las medias del espesor corneal central en relación a los grupos de edad, demuestra un valor medio del ECC \pm desviación estándar de $583,00 \pm 5,65 \mu\text{m}$ en individuos ≤ 2 años, de $588,00 \pm 28,79 \mu\text{m}$ en > 2 y < 6 años, y de $591,83 \pm 38,47 \mu\text{m}$ en ≥ 6 años (Tabla VI). Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el ECC varíe de acuerdo con la edad**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,002$) (Gráfica 2).

Tabla VI. Valores medios del espesor corneal central (ECC, μm) según la categoría de edad.

ECC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
≤ 2 años	2	583,00	5,65	579,0	587,0
>2 y <6 años	8	588,00	28,79	540,0	636,0
≥ 6 años	6	591,83	38,47	559,0	656,0
Total	16	588,81	29,85	540,0	656,0



Gráfica 2. Correlación y regresión lineal del ECC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados.

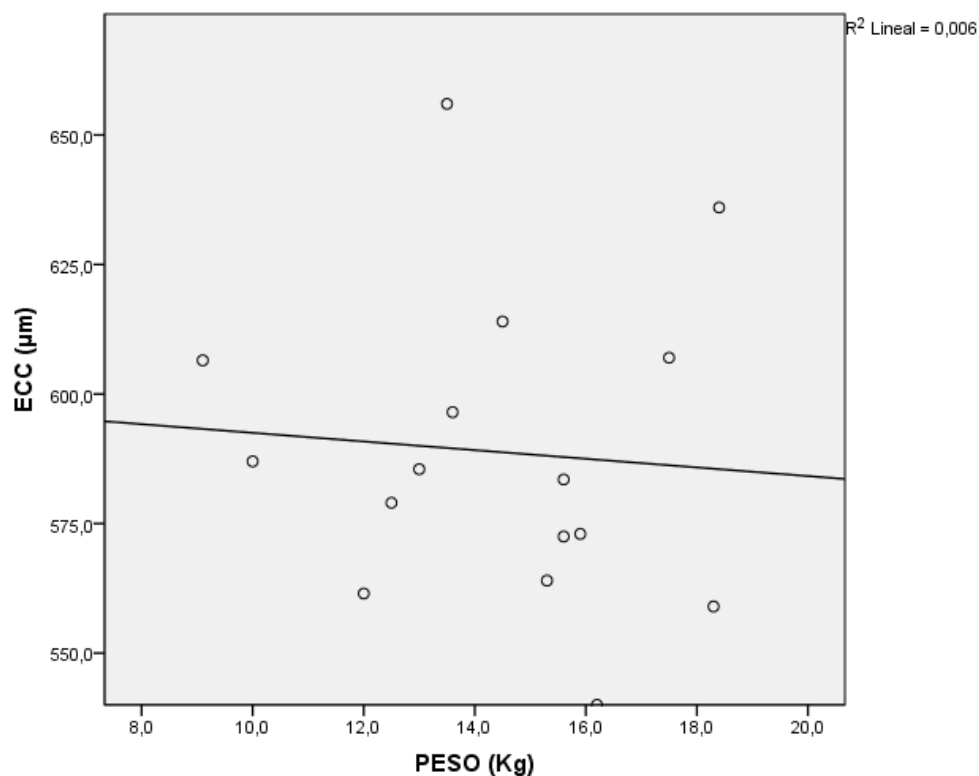
○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL ECC Y CATEGORÍA DE PESO**

Cuando el ECC es analizado de acuerdo a los grupos de peso (variable normal, $P=0,964$), el valor medio del ECC \pm desviación estándar es de $583,90 \pm 16,19 \mu\text{m}$ en individuos $\leq 13 \text{ Kg}$, de $594,21 \pm 32,05 \mu\text{m}$ en $> 13 \text{ y } < 16 \text{ Kg}$, y de $585,50 \pm 43,91 \mu\text{m}$ en $\geq 16 \text{ Kg}$ (Tabla VII).

Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el ECC varíe de acuerdo con el peso**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,006$) (Gráfica 3).

Tabla VII. Valores medios del espesor corneal central (ECC, μm) según la categoría de peso.

ECC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
$\leq 13 \text{ Kg}$	5	583,90	16,19	561,5	606,5
$> 13 \text{ y } < 16 \text{ Kg}$	7	594,21	32,05	564,0	656,0
$\geq 16 \text{ Kg}$	4	585,50	43,91	540,0	636,0
Total	16	588,81	29,85	540,0	656,0



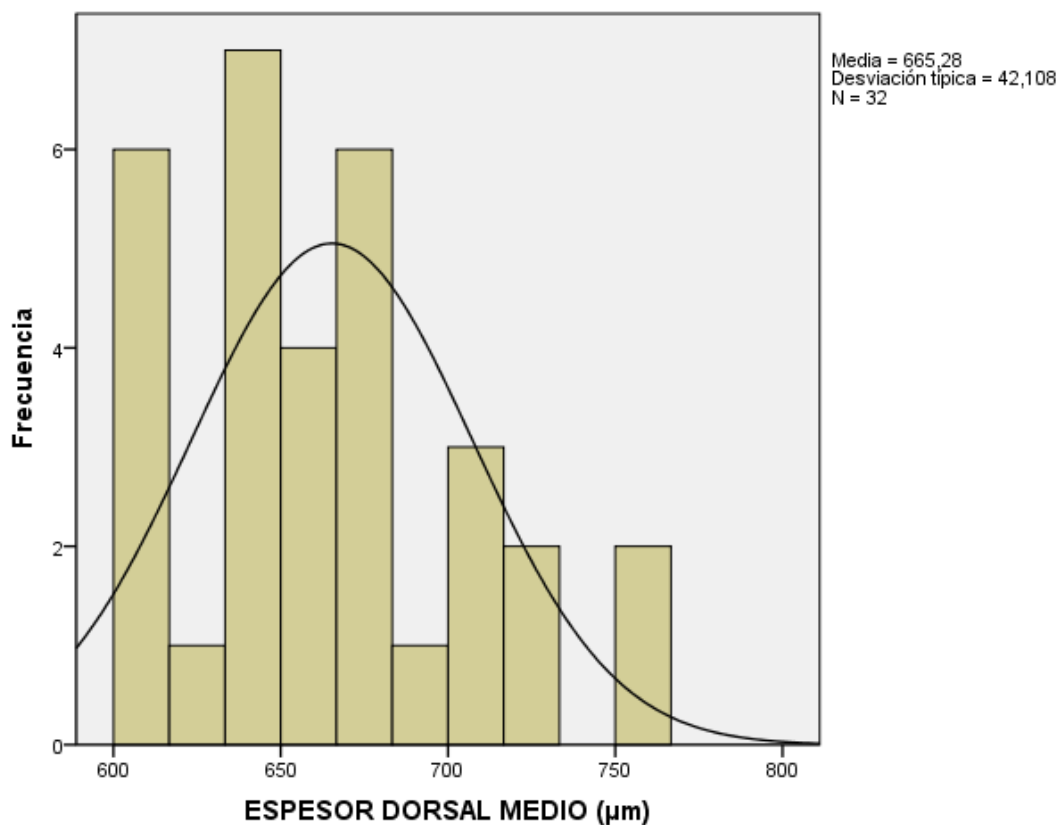
Gráfica 3. Correlación y regresión lineal del ECC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados.

2. ESPESOR DORSAL DE LA CÓRNEA (EDC)

Tras el estudio de las medidas en los 32 ojos de los 16 animales estudiados, **el valor medio del EDC \pm desviación estándar es de $665,28 \pm 42,10 \mu\text{m}$** (Tabla VIII y Gráfica 4). Los valores del EDC medios \pm desviación estándar de los ojos derecho e izquierdo son $665,50 \pm 42,36 \mu\text{m}$ y $665,06 \pm 43,23 \mu\text{m}$ respectivamente, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ojos ($P=0,899$). Los valores límite del EDC se encuentran entre un valor máximo de $763 \mu\text{m}$ y un mínimo de $601 \mu\text{m}$.

Tabla VIII. Valores medios del espesor corneal dorsal (EDC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados.

EDC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
O. derecho	16	665,50	42,36	601	757
O. izquierdo	16	665,06	43,23	612	763
Total	32	665,28	42,10	601	763



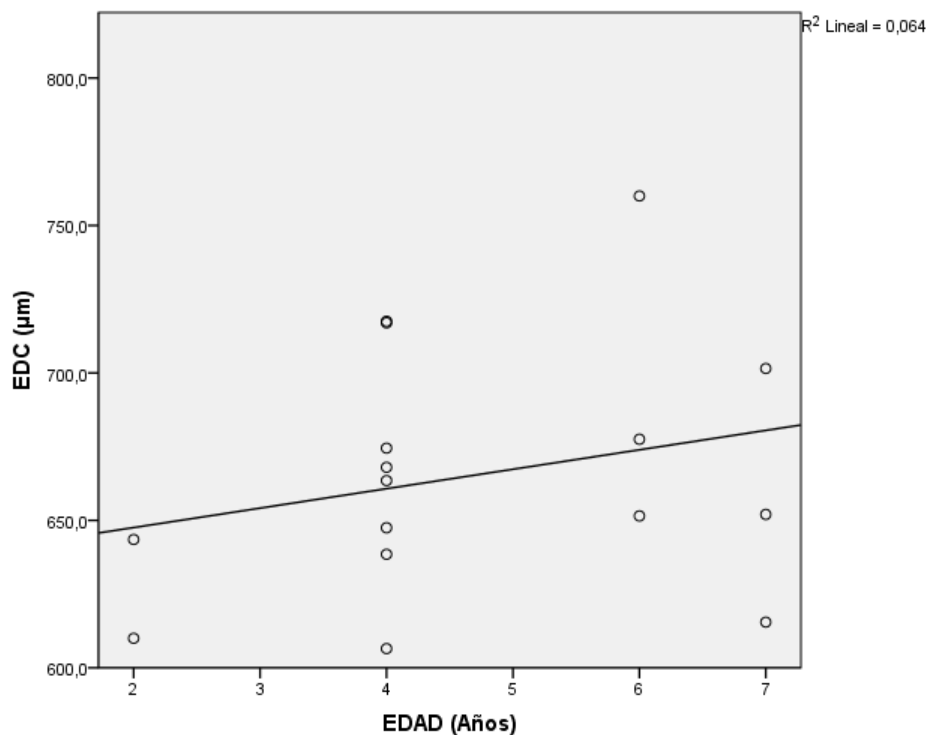
Gráfica 4. Histograma poblacional del EDC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio).

○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL EDC Y CATEGORÍA DE EDAD**

Tras la verificación de la normalidad de las variables edad ($P=0,138$) y media del EDC ($P=0,928$), el estudio estadístico y la comparación de las medias del espesor corneal dorsal en relación a los grupos de edad, demuestra un valor medio del EDC \pm desviación estándar de $626,75 \pm 23,68 \mu\text{m}$ en individuos ≤ 2 años, de $666,62 \pm 37,74 \mu\text{m}$ en > 2 y < 6 años, y de $676,33 \pm 50,08 \mu\text{m}$ en ≥ 6 años (Tabla IX). Estos valores no presentan una diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el EDC varíe de acuerdo con la edad**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,064$) (Gráfica 5).

Tabla IX. Valores medios del espesor corneal dorsal (EDC, μm) según la categoría de edad.

EDC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
≤ 2 años	2	626,75	23,68	610,0	643,5
>2 y <6 años	8	666,62	37,74	606,5	717,5
≥ 6 años	6	676,33	50,08	615,5	760,0
Total	16	665,28	42,26	606,5	760,0



Gráfica 5. Correlación y regresión lineal del EDC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados.

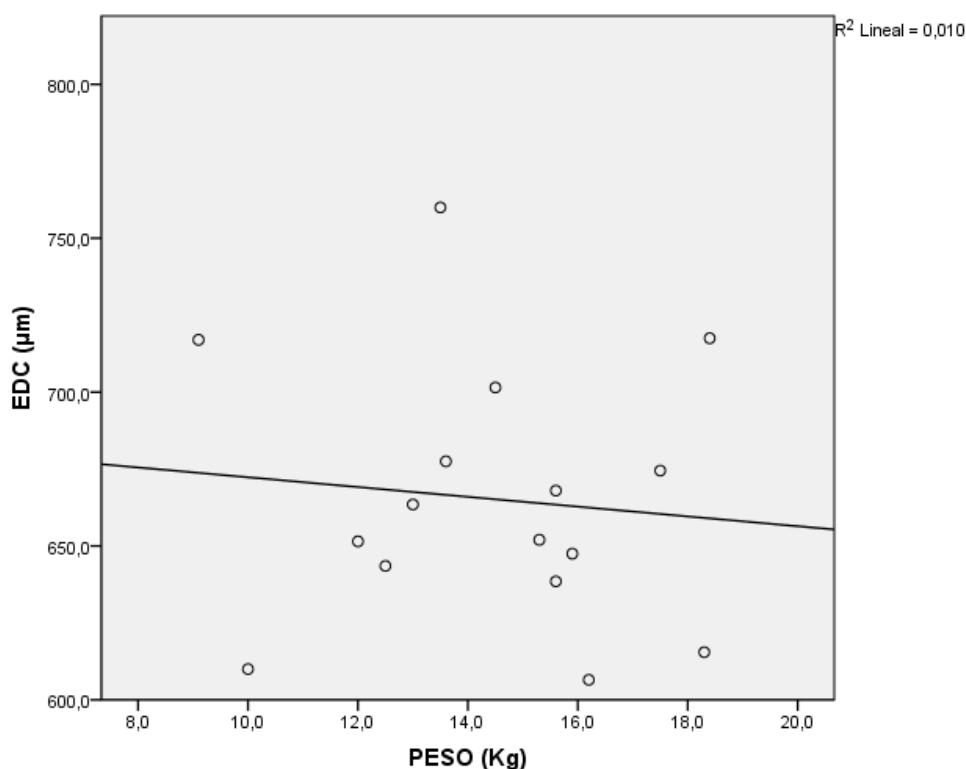
○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL EDC Y CATEGORÍA DE PESO**

Cuando el EDC es analizado de acuerdo a los grupos de peso (variable normal, $P=0,964$), el valor medio del EDC \pm desviación estándar es de $657,10 \pm 38,93 \mu\text{m}$ en individuos $\leq 13 \text{ Kg}$, de $677,85 \pm 41,91 \mu\text{m}$ en $> 13 \text{ y } < 16 \text{ Kg}$, y de $653,50 \pm 52,24 \mu\text{m}$ en $\geq 16 \text{ Kg}$ (Tabla X).

Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el EDC varíe de acuerdo con el peso**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,010$) (Gráfica 6).

Tabla X. Valores medios del espesor corneal dorsal (EDC, μm) según la categoría de peso.

EDC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
$\leq 13 \text{ Kg}$	5	657,10	38,93	610,0	717,0
$>13 \text{ y } <16 \text{ Kg}$	7	677,85	41,91	638,5	760,0
$\geq 16 \text{ Kg}$	4	653,50	52,24	606,5	717,5
Total	16	665,28	42,26	606,5	760,0



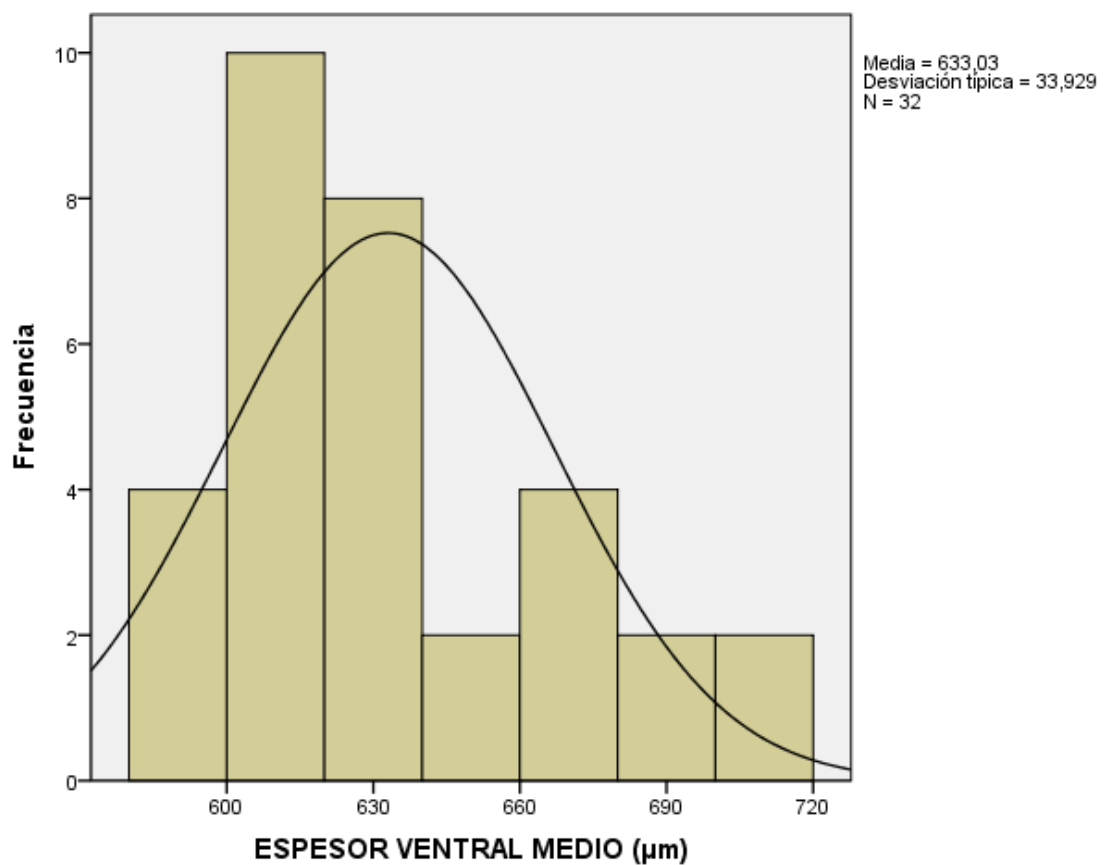
Gráfica 6. Correlación y regresión lineal del EDC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados.

3. ESPESOR VENTRAL DE LA CÓRNEA (EVC)

Tras el estudio de las medidas en los 32 ojos de los 16 animales estudiados, **el valor medio del EVC \pm desviación estándar es de $633,03 \pm 33,92 \mu\text{m}$** (Tabla XI y Gráfica 7). Los valores del EVC medios \pm desviación estándar de los ojos derecho e izquierdo son $632,25 \pm 34,56 \mu\text{m}$ y $633,81 \pm 34,39 \mu\text{m}$ respectivamente, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ojos ($P=0,826$). Los valores límite del EVC se encuentran entre un valor máximo de $710 \mu\text{m}$ y un mínimo de $580 \mu\text{m}$.

Tabla XI. Valores medios del espesor corneal ventral (EVC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados.

EVC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
O. derecho	16	632,25	34,56	580	710
O. izquierdo	16	633,81	34,39	590	705
Total	32	633,03	33,92	580	710



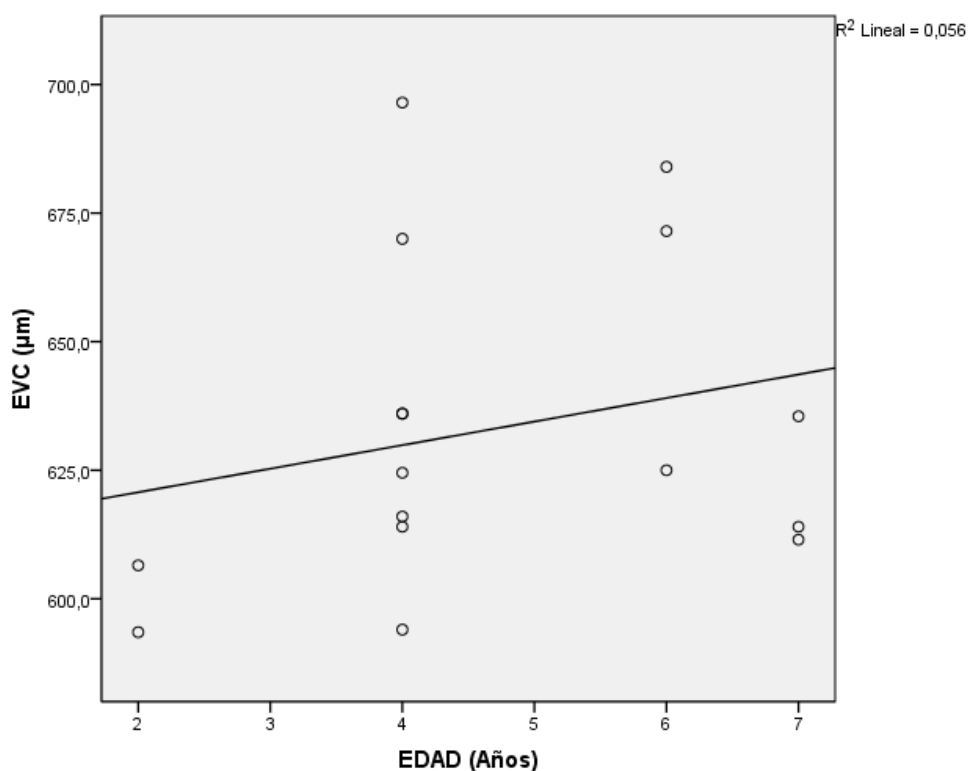
Gráfica 7. Histograma poblacional del EVC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio).

○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL EVC Y CATEGORÍA DE EDAD**

Tras la verificación de la normalidad de las variables edad ($P=0,138$) y media del EVC ($P=0,465$), el estudio estadístico y la comparación de las medias del espesor corneal ventral en relación a los grupos de edad, demuestra un valor medio del EVC \pm desviación estándar de $600,00 \pm 9,19 \mu\text{m}$ en individuos ≤ 2 años, de $635,87 \pm 32,94 \mu\text{m}$ en > 2 y < 6 años, y de $640,25 \pm 30,53 \mu\text{m}$ en ≥ 6 años (Tabla XII). Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el EVC varíe de acuerdo con la edad**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,056$) (Gráfica 8).

Tabla XII. Valores medios del espesor corneal ventral (EVC, μm) según la categoría de edad.

EVC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
≤ 2 años	2	600,00	9,19	593,5	606,5
>2 y <6 años	8	635,87	32,94	594,0	696,5
≥ 6 años	6	640,25	30,53	611,5	684,0
Total	16	633,03	31,51	593,5	696,5



Gráfica 8. Correlación y regresión lineal del EVC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados.

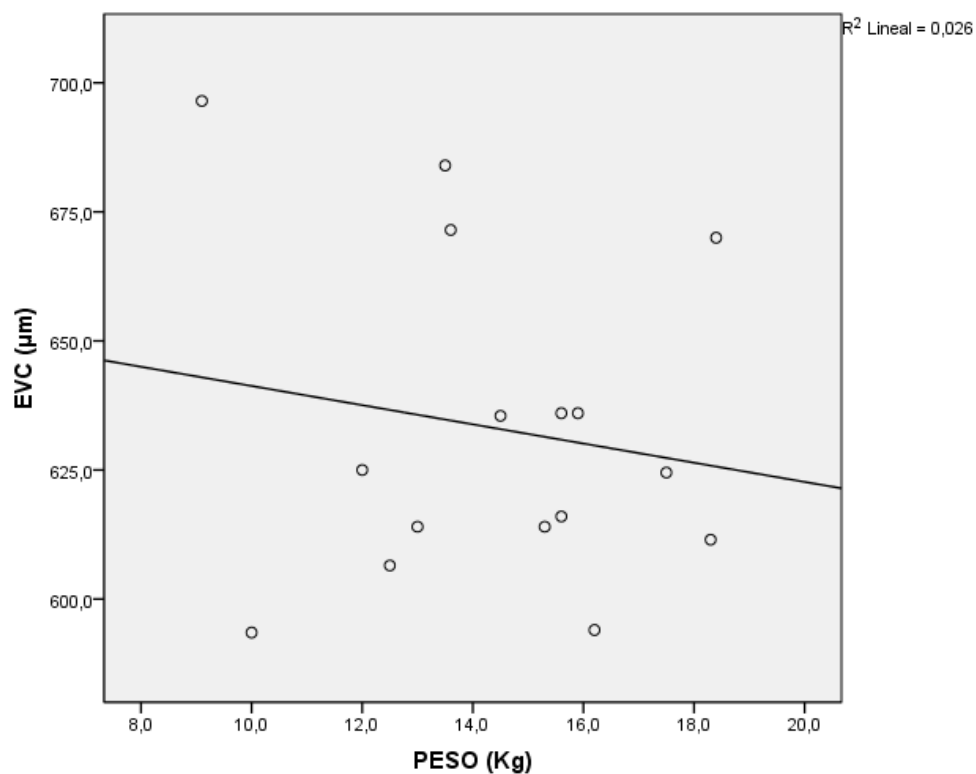
○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL EVC Y CATEGORÍA DE PESO**

Cuando el EVC es analizado de acuerdo a los grupos de peso (variable normal, $P=0,964$), el valor medio del EVC \pm desviación estándar es de $627,10 \pm 40,45 \mu\text{m}$ en individuos $\leq 13 \text{ Kg}$, de $641,85 \pm 26,48 \mu\text{m}$ en $> 13 \text{ y } < 16 \text{ Kg}$, y de $625,00 \pm 32,49 \mu\text{m}$ en $\geq 16 \text{ Kg}$ (Tabla XIII).

Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el EVC varíe de acuerdo con el peso**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,026$) (Gráfica 9).

Tabla XIII. Valores medios del espesor corneal ventral (EVC, μm) según la categoría de peso.

EDC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
$\leq 13 \text{ Kg}$	5	627,10	40,45	593,5	696,5
$> 13 \text{ y } < 16 \text{ Kg}$	7	641,85	26,48	614,0	684,0
$\geq 16 \text{ Kg}$	4	625,00	32,49	594,0	670,0
Total	16	633,03	31,51	593,5	696,5



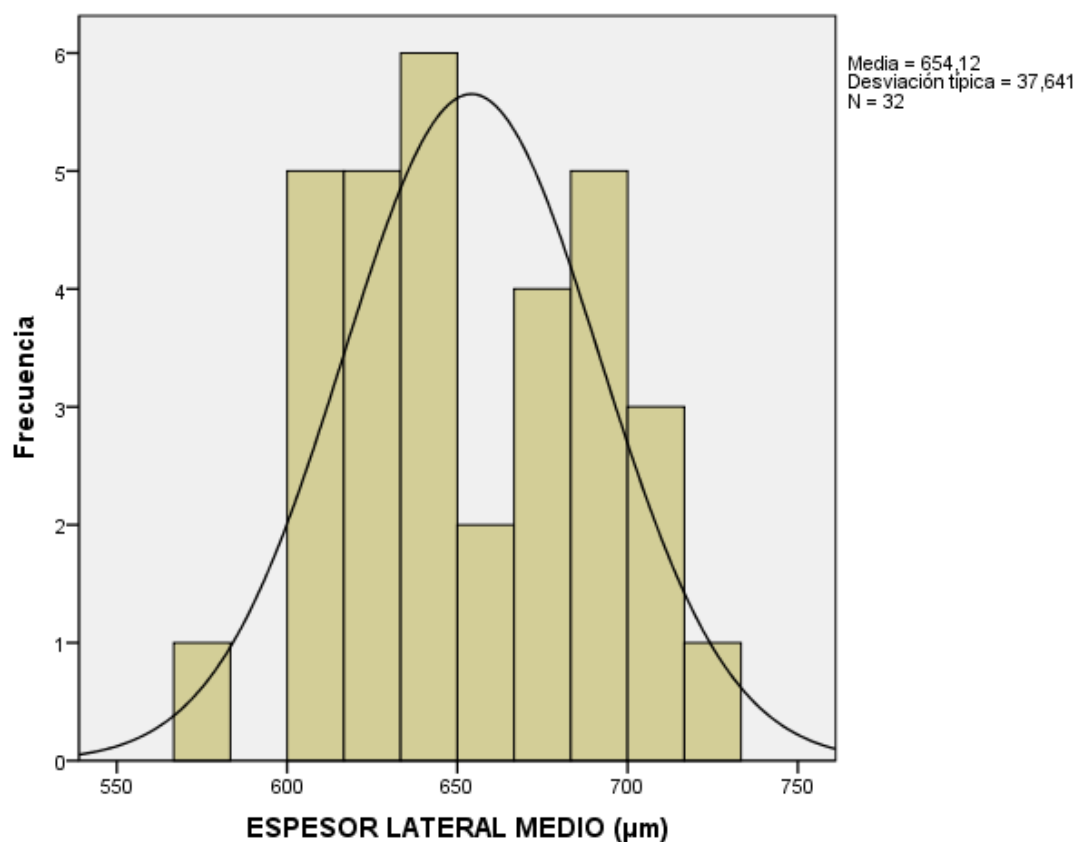
Gráfica 9. Correlación y regresión lineal del EVC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados.

4. ESPESOR LATERAL DE LA CÓRNEA (ELC)

Tras el estudio de las medidas en los 32 ojos de los 16 animales estudiados, **el valor medio del ELC \pm desviación estándar es de $654,13 \pm 37,64 \mu\text{m}$** (Tabla XIV y Gráfica 10). Los valores del ELC medios \pm desviación estándar de los ojos derecho e izquierdo son $653,00 \pm 34,49 \mu\text{m}$ y $655,25 \pm 41,66 \mu\text{m}$ respectivamente, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ojos ($P=0,674$). Los valores límite del ELC se encuentran entre un valor máximo de $733 \mu\text{m}$ y un mínimo de $579 \mu\text{m}$.

Tabla XIV. Valores medios del espesor corneal lateral (ELC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados.

ELC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
O. derecho	16	653,00	34,49	605	707
O. izquierdo	16	655,25	41,66	579	733
Total	32	654,13	37,64	579	733



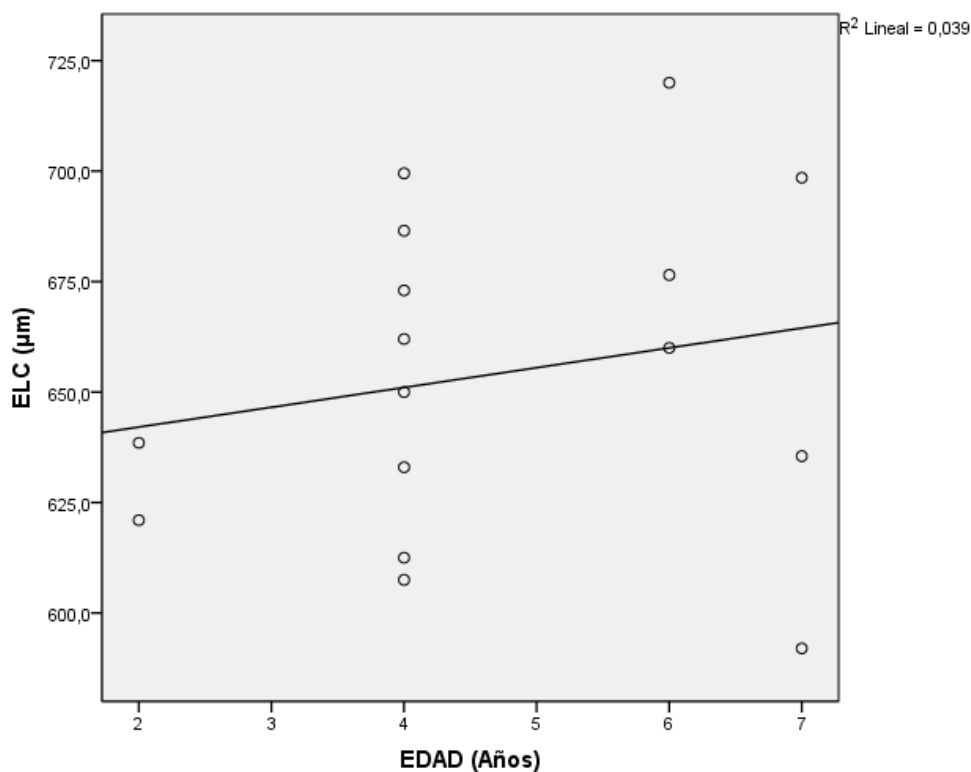
Gráfica 10. Histograma poblacional del ELC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio).

○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL ELC Y CATEGORÍA DE EDAD**

Tras la verificación de la normalidad de las variables edad ($P=0,138$) y media del ELC ($P=0,996$), el estudio estadístico y la comparación de las medias del espesor corneal lateral en relación a los grupos de edad, demuestra un valor medio del ELC \pm desviación estándar de $629,75 \pm 12,37 \mu\text{m}$ en individuos ≤ 2 años, de $653,00 \pm 33,56 \mu\text{m}$ en > 2 y < 6 años, y de $663,75 \pm 45,81 \mu\text{m}$ en ≥ 6 años (Tabla XV). Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el ELC varíe de acuerdo con la edad**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,039$) (Gráfica 11).

Tabla XV. Valores medios del espesor corneal lateral (ELC, μm) según la categoría de edad.

ELC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
≤ 2 años	2	629,75	12,37	621,0	638,5
>2 y <6 años	8	653,00	33,56	607,5	699,5
≥ 6 años	6	663,75	45,81	592,0	720,0
Total	16	654,12	36,77	592,0	720,0



Gráfica 11. Correlación y regresión lineal del ELC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados.

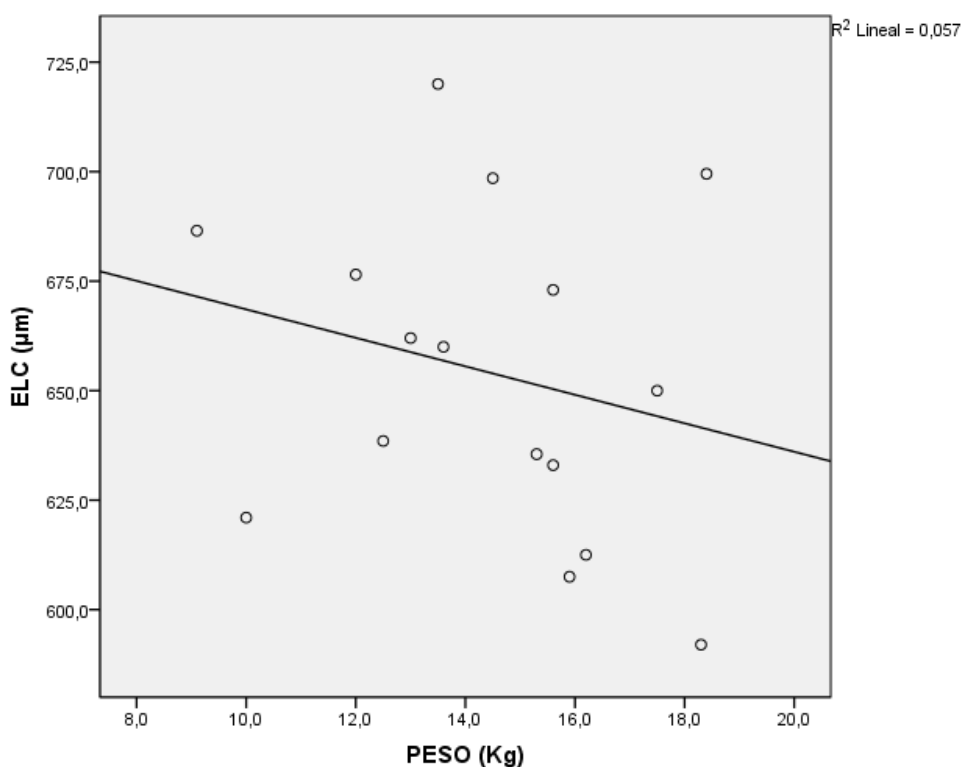
○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL ELC Y CATEGORÍA DE PESO**

Cuando el ELC es analizado de acuerdo a los grupos de peso (variable normal, $P=0,964$), el valor medio del ELC \pm desviación estándar es de $656,90 \pm 26,98 \mu\text{m}$ en individuos $\leq 13 \text{ Kg}$, de $661,07 \pm 39,43 \mu\text{m}$ en $> 13 \text{ y } < 16 \text{ Kg}$, y de $638,50 \pm 47,22 \mu\text{m}$ en $\geq 16 \text{ Kg}$ (Tabla XVI).

Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el ELC varíe de acuerdo con el peso**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,057$) (Gráfica 12).

Tabla XVI. Valores medios del espesor corneal lateral (ELC, μm) según la categoría de peso.

EDC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
$\leq 13 \text{ Kg}$	5	656,90	26,98	621,0	686,5
$>13 \text{ y } <16 \text{ Kg}$	7	661,07	39,43	607,5	720,0
$\geq 16 \text{ Kg}$	4	638,50	47,22	592,0	699,5
Total	16	654,12	36,77	592,0	720,0



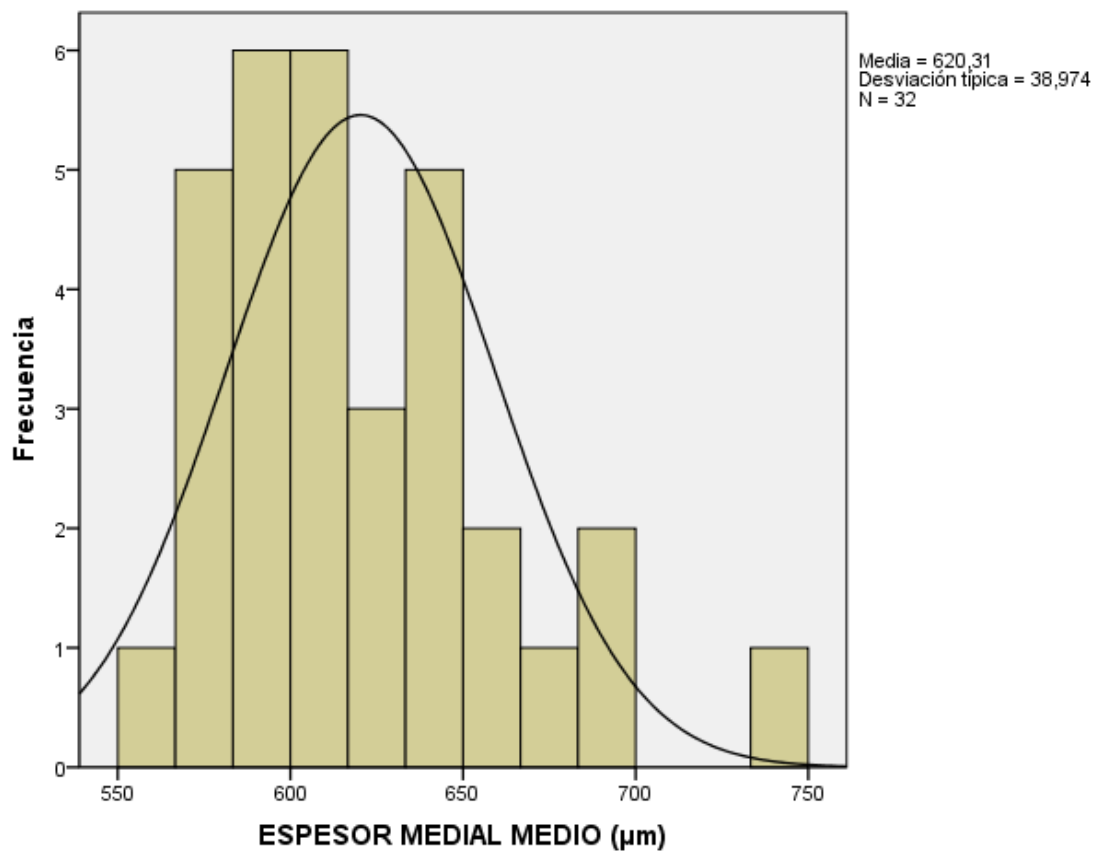
Gráfica 12. Correlación y regresión lineal del ELC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados.

5. ESPESOR MEDIAL DE LA CÓRNEA (EMC)

Tras el estudio de las medidas en los 32 ojos de los 16 animales estudiados, **el valor medio del EMC \pm desviación estándar es de $620,31 \pm 38,97 \mu\text{m}$** (Tabla XVII y Gráfica 13). Los valores del EMC medios \pm desviación estándar de los ojos derecho e izquierdo son $619,13 \pm 35,23 \mu\text{m}$ y $621,50 \pm 43,53 \mu\text{m}$ respectivamente, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ojos ($P=0,667$). Los valores límite del EMC se encuentran entre un valor máximo de $735 \mu\text{m}$ y un mínimo de $564 \mu\text{m}$.

Tabla XVII. Valores medios del espesor corneal medial (EMC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados.

EMC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
O. derecho	16	619,13	35,23	579	690
O. izquierdo	16	621,50	43,53	564	735
Total	32	620,31	38,97	564	735



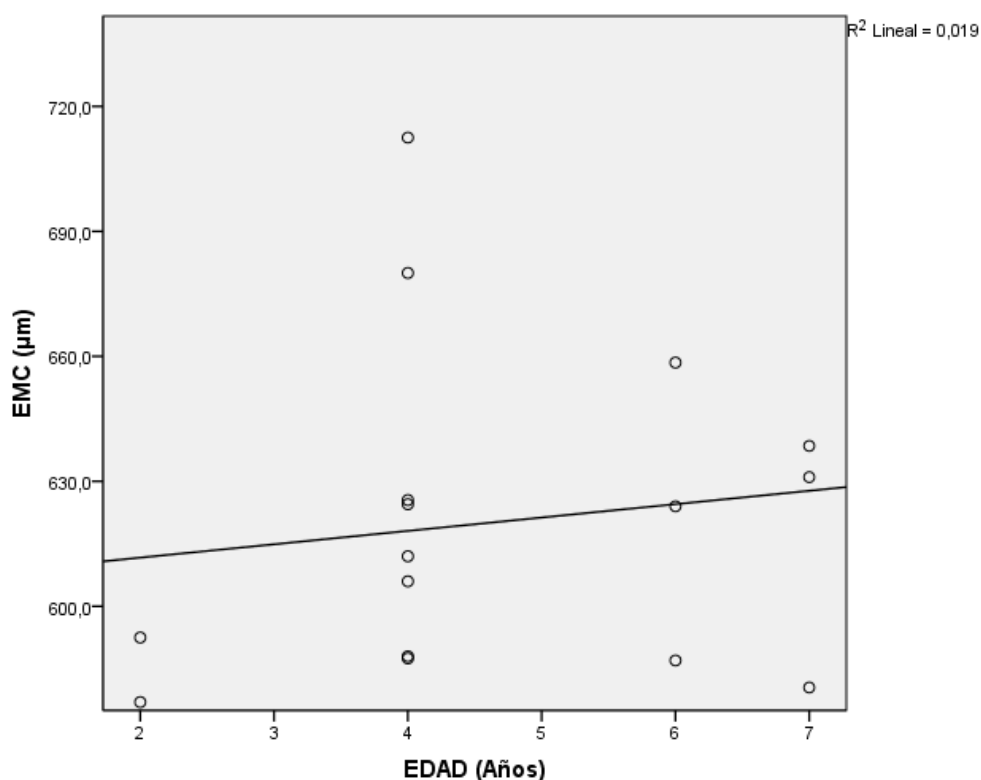
Gráfica 13. Histograma poblacional del EMC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio).

○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL EMC Y CATEGORÍA DE EDAD**

Tras la verificación de la normalidad de las variables edad ($P=0,138$) y media del EMC ($P=0,902$), el estudio estadístico y la comparación de las medias del espesor corneal medial en relación a los grupos de edad, demuestra un valor medio del EMC \pm desviación estándar de $584,75 \pm 10,96 \mu\text{m}$ en individuos ≤ 2 años, de $629,50 \pm 44,44 \mu\text{m}$ en > 2 y < 6 años, y de $619,91 \pm 30,36 \mu\text{m}$ en ≥ 6 años (Tabla XVIII). Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el EMC varíe de acuerdo con la edad**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,019$) (Gráfica 14).

Tabla XVIII. Valores medios del espesor corneal medial (EMC, μm) según la categoría de edad.

EMC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
≤ 2 años	2	584,75	10,96	577,0	592,5
> 2 y < 6 años	8	629,50	44,44	587,5	712,5
≥ 6 años	6	619,91	30,36	580,5	658,5
Total	16	620,31	38,08	577,0	712,5



Gráfica 14. Correlación y regresión lineal del EMC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados.

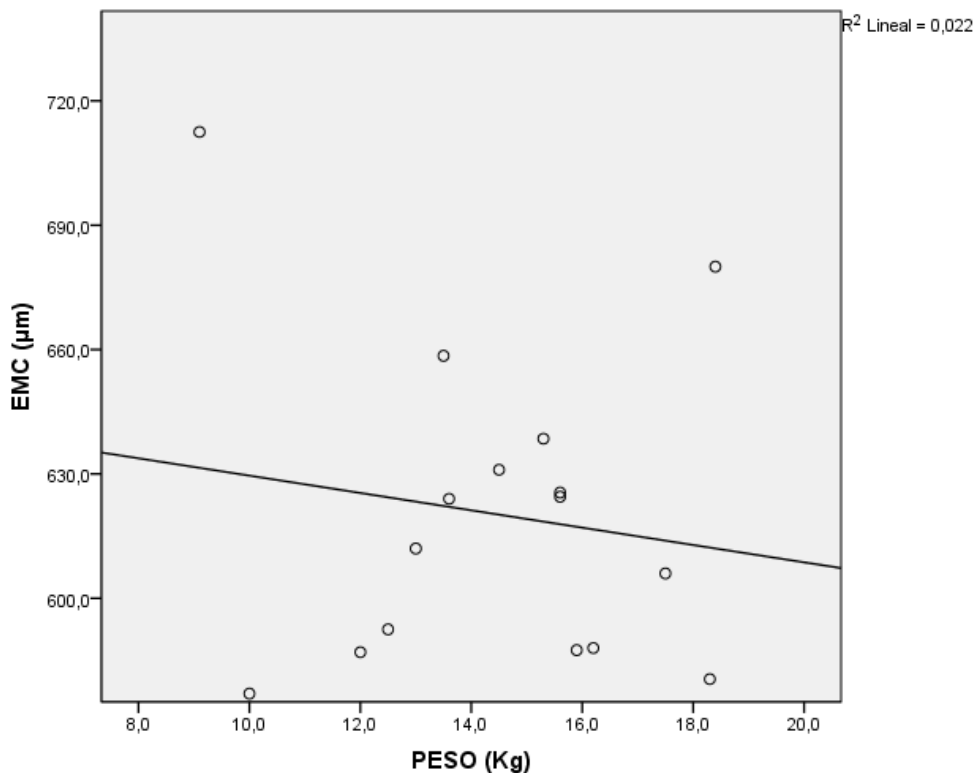
○ **CORRELACIÓN ENTRE MEDIA DEL EMC Y CATEGORÍA DE PESO**

Cuando el EMC es analizado de acuerdo a los grupos de peso (variable normal, $P=0,964$), el valor medio del EMC \pm desviación estándar es de $616,20 \pm 55,32 \mu\text{m}$ en individuos $\leq 13 \text{ Kg}$, de $627,07 \pm 21,28 \mu\text{m}$ en $> 13 \text{ y } < 16 \text{ Kg}$, y de $613,62 \pm 45,52 \mu\text{m}$ en $\geq 16 \text{ Kg}$ (Tabla XIX).

Estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas (igualdad de medias, $P>0,05$), por lo que **no se puede afirmar que el EMC varíe de acuerdo con el peso**. La inexistente correlación entre ambas variables queda reflejada en el análisis de regresión lineal ($R^2=0,022$) (Gráfica 15).

Tabla XIX. Valores medios del espesor corneal medial (EMC, μm) según la categoría de peso.

EDC	Nº	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
$\leq 13 \text{ Kg}$	5	616,20	55,32	577,0	712,5
$>13 \text{ y } <16 \text{ Kg}$	7	627,07	21,28	587,5	658,5
$\geq 16 \text{ Kg}$	4	613,62	45,52	580,5	680,0
Total	16	620,31	38,08	577,0	712,5



Gráfica 15. Correlación y regresión lineal del EMC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados.

✓ VARIABILIDAD DEL ESPESOR CORNEAL EN LOS PUNTOS ESTABLECIDOS

El objetivo es comparar la variabilidad del ECC respecto a los diferentes puntos periféricos establecidos en el mapa de medición corneal (EDC, EVC, ELC, EMC), tanto en el ojo izquierdo como en el derecho, para comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas (si $P < 0,05$, para un intervalo de confianza del 95%) entre los espesores centrales y periféricos, de manera que se pueda llegar a concluir que el espesor corneal periférico es mayor que el central.

▪ OJO DERECHO

- ECC y EDC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y dorsal son $587,38 \pm 30,38 \mu\text{m}$ y $665,50 \pm 42,36 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XX). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,000$), lo que refleja un **mayor espesor corneal dorsal (periférico) que central**.

- ECC y EVC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y ventral son $587,38 \pm 30,38 \mu\text{m}$ y $632,25 \pm 34,56 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XX). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,001$), lo que refleja un **mayor espesor corneal ventral (periférico) que central**.

- ECC y ELC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y lateral son $587,38 \pm 30,38 \mu\text{m}$ y $653,00 \pm 34,49 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XX). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,000$), lo que refleja un **mayor espesor corneal lateral (periférico) que central**.

- ECC y EMC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y medial son $587,38 \pm 30,38 \mu\text{m}$ y $619,13 \pm 35,23 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XX). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,010$), lo que refleja un **mayor espesor corneal medial (periférico) que central**.

Tabla XX. Valores medios del espesor corneal central (μm) y periférico (μm) en el ojo derecho.

OD	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
ECC	587,38	30,38	538	657
EDC	665,50	42,36	601	757
EVC	632,25	34,56	580	710
ELC	653,00	34,49	605	707
EMC	619,13	35,23	579	690

▪ OJO IZQUIERDO

- ECC y EDC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y dorsal son $590,25 \pm 30,46 \mu\text{m}$ y $665,06 \pm 43,23 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XXI). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,000$), lo que refleja un **mayor espesor corneal dorsal (periférico) que central**.

- ECC y EVC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y ventral son $590,25 \pm 30,46 \mu\text{m}$ y $633,81 \pm 34,39 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XXI). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,001$), lo que refleja un **mayor espesor corneal ventral (periférico) que central**.

- ECC y ELC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y lateral son $590,25 \pm 30,46 \mu\text{m}$ y $655,25 \pm 41,66 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XXI). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,000$), lo que refleja un **mayor espesor corneal lateral (periférico) que central**.

- ECC y EMC

Los valores medios del espesor corneal \pm desviación estándar del punto central y medial son $590,25 \pm 30,46 \mu\text{m}$ y $621,50 \pm 43,53 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla XXI). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($P=0,025$), lo que refleja un **mayor espesor corneal medial (periférico) que central**.

Tabla XXI. Valores medios del espesor corneal central (μm) y periférico (μm) en el ojo izquierdo.

OD	Media	D. Estándar	Mínimo	Máximo
ECC	590,25	30,46	542	655
EDC	665,06	43,23	612	763
EVC	633,81	34,39	590	705
ELC	655,25	41,66	579	733
EMC	621,50	43,53	564	735

❖ COMPARACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El uso de la paquimetría ultrasónica (DGH 500 PachetteTM, DGH Technology Inc., USA), como método para la medición del espesor corneal en los 16 perros estudiados, no ha mostrado ningún tipo de dificultad o complicación técnica a lo largo del estudio. No se ha observado, durante la medición o posterior a ella, ningún tipo de alteración del estado fisiológico o general de los animales evaluados, así como tampoco se han presentado lesiones irritativas o daños en el epitelio corneal en ninguno de los ojos estudiados.

Así, sólo con aplicación de anestesia tópica, es posible realizar una medición atraumática del espesor corneal en su estado fisiológico, evitando así las complicaciones e inconvenientes derivados del uso de la sedación o anestesia general, que como ha sido publicado por diversos autores, por la acción de distintos fármacos pueden causar modificaciones significativas en la medición del espesor corneal⁷²⁻⁷⁵.

Tras el análisis de los datos, no se han observado diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) entre las medidas del espesor corneal obtenidas en el ojo derecho e izquierdo de un mismo animal. Dicha conclusión, también es extraída de los estudios realizados por Gilger et al (1991)⁴⁹, Montiani-Ferreira et al (2003)⁵⁹, y Staplento y Peiffer (1979)⁸⁷. Por el contrario, si se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($P<0,05$) entre el espesor corneal central y el periférico (dorsal, ventral, lateral y medial), en cada una de las comparaciones realizadas para ambos ojos en cada animal, mostrando un menor espesor en la zona corneal central respecto a la periférica. Esta diferencia entre el espesor corneal central y periférico, también ha sido obtenida en diversos estudios, como el realizado por Gilger et al (1991)⁴⁹.

Los valores medios de espesor corneal central (ECC), en los 32 globos oculares estudiados (n=16), presentan una media de $588,81 \pm 29,96 \mu\text{m}$ (Tabla V). Dicho valor, se encuentra entre el máximo y el mínimo (499-660 μm) establecido por distintos autores para la especie canina^{49,59,69,85-87}. Los valores obtenidos, son inferiores a los publicados por Staplento y Peiffer (1979)⁸⁷ y Gwin et al (1983)⁸⁶, en estudios realizados con una muestra inferior a la del presente estudio (n=7 y n=14, respectivamente), y son también inferiores respecto a los obtenidos por Gwendolyn et al (2006)⁶⁹, en una muestra con mayor número de individuos (n=35) que el utilizado en éste. Respecto a los datos recogidos por Montiani-Ferreira et al (2003)⁵⁹ en perros de raza Beagle, tanto machos como hembras, los valores establecidos por dichos autores son inferiores a los obtenidos en este estudio. Por otra parte, los valores obtenidos por Gilger et al (1991)⁴⁹, son ligeramente inferiores respecto a los obtenidos en este estudio, siendo mayor en este caso la muestra utilizada (n=49).

En cuanto a los valores del espesor corneal dorsal (EDC) y lateral (ELC), en los 32 globos oculares estudiados (n=16), se observa una media de $665,28 \pm 42,10 \mu\text{m}$ y $654,13 \pm 37,64 \mu\text{m}$, respectivamente (Tablas VIII y XXI). Dichos valores, son superiores a los establecidos por Gilger et al (1991)⁴⁹, en cuyo estudio se utilizó una muestra con mayor número de animales (n=49).

Por otro lado, no ha sido posible comparar los valores obtenidos en la toma de medias en la zona media y ventral, debido a la inexistencia de estudios publicados que reflejen mediciones en tales localizaciones. Respecto a estos puntos de medición, cabe recalcar, que han presentado una mayor dificultad en la toma de medidas en el modelo experimental seguido, respecto a los puntos dorsal y lateral, posiblemente debido a la disposición anatómica palpebral y del globo ocular. En el caso del punto medial, podría ser debido a la presencia de la glándula lacrimal, la membrana nictitante y la escotadura medial palpebral, mientras que en el ventral, podría serlo debido a la presencia del párpado inferior y a la disposición de la membrana nictitante que, a menudo, y al igual que ocurre en el punto medial, debido a la función defensiva del globo ocular de esta estructura, se superpone sobre la córnea cuando el animal siente molestias oculares de cualquier tipo, incluso en caso de haberse aplicado anestesia tópica, dificultando así la toma de medidas en éste punto.

En relación a los resultados obtenidos de la comparación del espesor corneal central y periférico respecto a los grupos de edad y peso establecidos, en ningún caso se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los mismos, no pudiendo llegar a afirmar que el espesor corneal en cualquiera de los puntos medidos varíe de acuerdo

al peso o a la edad. En contra de estos resultados, el estudio realizado por Gilger et al (1991)⁴⁹, muestra que en la especie canina existe un aumento significativo del espesor corneal a medida que aumenta la edad y el peso de los individuos. En el presente trabajo, el análisis de regresión lineal entre la edad de los individuos y el espesor corneal en los puntos establecidos (Gráficas 2, 5, 8, 11 y 14), y de igual manera en el caso del peso (Gráficas 3, 6, 9, 12 y 15), reflejan coeficientes de correlación de Pearson indicativos de la inexistencia de correlación entre las variables edad-espesor corneal y peso-espesor corneal, en la totalidad de grupos de edad y peso estudiados (n= 16). Sobre este aspecto no se ha encontrado datos en la revisión bibliográfica efectuada.

Toda la variabilidad del espesor corneal reflejada en los distintos estudios publicados, y para las diferentes variables, no es atribuible al instrumento utilizado, a la técnica o a causas iatrogénicas, ya que la paquimetría ultrasónica es una técnica que, tanto en el ser humano como en animales, muestra una mayor precisión en la medición del espesor corneal respecto a la paquimetría óptica^{49,50}, además de presentar una alta repetibilidad entre observadores y entre sesiones⁸³.

También es posible descartar las variaciones, generadas durante la toma de medidas del espesor corneal, atribuibles a movimientos oculares propios o a causas iatrogénicas por parte de los observadores, ya que, Chan et al (1983)⁵⁸ demostraron, tras un estudio con paquimetría ultrasónica en conejos, que estas variaciones son despreciables.

Por último, es importante tener en cuenta que, en la bibliografía consultada, los individuos analizados pertenecen a distintas razas, además de incluir ambos sexos y mayores rangos de edad y peso, por los que los resultados obtenidos en el presente estudio no son totalmente comparables a estos análisis, ya que la muestra de perros utilizada incluye una sólo raza y sexo, por lo que dichos resultados en ocasiones no se aproximan o muestran diferencias importantes entre sí.

CONCLUSIONES

- ✓ No existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos ojos en el espesor corneal para cada uno de los puntos estudiados (central, dorsal, ventral, lateral y medial), pudiéndose utilizar valores medios de cada punto e individuo en subsecuentes análisis estadísticos.
- ✓ El centro de la estructura corneal presenta un espesor significativamente menor que el existente en puntos más periféricos de la misma, tanto en el ojo derecho como en el izquierdo.
- ✓ No se ha observado variación del espesor corneal central ni periférico relacionada con la edad del individuo para la especie y raza estudiada.
- ✓ No se ha observado variación del espesor corneal central ni periférico relacionada con el peso del individuo para la especie y raza estudiada.
- ✓ La paquimetría ultrasónica es una técnica útil, fiable y aplicativa, desde el punto de vista clínico, en la determinación del espesor corneal en la especie canina, ya que permite una toma de datos precisos, no afectados por el movimiento ocular, y para la que no se requiere necesariamente sedación o anestesia general.

❖ FUTUROS OBJETIVOS Y LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Tras analizar los resultados obtenidos en el desarrollo del estudio, es de destacar la necesidad firme de continuar en la presente línea de investigación, asumiendo que se necesita un mayor número de individuos, y por tanto de datos, para comprobar la veracidad y relación de los resultados con estudios previos publicados, pudiendo así complementar, e incluso avanzar, en lo que se refiere a la valoración del espesor corneal mediante paquimetría ultrasónica en la especie canina.

Es de especial interés considerar la inclusión de diferentes razas, así como distintos sexos, aumentando además los rangos de edad y peso, para poder así, manteniendo la estructura preestablecida de toma de medidas corneales, poder llevar a cabo un estudio de mayor amplitud e impacto. Éste es, junto a la extrapolación de dicho trabajo a la especie felina, el futuro objetivo planteado por nuestro grupo de investigación.

En esta misma línea, se pretende determinar además la modificación sufrida por el espesor corneal tras la inclusión de determinados factores, como la variación diurna del espesor corneal, su relación con la presión intraocular, o su modificación por la acción de diferentes fármacos.

En este sentido, es de recalcar la importancia que la paquimetría ultrasónica podría tener a nivel clínico, ya que es una técnica útil y aplicable de forma rutinaria en el diagnóstico y tratamiento médico y quirúrgico de patologías del segmento ocular anterior, y concretamente, de la estructura corneal. Por ello, actualmente el Servicio de Oftalmología del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza, ha incorporado dicha técnica al conjunto de métodos de diagnóstico de dicha especialidad, queriendo no sólo utilizarla de forma rutinaria en la clínica de pequeños animales, sino investigar además en nuevas posibles aplicaciones de la misma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hay ED. **Development of the vertebrate cornea.** Int Rev Cyt 1980; 63: 263-322.
2. Noden D. **Periocular mesenchyme: neural crest and mesoderm interactions.** En: Jakobiec FA, editor. Ocular anatomy, embryology and teratology. Philadelphia: Harper and Row; 1982. p. 97.
3. Rodrigues MM, Waring GO, Hackett J, Donohoo P. **Cornea.** En: Jakobiec FA, editor. Ocular anatomy, embryology and teratology. Philadelphia: Harper and Row; 1982. p. 153-165.
4. Edelhauser HF, Ubels JL. **Córnea y Esclerótica.** En: Kaufman PL, Alm A, editors. Adler. Fisiología del ojo, 10ª ed. Madrid: Elsevier; 2004. p. 47-114.
5. Samuelson DA. **Ophthalmic anatomy.** En: Gelatt KN, editor. Veterinary ophthalmology, 4ª ed. Iowa: Blackwell Publishing; 2007. p. 37-148.
6. Slatter D. **Córnea y Esclera.** En: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, editores. Slatter. Fundamentos de oftalmología veterinaria, 3ª ed. Buenos Aires: Inter-Médica; 2004. p. 290-349.
7. Martin C. **Cornea and Esclera.** En: Martin C, editor. Ophthalmic disease in veterinary medicine. London: Manson; 2005. p. 241-297.
8. Arntz Bustos A, Duran de la Colina. Cap. 1: **Anatomía funcional de la superficie ocular.** En: Superficie ocular. LXXX Ponencia oficial. Ed. Soc. Española de Oftalmología 2004; 1-12.
9. Schermer A, Galvin S, Sun TT. **Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells.** J Cell Biol 1986; 103(1): 49-62.
10. Cotsarelis G, Cheng S, Dong S, et al.: **Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cell that can be preferentially stimulated to proliferate: implications on epithelial stem cells.** Cell 1989; 57(2): 201-209.
11. Gelatt KN, Samuelson DA. **Recurrent corneal erosions and epithelial dystrophy in the Boxer dog.** J Am Anim Hosp Assoc 1982; 18(3): 453-460.

12. Petrick S, van Rensburg I. **Corneal anatomical differences in the aetiology of chronic superficial keratitis.** J Small Anim Pract 1989; 30(8): 449-453.
13. Funderburgh JL, Funderburgh ML, Brown SJ, Vergnes JP, Hassell JR, Mann MM, Conrad GW. **Sequence and structural implications of a bovine corneal keratan sulfate proteoglycan core protein. Protein 37B represents bovine lumican and proteins 37A and 25 are unique.** Journal of Biological Chemistry 1993; 268(16): 11874-11880.
14. Gipson IK, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS. **Hemidesmosomes and anchoring fibril collagen appear synchronously during development and wound healing.** Dev Biol 1983; 126(2): 253-262.
15. Messent AJ, Blissett MJ, Smith GL, North AJ, Magee A, Foreman D, Garrod DR, Boulton M. **Expression of a single pair of desmosomal glycoproteins renders the corneal epithelium unique amongst stratified epithelia.** Invest Ophthalmol Vis Sci 2000; 41(1): 8-15.
16. Pfister RR. **The normal surface of corneal epithelium: a scanning electron microscopic study.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1973; 12(9): 654-668.
17. Hazlett LD, Spann B, Wells P, Berk RS. **Desquamation of the corneal epithelium in the immature mouse: a scanning and transmission microscopy study.** Exp Eye Res 1980; 31(1): 21-30.
18. Gipson IK, Yankauekas M, Spurr-Michaud JJ, et al. **Characteristics of a glycoprotein in the ocular surfaceglycocalyx.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1992; 33(1): 218-227.
19. Nichols BA, Chiappini ML, Dawson CR. **Demonstration of the mucous layer of the tear film by electron microscopy.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1985; 26(4): 464-473.
20. Argueso P, Gipson IK. **Epithelial mucins of the ocular surface: structure, biosynthesis, and function.** Exp Eye Res 2001; 73(3): 281-289.
21. Friedenwald JS, Buscke W. **Mitotic and wound healing activities of the corneal epithelium.** Arch Ophthalmol 1944; 32(5): 410-413.

22. Hanna C, Bickness DS, O'Brien JE. **Cell turnover in the adult human eye.** Arch Ophthalmol 1961; 65(5): 695-698.
23. Hanna C, O'Brien JE. **Cell production and migration in the epithelium layer of the cornea.** Arch Ophthalmol 1960; 64(4): 536-539.
24. Sharma A, Coles WH. **Kinetics of corneal epithelial maintenance and graft loss.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1989; 30(9): 1962-71.
25. Gillette TE, Chandler JW, Greiner JV. **Langerhans cells of the ocular surface.** Ophthalmology 1982; 89(6): 700-711.
26. Langerhans P. **Über die: nerven der menschlichen haut.** Virchows Arch Path Anat Physiol 1868; 44: 325-337.
27. Steinman RM. **The dendritic cell system and its role in immunogenicity.** Annu Rev Immunol 1991; 9: 271-296.
28. Hamrah P, Zhang Q, Liu Y, Dana MR. **Novel characterization of MHC class-negative population of resident corneal Langerhans cell-type dendritic cells.** Invest Ophthalmol Vis Sci 2002; 43(3): 639-646.
29. Kaye G. **Stereologic measurement of cell volume fraction of rabbit corneal stroma.** Arch Ophthalmol 1969; 82(6): 792-794.
30. Maurice DM. **The Eye: The Cornea and Sclera,** 3rd ed. New York: Academic Press; 1984. p.1.
31. Gum GG, Gelatt KN, Esson DW. **Physiology of eye.** En: Gelatt KN, editor. Veterinary Ophthalmology, 4^a ed. Iowa; Blackwell Publishing: 2007. p. 149-182.
32. Cintron C, Hong B, Covington HI, Macarak EJ. **Heterogeneity of collagens in rabbit cornea: type 111 collagen.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1988; 29(5): 767-775.
33. Maurice DM. **The structure and transparency of the cornea.** J Physiol 1957; 136(2): 263-286.

34. Hirsch M, Prenant G, Renard G. **Three-dimensional supramolecular organization of the extracellular matrix in human and rabbit corneal stroma, as revealed by ultrarapid-freezing and deep-etching methods.** Exp Eye Res 2001; 72(2): 123-135.
35. Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell E. **Histology of the human eye.** Philadelphia: WB Saunders; 1971. p.508-521.
36. Newton RH, Meek KM. **Circumcorneal annulus of collagen fibrils in the human limbus.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1998; 39(7): 1125-1134.
37. Meek KM, Boote C. **The organization of collagen in the corneal stroma.** Exp Eye Res 2004; 78(3): 503-512.
38. Scott JE: **Proteoglycan histochemistry: a valuable tool for connective tissue biochemists.** Coll Relat Res 1985; 5(6): 541-575.
39. Watsky MA. **Keratocyte gap junctional dye spread in normal and wounded rabbit corneas and human corneas.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1995; 36: S22.
40. Montero J. **Concepto de córnea sana.** En: Cezón J, editor. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 19-34.
41. Muller LJ, Pels L, Vrensen GFJM. **Novel aspects of the ultrastructural organization of human corneal keratocytes.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1995; 36(13): 2557-2567.
42. Patel SV, Melaren JW, Hodge DO, Bourne WM. **Normal human keratocyte density and corneal thickness measurement by using confocal microscopy in vivo.** Invest Ophthalmol Vis Sci 2001; 42(2): 333-339.
43. Hedbys BO. **The role of polysaccharides in corneal swelling.** Exp Eye Res 1961; 1: 81-91.
44. Scott JE. **Proteoglycan: collagen interactions and corneal ultrastructure.** Biochem Soc Trans 1991; 19(4): 877-881.

45. Komai Y, Ushiki T. **The three-dimensional organization of collagen fibrils in human cornea and sclera.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1991; 32(8): 2244-2258.
46. Edelhauser HF. **Castroviejo lecture: The resiliency of the corneal endothelium to refractive and intraocular surgery.** Cornea 2000; 19(3): 263-273.
47. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. **Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age.** Curr Eye Res 1985; 4(6): 671-678.
48. Johnson DH, Bourne WM, Campbell RJ. **The ultrastructure of Descemet's membrane. I. Changes with age in normal corneas.** Arch Ophthalmol 1982; 100(12): 1942-1947.
49. Gilger BC, Whitley RD, McLaughlin SA, Wright JC, Drane JW. **Canine corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry.** Am J Vet Res 1991; 52(10): 1570-1572.
50. Gilger BC, Wright JC, Whitley RD, McLaughlin SA. **Corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry in cats.** Am J Vet Res 1993; 54(2): 228-230.
51. Plummer CE, Ramsey DT, Hauptman JG. **Assessment of corneal thickness, intraocular pressure, optical corneal diameter, and axial globe dimensions in Miniature Horses.** Am J Vet Res 2003; 64(6): 661-665.
52. Leach NE, Wallis NE, Lothringer LL, Olsen JA. **Corneal hydration changes during the normal menstrual cycle - a preliminary study.** J Reprod Med 1971; 6(5): 201-204.
53. Gwin RM, Lerner I, Warren JK, Gum G. **Decrease in canine corneal endothelial cell density and increase in corneal thickness as functions of age.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1982; 22(2): 267-271.
54. Ramsey DT, Hauptman JG, Petersen-Jones SM. **Corneal thickness, intraocular pressure, and optical corneal diameter in Rocky Mountain Horses with cornea globosa or clinically normal corneas.** Am J Vet Res 1999; 60(10): 1317-1321.

55. Bentley E, Campbell S, Woo HM, Murphy CJ. **The effect of chronic corneal epithelial debridement on epithelial and stromal morphology in dogs.** Invest Ophthalmol Vis Sci 2002; 43: 2136-2142.
56. Sweeney DF, Holden BA. **Why do individuals vary in their corneal oedema responses?** Invest Ophthalmol Vis Sci 1990; 31(suppl): 2716.
57. Longanesi L, Cavallini GM, Toni R. **Quantitative clinical anatomy of the human cornea in vivo. A morphometric study by ultrasonic pachymetry and computer-assisted topographic videokeratoscopy.** Acta Anat 1996; 157(1): 73-79.
58. Chan T, Payor S, Holden BA. **Corneal thickness profiles in rabbits using an ultrasonic pachometer.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1983; 24(10): 1408-1410.
59. Montiani-Ferreira F, Petersen-Jones S, Cassotis N, Ramsey DT. **Early postnatal development of central corneal thickness in dogs.** Vet Ophthalmol 2003; 6(1): 19-22.
60. Kafarnik C, Fritsche J, Reese S. **In vivo confocal microscopy in the normal corneas of cat, dogs, and birds.** Vet Ophthalmol 2007; 10(4): 222-230.
61. Van der Woerd A, Gilger BC, Wilkie DA, Strauch SM. **Effect of auriculopalpebral nerve block and intravenous administration of xylazine on intraocular pressure and corneal thickness in horses.** Am J Vet Res 1995; 56(2): 155-158.
62. Andrew SE, Ramsey DT, Hauptman JG, Brooks DE. **Density of corneal endothelial cells and corneal thickness in eyes of euthanatized horses.** Am J Vet Res 2001; 63(4): 479-482.
63. Kikkawa Y. **Diurnal variation in corneal thickness.** Exp Eye Res 1973; 15(1): 1-9.
64. Chan-Ling T, Efron N, Holden BA. **Diurnal variation of corneal thickness in the cat.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1985; 26(1): 102-105.
65. Madigan MC, Gillard-Crewther S, Kiely PM, Crewther DP, Brennan NA, Efron N, Holden BA. **Corneal thickness changes following sleep and overnight contact lens wear in the primate (*Macaca fascicularis*).** Curr Eye Res 1987; 6(6): 809-815.

66. Harper C, Boulton M, Bennett D, Marcyniuk B, Jarvis-Evans JH, Tullo AB, Ridgway AE. **Diurnal variations in human corneal thickness.** Br J Ophthalmol 1996; 80(12): 1068-1072.
67. Klyce SD. **Stromal lactate accumulation can account for corneal oedema osmotically following epithelial hypoxia in the rabbit.** Physiol 1981; 321(1): 49-64.
68. Busted N, Olsen T, Schmitz O. **Clinical observations on the corneal thickness and the corneal endothelium in diabetes mellitus.** Br J Ophthalmol 1981; 65(10): 687-690.
69. Gwendolyn LL, Brinkis JL. **The effect of elective phacofragmentation on central corneal thickness in the dog.** Vet Ophthalmol 2006; 9(5): 303-310.
70. Gromacki SJ, Barr JT. **Central and peripheral corneal thickness in keratoconus and normal patient groups.** Optom Vis Sci 1994; 71(7): 437-441.
71. Hovding G. **The central corneal thickness in keratoconjunctivitis sicca.** Acta ophthalmologica (Copenh) 1992; 70(1): 108-110.
72. Gao L, Fan H, Cheng AC, Wang Z, Lam DS. **The effects of eye drops on corneal thickness in adult miopia.** Cornea 2006; 25(4): 404-407.
73. Herse P, Siu A. **Short-term effects of proparacaine on human corneal thickness.** Acta Ophthalmol (Copenh) 1992; 70(6): 740-744.
74. Asensio I, Rahhal SM, Alonso L, Palanca-Sanfrancisco JM, Sanchis-Gimeno JA. **Corneal thickness values before and after oxybuprocaine 0.4% eye drops.** Cornea 2003; 22(6): 527-532.
75. Nielsen CB, Nielsen PJ. **Effect of alpha- and beta-receptor active drugs on corneal thickness.** Acta Ophthalmologica (Copenh) 1985; 63(3): 351-354.
76. Parafita MA, Yerba-Pimentel E, González JM, editores. **Paquimetría: técnicas y aplicación clínica.** Xàtiva: Ulleye; 2000.
77. Mishima S. **Corneal thickness.** Surv Ophthalmol 1968; 13(2): 57-96.

78. Hirji NK, Larke JR. **Thickness of the human cornea measured by topographic pachometry.** Am J Optom Physiol Opt 1978; 55(2): 97-100.
79. Salz JJ, Azen SP, Berstein J, Caroline P, Villasenor RA, Schanzlin DJ. **Evaluation and comparison of sources of variability in the measurement of corneal thickness with ultrasonic and optical pachymeters.** Ophthalmic Surg 1983; 14(9): 750-754.
80. Schulz D, Iliev ME, Frueh BE, Goldblum D. **In vivo pachymetry in normal eyes of rats, mice and rabbits with the optical low coherence reflectometer.** Vision Res 2003; 43(6): 723-728.
81. Carrington SD, Woodward EG. **Corneal thickness and diameter in the domestic cat.** Ophthalmic Physiol Opt 1986; 6(4): 385-389.
82. Mundt GH Jr, Hughes WF Jr. **Ultrasonics in ocular diagnosis.** Am J Ophthalmol 1956; 41(3): 488-498.
83. Schoster JV, Wickman L, Stuhr C. **The use ultrasonic pachymetry and computer enhancement to illustrate the collective corneal thickness profile of 25 cats.** Vet Comp Ophthalmol 1995; 5(2): 68-73.
84. Marsich MM, Bullimore MA. **The repeatability of corneal thickness measures.** Cornea 2000; 19(6): 792-795.
85. Svaldenienė E, Babrauskienė V, Paunksnienė M. **Structural features of the cornea: light and electron microscopy.** Vet Med Zoot 2003; 24(46): 50-55.
86. Gwin RM, Warren JK, Samuelson DA, Gum GG. **Effects of phacoemulsification and extracapsular lens removal on corneal thickness and endothelial cell density in the dog.** Invest Ophthalmol Vis Sci 1983; 24(2): 227-236.
87. Stapleton S, Peiffer RL. **Specular microscopic observation of the clinically normal canine corneal endothelium.** Am J Vet Res 1979; 40(12): 1803-1804.

88. Molleda C. **Evaluación clínica del espesor central de la córnea y la presión intraocular en el perro** [tesis doctoral]. Córdoba: Universidad de Córdoba; 2009.

APÉNDICE I

○ PLANTILLA PREESTABLECIDA PARA LA TOMA DE DATOS

ESTUDIO MEDIANTE PAQUIMETRÍA ULTRASÓNICA DEL ESPESOR CORNEAL EN LA ESPECIE CANINA



Unidad de Cirugía
Departamento de
Patología Animal
Universidad Zaragoza

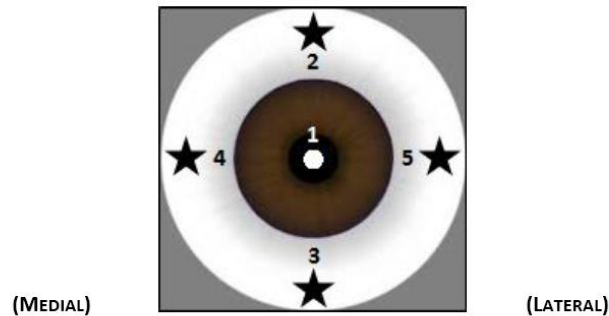
Nº DE REGISTRO:

✓ SEXO:

✓ EDAD:

✓ PESO:

➤ ESTUDIO PAQUIMÉTRICO:



Ojo DERECHO

1. _____ μm

2. _____ μm

3. _____ μm

4. _____ μm

5. _____ μm

Ojo IZQUIERDO

1. _____ μm

2. _____ μm

3. _____ μm

4. _____ μm

5. _____ μm

○ BASES DE DATOS ESTADÍSTICOS

Nº-Registro	Sexo	Edad-Años	Peso-Kg	OD-C-Micras	OI-C-Micras	OD-D-Micras	OI-D-Micras	OD-V-Micras	OI-V-Micras	OD-L-Micras	OI-L-Micras	OD-M-Micras	OI-M-Micras
Nata (1)	H castrada	7	15,3	569	559	666	638	634	594	646	625	637	640
India (2)	H castrada	7	14,5	610	618	710	693	638	633	704	693	623	639
Pista (3)	H castrada	7	18,3	558	560	615	616	617	606	605	579	597	564
Lisa (4)	H castrada	6	13,5	657	655	757	763	710	658	707	733	654	663
Moca (5)	H castrada	6	12	553	570	660	643	630	620	684	669	594	580
Berta (6)	H castrada	6	13,6	596	597	677	678	662	681	646	674	619	629
Rosi (7)	H castrada	4	17,5	608	606	677	672	623	626	645	655	605	607
Bella (8)	H castrada	4	18,4	626	646	719	716	662	678	692	707	687	673
Cleo (9)	H castrada	4	15,6	560	585	663	673	617	615	656	690	609	640
Susa (10)	H castrada	4	15,9	576	570	646	649	600	672	612	603	579	596
Luna (11)	H castrada	4	13	591	580	654	673	613	615	646	678	611	613
Musa (12)	H castrada	4	16,2	538	542	601	612	598	590	612	613	581	595
Lupe (13)	H castrada	4	15,6	588	579	646	631	643	629	626	640	646	605
Tuca (14)	H castrada	4	9,1	612	601	707	727	688	705	699	674	690	735
Mini (15)	H castrada	2	10	578	596	605	615	580	607	620	622	580	574
Feli (16)	H castrada	2	12,5	578	580	645	642	601	612	648	629	594	591

CATEGORÍA-Ojo	Central-Micras	Dorsal-Micras	Ventral-Micras	Lateral-Micras	Medial-Micras
D	569	666	634	646	637
D	610	710	638	704	623
D	558	615	617	605	597
D	657	757	710	707	654
D	553	660	630	684	594
D	596	677	662	646	619
D	608	677	623	645	605
D	626	719	662	692	687
D	560	663	617	656	609
D	576	646	600	612	579
D	591	654	613	646	611
D	538	601	598	612	581
D	588	646	643	626	646
D	612	707	688	699	690
D	578	605	580	620	580
D	578	645	601	648	594
I	559	638	594	625	640
I	618	693	633	693	639
I	560	616	606	579	564
I	655	763	658	733	663
I	570	643	620	669	580
I	597	678	681	674	629
I	606	672	626	655	607
I	646	716	678	707	673
I	585	673	615	690	640
I	570	649	672	603	596
I	580	673	615	678	613
I	542	612	590	613	595
I	579	631	629	640	605
I	601	727	705	674	735
I	596	615	607	622	574
I	580	642	612	629	591

CATEGORÍA-Zona	OD-CentralxDorsal	OD-CentralxVentral	OD-CentralxLateral	OD-CentralxMedial	OI-CentralxDorsal	OI-CentralxVentral	OI-CentralxLateral	OI-CentralxMedial
C	569	569	569	569	559	559	559	559
C	610	610	610	610	618	618	618	618
C	558	558	558	558	560	560	560	560
C	657	657	657	657	655	655	655	655
C	553	553	553	553	570	570	570	570
C	596	596	596	596	597	597	597	597
C	608	608	608	608	606	606	606	606
C	626	626	626	626	646	646	646	646
C	560	560	560	560	585	585	585	585
C	576	576	576	576	570	570	570	570
C	591	591	591	591	580	580	580	580
C	538	538	538	538	542	542	542	542
C	588	588	588	588	579	579	579	579
C	612	612	612	612	601	601	601	601
C	578	578	578	578	596	596	596	596
C	578	578	578	578	580	580	580	580
P	666	634	646	637	638	594	625	640
P	710	638	704	623	693	633	693	639
P	615	617	605	597	616	606	579	564
P	757	710	707	654	763	658	733	663
P	660	630	684	594	643	620	669	580
P	677	662	646	619	678	681	674	629
P	677	623	645	605	672	626	655	607
P	719	662	692	687	716	678	707	673
P	663	617	656	609	673	615	690	640
P	646	600	612	579	649	672	603	596
P	654	613	646	611	673	615	678	613
P	601	598	612	581	612	590	613	595
P	646	643	626	646	631	629	640	605
P	707	688	699	690	727	705	674	735
P	605	580	620	580	615	607	622	574
P	645	601	648	594	642	612	629	591

Nº-R	Sexo	CAT-Edad	Edad-Años	CAT-Peso	Peso-Kg	MEDIA-C-Micras	MEDIA-D-Micras	MEDIA-V-Micras	MEDIA-L-Micras	MEDIA-M-Micras
1	H castrada	C	7	B	15,3	564	652	614	635,5	638,5
2	H castrada	C	7	B	14,5	614	701,5	635,5	698,5	631
3	H castrada	C	7	C	18,3	559	615,5	611,5	592	580,5
4	H castrada	C	6	B	13,5	656	760	684	720	658,5
5	H castrada	C	6	A	12	561,5	651,5	625	676,5	587
6	H castrada	C	6	B	13,6	596,5	677,5	671,5	660	624
7	H castrada	B	4	C	17,5	607	674,5	624,5	650	606
8	H castrada	B	4	C	18,4	636	717,5	670	699,5	680
9	H castrada	B	4	B	15,6	572,5	668	616	673	624,5
10	H castrada	B	4	B	15,9	573	647,5	636	607,5	587,5
11	H castrada	B	4	A	13	585,5	663,5	614	662	612
12	H castrada	B	4	C	16,2	540	606,5	594	612,5	588
13	H castrada	B	4	B	15,6	583,5	638,5	636	633	625,5
14	H castrada	B	4	A	9,1	606,5	717	696,5	686,5	712,5
15	H castrada	A	2	A	10	587	610	593,5	621	577
16	H castrada	A	2	A	12,5	579	643,5	606,5	638,5	592,5

APÉNDICE II

○ ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1. **Estructura básica del globo ocular** 17
(<http://www.drsole.com>)
- FIGURA 2. **Esquema de la estructura en capas de la córnea** 18
(<http://www.scielo.isciii.es>)

○ ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

- FOTOGRAFÍA 1. **Localización y estructura del limbo corneal** 19
(Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Argentina)
- FOTOGRAFÍA 2. **Estructura en capas de la córnea. Microscopía óptica (x 100)** 20
(Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Argentina)
- FOTOGRAFÍA 3. **Capa basal del epitelio corneal** 21
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 23.)
- FOTOGRAFÍA 4. **Estrato epitelial intermedio, células aladas o «Wing-cells»** 22
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 23.)
- FOTOGRAFÍA 5. **Epitelio corneal superficial en descamación con alteraciones nucleares** ... 23
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 21.)
- FOTOGRAFÍA 6. **Estrato superficial corneal** 24
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 24.)

- FOTOGRAFÍA 7. Queratinocito	27
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 25.)	
- FOTOGRAFÍA 8. Estroma superficial y membrana de Bowman	28
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 25.)	
- FOTOGRAFÍA 9. Endotelio corneal	30
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 28.)	
- FOTOGRAFÍA 10. Microvilis de la cara posterior del endotelio corneal	30
(Montero J. Concepto de córnea sana. In: Cezón J, editors. Técnicas de modelado corneal, desde la Ortoqueratología hasta el Cross-Linking. Sevilla: SECOIR; 2009. p. 28.)	
- FOTOGRAFÍA 11. Paquímetro óptico modelo Slit Lamp BX 900 (MMC Optical, Kastrup, Denmark)	35
(http://www.mmcoptical.dk)	
- FOTOGRAFÍA 12. Paquímetro ultrasónico modelo DGH 5100E (PachetteTM, DGH Technology Inc., Pennsylvania, USA)	37
(http://www.dghkoi.com)	
- FOTOGRAFÍA 13. Oftalmoscopia indirecta (valoración segmento posterior)	42
- FOTOGRAFÍA 14. Tonometría de aplanación (medición de la presión introcular)	43
- FOTOGRAFÍA 15. Oftalmoscopia directa (valoración segmento posterior)	43
- FOTOGRAFÍA 16. Examen con lámpara de hendidura del segmento anterior	43
- FOTOGRAFÍA 17. Realización del test de fluoresceína (instilación de fluoresceína y lavado con suero fisiológico) y lámpara de Wood utilizada para evidenciar reflejo verde fluorescente mediante luz ultravioleta	44

- FOTOGRAFÍA 18. Instilación del colirio anestésico tópico	45
- FOTOGRAFÍA 19. Paquímetro ultrasónico y sonda de medición	45
- FOTOGRAFÍA 20. Toma de medidas del espesor corneal (sonda perpendicular)	46

○ **ÍNDICE DE TABLAS**

- TABLA I. Técnicas de paquimetría	34
(Molleda C. Evaluación clínica del espesor central de la córnea y la presión intraocular en el perro [tesis doctoral]. Córdoba: Universidad de Córdoba; 2009. p. 23.)	
- TABLA II. Espesor corneal en la especie canina (μm)	38
(Molleda C. Evaluación clínica del espesor central de la córnea y la presión intraocular en el perro [tesis doctoral]. Córdoba: Universidad de Córdoba; 2009. p. 30.)	
- TABLA III. Clasificación y número de animales según edad	41
- TABLA IV. Clasificación y número de animales según peso	41
- TABLA V. Valores medios del espesor corneal central (ECC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados	51
- TABLA VI. Valores medios del espesor corneal central (ECC, μm) según la categoría de edad	52
- TABLA VII. Valores medios del espesor corneal central (ECC, μm) según la categoría de peso	53
- TABLA VIII. Valores medios del espesor corneal dorsal (EDC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados	54
- TABLA IX. Valores medios del espesor corneal dorsal (EDC, μm) según la categoría de edad	55

- TABLA X. Valores medios del espesor corneal dorsal (EDC, μm) según la categoría de peso	56
- TABLA XI. Valores medios del espesor corneal ventral (EVC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados	57
- TABLA XII. Valores medios del espesor corneal ventral (EVC, μm) según la categoría de edad	58
- TABLA XIII. Valores medios del espesor corneal ventral (EVC, μm) según la categoría de peso	59
- TABLA XIV. Valores medios del espesor corneal lateral (ELC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados	60
- TABLA XV. Valores medios del espesor corneal lateral (ELC, μm) según la categoría de edad	61
- TABLA XVI. Valores medios del espesor corneal lateral (ELC, μm) según la categoría de peso	62
- TABLA XVII. Valores medios del espesor corneal medial (EMC, μm) en los 32 ojos de los 16 animales estudiados	63
- TABLA XVIII. Valores medios del espesor corneal medial (EMC, μm) según la categoría de edad	64
- TABLA XIX. Valores medios del espesor corneal medial (EMC, μm) según la categoría de peso	65
- TABLA XX. Valores medios del espesor corneal central (μm) y periférico (μm) en el ojo derecho	67

- TABLA XXI. Valores medios del espesor corneal central (μm) y periférico (μm) en el ojo izquierdo	68
--	----

O ÍNDICE DE GRÁFICAS

- GRÁFICA 1. Histograma poblacional del ECC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio)	51
- GRÁFICA 2. Correlación y regresión lineal del ECC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados	52
- GRÁFICA 3. Correlación y regresión lineal del ECC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados	53
- GRÁFICA 4. Histograma poblacional del EDC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio)	54
- GRÁFICA 5. Correlación y regresión lineal del EDC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados	55
- GRÁFICA 6. Correlación y regresión lineal del EDC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados	56
- GRÁFICA 7. Histograma poblacional del EVC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio)	57
- GRÁFICA 8. Correlación y regresión lineal del EVC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados	58
- GRÁFICA 9. Correlación y regresión lineal del EVC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados	59
- GRÁFICA 10. Histograma poblacional del ELC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio)	60

- GRÁFICA 11. **Correlación y regresión lineal del ELC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados** 61
- GRÁFICA 12. **Correlación y regresión lineal del ELC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados** 62
- GRÁFICA 13. **Histograma poblacional del EMC (μm) de los 32 globos oculares estudiados (16 animales de estudio)** 63
- GRÁFICA 14. **Correlación y regresión lineal del EMC (μm) y la edad (años) en los 16 animales estudiados** 64
- GRÁFICA 15. **Correlación y regresión lineal del EMC (μm) y el peso (kg) en los 16 animales estudiados** 65

