

TESIS DOCTORAL

Alteraciones anatómicas y funcionales oculares en un modelo animal de hipertensión arterial

Luis García Hernández-Abad

Director y tutor

Dr. Ibrahim González Marrero

Codirector

Dr. Agustín Castañeyra Perdomo

2022

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

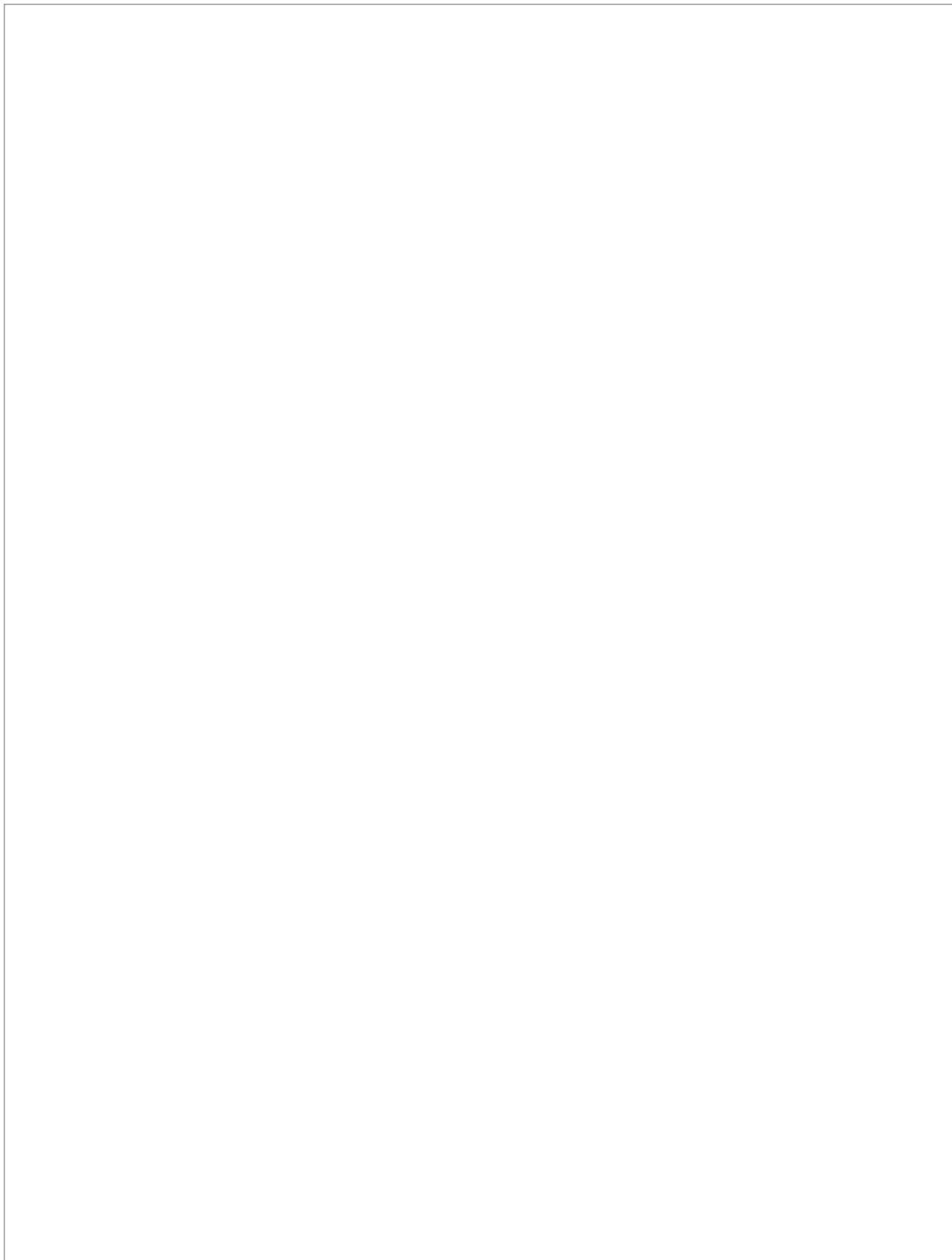
1 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

1 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo Fecha: 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

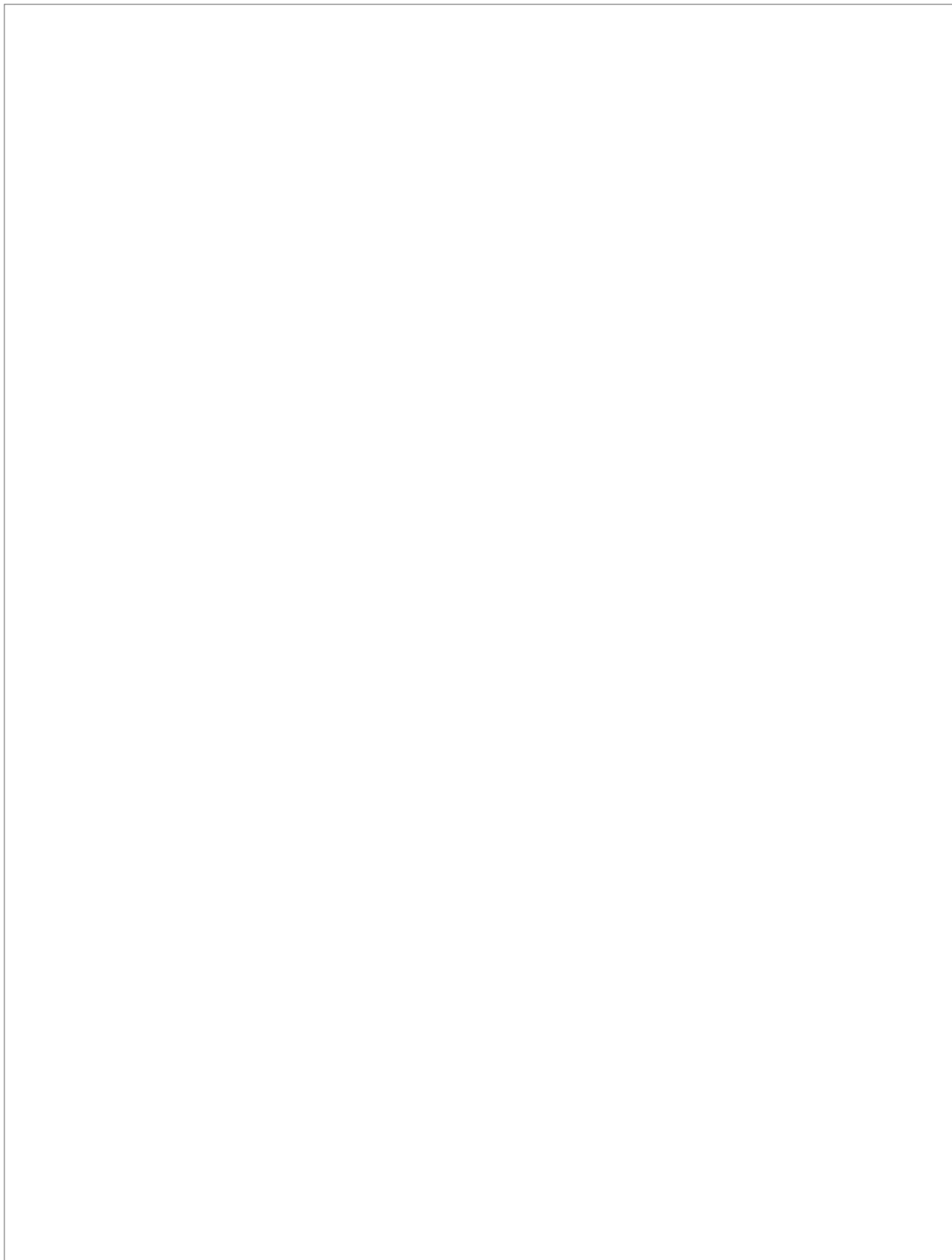
2 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár Fecha: 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

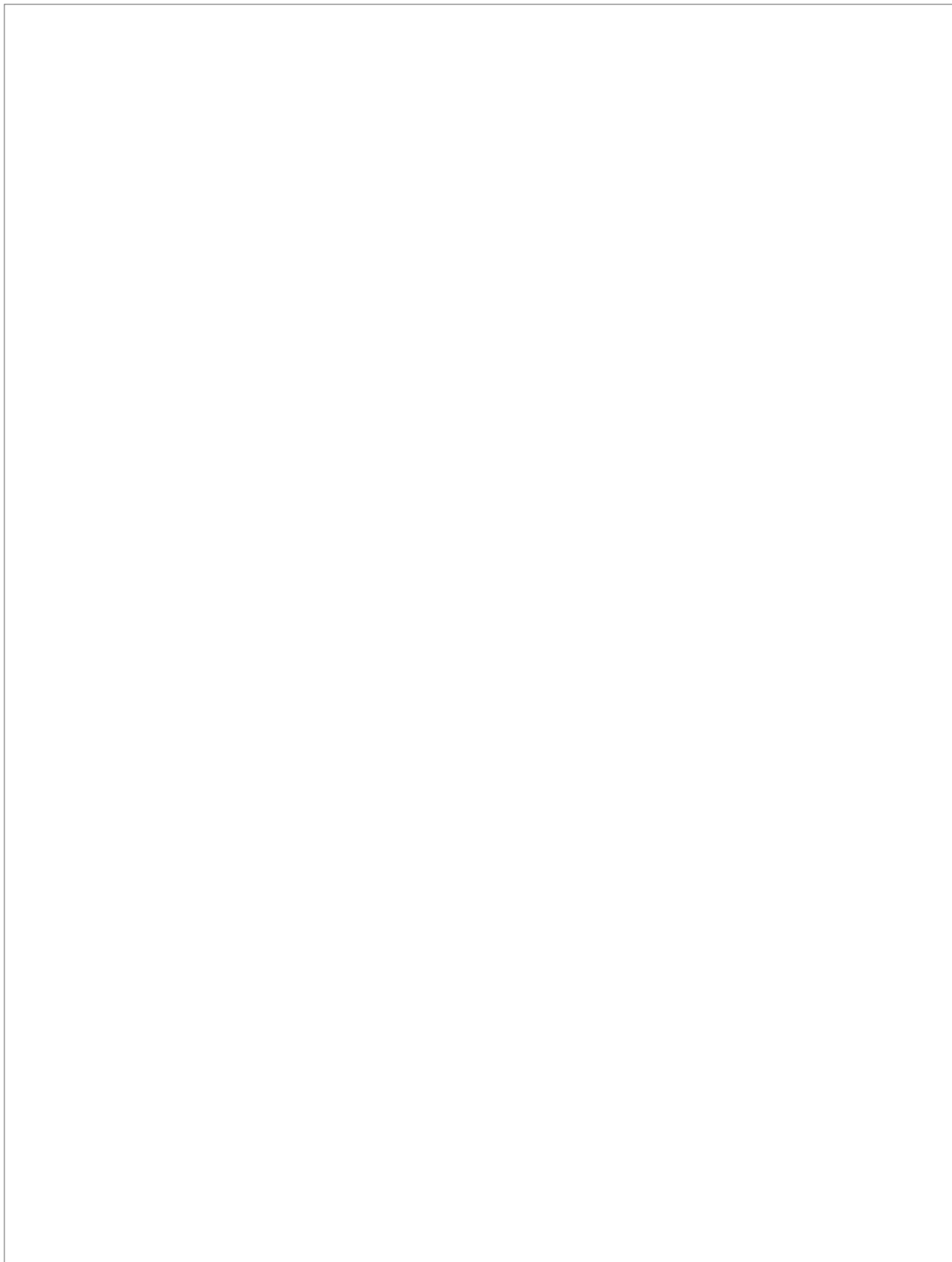
3 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

4 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



ÁREA DE ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS
SECCIÓN DE MEDICINA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ALTERACIONES ANATÓMICAS Y FUNCIONALES
OCULARES EN UN MODELO ANIMAL DE HIPERTENSIÓN
ARTERIAL

Memoria de la tesis doctoral presentada por D. Luis García
Hernández-Abad para la obtención de grado de Doctor por la
Universidad de La Laguna.

Director y Tutor
Dr. Ibrahim González Marrero

Codirector
Dr. Agustín Castañeyra Perdomo

2022

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

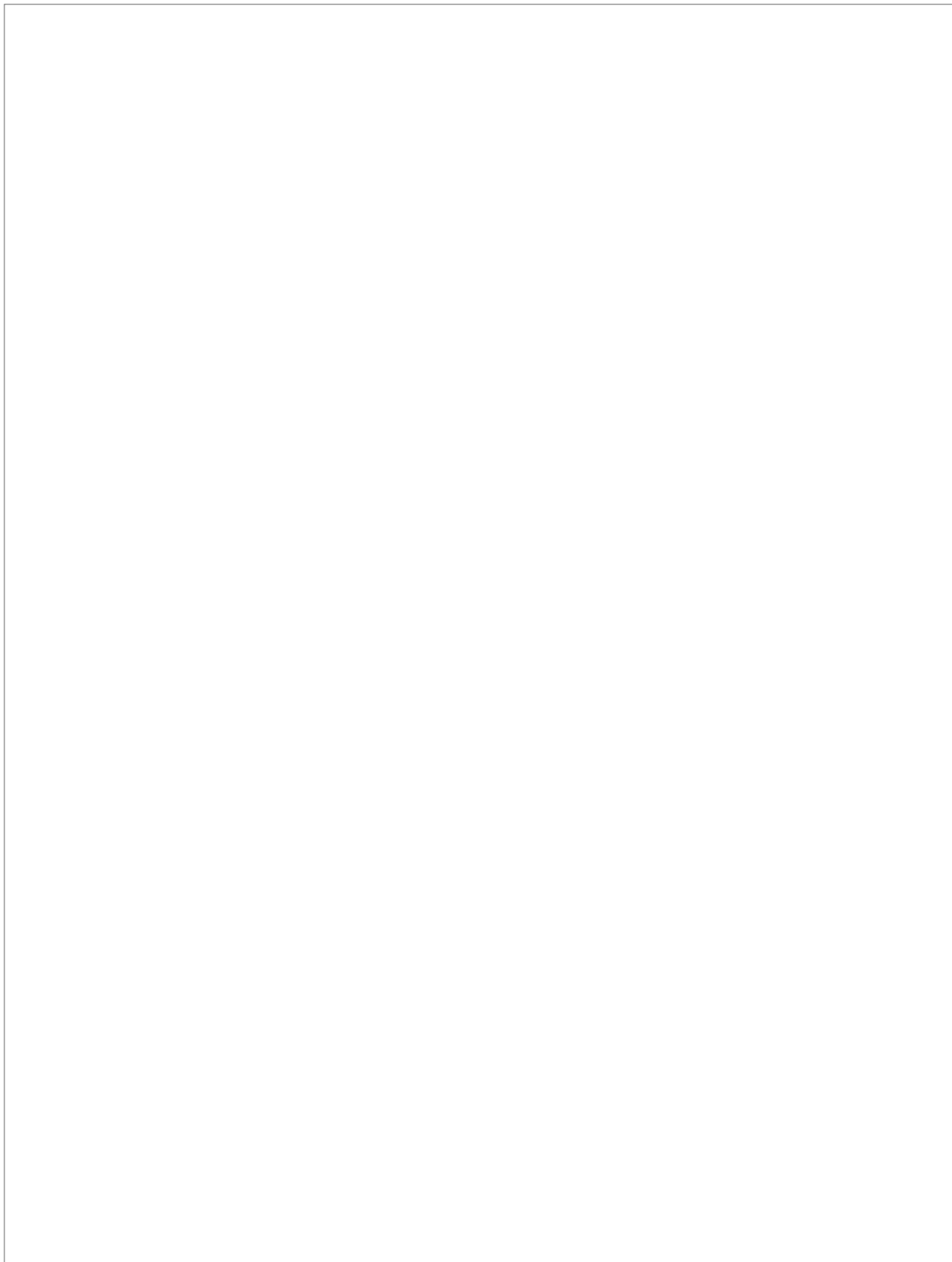
5 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

5 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

6 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Dr. D. Ibrahim González Marrero, director y tutor de esta tesis doctoral,
Profesor Contratado Doctor del área de Anatomía y Embriología del
Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Universidad de La Laguna.

Dr. D. Agustín Castañeyra Perdomo, Catedrático del área Anatomía y
Embriología del Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Universidad de La
Laguna.

Hacen constar:

Que D. **Luis García Hernández-Abad**, licenciado en biología, ha realizado
bajo nuestra dirección el trabajo de investigación correspondiente a la Tesis
Doctoral que lleva por título:

**"Alteraciones anatómicas y funcionales oculares en un modelo animal de
hipertensión arterial"**

Revisado el presente trabajo, consideramos que reúne los requisitos
necesarios para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente con
el fin de optar al título de Doctor por la Universidad de La Laguna.

Para que así conste y surta los efectos oportunos, en el cumplimiento de
las disposiciones vigentes, extendemos y firmamos el presente certificado en La
Laguna a 06 de junio de 2022.

Fdo. Ibrahim González Marrero

Fdo. Agustín Castañeyra Perdomo

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

7 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

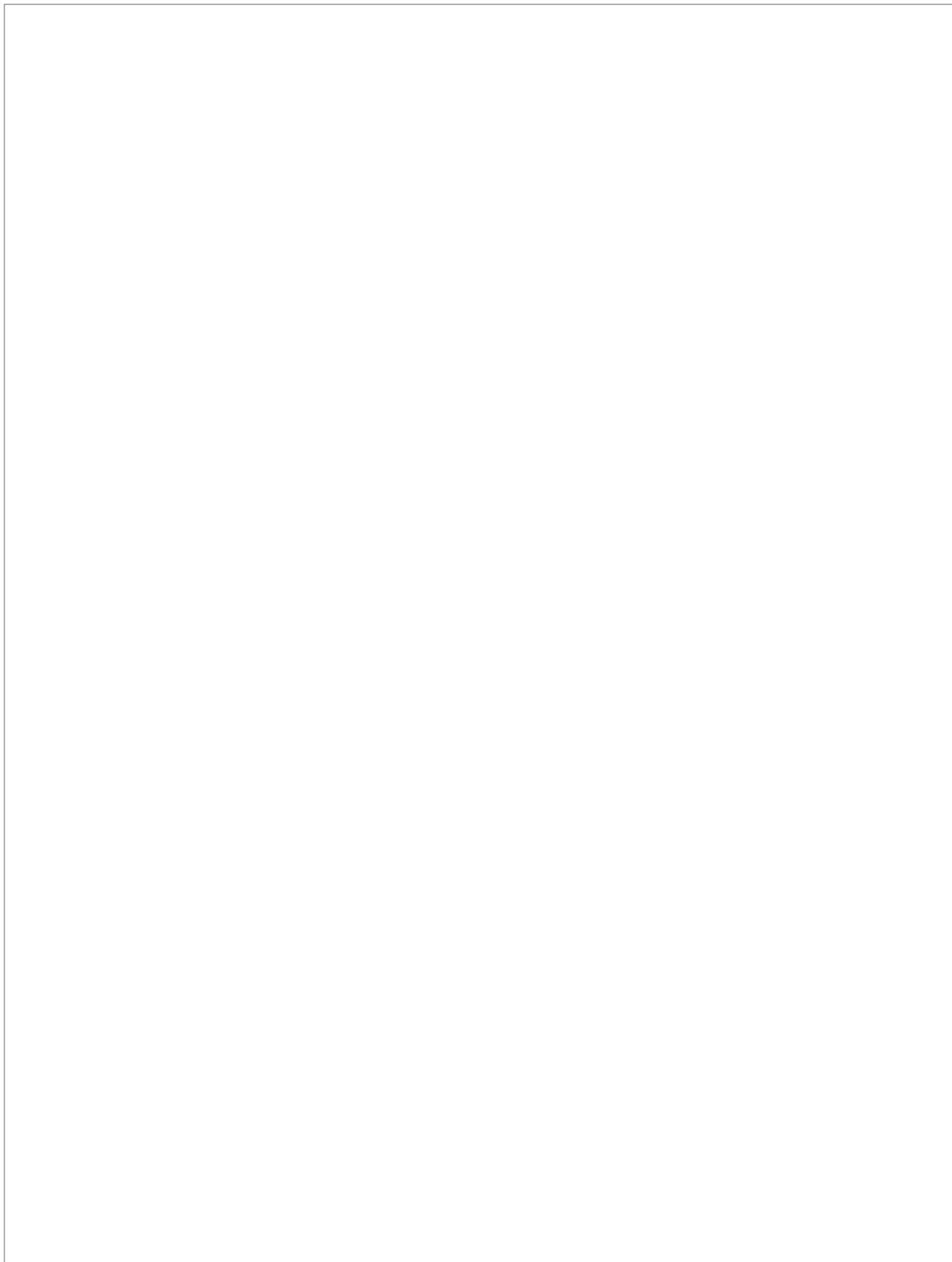
Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

8 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

A Rosi y Conri, mis padres,
A mi hermano, Pedro,
A mi amor, Tami.

Los pilares que sostienen mi vida.

III

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

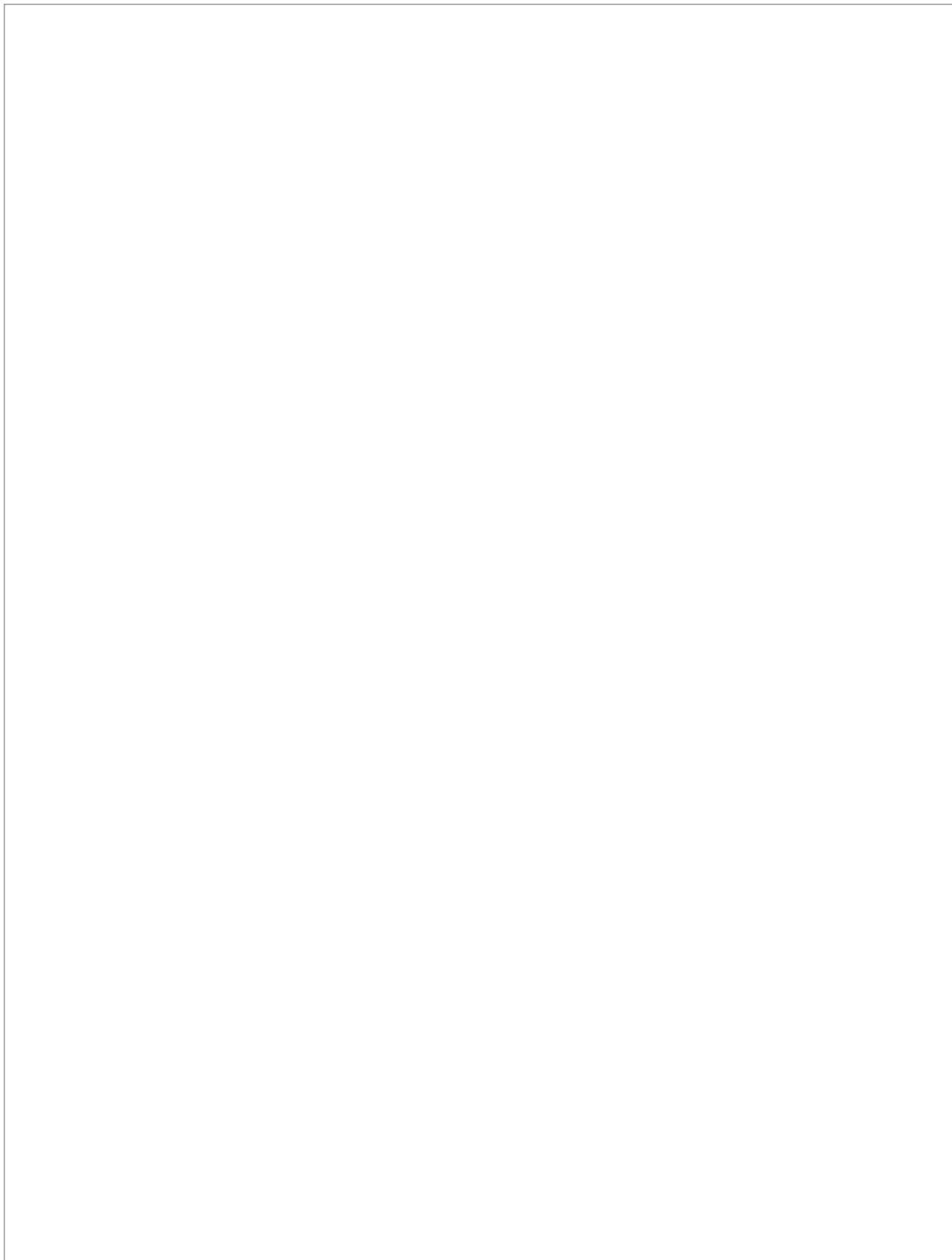
9 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

10 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

10 / 228

Agradecimientos

En primer lugar, dar las gracias a mis directores de tesis; el Dr. Ibrahim González Marrero y el Dr. Agustín Castañeyra Perdomo, por acogerme bajo su tutela; por su paciencia, confianza, apoyo y dedicación que han tenido durante estos años y que me han permitido terminar esta tesis.

Agradecer a la Dr. Miriam González su ayuda, colaboración y apoyo en el desarrollo de este trabajo.

Agradecer a Lidia Ruiz por proporcionarme el material necesario para realizar esta tesis.

Agradecer a todos los compañeros del área de Anatomía y Embriología Humana por apoyarme y hacer realidad el sueño de ser "profesor" en la Universidad.

Pero, sobre todo quiero dar las gracias a mi familia y amigos. Gracias a mis padres, Rosi y Conrado, a mi hermano, Pedro, a quienes debo lo que soy y lo que he conseguido en mi vida, sirviéndome de ejemplo con su amor, su fuerza, su cariño y su paciencia. Gracias a mi amor, Tamara, por toda su paciencia, su incondicional apoyo, sus palabras alentadoras en los momentos de agobio, por todo su amor y comprensión. A mis amigos, a todos y cada uno de ellos, a los que considero parte de mi familia y sin los cuales nada de esto tendría sentido.

Este trabajo es gracias a todos ustedes.

V

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

11 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

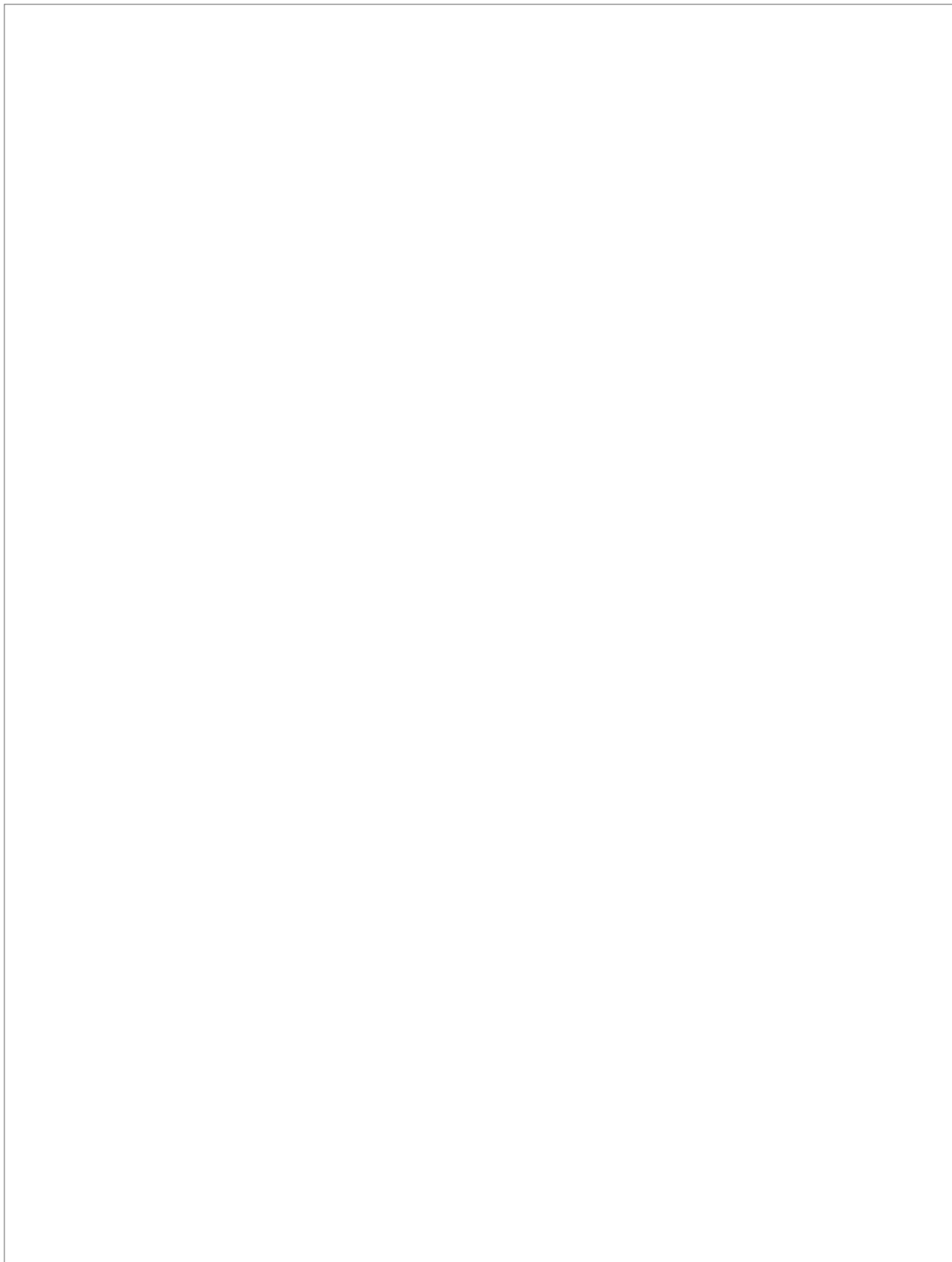
Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

12 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

12 / 228

Índice de contenidos

| | |
|--|----|
| Introducción | 1 |
| I.1. Hipertensión arterial | 3 |
| I.1.1 Definición, epidemiología y factores de riesgo de la HTA | 3 |
| I.1.2 Tratamiento y pronóstico de la HTA | 4 |
| I.1.3 Clasificación de la HTA | 5 |
| I.2 La HTA produce alteraciones en las diferentes estructuras oculares | 7 |
| I.2.1 Patologías oculares relacionadas con la HTA | 8 |
| I.2.1.1 Retinopatía hipertensiva (RH) | 8 |
| I.2.1.2 Coroidopatía hipertensiva (CH) | 9 |
| I.2.1.3 Neuropatía óptica hipertensiva (NOH) | 9 |
| I.2.1.4 Oclusión de la vena central retiniana (OVCR) | 10 |
| I.2.1.5 Oclusión de la arteria central retiniana (OACR) | 10 |
| I.2.1.6 Retinopatía diabética (RD) | 11 |
| I.2.1.7 Glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) | 12 |
| I.2.1.8 Degeneración macular (DM) | 13 |
| I.3 Anatomía e histología del ojo | 15 |
| I.3.1 Cuerpo ciliar y procesos ciliares | 15 |
| I.3.2 Iris | 18 |
| I.3.3 Humor acuoso (HA) | 19 |
| I.3.4 Red trabecular y el plexo acuoso angular | 19 |
| I.3.5 Retina | 22 |
| I.3.6 Nervio óptico | 25 |
| I.4 Fisiología del ojo | 29 |
| I.4.1 Producción y secreción del HA | 29 |
| I.4.2 Drenaje del HA | 32 |

VII

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

13 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

13 / 228

Índice de contenidos

| | |
|--|----|
| I.5 Barrera hemato-retiniana (BHR) | 35 |
| I.5.1 Barrera hemato-retiniana externa | 35 |
| I.5.2 Barrera hemato-retiniana interna | 36 |
| I.6 HTA y envejecimiento | 39 |
| I.7 Modelo experimental: rata espontáneamente hipertensa (SHR) | 41 |
| Planteamiento y objetivos | 43 |
| PO.1 Planteamiento | 45 |
| PO.2 Objetivos | 47 |
| Material y Métodos | 49 |
| M.1 Grupos experimentales | 51 |
| M.2 Preparación del material experimental | 53 |
| M2.1 Fijación de los tejidos oculares | 53 |
| M2.2 Deshidratación, inclusión en parafina y corte en microtomo | 54 |
| M.3 Tinciones histológicas | 55 |
| M.3.1 Tinción con Hematoxilina-Eosina (H-E) | 55 |
| M.3.2 Tinción Klüver-Barrera | 56 |
| M.4 Técnica inmunofluorescencia para Microscopía Confocal de Barrido Láser | 57 |
| M.5 Adquisición de imágenes y cuantificación de la inmunofluorescencia | 61 |
| M.6 Análisis estadístico | 63 |

VIII

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

14 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

14 / 228

Índice de contenidos

| | |
|---|-----------|
| Resultados | 65 |
| R.1 Animales experimentales | 67 |
| R.1.1 Estudio del peso corporal de los animales experimentales | 67 |
| R.1.2 Estudio de la presión arterial en los animales experimentales | 67 |
| R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA | 69 |
| R.2.1 Estudio de la AQP1 y AQP4 en los PC e iris | 69 |
| R.2.1.1 AQP1 en el endotelio de los vasos ciliares | 69 |
| R.2.1.2 AQP1 en los epitelios ciliares | 69 |
| R.2.1.3 AQP1 en los epitelios del iris | 70 |
| R.2.1.4 AQP4 en el ENP de los PC | 70 |
| R.2.1.5 AQP4 en el EPI | 75 |
| R.2.2 Estudio de la Na⁺/K⁺ ATPasa α_1 y Na⁺/K⁺ ATPasa α_2 en los PC ciliares | 75 |
| R.2.2.1 Isoformas α_1 y α_2 de la Na ⁺ /K ⁺ ATPasa en los epitelios ciliares | 75 |
| R.2.3 Estudio de la AQP1 en la red trabecular y en el PAA | 76 |
| R.3 La HTA produce una alteración de la BHRI y de la unidad neurovascular en la retina | 85 |
| R.3.1 Estudio de las proteínas que intervienen en la homeostasis de la retina | 85 |
| R.3.1.1 GLUT1 en el endotelio de la BHRI | 85 |
| R.3.1.2 AQP4 en las células gliales de la retina | 85 |
| R.3.1.3 GFAP en las células gliales de la retina | 86 |
| R.3.1.4 Vimentina en las células gliales de la retina | 90 |
| R.4 La HTA produce cambios en la estructura del nervio óptico | 95 |
| R.4.1 Estudio de la mielinización y de las células gliales | 95 |
| R.4.1.1 Mielina en el nervio óptico | 95 |
| R.4.1.2 GFAP en el nervio óptico | 95 |
| R.4.1.3 AQP4 en el nervio óptico | 96 |

IX

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

15 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

15 / 228

Índice de contenidos

| | |
|--|------------|
| R.5 HTA y procesos de envejecimiento | 101 |
| R5.1 Estudio de RAGE y Klotho en los PC | 101 |
| R5.1.1 RAGE en los PC | 101 |
| R5.1.2 Klotho en los PC | 102 |
| R5.2 Estudio de AGE y RAGE en la retina | 102 |
| R5.2.1 AGE en la retina | 102 |
| R5.2.2 RAGE en la retina | 107 |
| | |
| Discusión | 109 |
| D.1 Introducción | 111 |
| | |
| D.2 El modelo experimental SHR presenta un aumento significativo de la presión arterial y una disminución del peso corporal | 113 |
| | |
| D.3 La HTA produce un aumento de la perfusión de los PC, una alteración de la producción de HA y un incremento de su reabsorción | 115 |
| | |
| D.4 Desarrollo de gliosis en la retina y alteración de la BHRi en respuesta a la elevación de la PA mantenida | 123 |
| | |
| D.5 La HTA y su relación a largo plazo con el desarrollo de glaucoma | 127 |
| | |
| D.6 La HTA produce una desmielinización del nervio óptico y la pérdida de astrogliá acompañada de una desestructuración de los paquetes nerviosos | 131 |
| | |
| D.7 Efecto de la HTA sobre el envejecimiento acelerado y la inflamación de estructuras oculares | 135 |

X

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

16 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

16 / 228

Índice de contenidos

| | |
|-------------------------|-----|
| Conclusiones | 139 |
| Anexos | 143 |
| A.1. Artículo publicado | 145 |
| Bibliografía | 161 |
| Sobre el autor | 196 |

XI

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

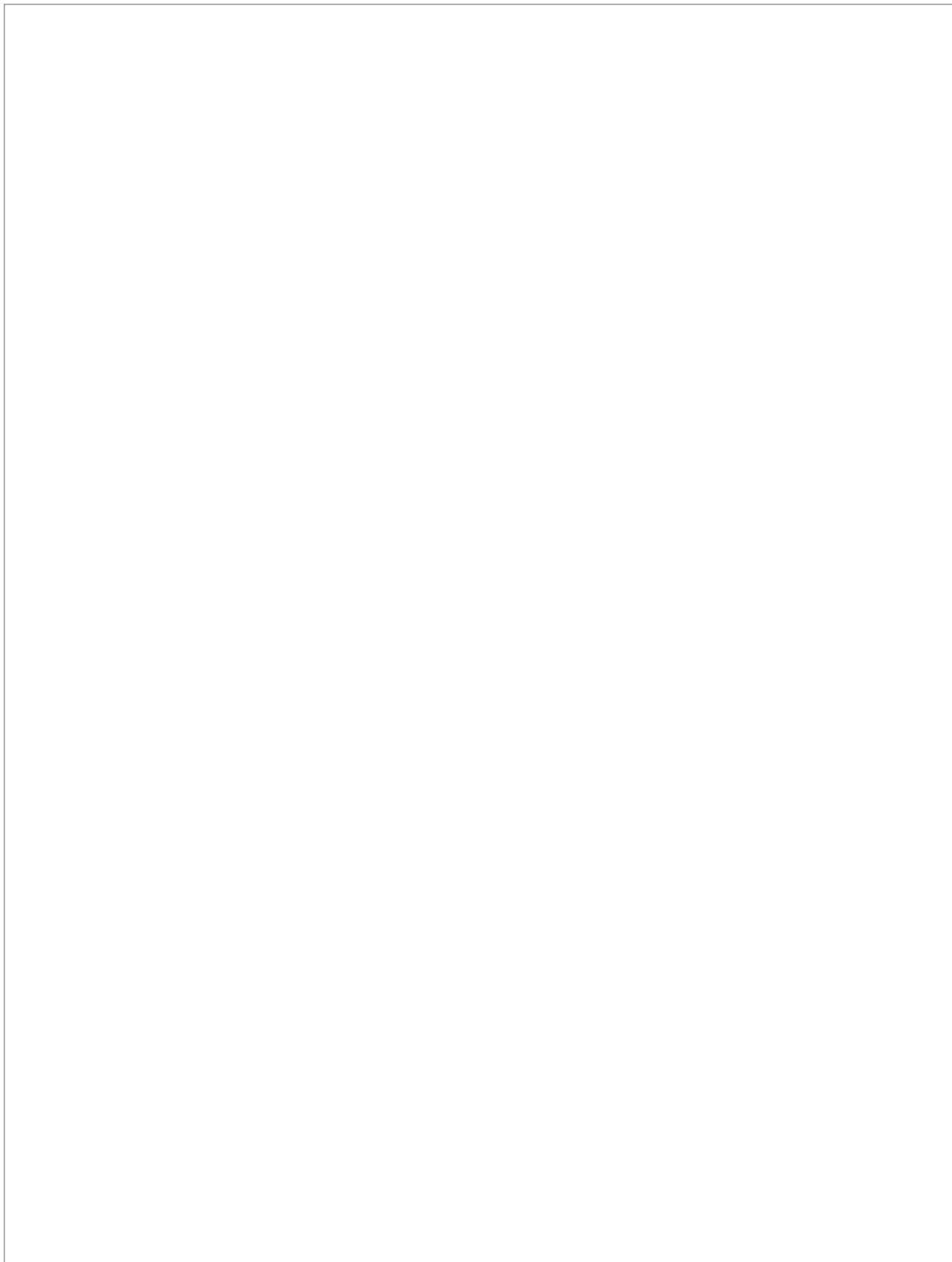
17 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

17 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18 / 228

Índice de tablas

Tablas introducción

| | |
|--|---|
| Tabla I.1. Clasificación de la PA y definiciones del grado de HTA según ESC/ESH | 5 |
|--|---|

Tablas materiales y métodos

| | |
|--|----|
| Tabla M.1 Anticuerpos primarios | 58 |
|--|----|

Tablas de resultados

| | |
|---|-----|
| Tabla R.1 Valores medios de peso corporal, PAD y PAD en ratas WKY y SHR | 68 |
| Tabla R.2 Resumen de resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser para los PC, iris y la red trabecular | 84 |
| Tabla R.3 Resumen de resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser en la retina | 93 |
| Tabla R.4 Resumen resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser en el nervio óptico | 100 |
| Tabla R.5 Resumen de resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser en los PC y la retina | 107 |

XIII

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

19 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

19 / 228

Índice de figuras

Figuras introducción

| | |
|---|----|
| Figura I.3.1 Procesos ciliares e iris, tinción Hematoxilina-Eosina | 15 |
| Figura I.3.2. Representación esquemática del proceso ciliar | 17 |
| Figura I.3.3 Representación esquemática de la red trabecular y el PAA | 21 |
| Figura I.3.4 Capas de la retina, tinción Hematoxilina-Eosina | 22 |
| Figura I.3.5 Representación esquemática de la retina | 24 |
| Figura I.3.6 Nervio Óptico, tinción Hematoxilina-Eosina | 25 |
| Figura I.3.7 Representación esquemática del Nervio óptico | 26 |
| Figura I.4.1 Representación esquemática de la producción de humor acuoso en el epitelio ciliar | 30 |
| Figura I.4.2 Representación esquemática de la reabsorción de Humor Acuoso | 33 |
| Figura I.5.1 Representación esquemática de la BHRi | 36 |

Figuras de resultados

| | |
|--|----|
| Figura R.2.1 AQP1 en vasos ciliares | 71 |
| Figura R.2.2 AQP1 en epitelios ciliares | 72 |
| Figura R.2.3 AQP1 en iris | 73 |
| Figura R.2.4 AQP4 en PC | 74 |
| Figura R.2.5 AQP4 en iris | 77 |
| Figura R.2.6 AQP1-AQP4 en procesos ciliares | 78 |
| Figura R.2.7 Doble marcaje AQP1-AQP4 en iris | 79 |
| Figura R.2.8 Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α_1 en PC | 80 |
| Figura R.2.9 Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α_2 en PC | 81 |
| Figura R.2.10 Doble marcaje Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α_1 - Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α_2 en los PC | 82 |
| Figura R.2.11 AQP1 en red trabecular | 83 |
| Figura R.3.1 GLUT1 en la BHRi | 87 |
| Figura R.3.2 AQP4 en retina | 88 |
| Figura R.3.3 Doble marcaje GLUT1-AQP4 en retina | 89 |

XIV

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

20 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

20 / 228

Índice de figuras

| | |
|---------------------------------------|-----|
| Figura R.3.4 GFAP en retina | 91 |
| Figura R.3.5 Vimentina en retina | 92 |
| Figura R.4.1 Mielina en nervio óptico | 97 |
| Figura R.4.2 GFAP en nervio óptico | 98 |
| Figura R.4.3 AQP4 en nervio óptico | 99 |
| Figura R.5.1 RAGE en PC | 103 |
| Figura R.5.2 Klotho en PC | 104 |
| Figura R.5.3 RAGE en retina | 105 |
| Figura R.5.4 AGE en retina | 106 |

Figuras discusión

| | |
|---|-----|
| Figura.D.3.1 Diagrama esquemático de los PC | 117 |
| Figura D.3.2. Diagrama esquemático del iris | 119 |

XVII

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

21 / 228

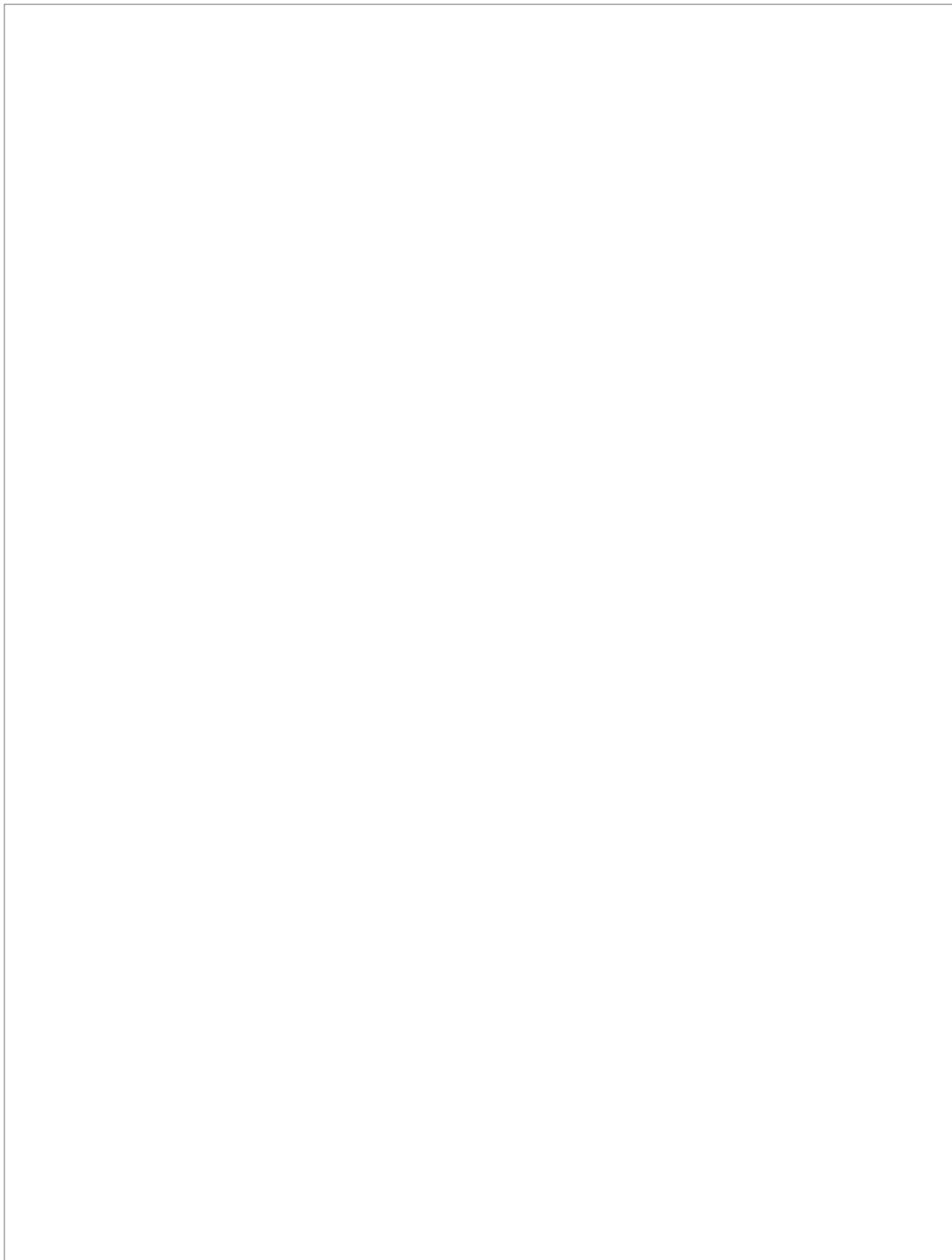
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilar 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

21 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

22 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

22 / 228

Abreviaturas

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23 / 228

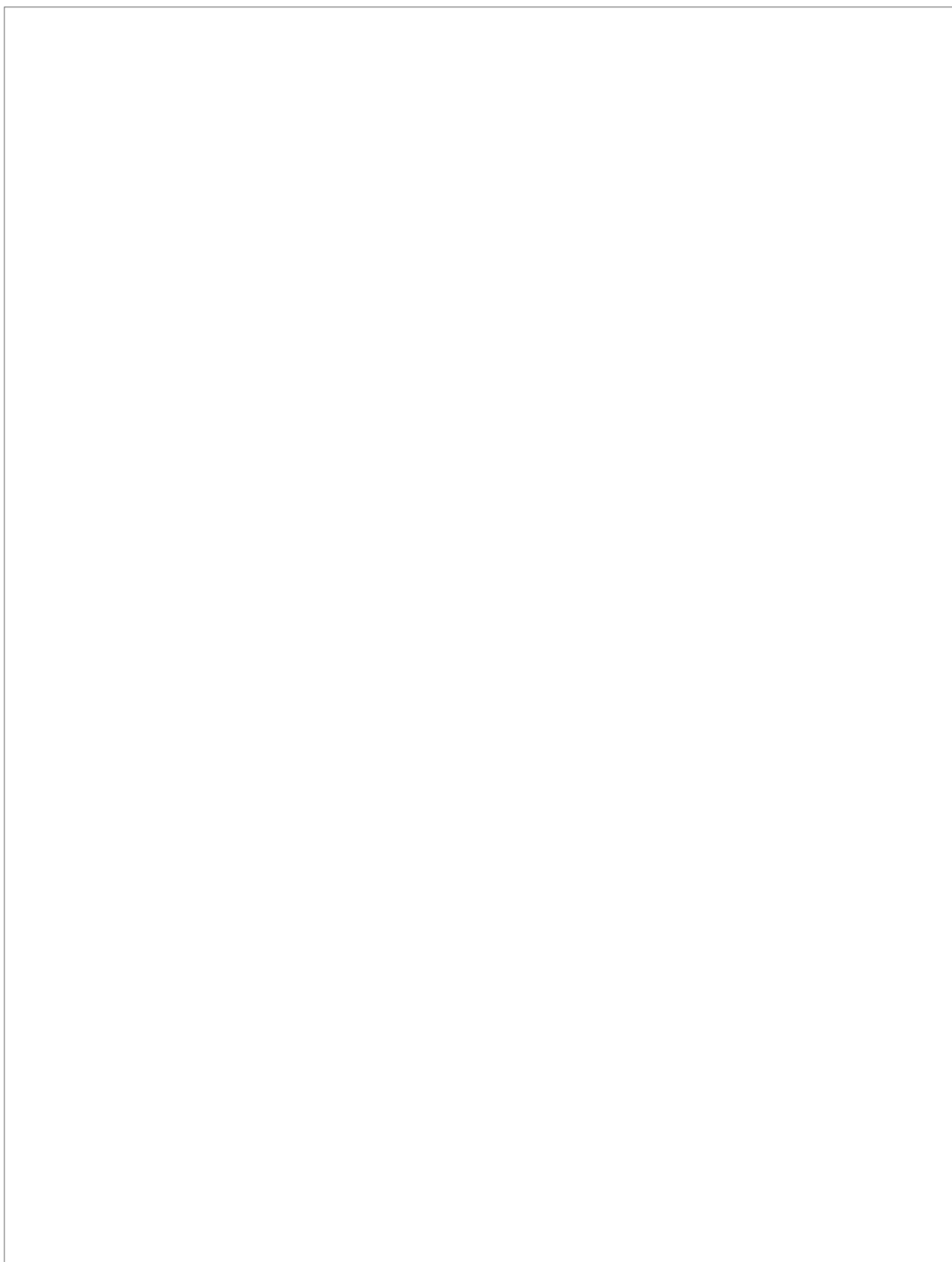
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

24 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

24 / 228

Abreviaturas

| | |
|-------|--|
| HTA: | Hipertensión arterial |
| PA: | Presión arterial |
| OMS: | Organización mundial de la salud |
| PAS: | Presión arterial sistólica |
| PAD: | Presión arterial diastólica |
| RH: | Retinopatía hipertensiva |
| CH: | Coroidopatía hipertensiva |
| NOH: | Neuropatía óptica hipertensiva |
| OVCR: | Oclusión de la vena central retiniana |
| OACR: | Oclusión de la arteria central retiniana |
| GPAA: | Glaucoma primario de ángulo abierto |
| PIO: | Presión intraocular |
| HA: | Humor acuoso |
| DM: | Degeneración macular |
| CC: | Cuerpo ciliar |
| PC: | Procesos ciliares |
| EP: | Epitelio pigmentado |
| ENP: | Epitelio no pigmentado |
| BSHA: | Barrera sangre-humor acuoso |
| BHR: | Barrera hemato-retiniana |
| BHRe: | Barrera hemato-retiniana externa |
| BHRI: | Barrera hemato-retiniana interna |
| EAI: | Epitelio anterior del iris |
| EPI: | Epitelio posterior del iris |
| PAA: | Plexo acuoso anterior |
| CFN: | Capa de Fibras Nerviosas |
| CCG: | Capa de Células Ganglionares |
| CPI: | Capa plexiforme interna |
| CNI: | Capa Nuclear Interna |
| CPE: | Capa Plexiforme Externa |

XIX

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

25 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

25 / 228

Abreviaturas

| | |
|---|---|
| CNE: | Capa Nuclear Externa |
| CFR: | Capa de fotorreceptores |
| AQP: | Acuaporina |
| Na ⁺ /K ⁺ ATPasa: | Bomba sodio potasio |
| AGE: | Productos finales de glicación avanzada |
| RAGE: | Receptor de productos finales de glicación avanzada |
| SHR: | Spontaneously hypertensive rat |
| WKY: | Wistar Kyoto |
| SEGAI: | Servicio general de apoyo a la investigación |
| H-E: | Hematoxilina-Eosina |
| ROI: | Regiones de interés |
| OP: | Objetivos primarios |
| OE: | Objetivos específicos |
| PPO: | Presión de perfusión ocular |
| GFAP: | Proteína ácida fibrilar glial |
| GLUT1: | Transportador de glucosa 1 |

XX

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

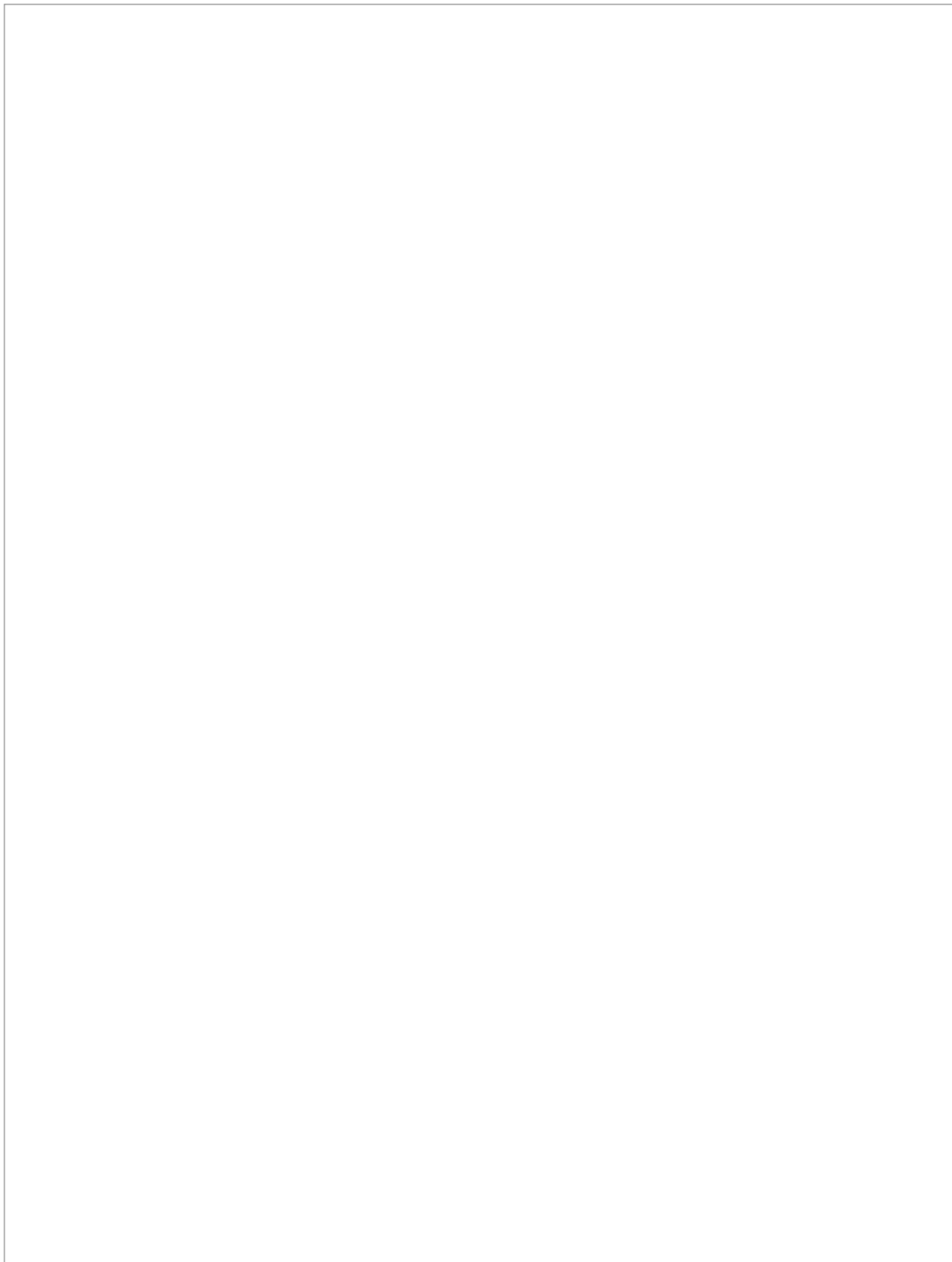
26 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

26 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

27 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

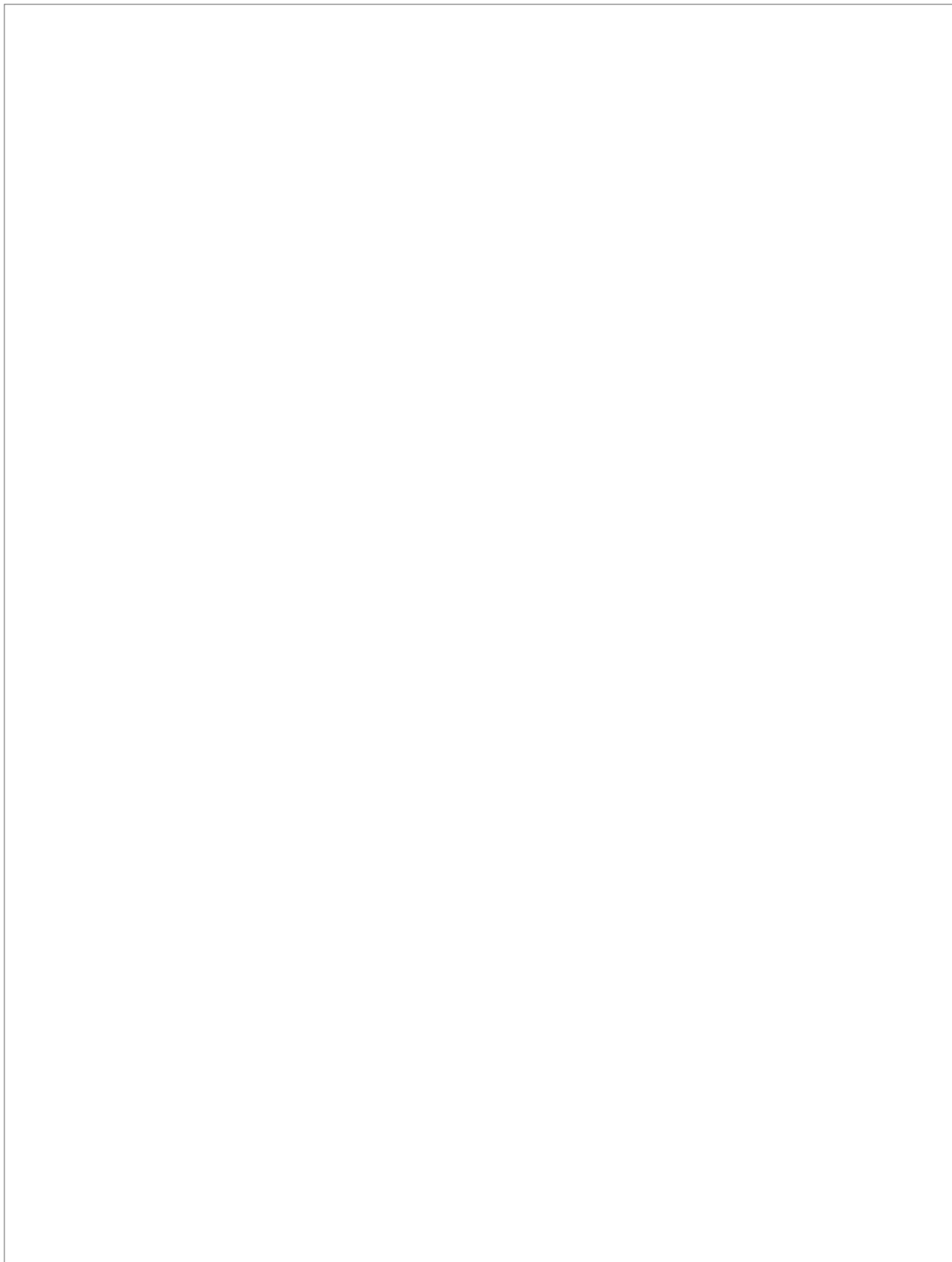
Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28 / 228

Introducción

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

29 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

29 / 228

2

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

30 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

30 / 228

I.1

Introducción

Hipertensión arterial

I.1.1 Definición, epidemiología y factores de riesgo de la HTA

La hipertensión arterial (HTA) se define como el nivel de presión arterial (PA) a partir del cual los beneficios del tratamiento, actuaciones sobre el estilo de vida o el uso fármacos superan a los riesgos del propio tratamiento. La HTA es un importante reto para la salud pública mundial debido a su elevada frecuencia y a los riesgos concomitantes de enfermedad cardiovascular y renal. Se considera que existe HTA cuando se observan valores de la PA sistólica superiores o iguales a 140 mmHg y/o valores de PA diastólica superiores o iguales 90 mmHg.

El número de individuos con HTA aumentó de los aproximadamente 600 millones de personas en 1975 a más de mil millones actuales, sobre todo debido al envejecimiento de la población y al aumento de la prevalencia en los países de ingresos bajos y medios, aunque la elevada prevalencia está presente en todos los estratos socioeconómicos. También existe una tendencia a que la HTA aumente con la edad, dado que la mayoría de la población adopta estilos de vida más sedentarios^{1,2}.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la HTA es considerada un importante riesgo para la salud, constituyendo el primer factor de muerte para la mujer y el segundo para el hombre en países occidentales. Aproximadamente la mitad de las enfermedades cardiovasculares son causadas por la elevación de la PA. La mayor parte de los casos de HTA son idiopáticos, también conocido como HTA esencial. Estimaciones de este organismo sugieren que el número de

3

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

31 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

31 / 228

I.1 Hipertensión arterial

entre 30 y 79 años de los cuales el 46% desconoce que tiene HTA. Así mismo, la HTA se diagnostica y trata a menos de la mitad de los adultos que la presentan y tan solo el 21% de estos la tiene controlada. Se calcula que en 2025 el número de personas con HTA podría elevarse entre un 15 y 20%, alcanzando aproximadamente los 1500 millones de afectados^{3,4}.

Los factores implicados en el desarrollo de la HTA incluyen principalmente factores genéticos, hiperactivación del sistema nervioso simpático, factores renales, disfunciones endoteliales, factores hormonales (alteración del sistema renina-angiotensina-aldosterona), obesidad, apneas obstructivas del sueño, resistencia a la insulina (diabetes), factores étnicos y de género, factores ambientales⁵.

I.1.2 Tratamiento y pronóstico de la HTA

El tratamiento de la HTA se subdivide en farmacológico y no farmacológico. El tratamiento no farmacológico se basa en la recomendación de un estilo de vida saludable para todas las personas con PA por encima de los valores normales, independientemente de la edad, el sexo, las comorbilidades o el estado de riesgo cardiovascular. La educación de los pacientes es primordial para un tratamiento eficaz y debe incluir siempre instrucciones detalladas sobre el control del peso, la restricción de la sal, el control del tabaquismo, el tratamiento adecuado de la apnea obstructiva del sueño y el ejercicio. Para el tratamiento farmacológico existen distintos medicamentos, que varían en su diana terapéutica: inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, antagonistas de los receptores de la angiotensina II, diuréticos, antagonistas del calcio y β -bloqueantes. El tipo de fármaco y la dosis depende de distintos factores como son: la edad, la etnia y las posibles comorbilidades como la disfunción renal, insuficiencia cardíaca o enfermedad cerebrovascular⁶.

El pronóstico del paciente con HTA depende del control de la PA, siendo solo favorable si las presiones sanguíneas se mantienen en unos valores adecuados. De no ser así, las probabilidades de sufrir una enfermedad vascular

4

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

32 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilera 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

32 / 228

Introducción

o un accidente cerebrovascular se duplican respecto a los pacientes que si mantienen los valores bajo control. A pesar de todo, los pacientes que mantienen los valores de PA bajo control, tan sólo conseguirán retrasar el desarrollo y la progresión de secuelas de la patología⁷.

I.1.3 Clasificación de la HTA

La guía de para el manejo de la HTA de la Sociedad Europea de Hipertensión y la Sociedad Europea de Cardiología de 2018 establece unos valores de referencia (tabla I.1). Estos no difieren con respecto a los publicados en versiones anteriores en 2007 y 2013⁶.

| | PAS (mmHg) | | PAD (mmHg) |
|-----------------------|------------|-----|------------|
| Óptimo | < 120 | y | < 80 |
| Normal | 120 -129 | y/o | 80 - 84 |
| Normal alta | 130 - 139 | y/o | 85 - 89 |
| HTA grado 1 | 140 - 159 | y/o | 90 - 99 |
| HTA grado 2 | 160 - 179 | y/o | 100 - 109 |
| HTA grado 3 | ≥ 180 | y/o | ≥ 110 |
| HTA sistólica aislada | ≥ 140 | y | < 90 |

Tabla I.1. Clasificación de la PA y definiciones del grado de HTA según ESC/ESH, 2018. HTA: Hipertensión arterial; PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica. Modificada de Williams et al. (2018)⁶.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

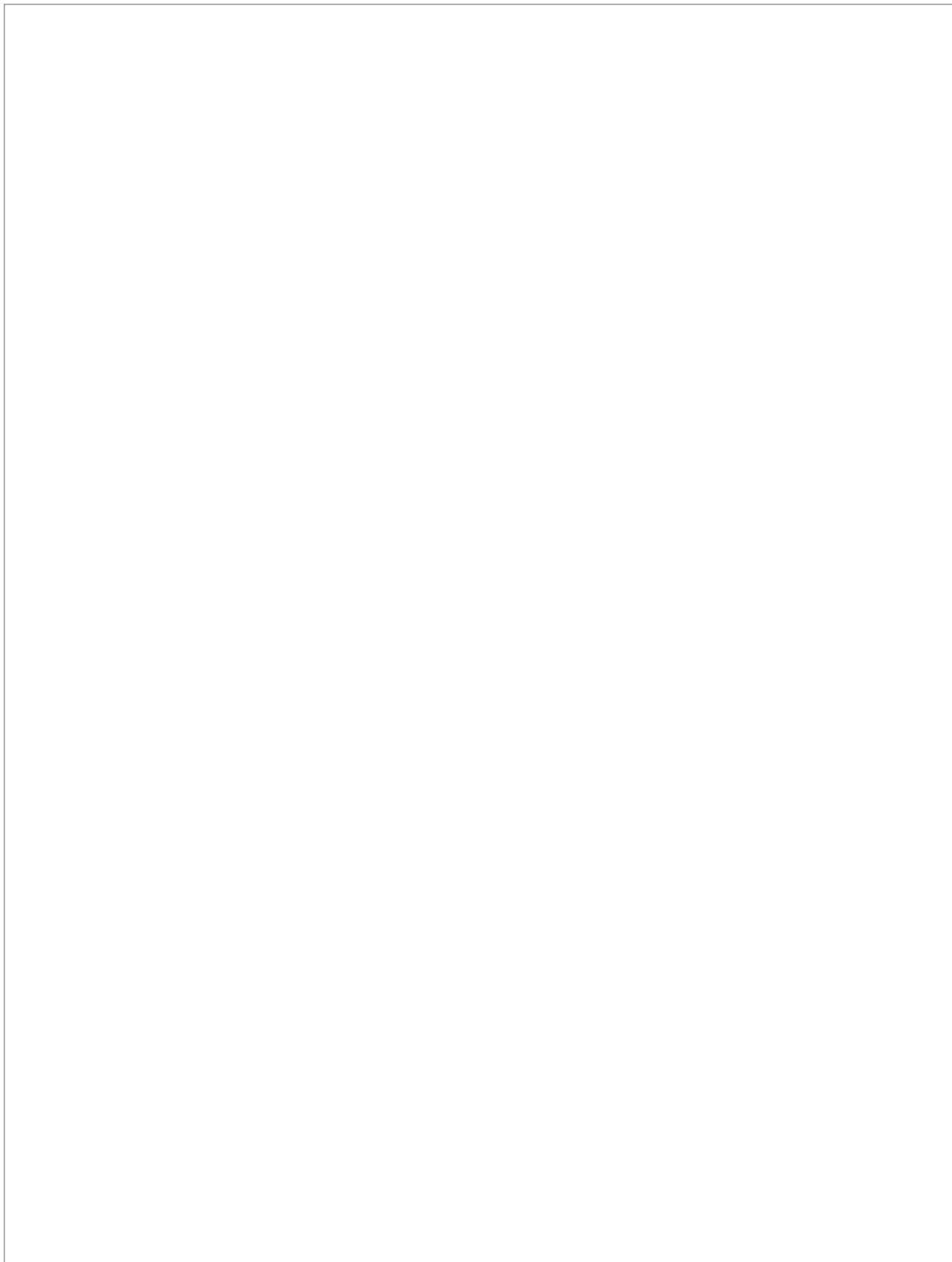
Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

34 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

34 / 228

I.2

Introducción

La HTA produce alteraciones en las diferentes estructuras oculares

La HTA es uno de los factores de riesgo modificables más importantes, relacionado con un gran número de enfermedades de tipo cardiovascular. Un hecho que se considera único e importante, para tener en cuenta en la HTA, es el posible impacto sobre órganos diana. El daño orgánico mediado por la HTA se describe como los cambios estructurales y/o funcionales que son inducidos por la HTA en órganos principales. El corazón, el cerebro, los vasos sanguíneos, el riñón y el ojo son posibles dianas de daño inducido por la HTA, por lo que es importante mantener un control sobre estas estructuras. Por esta razón aparecen continuamente numerosos estudios que evalúan e investigan nuevas terapias farmacológicas que ayuden a su control⁶.

La HTA desencadena una serie de modificaciones fisiopatológicas que afectan significativamente a la circulación sanguínea de la retina, la coroides y el nervio óptico. Los vasos sanguíneos del ojo presentan tanta vulnerabilidad a la PA elevada como el resto de los vasos sanguíneos corporales, siendo éste el único órgano del cuerpo donde es posible observar de manera directa los vasos sanguíneos. Una profunda evaluación del fondo de ojo proporciona mucha información sobre el estado de los vasos sanguíneos en el organismo, aportando información sobre el riesgo cardiovascular de los pacientes hipertensos, existencia de diabetes o de posibles eventos de daño cardiovascular^{8,9,10}. La HTA se relaciona con un menor número de arteriolas y vénulas oculares, con cambios patológicos en los vasos retinianos y con aumento de la resistencia al flujo sanguíneo y una reducción de la perfusión^{11,12}.

7

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

35 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

35 / 228

I.2 La HTA produce alteraciones en las diferentes estructuras oculares

I.2.1 Patologías oculares relacionadas con la HTA

La HTA se correlaciona en una mayor o menor medida con una serie de patologías oculares. Así la HTA se relaciona directamente con una serie de cambios fisiopatológicos en la circulación retiniana, coroidea y del nervio óptico que motivan una serie de signos clínicos como son la retinopatía hipertensiva (RH), la coroidopatía hipertensiva (CH) y la neuropatía óptica hipertensiva (NOH). Se considera además que la HTA es un factor de riesgo importante para el desarrollo de enfermedades vasculares oculares con un alto potencial para causar ceguera como son la oclusión de la vena central retiniana (OVCR), la oclusión de la arteria central retiniana (OACR) y la retinopatía diabética (RD). Finalmente, existen datos contradictorios sobre la relación de la HTA y patologías oculares no vasculares como el glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) y la degeneración macular (DM)⁸. A continuación, se describen las principales patologías oculares relacionadas con la HTA.

I.2.1.1 Retinopatía hipertensiva (RH)

La RH es una patología ocular causada por cambios en la microvasculatura debido al aumento de la PAS, aunque existen otros factores que pueden afectar a la aparición y avance de la retinopatía como tabaquismo, disfunción renal, altos niveles de leptina plasmáticos y factores genéticos^{13, 14, 15}.

La fisiopatología de la RH puede explicarse en varias fases. En una primera fase se produce un vasoespasmo arterial y un aumento del tono vasomotor, dando lugar a un estrechamiento de las arterias retinianas generalizado. En una siguiente fase, si se mantiene una PA elevada se producen cambios arterioescleróticos crónicos (engrosamiento de la íntima, hiperplasia de la pared, etc.). En fases avanzadas, con PA aún más elevadas se produce un daño en la barrera hemato-retiniana (BHR) provocando hemorragias, exudados lipídicos e isquemia de las fibras nerviosas. Con HTA grave se produce daño en el nervio óptico que se presenta como papiledema. Además, la HTA provoca inflamación, disfunción endotelial y angiogénesis en el tejido retiniano¹⁶.

8

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

36 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

36 / 228

Introducción

Los médicos de atención primaria han de trabajar junto con los oftalmólogos para un correcto control de los daños retinianos en pacientes hipertensos. Los avances en la obtención de imágenes de alta calidad de la retina permiten cuantificar y controlar la RH, mediante la medición de la anchura de los vasos de la retina^{17,18}.

I.2.1.2 Coroidopatía hipertensiva (CH)

Las lesiones de la coroides asociadas a la HTA son menos evidentes que las retinianas y suelen aparecer tiempo después de los cambios en el lecho vascular retiniano, pero tienen implicaciones importantes en la pérdida visual. La HTA compromete la autorregulación de los vasos coroideos dando lugar a una isquemia coroidea que finalmente provoca un desprendimiento de retina y una necrosis del epitelio pigmentario de la retina¹⁹.

La CH es reconocible mediante dos signos clínicos: las manchas de Elschnig, que son cambios en el epitelio pigmentario de la retina, de las zonas no perfundidas de la coriocapilar y las estrías de Siegrist, estrías lineales hiperpigmentadas sobre las arterias coroideas. Los pacientes con CH deben recibir tratamiento antihipertensivo agresivo lo antes posible, lo cual permite reducir los daños en el epitelio pigmentario de la retina y mejorar el pronóstico^{20, 21}.

I.2.1.3 Neuropatía óptica hipertensiva (NOH)

La NOH se relaciona principalmente con la HTA maligna. Esta patología suele presentarse de forma tardía, provocando una inflamación del nervio óptico reconocible por la presencia de papiledema. De hecho, la presencia de un edema en el disco óptico junto con desenfoque de los márgenes de la cabeza del nervio es un signo muy común en esta patología. La etiología es fuente de debate, entre quienes piensan que se debe a un aumento de la presión intracraneal y los que se debe a la isquemia del nervio. Se ha demostrado que el

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.2 La HTA produce alteraciones en las diferentes estructuras oculares

avance de la patología se puede controlar mediante la regulación de la presión arterial²¹.

I.2.1.4 Oclusión de la vena central retiniana (OVCR)

La OVCR es una de las principales causas de ceguera, siendo más común en personas a partir de los sesenta años. Desde que fue descrita se han hallado numerosas causas para la aparición de la patología. La HTA es un importante factor, aunque también se incluye la edad, la presencia de retinopatía diabética o la hipercoagulabilidad²².

La fisiopatología de la OVCR puede tener varios mecanismos. El mecanismo que se relaciona con la HTA se basa en la arterioesclerosis de la arteria retiniana que responde con un engrosamiento de la pared arterial. Este engrosamiento puede comprimir la vena de la retina en un punto en el que se cruzan, dando lugar a un flujo sanguíneo turbulento y a la posible formación de trombos²². Esta patología se caracteriza por la dilatación y tortuosidad de las venas de la retina, la presencia de hemorragias retinianas, manchas de "algodón" y edema de la mácula y el disco óptico⁸.

Los dos enfoques para el tratamiento son el tratamiento farmacológico, orientado a la prevención de las complicaciones que causan la pérdida de visión, así como el tratamiento de dichas complicaciones, principalmente el edema macular y la neovascularización, y la intervención quirúrgica^{23,24}.

I.2.1.5 Oclusión de la arteria central retiniana (OACR)

La OACR se define como la obstrucción repentina de la arteria central de la retina que cursa con una pérdida de visión monocular repentina e indolora que ocurre en segundos²⁵. La incidencia de la OACR es de aproximadamente 1 por cada 100000 personas. Los factores de riesgo son la HTA junto al tabaquismo, la hiperlipidemia, la diabetes y coagulopatías. La causa más común

10

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

38 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

38 / 228

Introducción

de la oclusión es la aparición de un embolo que puede estar formado por colesterol, calcio o plaqueta-fibrina²⁶.

La OACR provoca una hipoperfusión retiniana que da lugar a un daño celular que progresa rápidamente debido a la isquemia producida. Se produce una rápida pérdida de visión que, si no se corrige, conlleva la necrosis del tejido retiniano²⁵.

No existe consenso sobre el tratamiento óptimo para la OACR, aunque la administración temprana de fármacos trombolíticos intravenosos parece tener efectos positivos. Todas las terapias aplicadas van en la dirección de reestablecer la perfusión y la oxigenación^{27,28}.

I.2.1.6 Retinopatía diabética (RD)

La RD es un trastorno microvascular a causa de la diabetes a largo plazo, provocando daños en la retina que acaban provocando ceguera. Se describe como una microangiopatía asociada a cambios vasculares (cierre focal de los capilares, dilatación de las vénulas, hialinización de las arteriolas y cambios capilares como el engrosamiento de la membrana basal, degeneración de los pericitos), cuyos signos aparecen al examinar el fondo de ojo como microaneurismas, hemorragias, exudados duros, anomalías microvasculares retinianas, y neovascularización^{29,30}.

La RD tiene como principal factor causal la presencia de diabetes a largo plazo, siendo la HTA uno de los factores de riesgo principales³¹. Durante los 5 primeros años tras la aparición de la diabetes el riesgo de sufrir retinopatía diabética es muy bajo. Sin embargo, tras los 5 primeros años la probabilidad aumenta rápidamente, llegando hasta el 98% tras más de 15 años tras el comienzo de la diabetes³².

Según el grupo de estudio del tratamiento temprano de la RD la patología se clasifica según los daños producidos en la retina: no proliferativa,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.2 La HTA produce alteraciones en las diferentes estructuras oculares

proliferativa, enfermedad ocular diabética avanzada y finalmente, el estadio más avanzado, edema macular diabético³³. Varios estudios indican que el control de la tensión arterial juega un papel fundamental en el tratamiento de la retinopatía diabética^{34,35}.

I.2.1.7 Glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA)

El glaucoma engloba a un conjunto de enfermedades en las que el aumento de la presión intraocular (PIO) provoca un daño en el nervio óptico y, a largo plazo, en el campo visual. Se caracteriza por una pérdida adquirida de células ganglionares de la retina, así como de los axones del nervio óptico, seguida de una pérdida progresiva de la visión periférica. Existen cuatro categorías generales de glaucoma en adultos: GPAA y de ángulo cerrado, y glaucoma secundario de ángulo abierto y de ángulo cerrado^{36,37}.

El GPAA es considerado una neuropatía óptica crónica, de instauración progresiva y que causa un daño irreversible en el nervio óptico. Se caracteriza por presentar un ángulo abierto de la cámara anterior, cambios en la cabeza del nervio óptico y pérdida progresiva de la visión periférica que termina en ceguera. El GPAA se identifica por presentar un ángulo abierto en la cámara anterior ocular y un aumento de la resistencia al drenaje del humor acuoso (HA) a través de la red trabecular, lo que aumenta la PIO, desatando el daño en el nervio óptico. El glaucoma afecta a más de 70 millones de personas en todo el mundo y es considerada como la segunda causa de ceguera en todo el planeta. De todos los casos de glaucoma más del 70% son casos de glaucoma de ángulo abierto, presentando aproximadamente el 10% de los pacientes ceguera bilateral³⁸.

La relación de la HTA con la aparición y desarrollo de la patología es contradictoria. Se asocia con cambios en la PIO. Así mismos cambios en la presión del líquido cefalorraquídeo en el entorno del nervio óptico también se incluye como factor de riesgo^{39,40}. Los daños principales que se asocian al GPAA son la muerte de las células ganglionares de la retina, cambios en la estructura

12

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

40 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

40 / 228

Introducción

de la lámina cribosa escleral (adelgazamiento) y en el flujo del HA (disfunción en la producción y drenaje del HA)^{41,42}.

El objetivo del tratamiento es evitar la progresión de los cambios en la cabeza del nervio óptico para lograr mantener la PIO dentro de un límite seguro por debajo del cual se estima que el campo visual y los parámetros de la cabeza del nervio óptico no se deteriorarán. Los tratamientos actuales están orientados a disminuir la PIO mediante medicamentos y cirugía⁴³.

I.2.1.8 Degeneración macular (DM)

La DM es considerada la causa más frecuente de ceguera en los países desarrollados, sobre todo en personas que superan los 60 años. Se identifica como afectación de la fovea, dando lugar a pérdida de visión central. Se calcula que esta patología afectará a unos 196 millones de personas en 2020 y a 288 millones en 2040⁴⁴. Se han identificado varios factores de riesgo que son clasificados en sociodemográficos, de estilo de vida, cardiovasculares, hormonales y reproductivos, inflamatorios, genéticos y oculares. Algunos estudios han encontrado una relación de leve a moderada entre la presión arterial elevada y la degeneración macular^{45,46}.

Se han implicado varias vías biológicas en la patogénesis de la DM asociada a la edad. Entre ellas se encuentran la senescencia, la isquemia coroidea y el daño oxidativo. Las estructuras dañadas son las células fotorreceptoras de la retina externa, el epitelio pigmentario de la retina, la membrana de Bruch y el lecho capilar de la coroides interna^{47,48}.

Atendiendo a la historia natural de la enfermedad podemos clasificarla en dos formas clínicas: degeneración macular seca o no neovascular y degeneración macular húmeda o neovascular. La forma seca se da en los estadios iniciales e intermedios y se produce una pérdida de visión gradual. La forma húmeda se da una atrofia geográfica (despigmentación del epitelio pigmentario de la retina) que al afectar a la mácula conlleva una pérdida

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.2 La HTA produce alteraciones en las diferentes estructuras oculares

importante de la visión. El tratamiento depende del estado de la enfermedad, en estadios tempranos no es necesario un tratamiento, solo llevar un control por parte del especialista. En estados intermedios se pauta un suplemento dietético (vitaminas y minerales). En fases avanzadas se utilizan la fotocoagulación y terapia antiangiogénica⁴⁹.

14

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

42 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

42 / 228

I.3

Introducción

Anatomía e histología del ojo

I.3.1 Cuerpo ciliar y procesos ciliares

El cuerpo ciliar (CC) está situado en la periferia de la copa óptica, en la pared interna del globo ocular, posterior al iris. Está formado los procesos ciliares, el epitelio ciliar, el estroma, el músculo ciliar y por una intrincada red de vasos sanguíneos. La función del CC es secretar HA y otras moléculas hacia la cámara posterior, además de controlar la acomodación del cristalino a través de las contracciones del músculo ciliar⁵⁰.

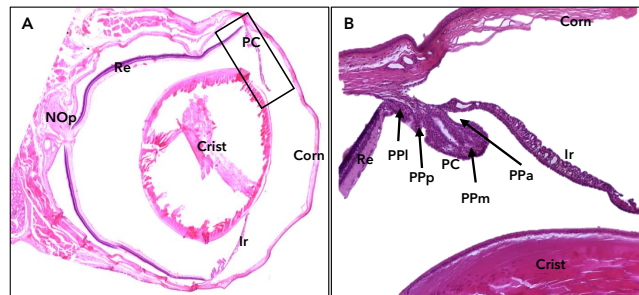


Figura I.3.1. Procesos ciliares e iris, tinción Hematoxilina-Eosina. **A.** Imagen panorámica de microscopía óptica de un corte longitudinal de ojo de rata con tinción de Hematoxilina-Eosina donde se observa la retina, el nervio óptico, procesos ciliares, iris, cornea y cristalino. El recuadro señala la parte ampliada. **B.** Imagen ampliada de los procesos ciliares e iris con un objetivo 20x con la misma tinción. Re: Retina; PC: Procesos ciliares; Ir: Iris; NOp: Nervio óptico; Crist: cristalino; Corn: Cornea; PPI: Pars plana; PPp: Pars plicata posterior; PPm: Pars plicata media; PPa: Pars plicata anterior.

El CC se divide en dos porciones: una porción anterior llamada pars plicata y una posterior llamada pars plana (Fig. I.3.1). La pars plicata presenta una

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilera 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.3 Anatomía e histología del ojo

serie de proyecciones llamadas procesos ciliares (PC), encargados de la producción de HA. La pars plana es la parte plana del CC, que se extiende hacia posterior y termina en la ora serrata⁵¹.

El estroma, conformado por tejido conectivo y contiene a los vasos sanguíneos y el músculo ciliar. Los vasos sanguíneos del CC, conocidos como vasos ciliares, se sitúan en el estroma formando una densa red de capilares que provienen del círculo arterial mayor del iris. Estos capilares están ampliamente fenestrados, de forma que se facilita el paso de elementos plasmáticos al estroma⁵². El músculo liso del CC, que se divide en tres grupos de fibras musculares: longitudinales externas, que se une en su zona anterior al espólón escleral y a las fibras de la malla trabecular, una oblicua media y otra circular interna. La contracción del músculo ciliar, vía estímulo parasimpático, da como resultado la acomodación, que disminuye la tensión zonular sobre el cristalino. Esto permite que el cristalino se desplace hacia delante y adopte una forma más esférica, aumentando el poder dióptrico del ojo⁵³.

El epitelio ciliar, que cubre toda la superficie del CC, constituido por una doble capa de células, el epitelio pigmentado (EP) y el epitelio no pigmentado (ENP) (Fig. I.3.2). El EP es la capa de células más externa y representa la continuación anterior del epitelio pigmentario de la retina. Este epitelio está formado por células planas con gran cantidad de gránulos de pigmento. La parte basal del epitelio está orientado hacia el estroma, permitiendo la captación de solutos de plasma sanguíneo, mientras el ápice de la célula está en contacto con el ENP⁵⁴. El ENP es la capa más interna, continuación anterior de la capa neural de la retina, formada por células de forma cilíndrica. Este epitelio se encuentra invertido, de forma que el ápice se encuentra en contacto con el ápice de las células del EP, su base está orientada hacia la cámara posterior, en contacto con el HA. Este epitelio expresa uniones de tipo estrecho, de forma que impiden el paso de sustancias a través de él. En comparación con las células del EP, las células ENP posee una mayor concentración de mitocondrias y de retículo endoplásmico rugoso en su citoplasma⁵⁵.

16

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

44 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

44 / 228

Introducción

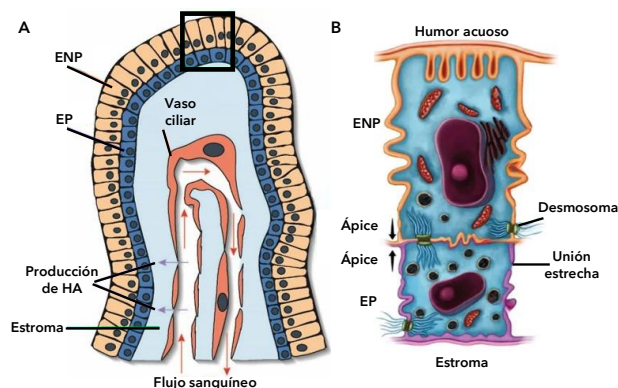


Figura I.3.2. Representación esquemática del proceso ciliar. **A.** Representación del proceso ciliar. El recuadro señala el epitelio ciliar ampliada. **B.** Imagen ampliada del epitelio ciliar. EP: Epitelio pigmentado; ENP: Epitelio no pigmentado. Adaptado de Toris (2015)⁵⁶, Toris et al. (2019)⁵⁷.

En el epitelio ciliar encontramos distintos tipos de uniones entre células que permiten tanto la comunicación entre ellas como formar una barrera entre la sangre y el HA. Estas uniones son de tipo permeables (desmosomas y tipo GAP) y estrechas (tight). Los desmosomas se localizan entre las células pigmentarias. Las uniones comunicantes (GAP junctions) que se sitúan entre las células pigmentarias y las no pigmentarias. Los canales de unión tipo gap pueden mediar en la comunicación intercelular directa. Cada canal está compuesto por seis conexinas dispuestas radialmente alrededor de un polo central formando un poro por el que se produce la comunicación directa intercelular. Las uniones gap se encuentran conectando tanto células del mismo epitelio (pigmentadas con pigmentadas y no pigmentadas con no pigmentadas) como las células de los distintos epitelios favoreciendo la comunicación entre ellas y facilitando su funcionamiento como un sincitio⁵⁵. Las uniones estrechas

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilera 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.3 Anatomía e histología del ojo

(tight junctions), se localizan entre las células del ENP y están formadas por estructuras proteicas. Estas uniones estrechas se localizan cerca de la zona apical de las células no pigmentadas, constituyendo una barrera, conocido como barrera sangre-humor acuoso (BSHA)^{55,59}.

I.3.2 Iris

El iris está situado delante del cristalino y se localiza entre la cámara anterior y la cámara posterior. Su abertura central denominada pupila es la encargada de controlar la cantidad de luz que llega a la retina mediante cambios en su diámetro. Las funciones de esta estructura incluyen la formación del diafragma para permitir la entrada de luz sólo a través de la pupila, ajustar la profundidad de enfoque y la percepción de la profundidad, reducir la aberración lumínica, y absorber y reflejar el espectro de luz entrante gracias a la melanina⁵⁹.

Histológicamente, el iris está formado por tres capas: una capa anterior, compuesta por fibroblastos, melanocitos y colágeno, siendo su superficie muy plegada. Una capa estromal, intermedia, constituye la mayor parte del iris y contiene vasos sanguíneos, nervios, melanocitos, que dan su color al iris, y células agrupadas en una matriz extracelular suelta de colágeno y mucopolisacáridos. En la parte más posterior de esta capa encontramos el músculo esfínter, formando una banda circular de fibras musculares lisas, en la parte más distal, la zona o borde pupilar pupilar. Una capa posterior, formada por el músculo dilatador y el epitelio pigmentario. El músculo dilatador de la pupila se extiende desde la región del músculo del esfínter hasta la base del iris, límite del CC. A diferencia de la superficie anterior, el epitelio posterior es uniforme, y se encuentra formado por dos capas de células pigmentadas, el epitelio anterior del iris (EAI) y el epitelio posterior del iris (EPI). El EAI tiene dos características morfológicas completamente diferentes: una porción epitelial apical, y una porción muscular basal. El EPI es la capa es la más posterior del iris y tiene un contenido pigmentario muy denso^{59,60}. La irrigación de esta estructura depende del círculo arterial mayor, que envía ramas y forman el círculo menor incompleto que irriga las distintas partes del iris⁵⁹.

18

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

46 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

46 / 228

Introducción

I.3.3 Humor acuoso (HA)

El HA es un líquido transparente contenido en las cámaras anterior y posterior del ojo y producido por el epitelio ciliar del CC⁶¹. La función principal del HA es nutrir y oxigenar la córnea avascular, el cristalino, el vítreo anterior y también la malla trabecular. Además de suministrar nutrientes y oxígeno, también elimina los desechos metabólicos de los tejidos avasculares mediante su drenaje continuo hacia la sangre venosa. A través de la presión hidrostática generada entre la producción y el drenaje se establece la PIO, que hincha el ojo para mantener la correcta alineación de las estructuras ópticas⁶².

El HA tiene una composición única, no se trata de un simple filtrado, sino de un fluido cuya secreción está controlada homeostáticamente que difiere del plasma en varios aspectos importantes. Su composición incluye iones (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^-), sustancias de bajo peso molecular (glucosa, ascorbato, lactato, piruvato, urea, H_2O_2 , aminoácidos, etc.), sustancias de alto peso molecular, como las proteínas, lípidos, sustancias biológicamente activas (catecolaminas, eicosanoides, hormonas, etc.), así como algunas sustancias diversas como el ácido hialurónico, la hialuronidasa, etc. Estos componentes proceden de varias fuentes, siendo las principales el plasma y el epitelio ciliado, aunque también recibe sustancias específicas secretadas por los tejidos circundantes (endotelio corneal, cristalino, malla trabecular, iris y vítreo). Al mismo tiempo, estos tejidos utilizan los nutrientes presentes en el HA, por ejemplo, la principal fuente de glucosa para la córnea y el cristalino es el HA. Por lo tanto, la composición del HA depende de la naturaleza del fluido secretado por el epitelio ciliar y del posterior intercambio pasivo y activo entre los tejidos adyacentes^{62, 63}.

I.3.4 Red trabecular y el plexo acuoso angular

La red trabecular es una estructura en forma de tamiz que actúa como filtro entre la cámara anterior y el plexo acuoso angular (PAA), formado por un canal circular que recoge el HA y lo evacúa a la circulación sanguínea.

19

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

47 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

47 / 228

I.3 Anatomía e histología del ojo

Funcionalmente se pueden distinguir dos partes diferentes: la red trabecular anterior que no se comunica con el PAA, y por lo tanto se considera no filtrante, y la red trabecular posterior o filtrante, que está en contacto con el PAA⁶⁴. La red trabecular anterior es una zona de transición entre la línea de Schwalbe, considerada el límite de la córnea, y la red trabecular posterior. Está formada por una serie de láminas de células trabeculares. La red trabecular posterior representa el filtro trabecular estrictamente hablando. Consta de tres regiones anatómicamente diferenciadas, siendo de interior a exterior: la red uveal, la red corneoescleral y la red yuxtacanalicular, cuya capa situada más externamente está en comunicación con el PAA^{65, 66}. La red uveal está en contacto directo con el HA en contenido en la cámara anterior. Su organización estructural se basa en finos cordones de fibras de colágeno y elastina entrelazados rodeadas por células trabeculares, que se extienden desde la raíz del iris y el CC hasta la línea de Schwalbe. Esta estructura crea una serie de espacios que permiten el movimiento de HA hacia su drenaje⁶⁷. La red corneoescleral, que representa la mayor parte de la red trabecular, está formada por una superposición de láminas formadas por fibras de colágeno y elastina cubiertas por una capa única capa de células trabeculares. Esta estructura se encuentra atravesada por una serie de orificios que se extienden hasta la red yuxtacanalicular estrechándose a medida que se acercan a ella⁶⁷. La red yuxtacanalicular, es la porción más externa de la red trabecular filtrante posterior. Su histología difiere de las dos porciones anteriores ya que está formada por tejido conectivo libre, no estratificado y por una serie de capas de células trabeculares dispersas en la matriz extracelular y dispuestas en red⁶⁷. La porosidad de la red trabecular posterior disminuye del interior hacia el exterior, pero en condiciones fisiológicas, la malla uveal y corneoescleral no ofrece resistencia al flujo acuoso⁶⁸ (Fig. I.3.3).

20

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

48 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

48 / 228

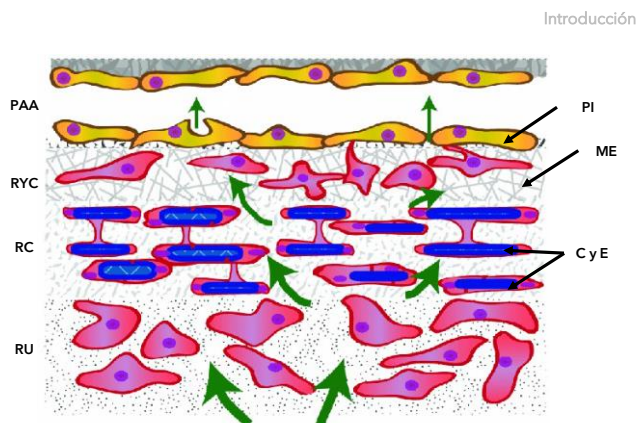


Figura I.3.3. Representación esquemática de la red trabecular y el PAA. RU: Red uveoescleral; RC: Red corneoescleral; RYC: Red yuxtacanalicular; PAA: Plexo acuosos angular; PI: Pared interna del plexo acuosos angular; ME: Matriz extracelular; CyE: Fibras de colágeno y elastina. Las flechas verdes indican el flujo de agua a través de la red trabecular. Adaptado de Buffault et al (2020)⁶⁷.

La porción situada más externamente se corresponde con el endotelio de la pared interna del PAA, formado por una capa continua de células endoteliales unidas entre ellas por uniones estrechas, separando el espacio de la red trabecular del sistema colector. El PAA es el complejo patrón de vasos que dirigen el flujo de HA hasta el entramado intraescleral y es considerado el análogo al canal de Schlemm en mamíferos no primates en lo referido a su similitud anatómica y funcional. Está formado por varios canales que tienen diferentes diámetros y direcciones y se encuentran en diferentes capas en la esclerótica interna constituyendo la primera dilatación distal tras la red yuxtacanalicular y la pared interna. Los canales finos internos están revestidos por células endoteliales. Los múltiples canales tangenciales que forman el PAA se unen luego en canales colectores perpendiculares y radiales. Los canales colectores radiales más grandes se dirigen a la esclerótica externa y se anastomosan con las venas ciliares anteriores o con las venas episclerales para terminar drenando en la órbita a través de la vena oftálmica o en las venas vorticosas⁷⁰.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.3 Anatomía e histología del ojo

I.3.5 Retina

La retina es una lámina delgada de tejido neural que se extiende desde la papila óptica situada en la parte más posterior de la túnica interna, hasta el extremo anterior, formado por la ora serrata, que limita con el CC (Fig. I.3.4). Embriológicamente, el epitelio de la retina se continúa hacia anterior más allá de la ora serrata como un doble epitelio que recubre el CC y el iris. La función de la retina es captar la energía luminosa que entra al interior del ojo y transformarla en señales eléctricas que se envían a través de los axones de las células ganglionares, que forman el nervio óptico, al cerebro⁷¹.

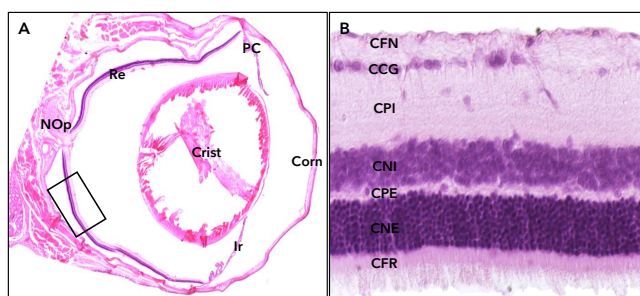


Figura I.3.4. Capas de la retina, tinción Hematoxilina-Eosina. **A.** Imagen panorámica de microscopía óptica de un corte longitudinal de ojo de rata con tinción de hematoxilina-eosina donde se observa la retina, el nervio óptico, procesos ciliares, iris, cornea y cristalino. El recuadro señala la parte ampliada. **B.** Imagen ampliada de la retina con un objetivo 40x con la misma tinción. Re: Retina; PC: Procesos ciliares; Ir: Iris; NOp: Nervio óptico; Crist: cristalino; Corn: Cornea; CFN: Capa de Fibras Nerviosas; CCG: Capa de Células Ganglionares, CPI: Capa plexiforme interna, CNI: Capa Nuclear Interna; CPE: Capa Plexiforme Externa; CNE: Capa Nuclear Externa; CFR: Capa de fotorreceptores.

La retina presenta distintos tipos de células que permiten la correcta transmisión y funcionamiento de esta estructura. Los fotorreceptores (bastones y conos), son las células encargadas de detectar la luz. Los bastones son muy sensibles a la luz y por ello, responsables de la visión en condiciones de baja luminosidad. Los conos, en cambio, no son muy sensibles a la luz, pero son

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Introducción

específicos para una determinada longitud de onda de la luz, por ello son responsables de la visión del color de alta agudeza. Las células bipolares, son las encargadas de transmitir el impulso nervioso desde los fotorreceptores hasta las células ganglionares, usando como neurotransmisor el glutamato. Las células ganglionares de la retina, encargadas de transmitir el estímulo inicial, a través de sus axones, que acaban formando el nervio óptico, hasta los centros cerebrales superiores. Las células amacrinas, son las encargadas de modular la excitación de las células ganglionares de la retina mediante el contacto con las dendritas de las células ganglionares, utilizando los neurotransmisores GABA y glicina. Las células horizontales, que modulan la comunicación entre los fotorreceptores y las células bipolares. Las células de Müller, de origen glial y son esenciales para el correcto funcionamiento de la retina. Las células de Müller están en contacto con casi todos los tipos de células de la retina, abarcando todo el ancho de la retina y su función permite el correcto funcionamiento de la retina, retirando elementos de desecho y regulando la homeostasis de los nutrientes en la retina⁷².

La retina se subdivide en diez capas distintas descritas a continuación de más interna a externa: la membrana limitante interna (MLI) es la capa más interna de la retina en contacto con el humor vítreo, esta membrana está formada por células gliales de Müller. La capa de fibras nerviosas (CFN), compuesta por los axones de las células ganglionares. También encontramos en esta capa astrocitos y células de Müller. La capa de células ganglionares (CCG), formada por los somas de dichas células. La capa plexiforme interna (CPI), donde se encuentran los axones de las células bipolares que hacen sinapsis con las células ganglionares. Además, encontramos las dendritas de las células amacrinas que hacen sinapsis en con ambas células, modulando la conducción eléctrica entre las células bipolares y las células ganglionares. La capa nuclear interna (CNI), compuesta por los somas de las células bipolares, las células horizontales y las células amacrinas. La capa plexiforme externa (CPE), donde se localizan las dendritas de las células fotorreceptoras y las dendritas de las células de la CNI. La capa nuclear externa (CNE), lugar donde se sitúan los cuerpos celulares las células fotorreceptoras (los bastones y los conos). La membrana limitante externa

23

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

51 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

51 / 228

I.3 Anatomía e histología del ojo

(MLE), compuesta por las uniones entre las células fotorreceptoras y las células de Müller. La capa de fotorreceptores (CFR) contiene los bastones y los conos. El epitelio pigmentario de la retina, la capa más externa de la retina, con una anchura de una sola célula, situada entre la retina y la coroides⁷³ (Fig. I.3.5).

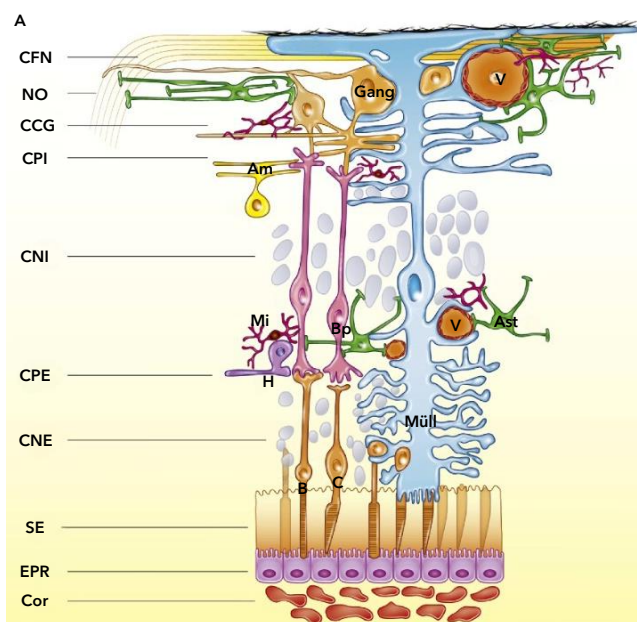


Figura I.3.5. Representación esquemática de la retina. **A.** Estructura y componentes celulares de la retina. CFN: Capa de Fibras Nerviosas, NO: Nervio óptico, CCG: Capa de Cél. Ganglionares, CPI: Capa plexiforme interna, CNI: Capa Nuclear Interna, CPE: Capa Plexiforme Externa, CNE: Capa Nuclear Externa; SE: Segmento externo; EPR: Epitelio pigmentario retiniano; Cor: Coroides; V: Vaso; Gang: Cél. ganglionar; AM: Cél. amacrina; Bp: Cél. bipolar; Ast: Astrocito; Müll: Cél. de Müller; Mi: Microglía; H: Cél. horizontal; C: Cono (fotorreceptor); B: Bastón (fotorreceptor). Adaptado de Vecino et al. (2016)⁷⁴.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Introducción

La irrigación de la retina depende de la arteria central de la retina, rama de la arteria oftálmica. La arteria central de la retina suministra sangre tanto a las capas externas de la retina como a las capas internas⁷⁵.

1.3.6 Nervio óptico

El nervio óptico, el segundo par craneal, es el encargado de transmitir la información visual al cerebro. Se forma a partir de los aproximadamente 1,2 millones axones de las células ganglionares de la retina. Estos axones salen en dirección hacia el humor vitreo y al llegar a la membrana limitante interna giran alrededor de 90° y se dirigen hacia la zona de la cabeza del nervio óptico⁷⁶ (Fig. 1.3.6 y 1.3.7). La cabeza del nervio óptico, considerada como el inicio del nervio óptico, es una zona de la retina que carece de fotorreceptores, únicamente formada por la unión de los axones de las células ganglionares, que se divide en cuatro regiones principales: capa de fibras nerviosas, región preliminar, lámina cribosa y región retrolaminar⁷⁷.

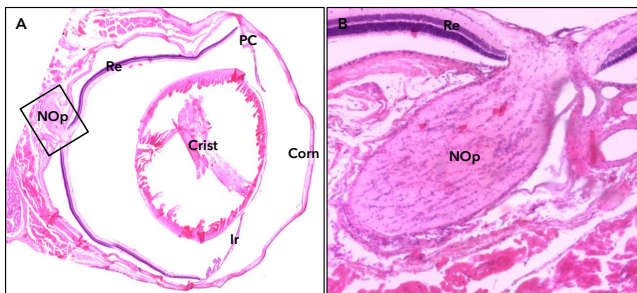


Figura 1.3.6. Nervio Óptico, tinción Hematoxilina-Eosina. A. Imagen panorámica de microscopía óptica de un corte longitudinal de ojo de rata con tinción de Hematoxilina-Eosina donde se observa la retina, el nervio óptico, procesos ciliares, iris, cornea y cristalino. El recuadro señala la parte ampliada. **B.** Imagen ampliada del nervio óptico con un objetivo 40x con la misma tinción. Re: Retina; PC: Procesos ciliares; Ir: Iris; NOp: Nervio óptico; Crist: cristalino; Corn: Cornea.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

I.3 Anatomía e histología del ojo

La lámina cribosa es la continuación de la esclerótica posterior que forma la perforación en forma de tamiz que separa el espacio intraocular por delante del globo ocular y el espacio intracraneal por detrás de este. Se trata de una malla tridimensional de tejido conjuntivo que proporciona apoyo estructural y funcional a los axones de las células ganglionares de la retina y a la vena y arteria central cuando pasan del entorno de presión relativamente alta en el ojo a una región de baja presión en el espacio cerebroespinal^{78,79,80}.

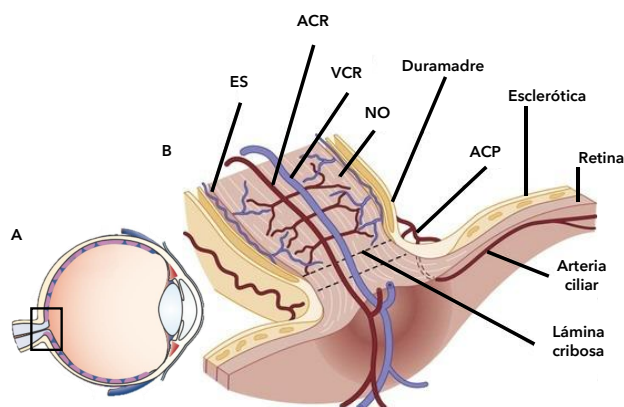


Figura I.3.7. Representación esquemática del Nervio óptico. **A.** Globo ocular. El recuadro señala la parte ampliada. **B.** Imagen ampliada de la estructura y componentes del nervio óptico. ES: espacio subaracnoideo; ACR: Arteria central de la retina; VCR: Vena central de la retina; ACP: Arteria ciliar posterior.

Una vez atraviesa la lámina cribosa, el nervio retrolaminar se extiende hacia la zona intraorbital donde es inmediatamente recubierto por las meninges e inmerso en líquido cefalorraquídeo del espacio subaracnoideo. Aún en la región intraocular, en el compartimiento entre el espacio subaracnoideo y el tejido escleral se forman un espacio virtual donde tiene lugar un gradiente de presión entre el compartimiento intraocular (de alta presión) y el espacio del líquido cefalorraquídeo (de baja presión) permite al nervio adaptarse al distinto

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Introducción

rango de presión. Posteriormente, el nervio entra en el cráneo a través del canal óptico y alcanza el quiasma óptico para a continuación dirigirse al cerebro⁷⁷.

27

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

55 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

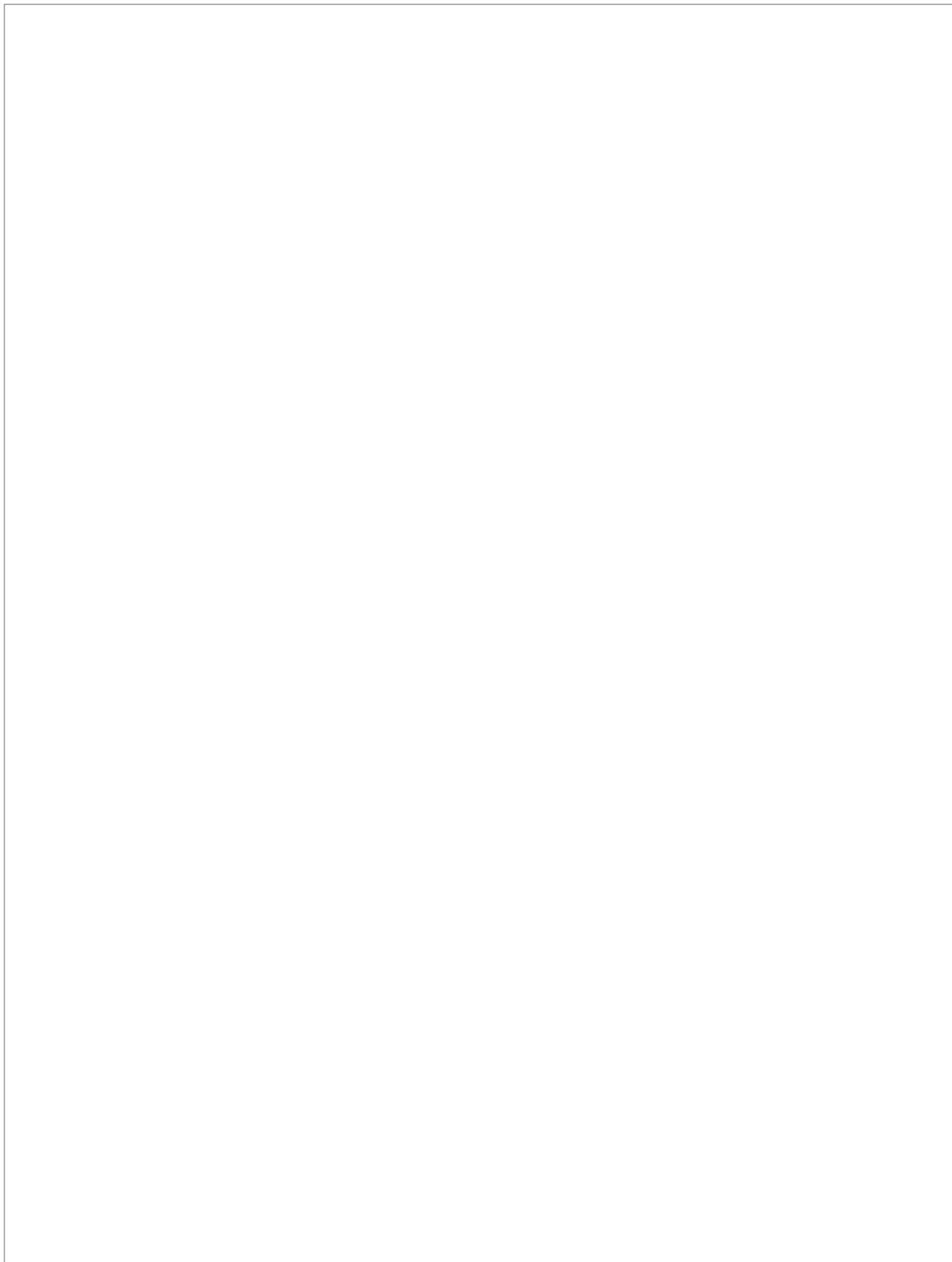
Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

55 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

56 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Introducción

I.4

Introducción

Fisiología del ojo

I.4.1 Producción y secreción del HA

La formación del HA tiene lugar a nivel de los PC, más concretamente a partir de los capilares ciliares fenestrados, el estroma y la doble capa de epitelio, pigmentaria y no pigmentaria. La formación del HA depende de tres procesos: ultrafiltración, secreción y difusión.

El proceso de ultrafiltración es un mecanismo físico, dirigido por fuerzas mecánicas. Este proceso se da entre los capilares fenestrados y el estroma de CC. El paso del fluido que tiene lugar a través de las aberturas de los capilares es el resultante de las presiones hidrostáticas sobre la pared de los capilares y la presión oncótica de las proteínas del estroma, con igual dirección y sentido, que fuerzan al fluido a salir al estroma. Por otro lado, la presión oncótica de las proteínas plasmáticas y la PIO que se van en sentido contrario, oponiéndose a la salida del fluido. Este proceso permite el paso del agua, iones y de proteínas de bajo peso molecular, inferiores a 1.000Å , al estroma, de cuya regulación es responsable el sistema simpático⁸¹.

En el proceso de secreción, las moléculas que intervienen en el proceso de producción de HA incluyen proteínas de transporte y canales iónicos. Dado que la BHA es en gran medida impermeable, los sustratos metabólicos importantes tienen que ser transportados al HA a través de esta barrera mediante el uso de sistemas de transporte⁸². Los sistemas de transporte son proteínas de membrana especializadas que tienen la capacidad de transportar los sustratos a través de la membrana celular, ya sea activamente, en contra de su gradiente de concentración, o pasivamente a favor del gradiente electroquímico. Las

29

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

57 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilera 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

57 / 228

I.4 Fisiología del ojo

proteínas, enzimas y canales iónicos implicados en el proceso de secreción son: cotransportador sodio /cloro / potasio ($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$), cotransportador sodio/bicarbonato ($\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$), intercambiador cloro/bicarbonato ($\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$), intercambiador sodio/protón (Na^+/H^+), la bomba sodio / potasio ATPasa (Na^+/K^+ ATPasa), canal de potasio (K^+), canal de cloro (Cl^-), la enzima anhidrasa carbónica (AC) (Fig. I.4.1).

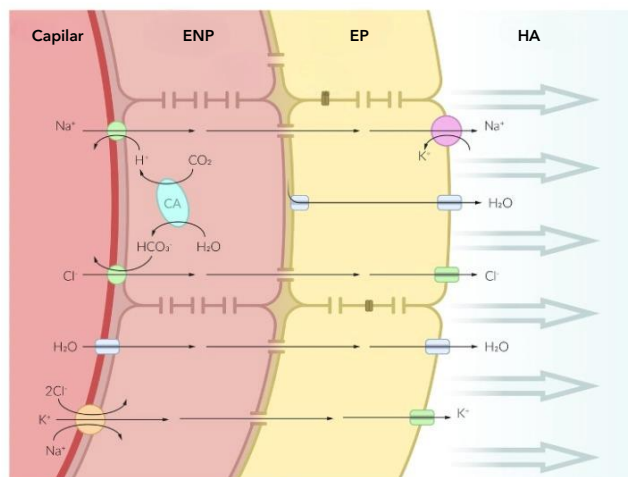


Figura I.4.1. Representación esquemática de la producción de humor acuoso en el epitelio ciliar. ENP: Epitelio no pigmentado; EP: Epitelio pigmentado; HA: Humor

En el EP los transportadores se sitúan en la membrana basolateral, en contacto con el estroma. Se han identificado en esta membrana el cotransportador $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ encargado de introducir en las células iones de sodio y bicarbonato⁸³, el cotransportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$, encargado de introducir en el citoplasma iones de sodio, cloro y potasio⁸⁴, el intercambiador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, que introduce iones de cloro y expulsa al estroma iones bicarbonato⁸³, el intercambiador Na^+/H^+ , encargado de introducir sodio y expulsar protones⁸⁵ y

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

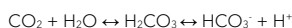
Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilera 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Introducción

Na⁺/K⁺ ATPasa (isoforma α 1) encargada de introducir 2 iones de potasio en la célula por cada 3 iones sodio que saca al estroma⁸⁶.

En el ENP encontramos los transportadores en la membrana basolateral, que se encuentra en contacto con el HA. Se han identificado en la membrana del epitelio canal de potasio (K⁺), canal de cloro (Cl⁻), encargados del paso de estos iones al HA, el intercambiador Cl⁻/HCO₃⁻, que introduce iones cloruros y extrae iones bicarbonato^{87,88}, la Na⁺/K⁺ ATPasa (isoforma α 2) encargada de introducir 2 iones de potasio en la célula por cada 3 iones sodio que saca al HA⁸⁶ y el intercambiador Na⁺/H⁺, encargado de introducir sodio y expulsar protones a la cámara posterior⁸⁵. Se ha identificado la presencia de la AC, localizada en los citoplasmas de ambos epitelios ciliares, no pigmentado y pigmentado encargada de regular el pH para un óptimo transporte activo de iones mediante la reacción reversible:



Como consecuencia de los procesos descritos se crea un gradiente de concentración y electroquímico entre el estroma de los PC, que es positivo, y el HA, que es negativo, para el paso de fluidos por difusión⁸⁹.

La difusión de agua esta mediada por la presencia de las canales de agua conocidos como acuaporinas (AQPs). La primera AQP (CHIP28) fue descubierta por el químico, médico y profesor en la universidad Johns Hopkins Peter Agre en 1992⁹⁰, siendo galardonado con el premio Nobel de química en 2003 por este mismo descubrimiento. A partir de entonces han sido descubiertas 13 tipos de AQPs distintas (AQP0-AQP12), de las cuales al menos 11 has sido localizadas en tejidos oculares. De entre todas ellas, tan solo la AQP1 y la AQP4 han demostrado tener implicación en la producción de HA^{92,93}.

Se ha descrito la presencia de la AQP1 en los endotelios de los vasos ciliares, lo que facilita el rápido trasvase de agua de los vasos al estroma, mientras la presencia de AQP4 en la membrana basal del ENP indica que el agua utiliza

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilera 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.4 Fisiología del ojo

estos canales para salir del epitelio ciliar hacia la cámara posterior para formar el HA^{86, 91, 93}.

I.4.2 Drenaje del HA

Las vías de salida son un complejo sistema hidráulico que permite que el HA sea drenado del ojo de forma constante, manteniendo así una PIO dentro de los rangos fisiológicos normales, estable entre la producción y el drenaje del fluido. El mecanismo preciso por el que se produce el drenaje del HA del ojo no se comprende totalmente. El proceso comienza tras la producción de HA en la cámara posterior del ojo. A partir de ahí el fluido se dirige a la cámara anterior, atravesando la pupila. Se han identificado 2 vías de drenaje del HA, la vía convencional, que vierte a las venas episclerales, y la no convencional, que incluye 3 vías distintas dependiendo de sus extremos vasculares: la vía uveoescleral, la vía uveovorticosa y la vía uveolinfática⁹⁴ (Fig. I.4.2).

La vía convencional, el movimiento del fluido, tiene lugar por un gradiente de presión entre la red trabecular y PAA, y sigue una secuencia bien conocida a través de la siguiente sucesión de estructuras dentro del ángulo del ojo: la red trabecular, PAA (análogo al canal de Schlemm en mamíferos no primates)⁹⁵, los canales colectores y el sistema venoso episcleral. El flujo a través de la red trabecular se produce de manera totalmente pasivo. Mientras que la resistencia se produce al atravesar la pared interna del PAA debido a la presencia de uniones estrechas. A partir de este punto, el HA continúa por los canales colectores hasta llegar al sistema venoso episcleral, donde se deposita en la circulación cardiovascular sistémica⁹⁶. La expresión de AQP1 en toda la red trabecular, (uveal, corneoescleral y en la pared interna del PAA^{97, 98, 99} indica que tiene un importante papel en el drenaje del HA¹⁰⁰.

32

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

60 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilera
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

60 / 228

Introducción

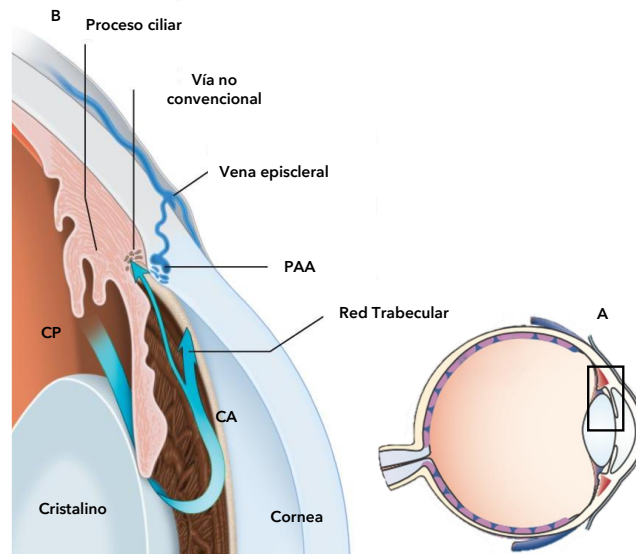


Figura I.4.2. Representación esquemática de la reabsorción de Humor Acuoso. **A.** Globo ocular. El recuadro señala la parte ampliada. **B.** Representación esquemática del cuerpo ciliar y la red trabecular PAA: Plexo acuos angular; CA: Cámara anterior; CP: Cámara posterior. Adaptado de la Academia Americana de oftalmología, 2022.

En el flujo de salida no convencional el HA pasa por la red uveal, atraviesa el intersticio del músculo ciliar y llega al espacio supracoroidal. A partir de este punto se ha demostrado que el HA puede tomar 3 caminos distintos. En cualquiera de las tres vías el HA se acumula en la esclerótica y es drenado a través de los vasos orbitales, en el caso de la vía uveoescleral, a través de las venas vorticosas en el caso de la vía uveovorticosa y a través de los vasos linfáticos presentes en los tejidos aculares^{94,101}.

33

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

61 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

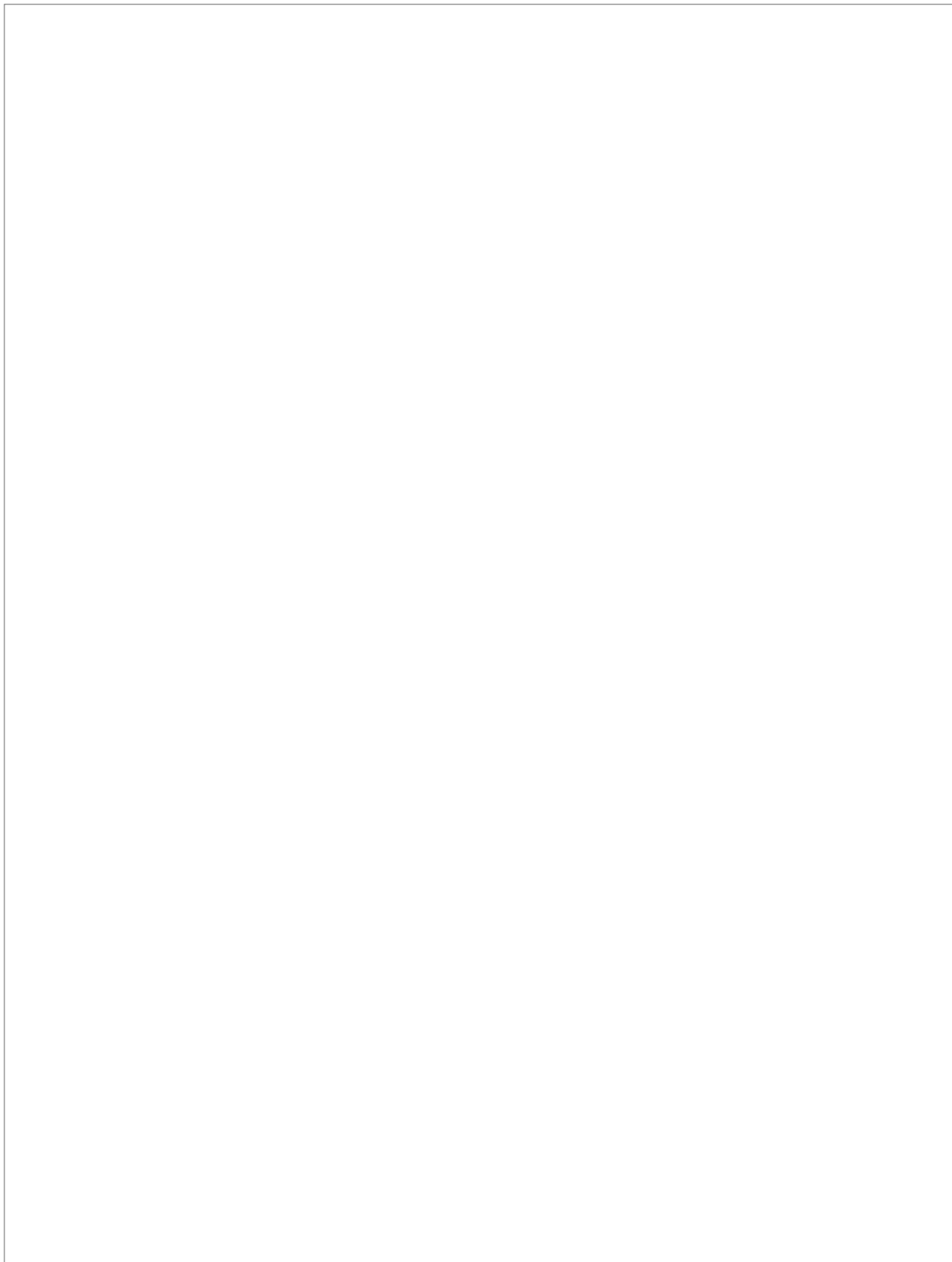
Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

62 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

62 / 228

I.5

Introducción

Barrera hemato-retiniana (BHR)

Las células neuronales de la retina son extremadamente sensibles a cambios de pH, productos de desecho, sustancias del plasma sanguíneo, etc. Por lo tanto, es necesaria una estructura especializada para aislar las células neuronales de la sangre, a fin de mantener un entorno iónico estable y garantizar las actividades adecuadas de las células neuronales¹⁰². La BHR es una estructura funcional que regula el intercambio de fluidos y moléculas entre el lecho vascular ocular y los tejidos retinianos. Esta estructura consta de 2 componentes diferenciados, la barrea hemato-retiniana interna (BHRi) y la barrera hemato-retiniana externa (BHRe). La BHRi, creada por las uniones estrechas de las células endoteliales de los capilares de la retina y la BHRe, creada por las uniones estrechas entre las células del epitelio pigmentario de la retina¹⁰³.

I.5.1 Barrera hemato-retiniana externa

La BHRe, establecida por las uniones estrechas entre células del epitelio pigmentario de la retina, forma una monocapa de células que descansa sobre la membrana de Bruch y que separa la capa de fotorreceptores de los capilares de la coroides, altamente fenestrados. Esta barrera desempeña un papel fundamental en la regulación del acceso de los nutrientes de la sangre a los fotorreceptores, así como en la eliminación de los productos de desecho y el mantenimiento de la adhesión de la retina, ambos procesos críticos para el mantenimiento de la función visual. En el epitelio pigmentario de la retina existe una polaridad celular, diferenciando entre la superficie apical, que interactúa con los segmentos externos de los fotorreceptores en la capa nuclear externa, y la superficie basolateral en contacto con los capilares de la coroides¹⁰⁴.

35

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

63 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

63 / 228

I.5 Barrera hemato-retiniana (BHR)

I.5.2 Barrera hemato-retiniana interna

La BHRi está formada por una única capa de células endoteliales fuertemente adheridas, pericitos y células gliales. A este complejo se le denomina "unidad neurovascular"¹⁰⁵ (Fig. I.5.1).

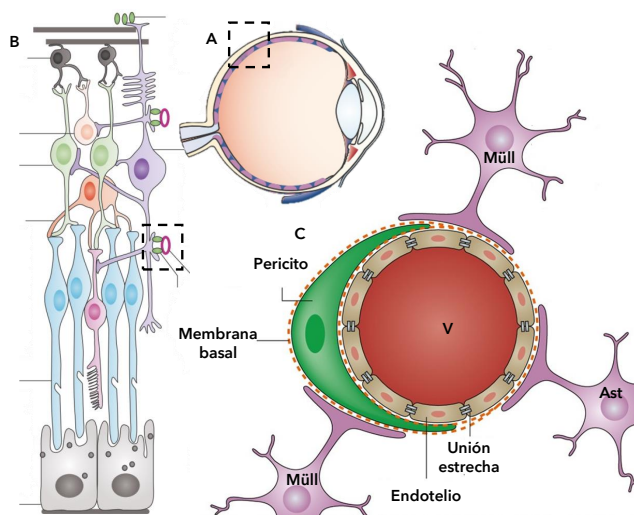


Figura I.5.1. Representación esquemática de la BHRi. **A.** Globo ocular. El recuadro señala la parte ampliada. **B.** Representación esquemática de la retina. El recuadro señala el vaso sanguíneo ampliado. **C.** Imagen ampliada de la BHRi. El recuadro rodea vaso retiniano con los pies de las células de Müller y de astrocitos. V: Vaso; Ast: Astrocito; Müll: Cél. de Müller. Adaptado de Papadopoulos y Verkman (2013)¹⁰⁶ y Spadoni et al (2017)¹⁰⁷.

Los pericitos presentes en los capilares de la retina tienen función de sostén y proporcionan comunicación constante con las células endoteliales y gliales adyacentes, actuando en la maduración, remodelación y mantenimiento de la barrera¹⁰³. Las células gliales recubren los vasos sanguíneos e influyen en el

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo Fecha: 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár Fecha: 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Introducción

desarrollo y el mantenimiento de la barrera. En la retina encontramos dos tipos de células gliales, los astrocitos y las células de Müller. Los somas de las células de Müller están situados en la capa nuclear interna y tienen terminaciones que envuelven todas las neuronas que se extienden desde la membrana limitante interna hasta la externa. Los cuerpos de los astrocitos se sitúan casi exclusivamente en la capa de fibras nerviosas de la retina. Ambos tipos de células gliales tienen terminaciones que envuelven los vasos sanguíneos de la retina formando una glía limitante, regulando una amplia variedad de funciones de las células endoteliales. Estas células tienen un papel fundamental en la formación y el mantenimiento de la barrera, así como en la captación de nutrientes y la eliminación de productos de desecho¹⁰⁵. Las células endoteliales presentan una intrincada red de uniones estrechas, que, junto a la ausencia de fenestraciones en los vasos, son consideradas como el principal componente de la BHRi. Dado que las uniones entre las células endoteliales, formada por distintos tipos de complejos proteicos (uniones estrechas, adherentes, ocludinas y zonula ocludens) resultan impermeables al paso de sustancias a través de la barrera, son necesarios distintos tipos de transportadores presentes en la membrana de las células del endotelio para posibilitar el paso de sustancias entre los ambos tejidos¹⁰⁸.

En la retina, las células neuronales, incluidas las células fotorreceptoras, requieren una gran cantidad de energía metabólica para la fototransducción y la neurotransducción como la D-glucosa, los aminoácidos, las vitaminas y los nucleósidos^{109, 110}. La BHRi controla el transporte entre la sangre y la retina, manteniendo así la homeostasis de las células retinianas. En este proceso los transportadores específicos, bombas y canales permiten transportar de forma activa y pasiva agua, iones, electrolitos, pequeños nutrientes y macromoléculas de forma dependiente de la energía¹¹¹. La presencia de transportadores en la membrana de las células endoteliales establece una polaridad celular, dando lugar a una membrana basal o luminal, en contacto con el plasma sanguíneo y una apical en contacto con las células retinianas, que permite el transporte de sustancias entre ambos compartimentos. El transporte de la sangre al tejido retiniano depende del tipo de molécula que se trate. De manera selectiva a

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

I.5 Barrera hemato-retiniana (BHR)

través de canales y transportadores específicos o de forma no selectiva dentro de vesículas^{108, 112}.

38

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

66 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

66 / 228

I.6

Introducción

HTA y envejecimiento

Los avances en materia de salud y calidad de vida a lo largo del siglo XX permitieron un aumento de la esperanza de vida una media de 30 años¹¹³. Actualmente, el segmento de población que más rápidamente crece son las personas de 85 años o más, conformando una sociedad cada vez más envejecida¹¹⁴. Este envejecimiento progresivo de la sociedad lleva asociado un nuevo conjunto de patologías y problemas de salud, debido a que las personas mayores son las más susceptibles a la padecer enfermedades y discapacidad asociada a estas patologías. La enorme carga económica que supone el envejecimiento de la sociedad para el sistema sanitario justifica que se siga prestando atención a la búsqueda de nuevas estrategias de gestión y tratamiento de estas patologías asociadas.

Las patologías de tipo neurológico (Alzheimer y otro tipo de demencias), cardiovasculares (aterosclerosis), sistémicas (diabetes) u oculares (DM) se asocian fuertemente y de manera muy frecuente con las personas de edad avanzada¹⁰⁵. El proceso de envejecimiento se ve acelerado por la presencia de HTA. De hecho, la HTA se ha relacionado con alteraciones en los niveles de proteínas como el Klotho y con la formación de los productos finales de glicación avanzada (AGE), que junto a la unión a su receptor (RAGE), están implicados en un proceso de envejecimiento acelerado^{116, 117, 118, 119}.

Klotho es una glicoproteína que se presenta en la membrana celular o de manera secretada en sangre, orina y líquido cefalorraquídeo¹²⁰ y en el HA^{121, 122, 123}. Esta proteína presenta propiedades antienvjecimiento, y se relaciona con la supresión del estrés oxidativo, la regulación de la homeostasis del calcio-fosfato, la modulación de la autofagia y la inhibición de la apoptosis, la fibrosis y la

39

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

67 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

67 / 228

I.6 HTA y envejecimiento

senescencia celular¹²⁴. Por otro lado, se ha demostrado que niveles bajos de esta proteína se relacionan el envejecimiento acelerado y una disminución de la esperanza de vida en ratones¹²⁵ y con el envejecimiento acelerado unido a comorbilidades como la enfermedad renal crónica, daños cardiovasculares, cáncer o la enfermedad de Alzheimer en seres humanos^{119, 126}.

Los AGE se forman in vivo como consecuencia de la reacción enzimática irreversible entre los azúcares reductores y otros compuestos como proteínas, lípidos o ADN durante los procesos de envejecimiento o en entornos de estrés oxidativo¹²⁷. Estos AGE son resistentes a la degradación y han de ser eliminados para evitar un mal funcionamiento de los tejidos. La unión de los AGE a su receptor RAGE actúa regulando varios procesos celulares.

RAGE es un receptor perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas, que ha sido localizado de manera constitutiva en multitud de tejidos, (cerebro, riñón, hígado, corazón y vasos sanguíneos) y en varios tipos de células (neuronas, endotelio, músculo liso, epitelio y células inflamatorias)¹²⁸. El complejo AGE-RAGE desata una cascada de señalización que activa respuestas proinflamatorias, antimicrobianas, apoptóticas, de adhesión celular y al estrés oxidativo¹²⁹.

Esta alteración en los niveles de Klotho, AGE y RAGE se relaciona también desarrollo de diferentes patologías oculares. La disminución de los niveles de Klotho se han relacionado con el aumento del estrés oxidativo a nivel ocular, el daño en la retina y con la aparición de GPAA, DM, RD^{121, 122, 130}. La acumulación de AGE y su unión a RAGE en las estructuras oculares responde tanto a al envejecimiento como a situaciones de estrés metabólico, siendo relacionados principalmente con daños a nivel retinal¹³¹, aunque también existen pruebas que relacionan un aumento de los niveles de AGE con daños en la córnea, el cristalino, la membrana de Bruch, la esclerótica y el nervio óptico^{132, 133, 134}.

40

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

68 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

68 / 228

I.7

Introducción

Modelo experimental: rata espontáneamente hipertensa (SHR)

La rata espontáneamente hipertensa (SHR) es el modelo animal de hipertensión más utilizado, y la cepa de control más adecuada es la rata Wistar-Kyoto (WKY). Las ratas SHR son normotensas en el momento de nacer y desarrollan una HTA severa entre los 2 y los 4 meses, por lo que la rata SHR ofrece un modelo que permite investigar la HTA sistémica crónica en condiciones controladas. Por lo tanto, este modelo no solo constituye una potente herramienta para la investigación de las causas, los mecanismos y la patología de la HTA, sino que se considera un modelo excelente para investigar la relación entre el aumento de la PA con daños en estructuras oculares, mejorando así la comprensión del desarrollo de patologías oculares relacionadas con la HTA^{135, 136}.

Algunas investigaciones han encontrado relación entre la HTA y patologías en la estructura retinianas en SHR. Se ha reportado que el 60% de las ratas SHR desarrollan, a partir del décimo mes de vida, defectos en la retina como consecuencia del daño de los vasos sanguíneos retinianos^{137, 138}. Estos defectos incluyen distrofia de las células fotorreceptoras además de un acortamiento de los segmentos externos de los fotorreceptores, y una reducción del grosor de la retina¹³⁹. Investigaciones realizadas mediante el uso de microscopía electrónica de barrido han detectado que las retinas de las SHR presentan abundantes cambios en los vasos sanguíneos oculares a los 6-7 meses de edad, como una mayor tortuosidad, estrechamiento de los vasos, defectos de cruce arteriovenoso, cambios en la morfología capilar y signos de coroidopatía hipertensiva en comparación con las ratas WKY^{140, 141}. Se han detectado además

41

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

69 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

69 / 228

I.7 Modelo experimental: rata espontáneamente hipertensa (SHR)

daños en la BHR, viendo aumentada su permeabilidad en la SHR en comparación con WKY. En algunos casos, se producen hemorragias, manchas blancas, opacidad y papiledema en la retina de los SHR^{142, 143}.

También se han reportado cambios en las estructuras encargadas de la producción y drenaje de HA y la PIO en ratas SHR. Las ratas SHR desarrollaron un aumento de la PIO entre la 5 y la 12 semana de edad. La HTA mantenida provoca cambios en la expresión de proteínas encargadas de la formación de HA, lo cual puede aumentar la PIO^{86, 144}.

42

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

70 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

70 / 228

Planteamiento y objetivos

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

71 / 228

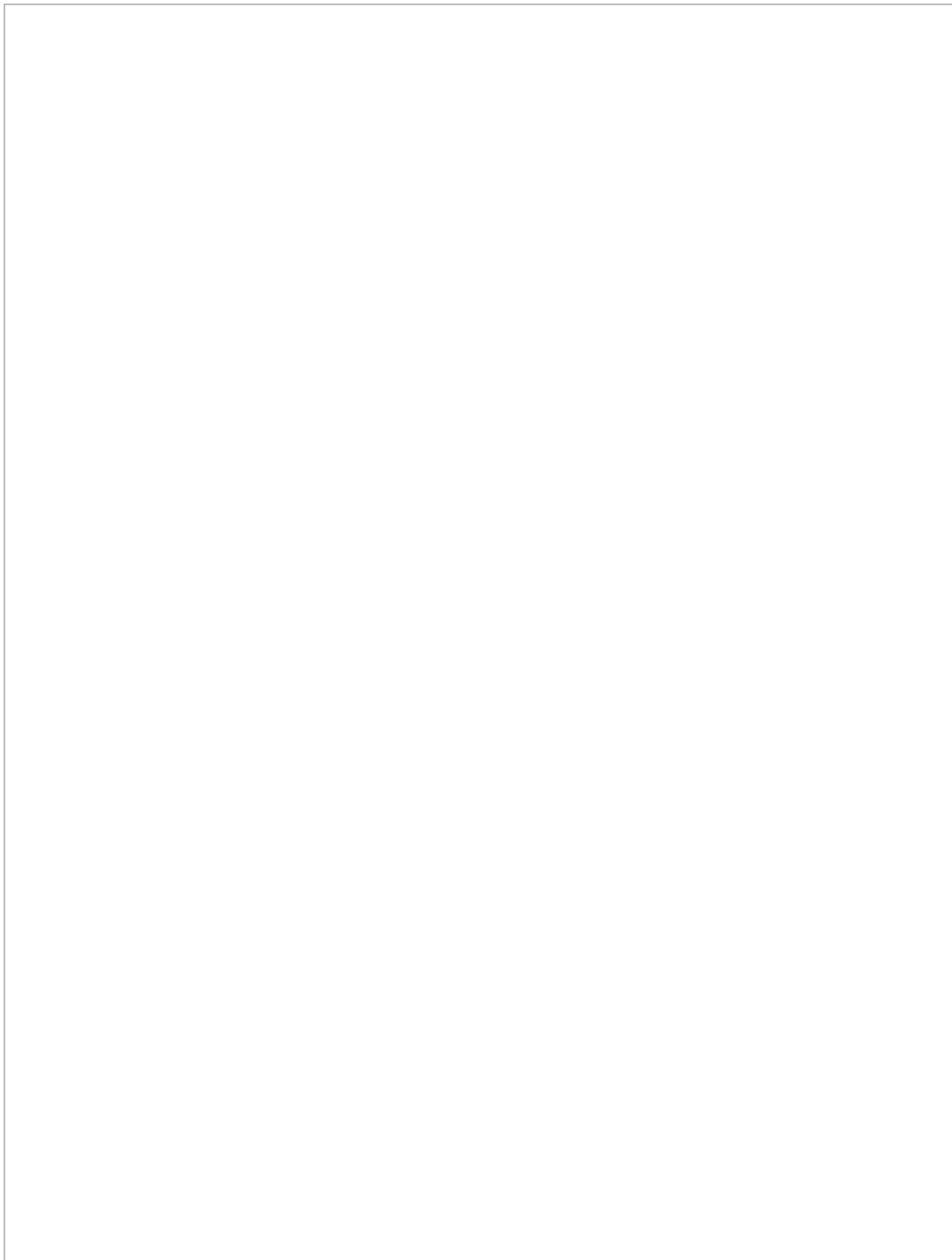
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilar 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

71 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

72 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

72 / 228

PO.1

Planteamiento y objetivos

Planteamiento

A lo largo de las últimas décadas, multitud de datos recogidos a partir de numerosos estudios poblacionales y epidemiológicos han revelado la relación entre la HTA y numerosas patologías de tipo neurológico, cardiovascular y renales entre otras. Como ha sido descrito en la introducción, la HTA es una de las cuestiones principales que ha de abordar la sanidad pública a nivel mundial. Según la OMS alrededor de 1300 millones de personas sufren HTA en todo el mundo, sin embargo, se trata de una enfermedad infradiagnosticada, donde menos de la mitad de las personas hipertensas están diagnosticadas y solo una pequeña cantidad de ellos tiene la patología bajo control.

La HTA ha sido relacionada con alteraciones estructurales y funcionales en numerosos órganos diana. El cerebro, los vasos sanguíneos, corazón, riñones y ojos. En relación con los ojos, la HTA afecta a estructuras oculares como los PC, el iris, la red trabecular, retina y nervio óptico, que se relacionan con cambios en la fisiología del ojo, viéndose afectada la producción y reabsorción de HA, el funcionamiento de la BHRi y la transducción de la señal nerviosa desde las células fotorreceptoras hasta las células ganglionares, así como daños en el nervio óptico. Todos estos desórdenes estructurales y funcionales derivan en la aparición de numerosas patologías oculares como el GPAA, RH, NOH entre otras, que se relacionan con el aumento sostenido de la PA. La HTA también ha sido vinculada con el aumento de los procesos inflamatorios y con el envejecimiento acelerado en el ojo.

El modelo de rata SHR es considerado como el mejor modelo animal para estudiar los efectos de la HTA en condiciones controladas, siendo su control la rata WKY. Para realizar esta investigación se utilizaron ojos de ratas SHR y WKY

45

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

73 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

73 / 228

PO.1 Planteamiento

sacrificadas a los 6 meses. Según lo descrito en la bibliografía, la rata hipertensa ha desarrollado a esta edad, alteraciones patológicas que pueden afectar a la función ocular y a las estructuras oculares que van a ser objeto de estudio.

El propósito de la presente tesis consistirá estudiar los efectos de la HTA en las distintas estructuras oculares y su relación con diferentes patologías.

Con lo cual y en vista de todo lo descrito con anterioridad nos planteamos los objetivos primarios (OP) y específicos (OE).

46

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

74 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

74 / 228

PO.2

Planteamiento y objetivos

Objetivos

OP.1 ANÁLISIS CORPORAL, DE LA PAS Y DE LA PAD DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

OP.2. ANALIZAR LOS EFECTOS DE LA HTA SOBRE LA PRODUCCIÓN, SECRECIÓN Y REABSORCIÓN DEL HA

- OE. 2.1 Estudio de la AQP1 en el endotelio de los PC
- OE.2.2 Estudio de la AQP1 en los epitelios ciliares
- OE 2.3 Estudio de la AQP1 en los epitelios del iris
- OE. 2.4 Estudio de la AQP4 en ENP de los P
- OE. 2.5 Estudio de la AQP1 en el EPI.
- OE. 2.6 Estudio de las Isoformas α_1 y α_2 de la Na⁺/K⁺ ATPasa en los epitelios ciliares
- OE. 2.7 Estudio de la AQP1 en la red trabecular y en el PAA

OP.3 ANALIZAR LOS EFECTOS DE LA HTA EN LA ESTRUCTURA DE LA BHRI Y DE LA UNIDAD NEUROVASCULAR DE LA RETINA

- OE. 3.1 Estudio de GLU1 en el endotelio de la BHR
- OE. 3.2 Estudio de AQP4, GFAP y Vimentina en las células gliales de la retina

OP.4 ANALIZAR LOS EFECTOS DE LA HTA SOBRE LA ESTRUCTURA DEL NERVIÓ ÓPTICO

- OE. 4.1 Estudio de la Proteína Básica de Mielina, GFAP y AQP4 en el nervio óptico

47

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

75 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

75 / 228

PO.2 Objetivos

**OP. 5 ANALIZAR LOS EFECTOS DE LA HTA Y SU RELACIÓN CON LOS
PROCESOS DE ENVEJECIMIENTO EN EL OJO**

OE. 5.1 Estudio de RAGE y Klotho en PC

OE. 5.2 Estudio de AGE/RAGE en la retina

48

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

76 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

76 / 228

Materiales y métodos

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

77 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

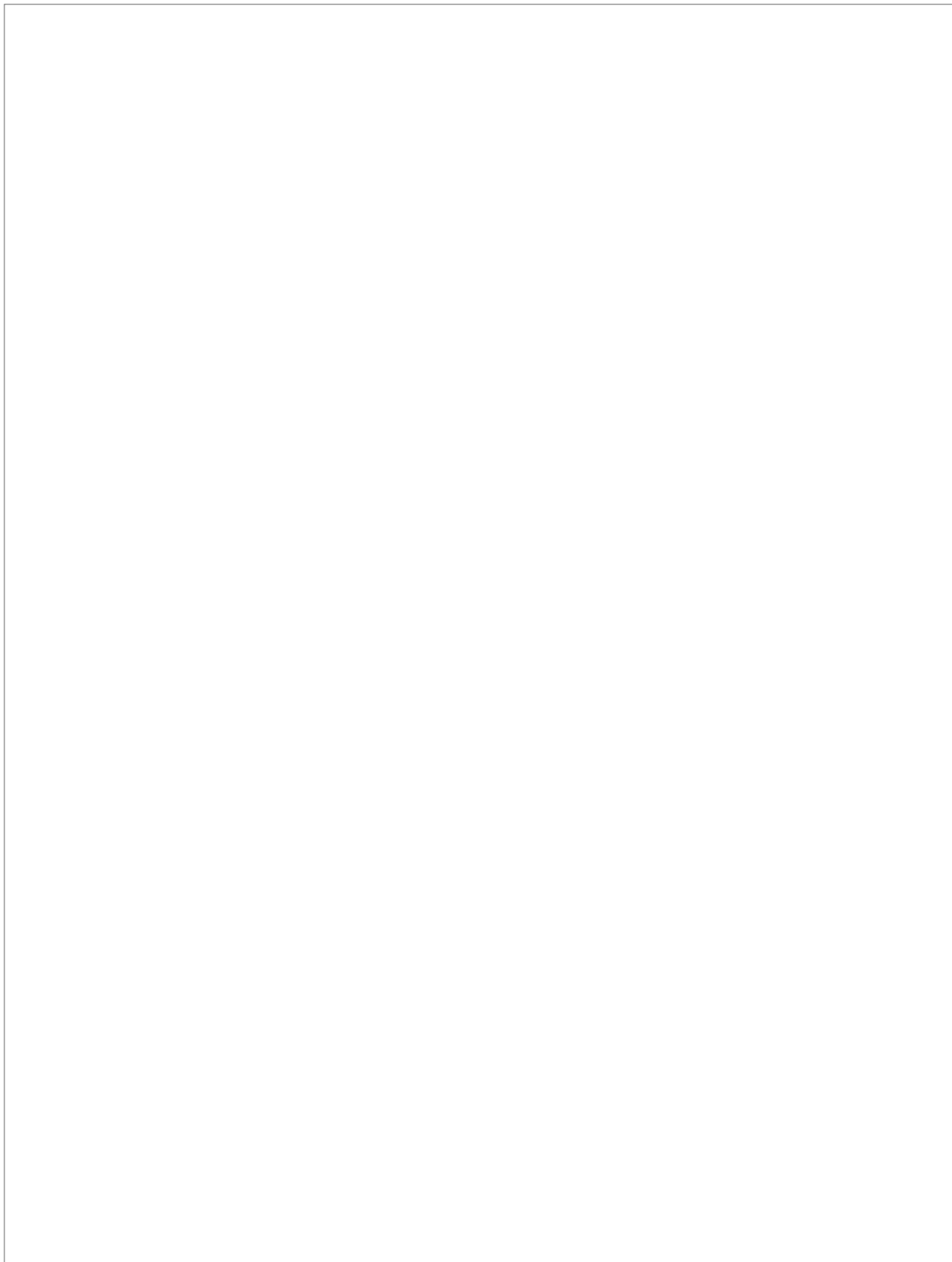
Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

77 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

78 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

78 / 228

M.1

Materiales y métodos

Grupos experimentales

Para la realización de la tesis se utilizaron 20 ratas WKY y 20 ratas SHR (Charles Rivers Laboratories España) que se sacrificaron a los seis meses de edad.

El manejo de los animales experimentales se llevó a cabo de acuerdo con la Directiva Europea 2010/63/EU para el mantenimiento y uso de animales de laboratorio, los cuales fueron aprobados por el "Comité de Uso de Animales para la Investigación de la Universidad de La Laguna". El número de animales utilizado, así como el estrés y sufrimiento de estos durante la manipulación y experimentación fueron reducidos al mínimo.

Los animales experimentales se mantuvieron a una temperatura constante de $22 \pm 2^\circ \text{C}$ y a $56 \pm 8\%$ de humedad relativa, en un ciclo normal de luz-oscuridad 12-12 horas en el estabulario del Servicio General de Apoyo a la Investigación (SEGAI) de la Universidad de La Laguna. A los seis meses, los animales experimentales fueron pesados y se les tomaron los datos de la presión sistólica y diastólica en la cola mediante un tensiómetro OMROM F3.

Previo a al sacrificio, los animales fueron anestesiados profundamente mediante una inyección intraperitoneal de hidrato cloral (160mg/ml) en una proporción de 400mg/kg.

51

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

79 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

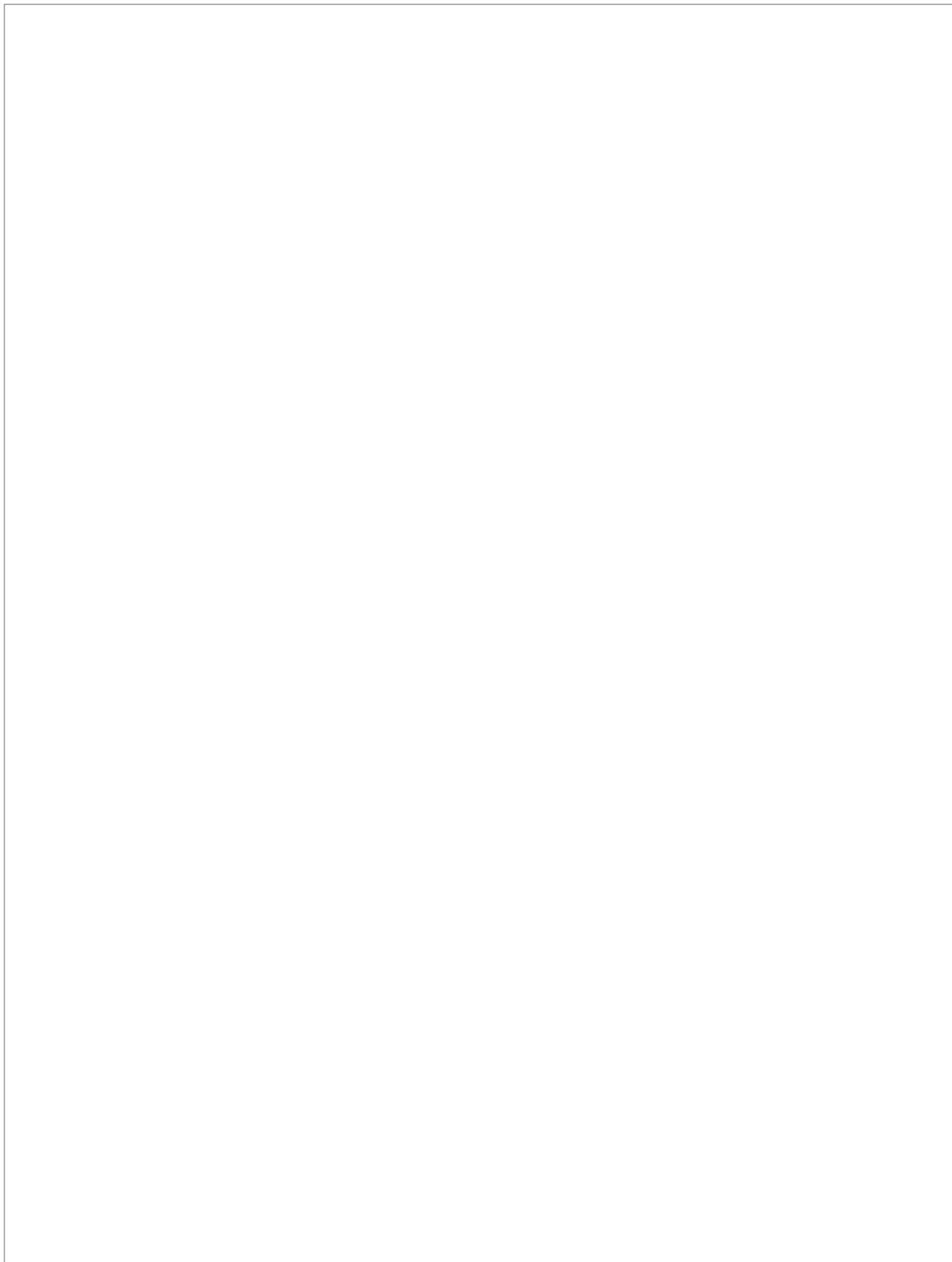
Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

79 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo Fecha: 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

80 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár Fecha: 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

80 / 228

M.2

Materiales y métodos

Preparación del material experimental

M.2.1 Fijación de los tejidos oculares

La técnica elegida para la fijación de los tejidos, la deshidratación y la inclusión fue la misma para todos los animales experimentales. En primer lugar, se procedió a la apertura de la caja torácica mediante la realización de una toracotomía media, como media para acceder al corazón y para realizar una perfusión intracardiaca con el fin de fijar los tejidos oculares. Una cánula biselada del calibre 22 fue introducida en el ventrículo izquierdo; simultáneamente se cortaba la aurícula derecha. A continuación, se perfundió a través de la cánula una solución de lavado de suero fisiológico durante aproximadamente 4 minutos, para lograr que el sistema circulatorio se desangre completamente a través de la incisión realizada en el ventrículo derecho. Una vez se comprobó que únicamente emanaba suero fisiológico a través de la incisión del ventrículo derecho se procedió a la perfusión del líquido fijador.

La fijación se realizó mediante el fijador Bouin. Para la preparación de la solución fijadora de Bouin utilizaron quince partes de ácido pícrico en solución saturada, cinco partes de formalina y una parte de ácido acético puro.

Tras la correcta fijación de los tejidos de los animales (aumento consistencia del animal sumado a el cambio de coloración de la piel y las mucosas), se procedió a sacrificar a los animales con el uso de una guillotina y a la extracción quirúrgica de los tejidos oculares. Los tejidos extraídos se sumergieron durante 24 horas en la misma solución fijadora de Bouin. El volumen de la solución en la que se introdujo era 10 veces superior al volumen de la masa de los ojos.

53

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

81 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

81 / 228

M.2 Preparación del material experimental

M.2.2 Deshidratación, inclusión en parafina y corte en microtomo

La deshidratación de los tejidos permite un endurecimiento, aumentando la consistencia de las piezas, permitiendo una correcta inclusión en parafina. Para un mejor resultado de la deshidratación se sumergieron los tejidos en concentraciones crecientes de alcohol etílico.

- Alcohol de 70°: dos inmersiones de 24 horas. A esta solución alcohólica se añadió una gota de amoníaco por cada 100 ml de solución para mejorar la coloración del líquido de fijación Bouin.
- Alcohol de 80°: una inmersión de 24 horas.
- Alcohol de 90°: una inmersión de 24 horas.
- Alcohol de 96°: una inmersión de 24 horas.
- Alcohol de 100°: una inmersión de 24 horas.

Para una adecuada inclusión en parafina es necesario eliminar completamente el alcohol de los tejidos deshidratados, utilizando para ello los denominados "líquidos intermediarios":

- Benzoato de metilo: el tiempo necesario hasta que las piezas se sumerjan por completo en el líquido.
- Benzol: dos inmersiones de 15 minutos cada uno.
- Benzol-parafina: solución a partes iguales donde se sumergieron los tejidos durante 30 minutos.

Tras terminar este protocolo las piezas se sumergen en dos baños de parafina a una temperatura de 60° C durante un periodo de 24 horas cada uno. A continuación, se procedió a la formación de los boques de parafina en moldes de plomo. Las piezas fueron talladas para su posterior corte con un microtomo (Minot Leitz 1212) en cortes seriados de 8 micras de espesor. Los cortes se recogieron en series alterna A, B, C, D.

54

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

82 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

82 / 228

M.3

Materiales y métodos

Tinciones histológicas

M.3.1 Tinción con Hematoxilina-Eosina (H-E)

La tinción se realiza mediante la utilización de 2 colorantes, la hematoxilina, formada por un colorante catiónico, y la eosina, formada por un colorante aniónico perteneciente a los xantenos. Entre ambos se consigue la tinción de los núcleos de color azul y los citoplasmas de un tono rosáceo, permitiéndonos estudiar la morfología celular de los tejidos oculares utilizados en la realización de esta tesis doctoral.

El protocolo que se siguió comenzó desparafinando los cortes en la estufa durante 30 minutos a 60° C. A continuación, los cortes se sumergieron en xilol durante 10-15 minutos. La hidratación de los cortes se consiguió sumergiendo los cortes en soluciones decrecientes de alcohol etílico.

- Alcohol de 100°: una inmersión de 5 minutos.
- Alcohol de 96°: una inmersión de 5 minutos.
- Alcohol de 90°: una inmersión de 5 minutos.
- Alcohol de 70°: una inmersión de 5 minutos.
- Lavado con agua destilada

Tras la hidratación los cortes se sumergen en Hematoxilina de Harris (Panresc) 5 minutos, se lavan en agua durante 2 minutos y finalmente se sumergen en eosina alcohólica (Panreac) durante 1 minuto. Una vez se termina la tinción los cortes son de nuevos deshidratados pasando por soluciones crecientes de alcohol etílico. (5 min. alcohol de 70°, 5 min. alcohol de 96°, 5 min.

55

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

83 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

83 / 228

M.3 Tinciones histológicas

alcohol de 100°, 5 min. en xilol). Una vez deshidratados los cortes se cubren utilizando Eukitt.

56

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

84 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

84 / 228

M.4

Materiales y métodos

Técnica inmunofluorescencia para Microscopía Confocal de Barrido Láser

La técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser permite la detección "in situ" de la combinación antígeno-anticuerpo + fluoróforo que es excitado mediante el uso de un láser y su emisión es captada por una cámara para formar una imagen digital.

En primer lugar, se desparafinaron los cortes en estufa 60° C 12-24 horas. Posteriormente fueron hidratado; para ello se sumergieron los cortes en xilol (3 baños de 15 minutos), seguido de lavados con concentraciones decrecientes de alcoholes (100°, 96°, 80°, 70°) hasta llegar al agua destilada. A partir de aquí pasamos al pretratamiento, donde los cortes se sumergieron 30 minutos en tampón citrato sódico (50 mM, pH 6, 80° C), lo que permite maximizar la exposición del antígeno aumentando las posibilidades de unión de anticuerpo.

Tras el pretratamiento, los cortes se lavaron con agua destilada (3 lavados de 5 minutos) seguido de un lavado de 5 minutos en tampón PBS-triton (1%). A continuación, los sitios de unión inespecífica de los cortes con albúmina bovina sérica al 10% durante 15 minutos.

Posteriormente, los cortes se incubaron con el anticuerpo primario toda la noche a temperatura ambiente (las concentraciones están descritas en la tabla M.1 al día siguiente los cortes se lavaron con PBS (3 lavados 5 minutos) y se incubaron con el anticuerpo secundario correspondiente. Los anticuerpos secundarios usados fueron IgG de cabra anti-conejo con el fluoróforo Cyanine 3 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA, 1:200) e IgG de cabra anti-ratón con el fluoróforo

57

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

85 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

85 / 228

M.4 Técnica inmunofluorescencia para Microscopía Confocal de Barrido Láser

Alexa Fluor 488 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA, 1:200). Los núcleos se tiñeron con 4'-6' diamidino-2-fenilindol, DAPI (Invitrogen, 1:5000). Tras el lavado, las muestras se montaron en Vectashield Medium (Vector Laboratories Inc., Orton Southgate, Peterborough, Reino Unido) para su visualización con un microscopio confocal de barrido láser.

| Anticuerpo primario | Casa comercial | Dilución | T incubación / Temp. | Referencia |
|---|----------------|----------|----------------------|------------|
| Monoclonal de ratón anti-AQP1 | Abcam | 1:100 | 24H / 8°C | Ab9566 |
| Policlonal de conejo anti-AQP1 | Abnova | 1:1000 | 24H / 8°C | PAB27167 |
| Policlonal de conejo anti-AQP4 | Abnova | 1:2500 | 24H / 8°C | PAB20767 |
| Monoclonal de ratón anti-Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α_1 | Abcam | 1:400 | 24H / 8°C | Ab7671 |
| Policlonal de conejo anti-Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α_2 | Merck | 1:400 | 24H / 8°C | 07-674 |
| Policlonal de conejo anti-Proteína ácida fibrilar glial (GFAP) | Abcam | 1:500 | 24H / 8°C | Ab7260 |
| Monoclonal de ratón anti-transportador de glucosa 1 (anti-GLUT1) | Abcam | 1:100 | 48H / 8°C | Ab40084 |
| Policlonal de conejo anti-Vimentina | Abcam | 1:200 | 24H / 8°C | Ab15248 |
| Monoclonal de ratón anti-Proteína Básica de Mielina | Abcam | 1:500 | 24H / 8°C | Ab11159 |
| Policlonal de conejo anti-RAGE | Merck | 1:300 | 24H / 8°C | SAB2105049 |
| Policlonal de conejo anti-Klotho | Merck | 1:300 | 24H / 8°C | SAB3500604 |
| Policlonal de conejo anti-AGE | Abcam | 1:500 | 24H / 8°C | Ab23722 |

Tabla M.1. Anticuerpos primarios. Casa comercial, dilución, tiempo (horas) y temperatura de incubación (°C) y referencia del producto.

Como control negativo de esta técnica, simultáneamente, en una sección de los cortes, se omitió el paso de la incubación con el anticuerpo primario,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 28/07/2022 15:49:39

Materiales y métodos

sustituyendo en este caso el anticuerpo primario por tampón de dilución. En cada uno de los experimentos realizados los controles negativos no mostraron inmunoreacción alguna, lo que demostró la especificidad de la técnica.

59

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

87 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

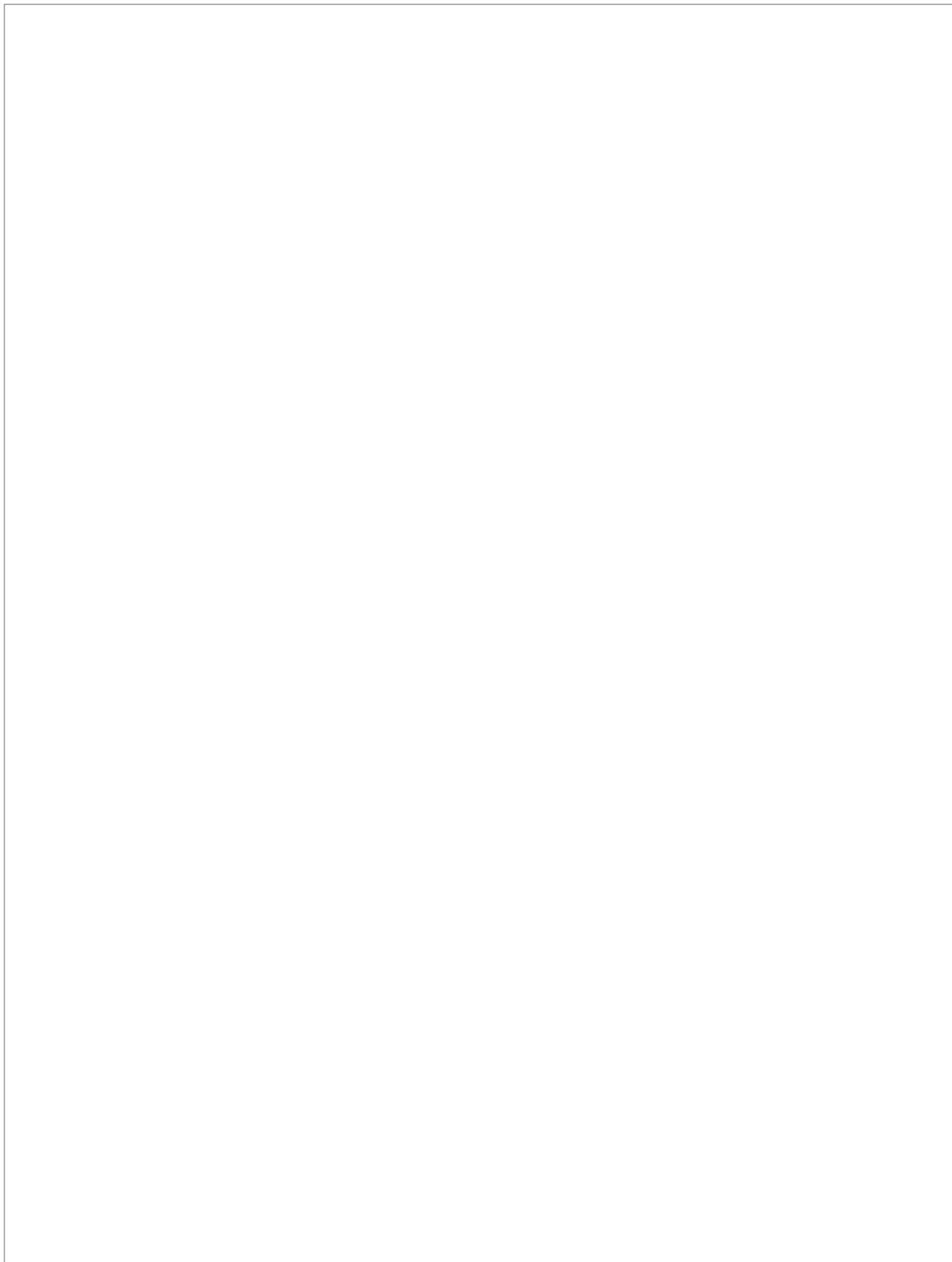
Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

87 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

88 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

M.5

Materiales y métodos

Adquisición de imágenes y cuantificación de la inmunofluorescencia

Las imágenes de los cortes tratados para inmunofluorescencia de obtuvieron usando el Confocal Laser Scanning Microscope FV1000 (Olympus GmbH, Hamburg, Germany) y el software Olympus Fluoview FV10-ASW (versión 04.02.02.09) como adquisiciones de 8 bits a color.

Las intensidades de fluorescencia de las imágenes se analizaron por densitometría. El análisis de las imágenes se realizó en ImageJ (v. 1.5 U.S., NIH, Bethesda, Maryland, USA). Se seleccionaron las regiones de interés (ROI, de su acrónimo en inglés) y las imágenes RGB se dividieron posteriormente en tres imágenes en escala de grises de 8 bits que contenían los componentes rojo, verde y azul del original.

La selección de la zona con señal de inmunofluorescencia se realizó con la herramienta de mano alzada del ImageJ y se añadió al gestor de ROI. Se calculó la media de los valores obtenidos (unidades relativas: r.u.) para cada valor de fluorescencia de los anticuerpos.

61

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

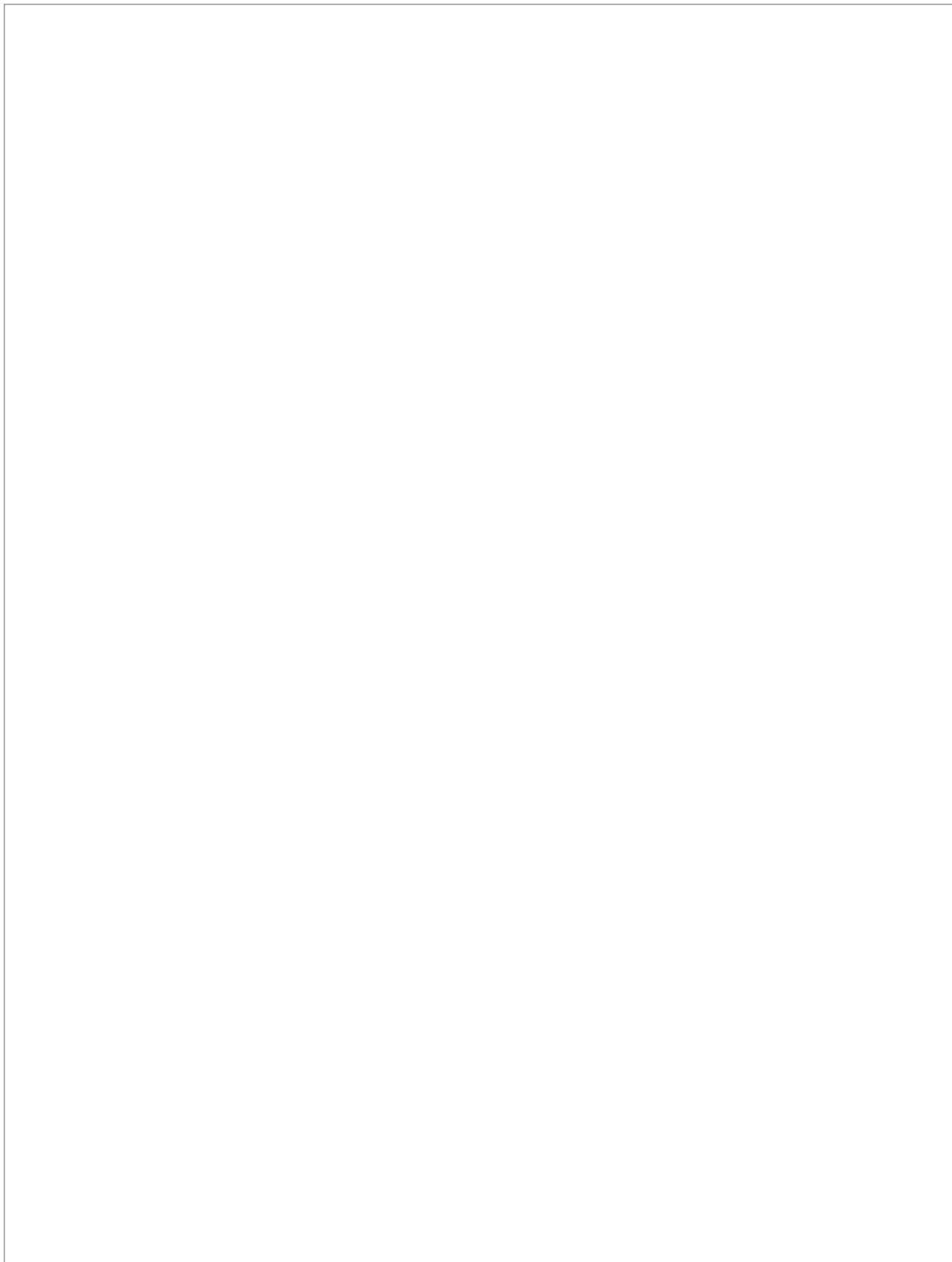
89 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

89 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

90 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

M.6

Materiales y métodos

Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos tras la cuantificación de la señal de las imágenes de microscopía confocal de barrido láser se realizó mediante el paquete estadístico IBM SPSS Statistic versión 21 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

La homogeneidad de las varianzas de los datos fue determinada mediante la prueba de Levene y la normalidad mediante una prueba de Kolmogorov-Smirnov. Tras estos análisis algunos datos mostraron una distribución normal y otros datos resultaron con una distribución no normal.

Los datos con distribución no normal fueron analizados mediante la realización de una prueba U de Mann-Whitney; con los datos que resultaron presentar una distribución normal se realizó una comparación de medias mediante una T-Student para muestras independientes. El nivel de significación usado en el análisis de los datos fue del 95% y se consideraron tres valores de significación $*p<0.05$, $**p<0.01$ y $***p<0.001$ para determinar la robustez de dicho análisis estadístico.

La representación gráfica de los datos se llevó a cabo mediante el programa GraphPad Prism version 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

63

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

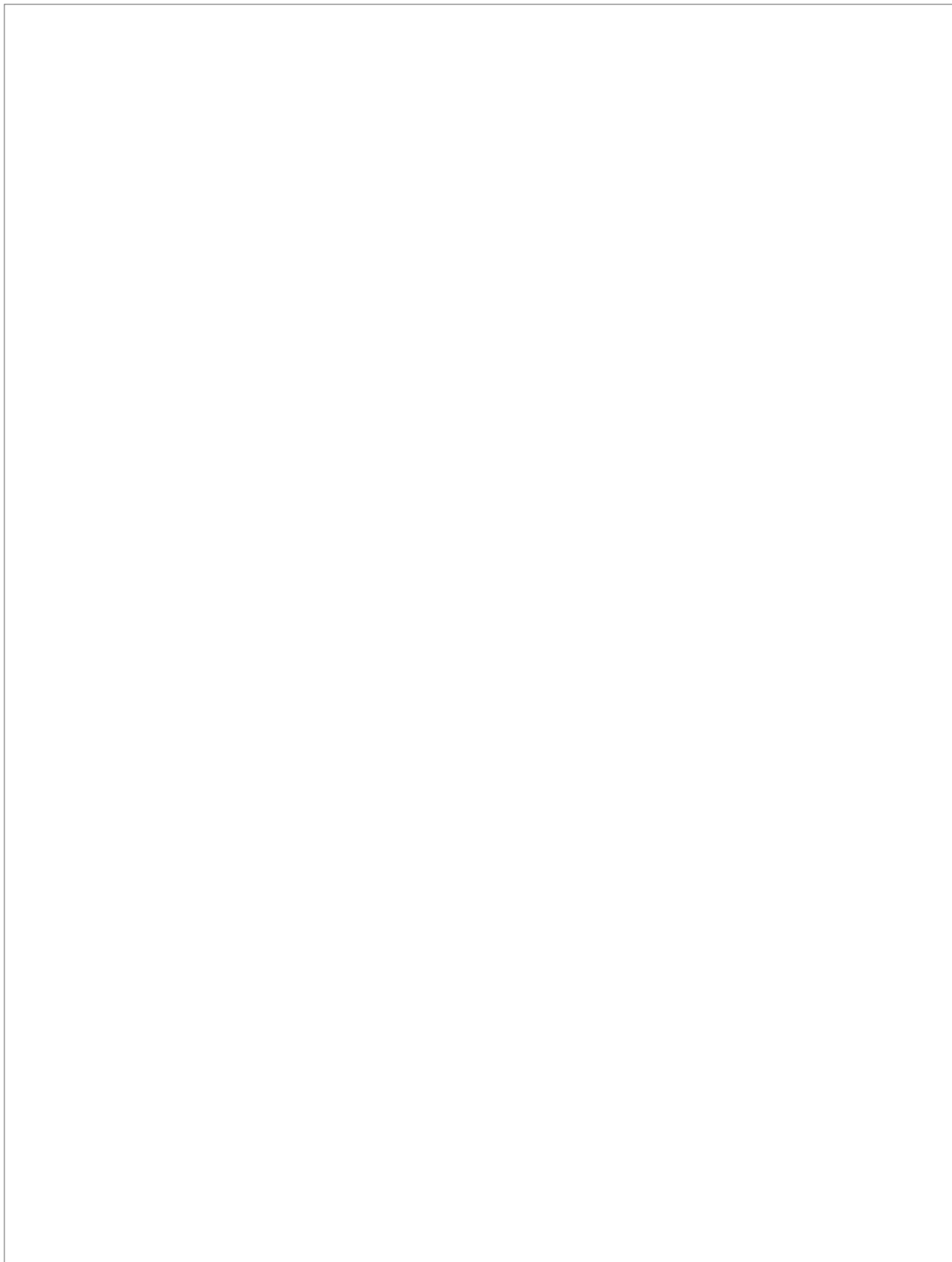
91 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

91 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

92 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

92 / 228

Resultados

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

93 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

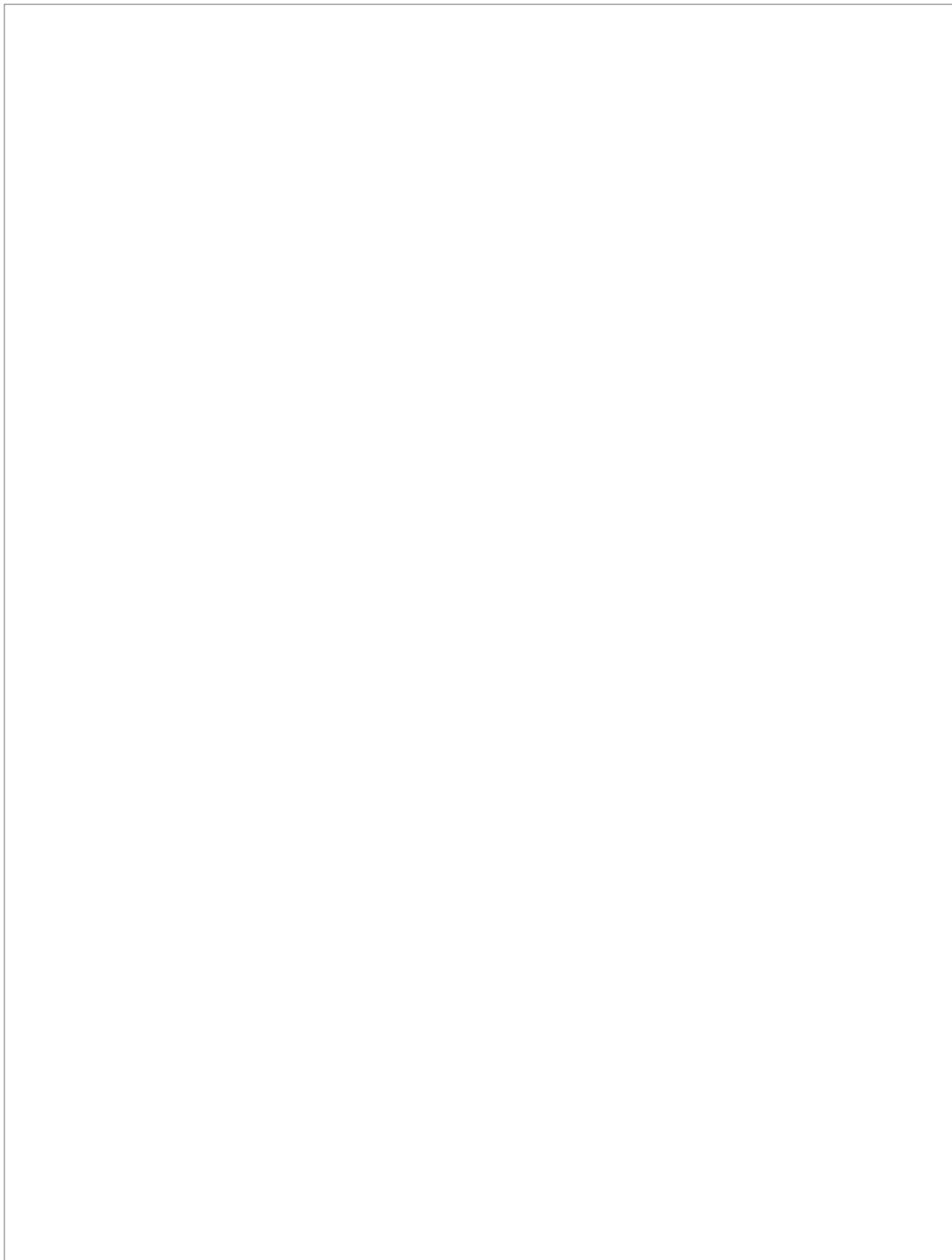
Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

94 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

94 / 228

R.1

Resultados

Animales experimentales

A ambos grupos experimentales (WKY y SHR) de 6 meses se le tomaron los datos del peso corporal, presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD) previo al sacrificio. Los datos de los valores medios se presentan en la tabla R.1.

R1.1 Estudio del peso corporal de los animales experimentales

Respecto al peso corporal, las ratas SHR presentaron un peso menor en comparación con las ratas WKY. Como se aprecia en la tabla R.1, el peso medio de las ratas SHR fue 34 g. menor que las ratas WKY. Las diferencias resultaron significativas tras aplicar una T-student para muestras independientes con un p-valor < 0.01.

R1.2 Estudio de la presión arterial en los animales experimentales

Los datos de la PAS media, medida a los 6 meses revelaron un incremento en el grupo de ratas hipertensas frente a las ratas control. El valor medio de la PAS para las ratas SHR fue de 179 ± 1.7 mmHg frente a los 131 ± 2.9 mmHg de las ratas WKY. El análisis estadístico de los datos de la PAS desveló que existían diferencias significativas cuando se utilizó una T-student para muestras independientes (p-valor<0.01). (Tabla R.1)

La presión diastólica media de SHR tuvo un valor de 64 ± 2.7 mmHg mientras que el valor medio de la presión diastólica de las ratas WKY resultó en 58 ± 1.7 mmHg. Al aplicar un análisis estadístico para una distribución normal

67

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

95 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

95 / 228

R.1 Animales experimentales

con muestras independientes (T-student) se determinó que existían diferencias significativas con un valor de significación de $p < 0.01$ (Tabla R.1).

| | WKY (n=20) | SHR (n=20) |
|--------------------------------------|---------------|------------------|
| Peso corporal (g \pm SD) | 386 \pm 2.1 | 352 \pm 1.9 ** |
| PAS (mmHg \pm SD) | 131 \pm 2.9 | 179 \pm 1.7 ** |
| PAD (mmHg \pm SD) | 58 \pm 1.7 | 64 \pm 2.7 ** |

Tabla R.1. Valores medios de peso corporal, PAS y PAD en ratas WKY y SHR. Las diferencias entre las ratas WKY y SHR fueron significativas cuando se aplicó la prueba T-student (** $p < 0,01$). PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.2

Resultados

La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

R.2.1 Estudio de la AQP1 y AQP4 en los PC e iris

Las AQPs son proteínas integrales de membrana que forman canales de agua, encargados de regular el transporte de fluidos entre los vasos sanguíneos y el HA, siendo imprescindibles para mantener la homeostasis y la función ocular.

R.2.1.1 AQP1 en el endotelio de los vasos ciliares

La AQP1 se detectó en los vasos sanguíneos de los PC, entre otras estructuras del globo ocular. En las muestras examinadas la expresión de AQP1 se localizó en las células endoteliales de los vasos ciliares (Fig. R.2.1 D-M). Los resultados de la cuantificación de la expresión revelaron un aumento de la presencia de AQP1 en el endotelio de los vasos ciliares en las ratas SHR (8.24 ± 2.1) respecto a la rata WKY (2.08 ± 0.9) (Fig. R.2.1 C). Dado que los datos obtenidos de la cuantificación no presentaban una distribución normal, se procedió a realizar una prueba no paramétrica para k muestras independientes (U Mann-Whitney), dando como resultado la existencia de diferencias significativas con un p-valor < 0.01 (Fig. R.2.1 C).

R.2.1.2 AQP1 en los epitelios ciliares

La AQP1 se expresa tan solo en la parte anterior de la pars plicata del epitelio ciliar, en el ENP, y se continúa por el epitelio del iris. Los experimentos de inmunofluorescencia mostraron que la AQP1 se detecta tanto en la

69

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

97 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

97 / 228

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

membrana basolateral, como en la membrana apical, además de apreciarse un marcaje intracelular (Fig. R.2.2 D-G). Se observó un menor nivel de señal de inmunofluorescencia de AQP1 en la pars plicata anterior de las ratas SHR (3.92 ± 0.2) cuando se compara con las ratas WKY (7.84 ± 0.3) (Fig. R.2.2 C). Para el análisis estadístico de los datos obtenidos en la cuantificación de la inmunofluorescencia se realizó un análisis no paramétrico (distribución de datos no normal) para k muestras independientes, U Mann-Whitney, obteniendo como resultado la existencia de diferencias significativas con un p -valor < 0.001 (Fig. R.2.2 C).

R..2.1.3 AQP1 en los epitelios del iris

El marcaje de fluorescencia de AQP1 se observó en el EAI y el EPI. Ambas membranas del EPI (apical y basolateral) presentaron señal, mientras, el EAI la inmunofluorescencia solo se presentó en las membranas basales (Fig. R.2.3 D-G). Esta señal de inmunofluorescencia se encontró en toda la extensión del epitelio del iris. La cuantificación de los niveles de AQP en el iris de SHR (36.73 ± 3.5) fueron muy similares a los encontrados en la rata WKY (35.62 ± 4.3) (Fig. R.2.3 C). Cuando se realizó el análisis estadístico no se detectaron diferencias significativas entre ambos grupos experimentales (Fig. R.2.3 C).

R..2.1.4 AQP4 en el ENP de los PC

En los cortes analizados la presencia de AQP4 se observó, en ratas WKY, en la membrana basolateral del ENP de los PC (Fig. R.2.4 D, F-I), sin embargo, en ratas SHR, el marcaje basolateral es más difuso y se aprecia la aparición de un marcaje citoplasmático (Fig. R.2.4 E, J-M). La intensidad media de marcaje mostró una disminución del marcaje en ratas hipertensas (17.85 ± 3.4) respecto a las ratas control (20.51 ± 2.9) (Fig. R.2.4 C). Como resultado de la comparación estadística de la intensidad media de marcaje entre ambos grupos experimentales se obtuvieron diferencias significativas tras aplicar una U de Mann-Whitney (distribución no normal, test no paramétrico para k muestras independientes) con un valor de significación de $p < 0.01$ (Fig. R.2.4 C).

70

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

98 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

98 / 228

Resultados

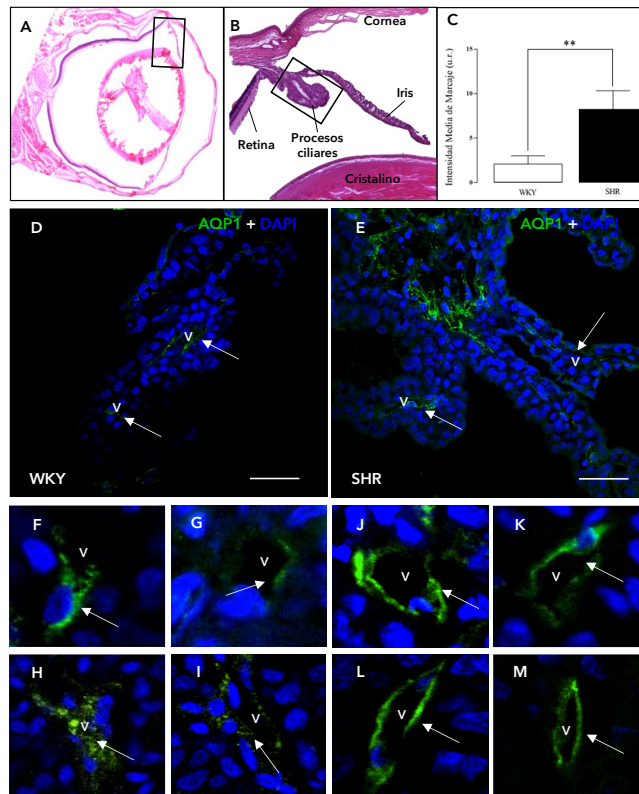


Figura R.2.1. AQP1 en vasos ciliares. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de los PC e iris (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo AQP1 en las células endoteliales de los vasos ciliares (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para Microscopía Confocal de Barrido Láser, mostrando los vasos marcados tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-M. Ampliación de los vasos marcados con inmunofluorescencia de microscopía confocal para WKY (F-I) y para SHR (J-M). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. V: Vasos, u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

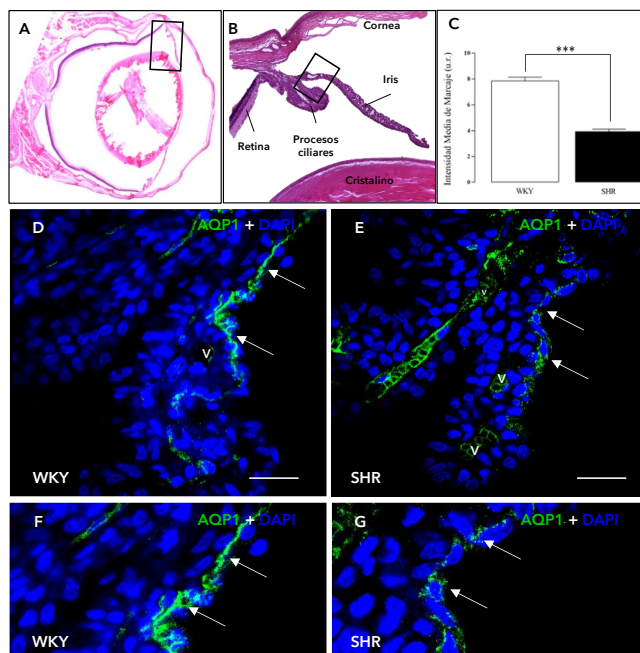


Figura R.2.2. AQP1 en epitelios ciliares. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de los PC e iris (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo AQP1 en las células del ENP de la pars plicata anterior (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando el ENP marcado tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación del ENP marcados con inmunofluorescencia para WKY (F) y para SHR (G). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. V: Vasos, u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Resultados

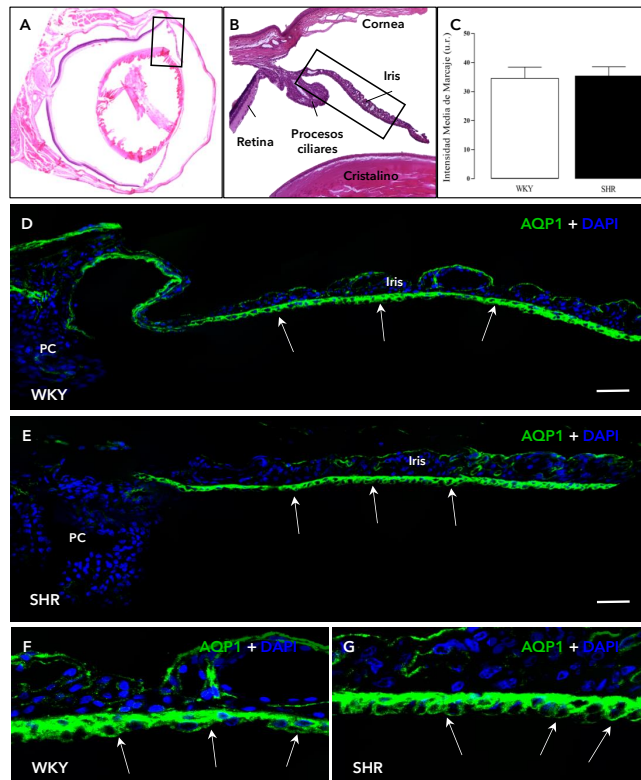


Figura R.2.3. AQP1 en iris. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación del iris (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo AQP1 en ambos epitelios del iris (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Imágenes panorámicas que muestran el resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación del marcaje para WKY (F) y para SHR (G). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. PC: proceso ciliar; u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 50 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

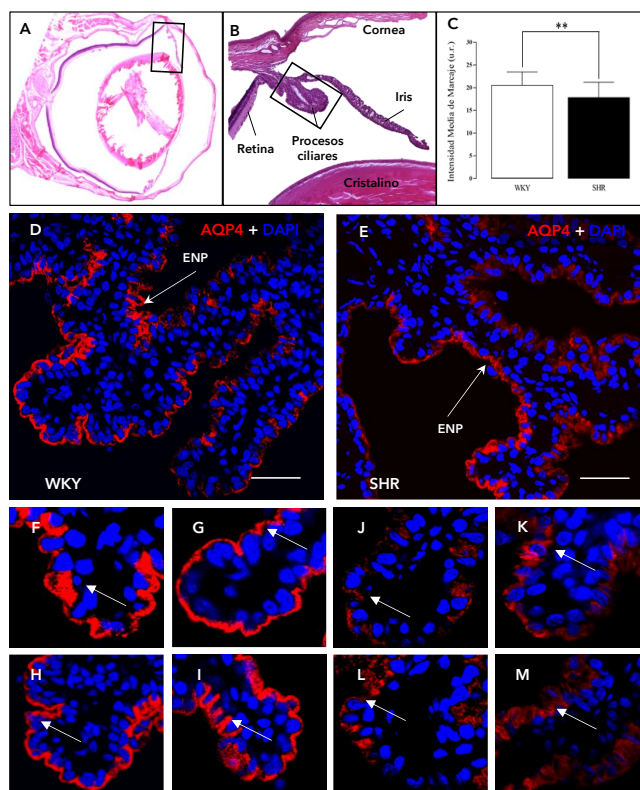


Figura R.2.4. AQP4 en PC. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de los PC e iris (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo AQP4 en las células del ENP de los procesos ciliares (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando el ENP marcado tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-M. Ampliación del ENP marcados con inmunofluorescencia para WKY (F-I) y para SHR (J-M). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Resultados

R..2.1.5 AQP4 en el EPI

En ratas control la expresión de AQP4 se encontró en la membrana basolateral en la primera mitad más proximal del EPI. En la segunda mitad, más distal, del iris el marcaje va descendiendo hasta desaparecer por completo (Fig. R.2.5 D, F). En el caso de las ratas SHR, se detectó también en el EPI, sin embargo, los niveles de expresión de AQP4 fueron mayores y el marcaje se extendió en mayor proporción a lo largo del epitelio (Fig. R.2.5 E, G). La cuantificación de la expresión reveló que existe un aumento de AQP4 en el epitelio del iris en las ratas SHR (15.02 ± 0.3), respecto a la rata WKY (12.75 ± 0.2) (Fig. R.2.5 C). Dado que los datos obtenidos de la cuantificación no presentaron una distribución normal, se procedió a realizar una prueba no paramétrica para muestras independientes (U Mann-Whitney), dando como resultado la existencia de diferencias significativas ($p < 0.001$) (Fig. R.2.5 C).

R.2.2 Estudio de la Na⁺/K⁺ ATPasa α_1 y Na⁺/K⁺ ATPasa α_2 en los PC

La Na⁺/K⁺ ATPasa es la encargada, junto con otros transportadores de membrana, de generar un gradiente de concentración entre el cuerpo ciliar y el HA. La Na⁺/K⁺ ATPasa está compuesta de 3 subunidades: α , β y γ . La subunidad α es la encargada de la función de transporte, presentando un sitio para la unión del ATP y otro para la fosforilación. Las distintas isoformas de las subunidades α de la proteína Na⁺/K⁺ ATPasa tienen la misma función, sin embargo, estas se presentan en distintos tejidos oculares.

R.2.2.1 Isoformas α_1 y α_2 de la Na⁺/K⁺ ATPasa en los epitelios ciliares

En los cortes histológicos de ojos estudiados la Na⁺/K⁺ ATPasa α_1 se observó en la membrana basolateral del EP de las ratas WKY (Fig. R.2.8 D, F-I), mientras, en las ratas hipertensas, la señal se detectó tanto en la membrana basolateral como en el citoplasma del EP en las ratas hipertensas (Fig. R.2.8 E-J-M). Al realizar la cuantificación se observó un aumento de la inmunofluorescencia de la Na⁺/K⁺ ATPasa α_1 (Fig. R.2.8 A-D) en el EP en las ratas SHR (15.34 ± 3.2)

75

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

103 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilar 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

103 / 228

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

respecto a las ratas normotensas (11.86 ± 3.4) (Fig.R.2.8 C). Al realizar la comparación estadística de los resultados de la intensidad media de marcaje de la Na^+/K^+ ATPasa α_1 en el EP se observaron diferencias significativas al realizar una prueba no paramétrica (U Mann-Whitney) para valores con distribución no normal en muestras independientes, con un valor de significación de $p < 0.001$ (Fig.R.2.8 C).

En los experimentos llevados a cabo, la expresión de la proteína Na^+/K^+ ATPasa subunidad α_2 se detectó en la membrana basolateral del ENP y citoplasmática de las ratas WKY (Fig.R.2.9 D, F-I), mientras, en las ratas SHR la expresión solo se observó en la membrana basolateral (Fig.R.2.9 E, J-M). La cuantificación de la Na^+/K^+ ATPasa α_2 encontró una disminución (Fig.R.2.9 A-D) de la intensidad media de marcaje en las ratas SHR (16.82 ± 0.6) respecto a las ratas WKY (23.07 ± 2.2) (Fig.R.2.9 C). Dado que los datos obtenidos de la cuantificación presentaron una distribución normal, se realizó una prueba T-student, dando como resultado la existencia de diferencias significativas con un p -valor < 0.01 (Fig.R.2.9 C).

R.2.3 Estudio de la AQP1 en la red trabecular y en el PAA

Se detectó la AQP1 en la red trabecular y el PAA. En ambos grupos de animales experimentales la señal de AQP1 se localizó en la red trabecular y la pared interna del PAA (Fig.R.2.11 D-H). En el caso de las ratas SHR, la expresión de AQP1 fue mayor tanto en la red trabecular como en la pared interna del PAA. La cuantificación de la intensidad media de marcaje reveló que existe un aumento de AQP1 en las ratas SHR (8.14 ± 1.3), respecto a la rata WKY (6.36 ± 0.5) (Fig.R.2.11 C). Los datos obtenidos en la cuantificación no presentaron una distribución normal, por lo que se realizó una prueba U Mann-Whitney, detectando diferencias estadísticamente significativas con un p -valor < 0.001 (Fig.R.2.11 C).

76

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

104 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

104 / 228

Resultados

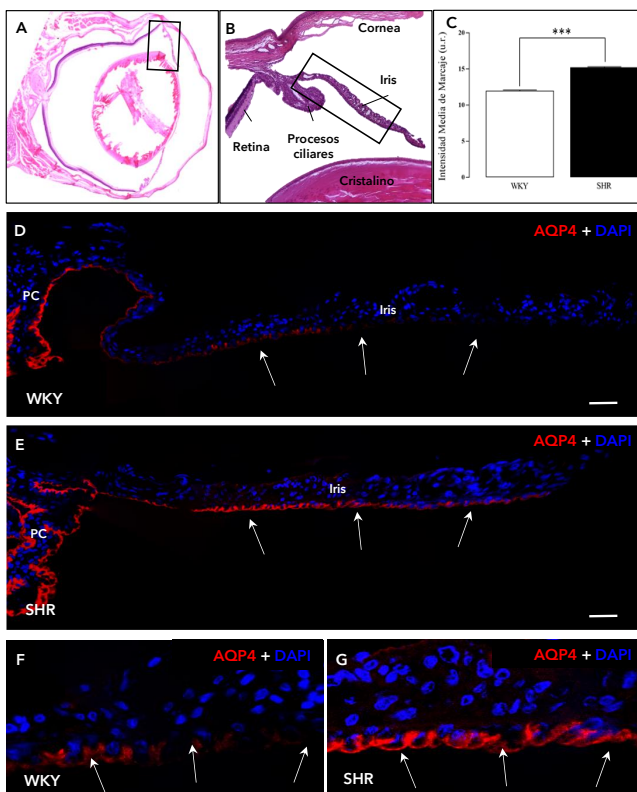


Figura R.2.5. AQP4 en iris. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación del iris (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo AQP4 en el iris (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Imágenes panorámicas que muestran el resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación del marcaje para WKY (F) y para SHR (G). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. PC: proceso ciliar; u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 50 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

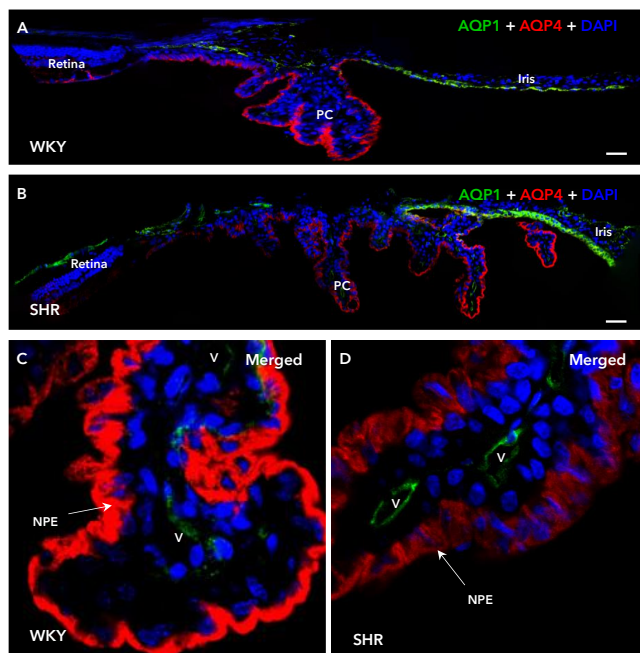


Figura R.2.6. AQP1-AQP4 en procesos ciliares. **A-B.** Imágenes panorámicas con el doble marcaje para AQP1 (Alexa 488) y AQP4 (CY3) en procesos en retina, procesos ciliares e iris para WKY (A) y SHR (B). **C-D.** Ampliación de los procesos ciliares con el doble marcaje AQP1 (vasos ciliares) y AQP4 (ENP) para WKY (C) y SHR (D). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. V: Vasos, u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 60µm.

78

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

106 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

106 / 228

Resultados

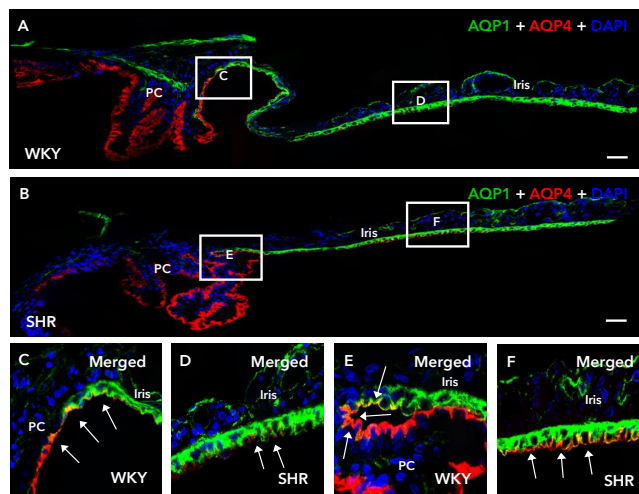


Figura R.2.7. Doble marcaje AQP1-AQP4 en iris. **A-B.** Imágenes panorámicas con el doble marcaje para AQP1 (Alexa 488) y AQP4 (CY3) en iris y procesos ciliares para WKY (A) y SHR (B). **C-F.** Ampliación del con el doble marcaje y la colocalización de AQP1 (EAI y EPI) y AQP4 (EPI) para WKY (C, D) y SHR (E, F). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. EAI: Epitelio anterior del iris; EPI: Epitelio posterior del iris; u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 60µm.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

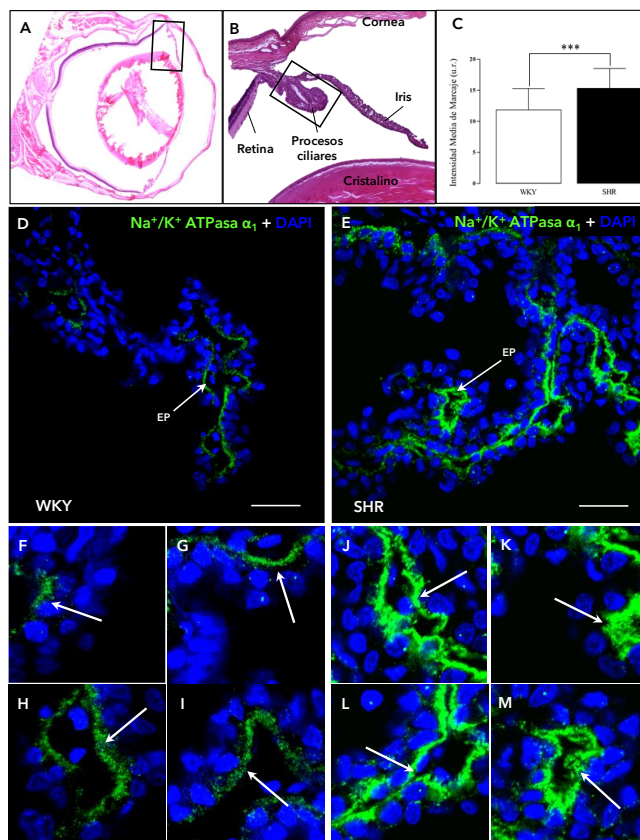


Figura R.2.8. Na^+/K^+ ATPasa α_1 en PC. **A-B.** Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de los PC (B). **C.** Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo Na^+/K^+ ATPasa α_1 en las células del EP de los PC (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). **D-E.** Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando el EP marcado tanto en WKY (D) como en SHR (E). **F-M.** Ampliación del EP marcado con inmunofluorescencia para WKY (F-I) y para SHR (J-M). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. EP: Epitelio pigmentado; u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: $30\mu\text{m}$.

80

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

108 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

108 / 228

Resultados

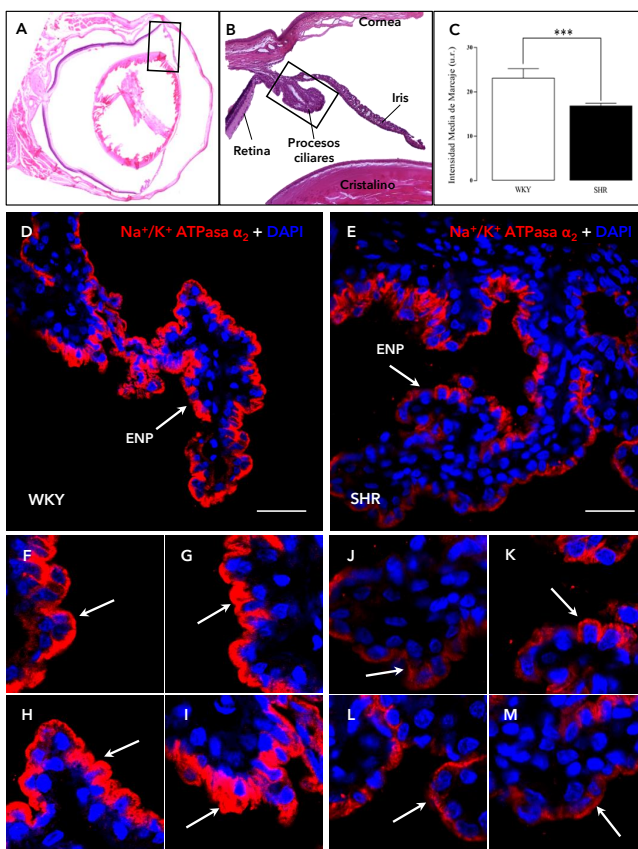


Figura R.2.9. Na^+/K^+ ATPasa α_2 en PC. **A-B.** Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de los PC (B). **C.** Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo Na^+/K^+ ATPasa α_2 en las células del ENP de los PC (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). **D-E.** Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando el ENP marcado tanto en WKY (D) como en SHR (E). **F-M.** Ampliación del EP marcado con inmunofluorescencia para WKY (F-I) y para SHR (J-M). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. ENP: Epitelio pigmentado; u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 30 μm .

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

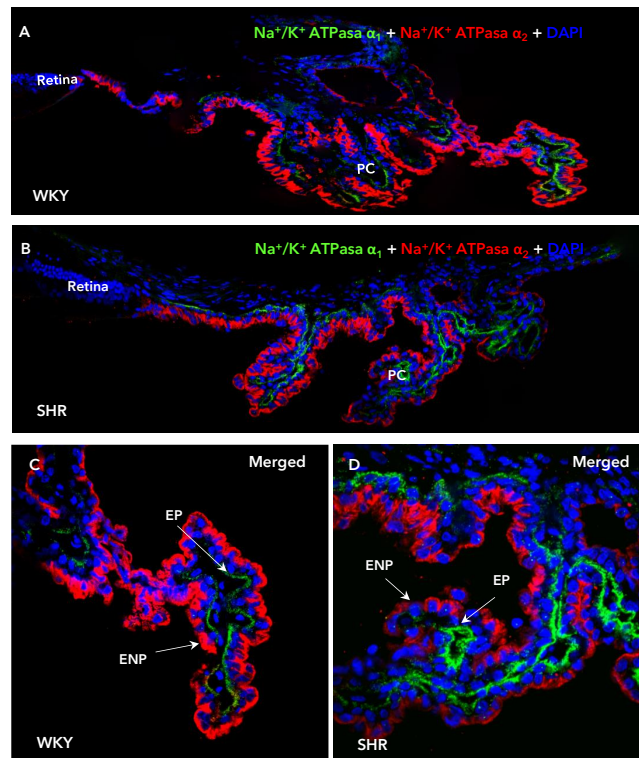


Figura R.2.10. Doble marcaje Na^+/K^+ ATPasa α_1 - Na^+/K^+ ATPasa α_2 en los PC. **A-B.** Imágenes panorámicas con el doble marcaje para Na^+/K^+ ATPasa α_1 (Alexa 488) y Na^+/K^+ ATPasa α_2 (CY3) en los PC WKY (A) y SHR (B). **C-D.** Ampliación de los procesos ciliares con el doble marcaje Na^+/K^+ ATPasa α_1 (EP) y Na^+/K^+ ATPasa α_2 (ENP) para WKY (C) y SHR (D). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. EP: Epitelio pigmentado; ENP: Epitelio no pigmentado; u.r.: Unidades Relativas.

82

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

110 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

110 / 228

Resultados

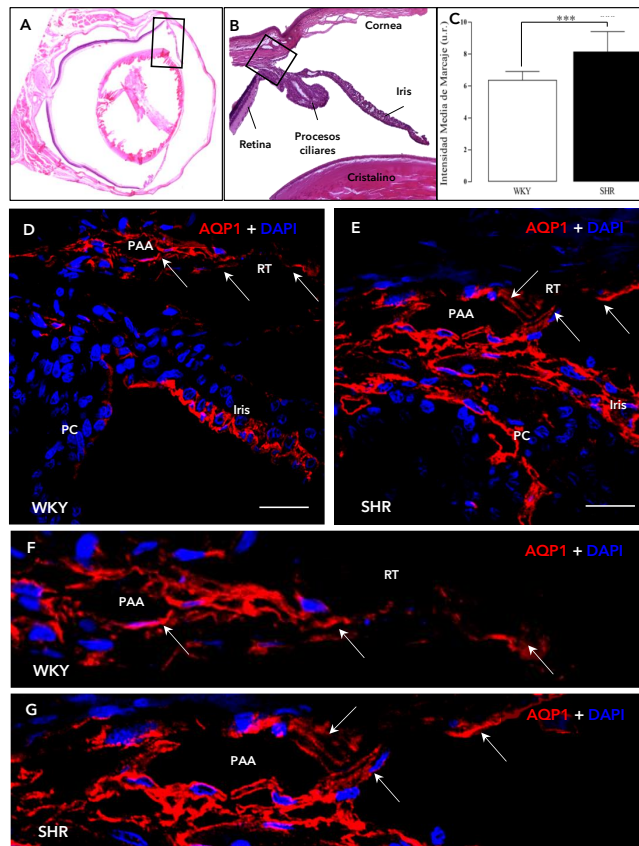


Figura R.2.11. AQP1 en red trabecular. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de la red trabecular (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo AQP1 en la red trabecular (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación del marcaje para WKY (F) y para SHR (G). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. PAA: Plexo acuoso angular; RT: Red trabecular; PC: proceso ciliar; u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.2 La HTA produce cambios en la producción, secreción y drenaje del HA

| Antígeno | Estructura | Variación con la HTA | p-valor |
|---|-----------------------|----------------------|-----------------|
| AQP1 | Vasos ciliares | ↑↑ | p-valor < 0.001 |
| AQP1 | Pars Plicata anterior | ↓ | p-valor < 0.01 |
| AQP1 | EAI/EPI | = | p-valor > 0.05 |
| AQP4 | ENP | ↓ | p-valor < 0.01 |
| AQP4 | EPI | ↑↑↑ | p-valor < 0.001 |
| Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α ₁ | EP | ↑ | p-valor < 0.01 |
| Na ⁺ /K ⁺ ATPasa α ₂ | ENP | ↓↓ | p-valor < 0.001 |
| AQP1 | Red Trabecular/PAA | ↓ | p-valor < 0.001 |

Tabla R.2. Resumen de resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser para los PC, iris y la red trabecular. En la tabla aparecen indicados los anticuerpos utilizados, las estructuras que presentaron marcaje en los PC, el iris y la red trabecular, el valor la variación con la HTA y los valores de significación. Se han dado valores (↑/↓) para variaciones de <5% de intensidad media de marcaje en ratas SHR respecto a ratas WKY; (↑↑/↓↓) para variaciones entre 10-5%; (↑↑↑/↓↓↓) para cambios entre 20-10%; (↑↑↑↑/↓↓↓↓) para alteraciones >20%; (=) para los casos que no existen variaciones significativas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.3

Resultados

La HTA produce una alteración de la BHRi y de la unidad neurovascular en la retina

R.3.1 Estudio de las proteínas que intervienen en la homeostasis de la retina

R.3.1.1 GLUT1 en el endotelio de la BHRi

GLUT1 se detectó mediante inmunofluorescencia en la retina. En los experimentos realizados con GLUT1 en las muestras se detectó en el endotelio de los vasos de la BHRi (Fig.R.3.1 D-G). El análisis de las imágenes de microscopía confocal de barrido láser para la expresión de GLUT1 en los vasos retinales reveló que las ratas SHR (27.98 ± 1.6) presentaron niveles de inmunofluorescencia superiores a las ratas WKY (14.91 ± 1.2) (Fig.R.3.1 C). El análisis estadístico de la intensidad media de marcaje mediante un T-student para muestras independientes reveló diferencias significativas en la localización de GLUT1 con un valor de significación de $p < 0.001$ (Fig.R.3.1 C).

R.3.1.2 AQP4 en las células gliales de la retina

En ambos grupos experimentales se detectó marcaje de inmunofluorescencia para AQP4 en las células de Müller de la retina (Fig.R.3.2 C, D). La expresión se localizó en la CCG, (Fig.R.3.2 E, F) y en la CNI, en los pies de las células de Müller, rodeando a los vasos retinales, (Fig.R.3.2 G, H). En el caso de las ratas SHR, la expresión de AQP4 fue superior en ambas localizaciones. En la CCG, los valores de AQP4 en las ratas SHR fueron 71.28 ± 2.4 mientras que para

85

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

113 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

113 / 228

R.3 La HTA produce una alteración de la BHRi y de la unidad neurovascular en la retina

las ratas WKY fueron 30.11 ± 3.9 (Fig.R.3.2 I). En la CNI SHR reveló unos valores de 43.72 ± 3.8 frente a las ratas WKY 21.12 ± 2.1 (Fig.R.3.2 J). El análisis estadístico de los datos reveló que las diferencias fueron significativas para ambas localizaciones tras realizar una prueba T-student para muestras independientes con un valor de significación $p < 0.001$ (Fig.R.3.2 I, J).

La presencia de GLUT1 y AQP4 en la BHRi ha sido descrita con anterioridad; GLUT1 se detectó en el endotelio de los vasos retinales, (Fig.R.3.1 D-G). Por otro lado, AQP4 se expresó en los pies de las células de Müller, rodeando a los vasos de la retina (Fig.R.3.2 C, D y G, H). Se observó la presencia de co-localización de GLUT1 con AQP4 en el área de unión de ambas estructuras en los 2 grupos de ratas, sin embargo, esta co-localización fue mayor en las ratas hipertensas (Fig.R.3.3 A, B). Además, se produjo tanto un aumento de la cantidad de GLUT1 y AQP4 en la BHRi de las ratas SHR en comparación con las ratas WKY (Fig.R.3.2 C-F).

R.3.1.3 GFAP en las células gliales de la retina

Se analizó la presencia de GFAP en la BHRi. En las muestras examinadas la expresión de GFAP se localizó principalmente en las células gliales de la retina en las ratas control (Fig.R.3.4 D, F). No obstante, en la rata hipertensa se observó también señal de inmunofluorescencia en la CPI y la CNE, siguiendo el recorrido de las células de Müller (Fig.R.3.4 E, G). Los resultados de la cuantificación de la expresión revelaron un aumento de la presencia de GFAP en las ratas SHR (48.18 ± 1.6), respecto a la rata WKY (29.33 ± 1.5) (Fig.R.3.4 C). El análisis estadístico mostró diferencias significativas cuando se aplicó un análisis T-student para muestras independientes con un p-valor < 0.001 (Fig.R.3.4 C).

86

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

114 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

114 / 228

Resultados

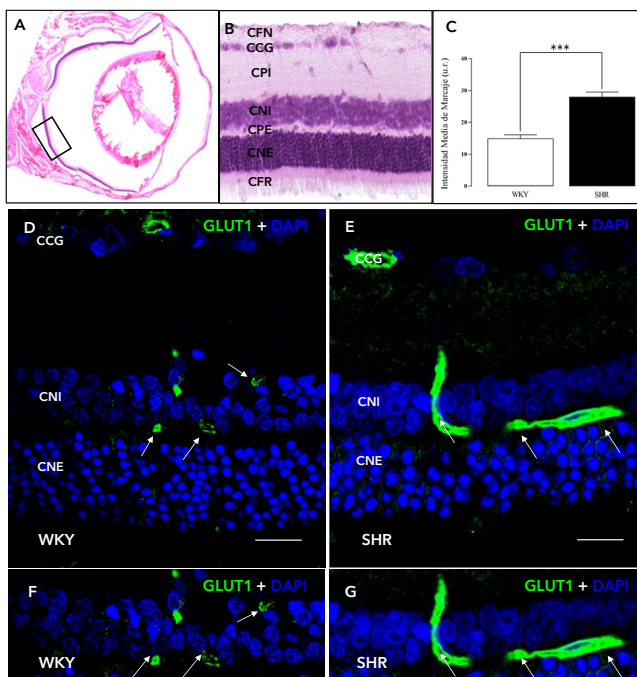


Figura R.3.1. GLUT1 en la BHR. **A-B.** Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de la retina indicando las capas de la retina (B). **C.** Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo GLUT1 en la CPE y CCG de la retina (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). **D-E.** Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando la zona de la CPE y la CCG marcada tanto en WKY (D) como en SHR (E). **F-G.** Ampliación de las capas marcadas con inmunofluorescencia para WKY (F) y para SHR (G). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. CFN: Capa de Fibras Nerviosas, CCG: Capa de Células Ganglionares, CPI: Capa plexiforme interna, CNI: Capa Nuclear Interna, CPE: Capa Plexiforme Externa, CNE: Capa Nuclear Externa, CFR: Capa de fotorreceptores; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

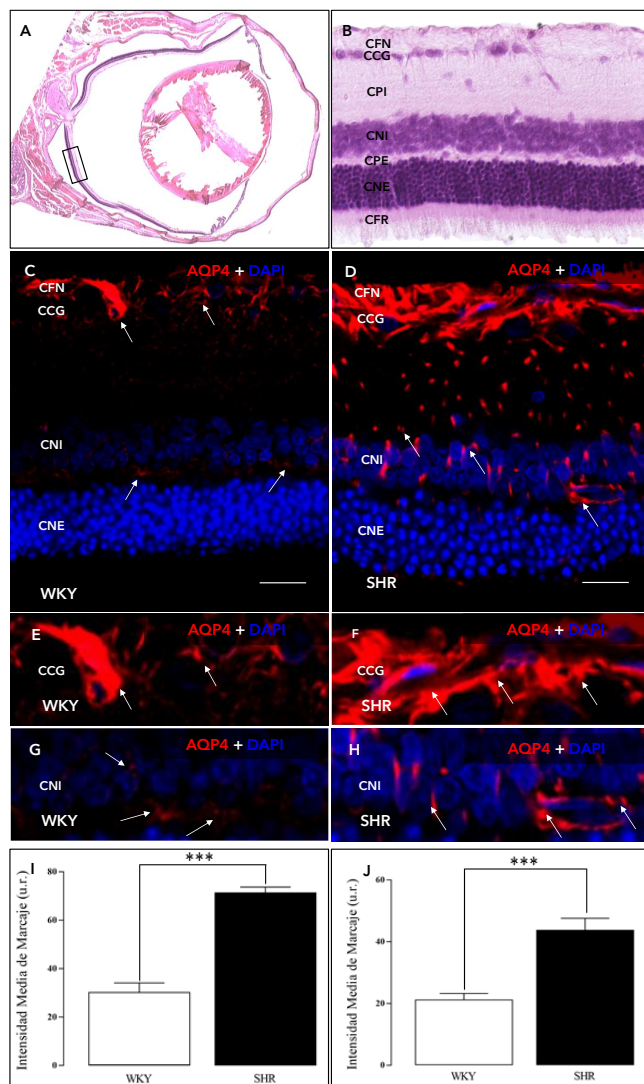
Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.3 La HTA produce una alteración de la BHRi y de la unidad neurovascular en la retina



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Resultados

Figura R.3.2. AQP4 en retina. **A-B.** Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de la retina indicando las capas de la retina (B). **C-D.** Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando las células gliales de la CCG, CPI, CNE y la CPE marcada con el anticuerpo AQP4 tanto en WKY (C) como en SHR (D). **E-H.** Ampliación de las capas marcadas con inmunofluorescencia para WKY (E, G) y para SHR (F, H). **I-J.** Histogramas que muestran los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para AQP4 en la CCG (I), y BHRi (J) de la retina (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. CFN: Capa de Fibras Nerviosas, CCG: Capa de Células Ganglionares, CPI: Capa plexiforme interna, CNI: Capa Nuclear Interna, CPE: Capa Plexiforme Externa, CNE: Capa Nuclear Externa, CFR: Capa de fotorreceptores; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 30 μ m.

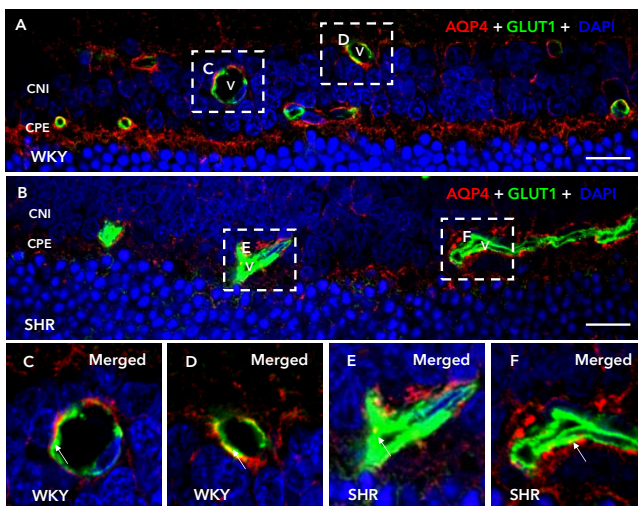


Figura R.3.3. Doble marcaje GLUT1-AQP4 en retina. **A-B.** Imágenes panorámicas con el doble marcaje para GLUT1 (Alexa 488) y AQP4 (CY3) en retina para WKY (A) y SHR (B). **C-F.** Ampliación del con el doble marcaje y la colocalización de GLUT1 (vasos retinales) y AQP4 (Células Müller) para WKY (C, D) y SHR (E, F). Las flechas blancas indican zonas de colocalización. CNI: Capa Nuclear Interna; CPE: Capa Plexiforme Externa; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

R.3 La HTA produce una alteración de la BHRi y de la unidad neurovascular en la retina

R.3.1.4 Vimentina en las células gliales de la retina

En los tejidos analizados la vimentina se localizó en las células de Müller, detectándose en la CCG, en la CNI y en CPI en ratas normotensas e hipertensas (Fig.R.3.5 D-I). La cuantificación de los niveles de expresión de vimentina reveló valores muy similares entre las ratas control y las hipertensas (WKY: 20.41 ± 1.4 ; SHR: 21.52 ± 0.9) (Fig.R.3.5 C). De forma general, el análisis estadístico no detectó diferencias significativas entre ambos grupos experimentales (T-student; p-valor > 0.05) (Fig.R.3.5 C). Pese a no detectarse diferencias significativas, se aprecian diferencias en los patrones de expresión; en ratas WKY la vimentina se localiza mayoritariamente en las CCG, con una expresión menor en la CNI y la BHRi (Fig.R.3.5 D, F, H), mientras, en las ratas SHR los niveles de la CCG disminuye, aumentado los niveles en la BHRi y en la CNI, llegándose a detectar incluso en la CNE (Fig.R.3.5 E, G, I).

90

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

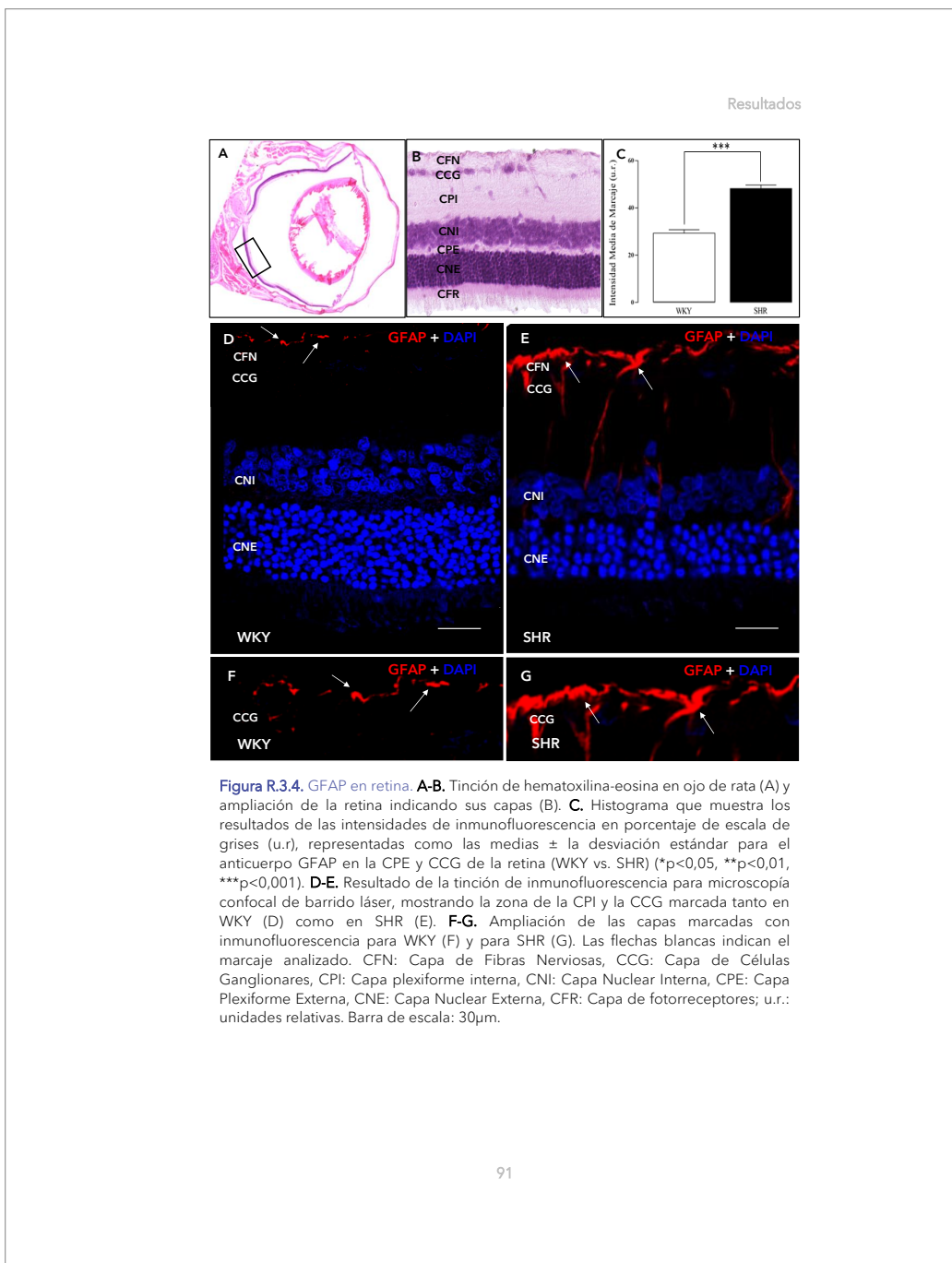
118 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

118 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo Fecha: 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguiar Fecha: 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.3 La HTA produce una alteración de la BHRi y de la unidad neurovascular en la retina

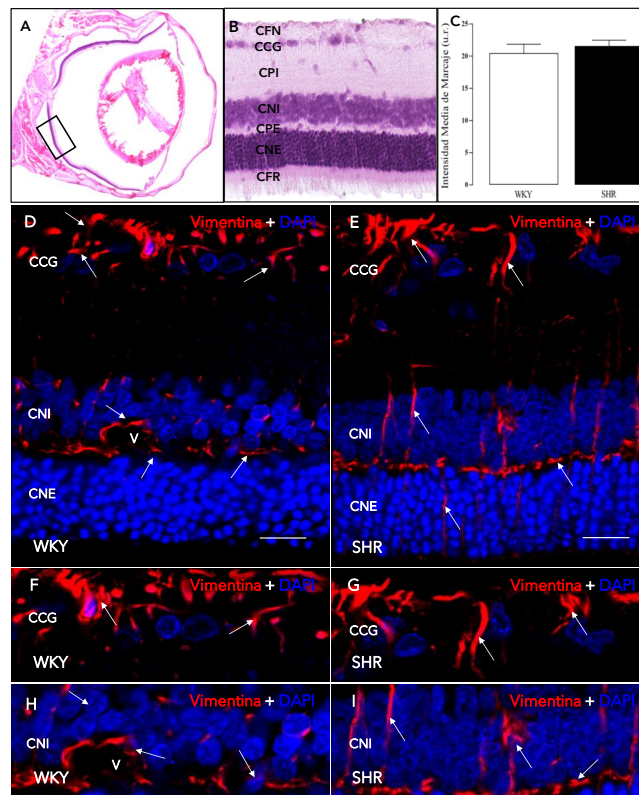


Figura R.3.5. Vimentina en retina. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de la retina sus capas (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo vimentina en la CCG, CPI, CNI y CPE de la retina (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando la zona marcada tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-I. Ampliación de la CCG, CNI y CPE marcadas con inmunofluorescencia para WKY (F, H) y para SHR (G, I). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. CFN: Capa de Fibras Nerviosas, CCG: Capa de Células Ganglionares, CPI: Capa plexiforme interna, CNI: Capa Nuclear Interna, CPE: Capa Plexiforme Externa, CNE: Capa Nuclear Externa, CFR: Capa de fotorreceptores; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Resultados

| Antígeno | Estructura | Variación con la HTA | Valor de significación |
|-----------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| AQP4 | Cel. Müller/Astrocyto | ↑↑↑ | p-valor < 0,001 |
| GFAP | Cel. Müller/Astrocyto | ↑↑ | p-valor < 0,001 |
| GLUT1 | Vasos Retinales | ↑↑ | p-valor < 0,001 |
| Vimentina | Cel. Müller/Astrocyto | = | p-valor > 0,05 |

Tabla R.3. Resumen de resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser en la retina. En la tabla aparecen indicados los anticuerpos utilizados, las estructuras y que presentaron marcaje en la retina, el valor la variación con la HTA y los valores de significación. Se han dado valores (↑/↓) para variaciones de <5% de intensidad media de marcaje en ratas SHR respecto a ratas WKY; (↑↑/↓↓) para variaciones entre 10-5%; (↑↑↑/↓↓↓) para cambios entre 20-10%; (↑↑↑↑/↓↓↓↓) para alteraciones >20%; (=) para los casos que no existen variaciones significativas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

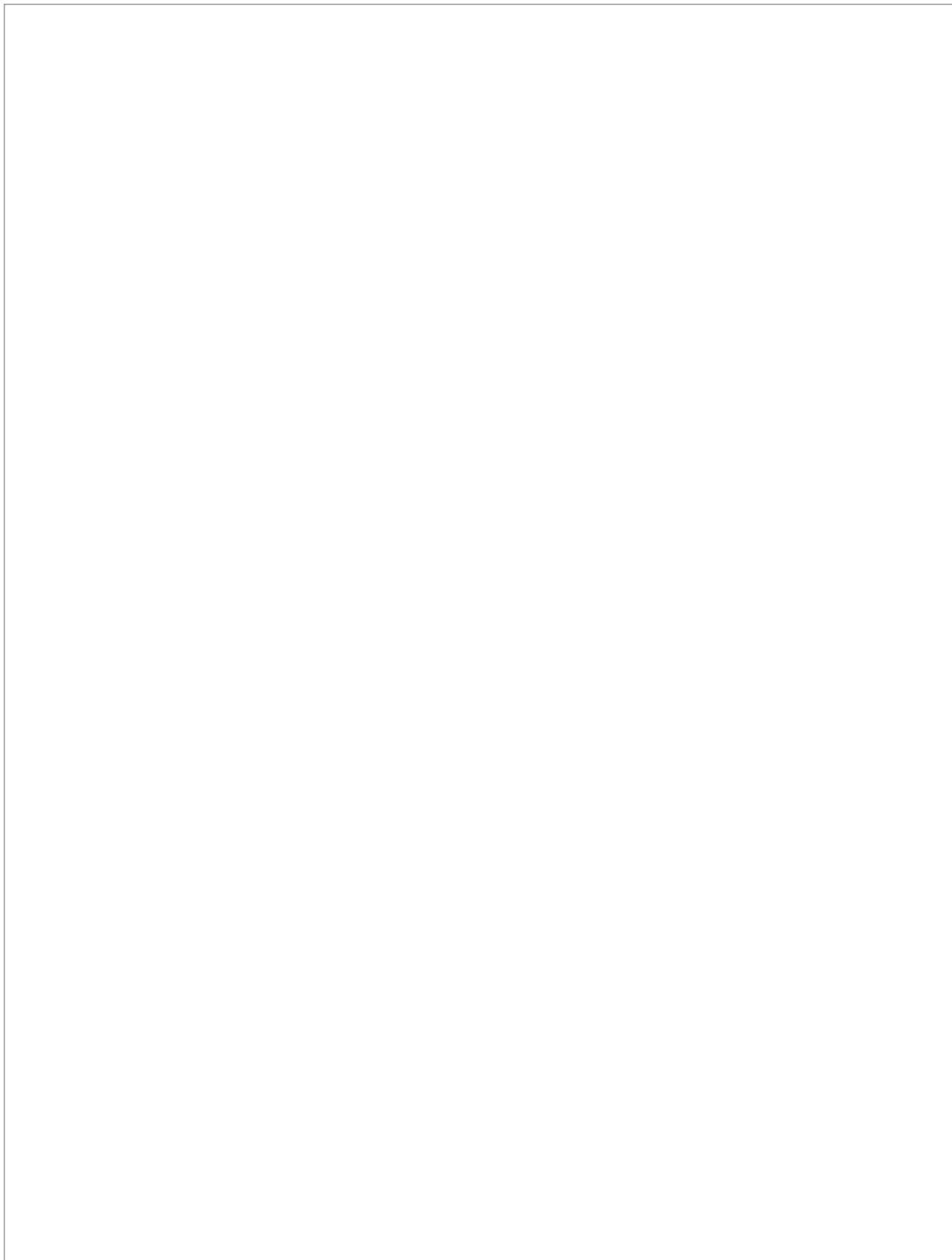
Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

122 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

122 / 228

R.4

Resultados

La HTA produce cambios en la estructura del nervio óptico

R4.1 Estudio de la mielinización y de las células gliales

R4.1.1 Mielina en el nervio óptico

En las ratas control, las tinciones de inmunofluorescencia realizados sobre un corte transversal de nervio óptico revelaron que la mielina se localiza de manera homogénea, siendo posible diferenciar los distintos paquetes nerviosos en las muestras de nervio óptico (Fig.R.4.1 D, F). En las ratas SHR se observa una pérdida de señal de mielina y una desorganización de la mielina en toda la parte central del nervio, mientras, en los bordes la señal se mantiene (Fig.R.4.1 E, G). El análisis de las imágenes reveló que las ratas SHR presentaron una disminución de la señal de inmunofluorescencia (25.63 ± 2.3) frente a las ratas WKY (46.71 ± 2.1) (Fig.R.4.1 C). El análisis estadístico de la intensidad media de marcaje tras realizar un T-student para muestras independientes reveló diferencias significativas en la expresión de mielina con un valor de significación de $p < 0.001$ (Fig.R.4.1 C).

R4.1.2 GFAP en el nervio óptico

Se analizó la expresión de GFAP en el nervio óptico. En las muestras examinadas la expresión de GFAP fue detectada en el nervio óptico en ambos animales experimentales (Fig.R.4.2 D-G). Los resultados de la cuantificación de la expresión revelaron una disminución de la expresión de GFAP en las ratas SHR (31.46 ± 1.1) respecto a la rata WKY (48.29 ± 2.95), determinadas mediante

95

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

123 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

123 / 228

R.4 La HTA produce cambios en la estructura del nervio óptico

microscopía confocal de barrido láser (Fig.R.4.2 C). El análisis estadístico mostró diferencias significativas cuando se aplicó un análisis T-student para muestras independientes con un p-valor<0.001 (Fig.R.4.2 C).

R4.1.3 AQP4 en el nervio óptico

La AQP4 está presente en los astrocitos en el nervio óptico. En los cortes transversales de nervio óptico analizados se observa la presencia de AQP4 tanto en las ratas SHR como en las WKY (Fig.R.4.3 D, G). La intensidad media de marcaje mostró una disminución del marcaje de inmunofluorescencia en ratas hipertensas (33.35 ± 1.26) respecto a las ratas normotensas control (50.07 ± 1.1) (Fig.R.4.3 C). Como resultado de la comparación estadística de la intensidad media de marcaje, entre ambos grupos estudiados, se obtuvieron diferencias significativas tras aplicar un análisis T-student para muestras independientes con un p-valor<0.001 (Fig.R.4.3 C).

96

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

124 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

124 / 228

Resultados

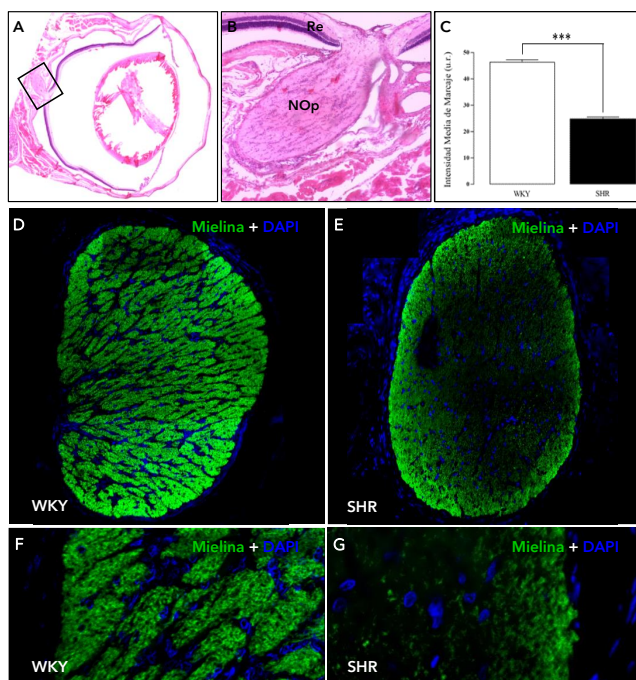


Figura R.4.1. Mielina en nervio óptico. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación del nervio óptico (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo proteína básica de mielina en un corte transversal de nervio óptico (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando la zona marcada tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación del marcaje con inmunofluorescencia para WKY (F) y para SHR (G). Re: Retina; Nop: Nervio óptico; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 60 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.4 La HTA produce cambios en la estructura del nervio óptico

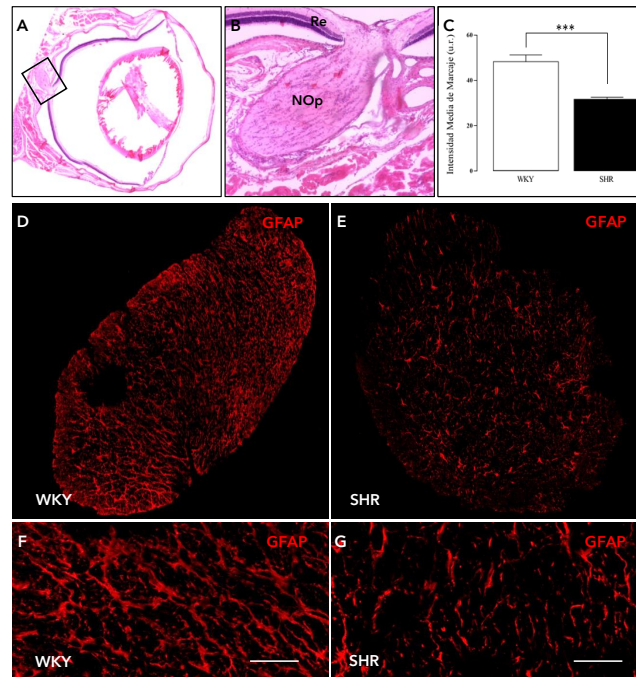


Figura R.4.2. GFAP en nervio óptico. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación del nervio óptico (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo GFAP en un corte transversal de nervio óptico (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando la zona marcada tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación del marcaje con inmunofluorescencia para WKY (F) y para SHR (G). Re: Retina; Nop: Nervio óptico; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 60 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Resultados

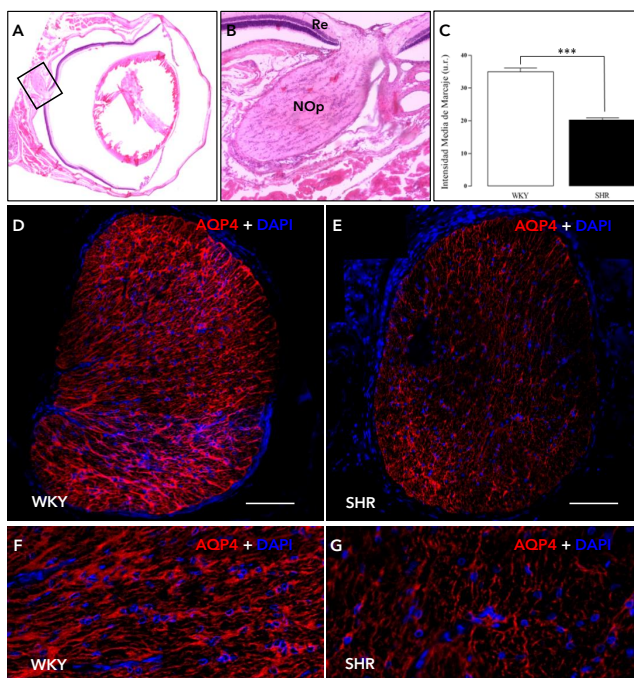


Figura R.4.3. AQP4 en nervio óptico. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación del nervio óptico (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo AQP4 en un corte transversal de nervio óptico (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando la zona marcada tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación del marcaje con inmunofluorescencia para WKY (F) y para SHR (G). Re: Retina; Nop: Nervio óptico; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 60 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo Fecha: 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár Fecha: 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.4 La HTA produce cambios en la estructura del nervio óptico

| Antígeno | Estructura | Variación con la HTA | Valor de significación |
|----------|---------------|----------------------|------------------------|
| GFAP | Nervio Óptico | ↓↓↓ | p-valor < 0,001 |
| Mielina | Nervio Óptico | ↓↓↓ | p-valor < 0,001 |
| AQP4 | Nervio Óptico | ↓↓↓ | p-valor < 0,001 |

Tabla R.4. Resumen resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser en el nervio óptico. En la tabla aparecen indicados los anticuerpos utilizados, las estructuras que presentaron marcaje en el nervio óptico, el valor la variación con la HTA y los valores de significación. Se han dado valores (↑/↓) para variaciones de <5% de intensidad media de marcaje en ratas SHR respecto a ratas WKY; (↑↑/↓↓) para variaciones entre 10-5%; (↑↑↑/↓↓↓) para cambios entre 20-10%; (↑↑↑↑/↓↓↓↓) para alteraciones >20%; (=) para los casos que no existen variaciones significativas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.5

Resultados

HTA y procesos de envejecimiento

En la retina y en los PC se estudiaron proteínas y sustancias relacionadas con el envejecimiento como el RAGE, implicada en procesos inflamatorios y degenerativos, el Klotho, implicado en el envejecimiento y los AGEs, productos de glicación avanzada relacionados con el envejecimiento y estrés oxidativo.

R5.1 Estudio de RAGE y Klotho en los PC

R5.1.1 RAGE en los PC

En ambos grupos experimentales se detectó marcaje de inmunofluorescencia para RAGE en los procesos ciliares (Fig.R.5.1 D, E). El análisis de las imágenes mostró un marcaje de la membrana basolateral del ENP en el extremo distal de los procesos ciliares en ratas WKY (Fig.R.5.1 F-I), sin embargo, en SHR se obtuvo un marcaje que se extendía por las membranas apical y basolateral del ENP, además de observarse señal en el citoplasma de las células de este epitelio (Fig.R.5.1 J-M). La cuantificación del marcaje en SHR reveló un aumento de expresión de RAGE (15.4 ± 0.8) frente a las ratas control (9.85 ± 0.4) (Fig.R.5.1 C). El análisis estadístico de la intensidad media de marcaje presentó diferencias significativas al realizar una prueba no paramétrica (Distribución no normal; U Mann-Whitney) para muestras independientes con una $p < 0.001$ (Fig.R.5.1 C).

101

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

129 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

129 / 228

R.5 HTA y procesos de envejecimiento

R5.1.2 Klotho en los PC

Analizamos el marcaje de Klotho en los PC. Las imágenes obtenidas por microscopía confocal de barrido láser muestran que Klotho se localiza en ambos epitelios ciliares (Fig.R.5.2 D-E). En las ampliaciones se observa que el marcaje se presenta en ambas membranas (apical y basolateral) y en el citoplasma, siendo en SHR más difuso (Fig.R.5.2 F-M). La intensidad media de marcaje presentó una disminución en SHR (17.98 ± 0.6) frente a las ratas WKY (32.28 ± 2.7) (Fig.R.5.2 C). El análisis estadístico mostró diferencias significativas cuando se aplicó un análisis T-student para muestras independientes con un p-valor < 0.001 (Fig.R.5.2 C).

R5.2 Estudio de AGE y RAGE en la retina

R5.2.1 AGE en la retina

La presencia de vimentina en la BHRi se analizó mediante microscopía confocal de barrido láser. En la rata WKY los niveles de expresión de AGE fueron bajos y no estaba presente en todos los vasos (Fig.R.5.3 D-E). En la rata hipertensa se detectó la presencia del marcador en todos los vasos y se observó un aumento de los niveles de expresión de AGE en la BHRi (Fig.R.5.3 G-I). La cuantificación de AGE mostró un aumento de la intensidad media de marcaje en las ratas SHR (9.51 ± 0.43) respecto a las ratas WKY (3.7 ± 0.33) (Fig.R.5.3 C). El análisis estadístico mostró diferencias significativas tras un análisis T-student para muestras independientes con un p-valor < 0.001 (Fig.R.5.3 C).

102

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

130 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

130 / 228

Resultados

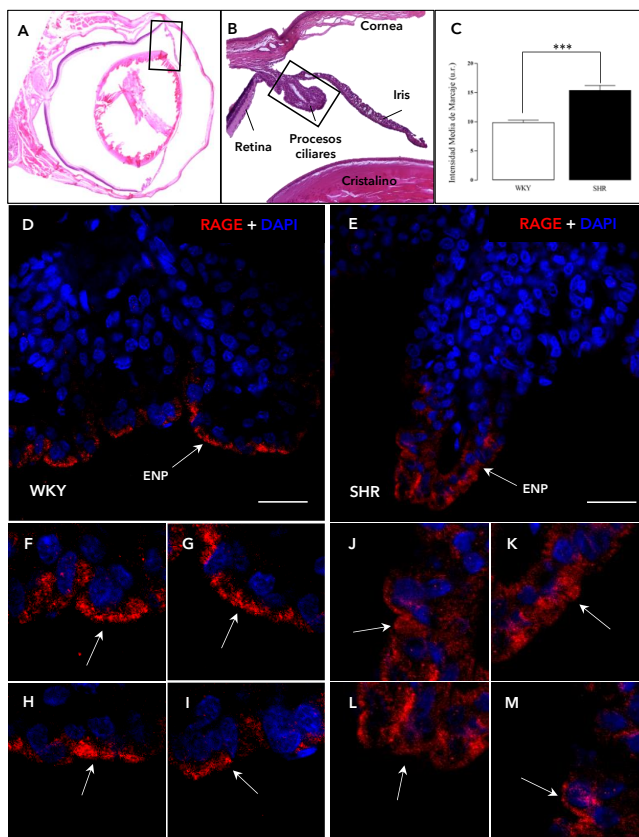


Figura R.5.1. RAGE en PC. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de los PC e iris (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo RAGE en los PC (WKY vs. SHR), (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando la señal tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-M. Ampliación del marcaje para WKY (F-I) y para SHR (J-M). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. ENP: Epitelio no pigmentado; u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 30 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.5 HTA y procesos de envejecimiento

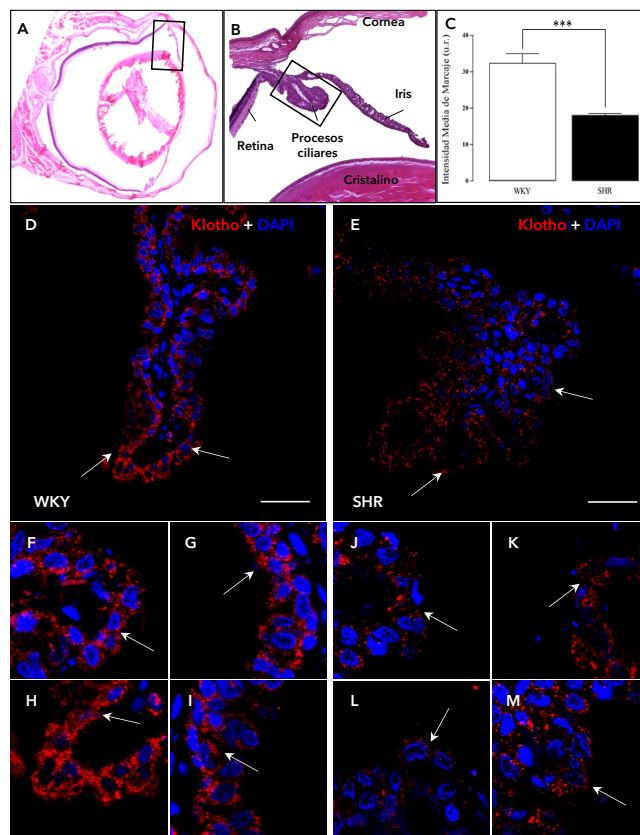


Figura R.5.2. Klotho en PC. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de los PC e iris (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo Klotho en los PC (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando el EP marcado tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-M. Ampliación del marcaje para WKY (F-I) y para SHR (J-M). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. u.r.: Unidades Relativas. Barra de escala: 30µm.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Resultados

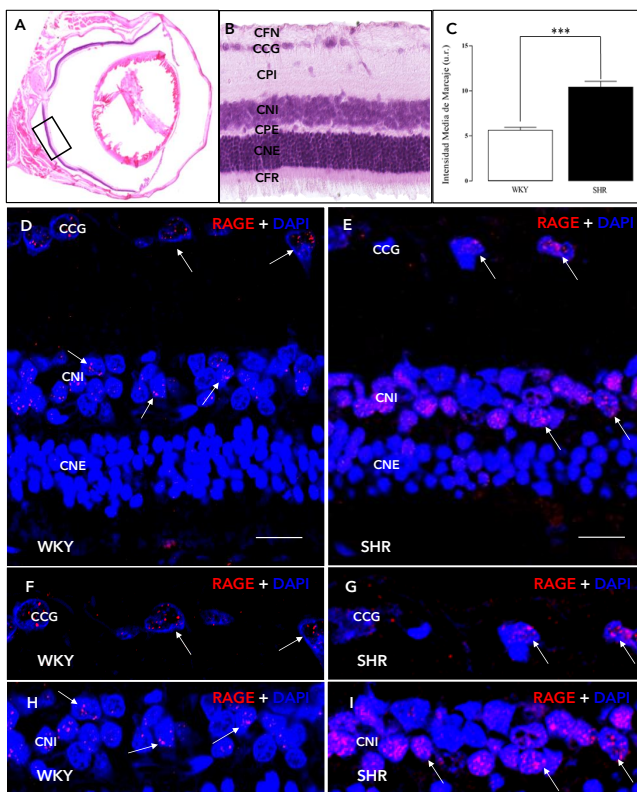


Figura R.5.3. RAGE en retina. A-B. Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de la retina indicando sus capas (B). C. Histograma que muestra los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para el anticuerpo RAGE en la CNI y CCG de la retina (WKY vs. SHR) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). D-E. Resultado de la tinción de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser, mostrando la zona de la CNI y la CCG marcada tanto en WKY (D) como en SHR (E). F-G. Ampliación de las capas marcadas con inmunofluorescencia para WKY (F) y para SHR (G). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. CFN: Capa de Fibras Nerviosas, CCG: Capa de Células Ganglionares, CPI: Capa plexiforme interna, CNI: Capa Nuclear Interna, CPE: Capa Plexiforme Externa, CNE: Capa Nuclear Externa, CFR: Capa de fotorreceptores; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 15 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

R.5 HTA y procesos de envejecimiento

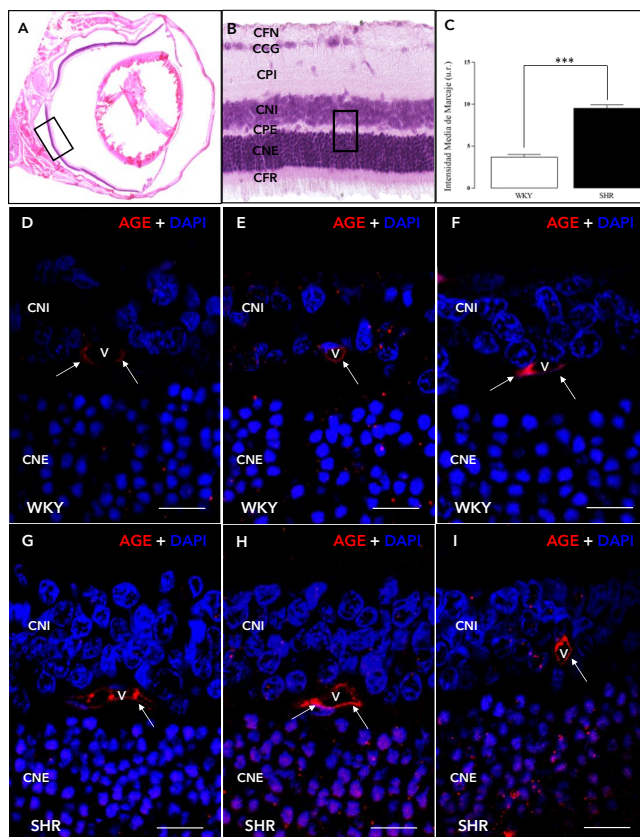


Figura R.5.4. AGE en retina. **A-B.** Tinción de hematoxilina-eosina en ojo de rata (A) y ampliación de la retina indicando sus capas. El recuadro marca la zona estudiada (B). **C.** Histograma de los resultados de las intensidades de inmunofluorescencia en porcentaje de escala de grises (u.r.), representadas como las medias \pm la desviación estándar para AGE en la retina (WKY vs. SHR) (** $p < 0,001$). **D-I.** Resultado de la tinción de inmunofluorescencia, mostrando la zona marcada tanto en WKY (D-F) como en SHR (G-I). Las flechas blancas indican el marcaje analizado. CFN: Capa de Fibras Nerviosas, CCG: Capa de Células Ganglionares, CPI: Capa plexiforme interna, CNI: Capa Nuclear Interna, CPE: Capa Plexiforme Externa, CNE: Capa Nuclear Externa, CFR: Capa de fotorreceptores; V: vaso; u.r.: unidades relativas. Barra de escala: 15 μ m.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Resultados

R5.2.2 RAGE en la retina

Se detectó RAGE en la retina mediante microscopía confocal de barrido láser. En nuestros experimentos el RAGE se localizó en las células de Müller en la CNE y en la CCG, (Fig.R.5.4 D-I) existiendo un aumento del marcaje en SHR (10.42±0.6) respecto a las ratas normotensas (5.62±0.3) (Fig.R.5.4 C). El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante una prueba T-student para muestras independientes, revelando la existencia de diferencias significativas entre ambos grupos experimentales con un p-valor<0.001 (Fig.R.5.4 C).

| Antígeno | Estructura | Variación con la HTA | Valor de significación |
|----------|-------------|----------------------|------------------------|
| RAGE | ENP | ↑↑ | p-valor < 0.001 |
| Klotho | ENP /EP | ↓↓↓ | p-valor < 0.001 |
| RAGE | Cel. Müller | ↑ | p-valor < 0,01 |
| AGE | BHRi | ↑↑ | p-valor < 0,01 |

Tabla R.5. Resumen de resultados obtenidos a partir de la técnica de inmunofluorescencia para microscopía confocal de barrido láser en los PC y la retina.

En la tabla aparecen indicados los anticuerpos utilizados, las estructuras que presentaron marcaje en los procesos ciliares y la retina, el valor la variación con la HTA y los valores de significación. Se han dado valores (↑/↓) para variaciones de <5% de intensidad media de marcaje en ratas SHR respecto a ratas WKY; (↑↑/↓↓) para variaciones entre 10-5%; (↑↑↑/↓↓↓) para cambios entre 20-10%; (↑↑↑↑/↓↓↓↓) para alteraciones >20%; (=) para los casos que no existen variaciones significativas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

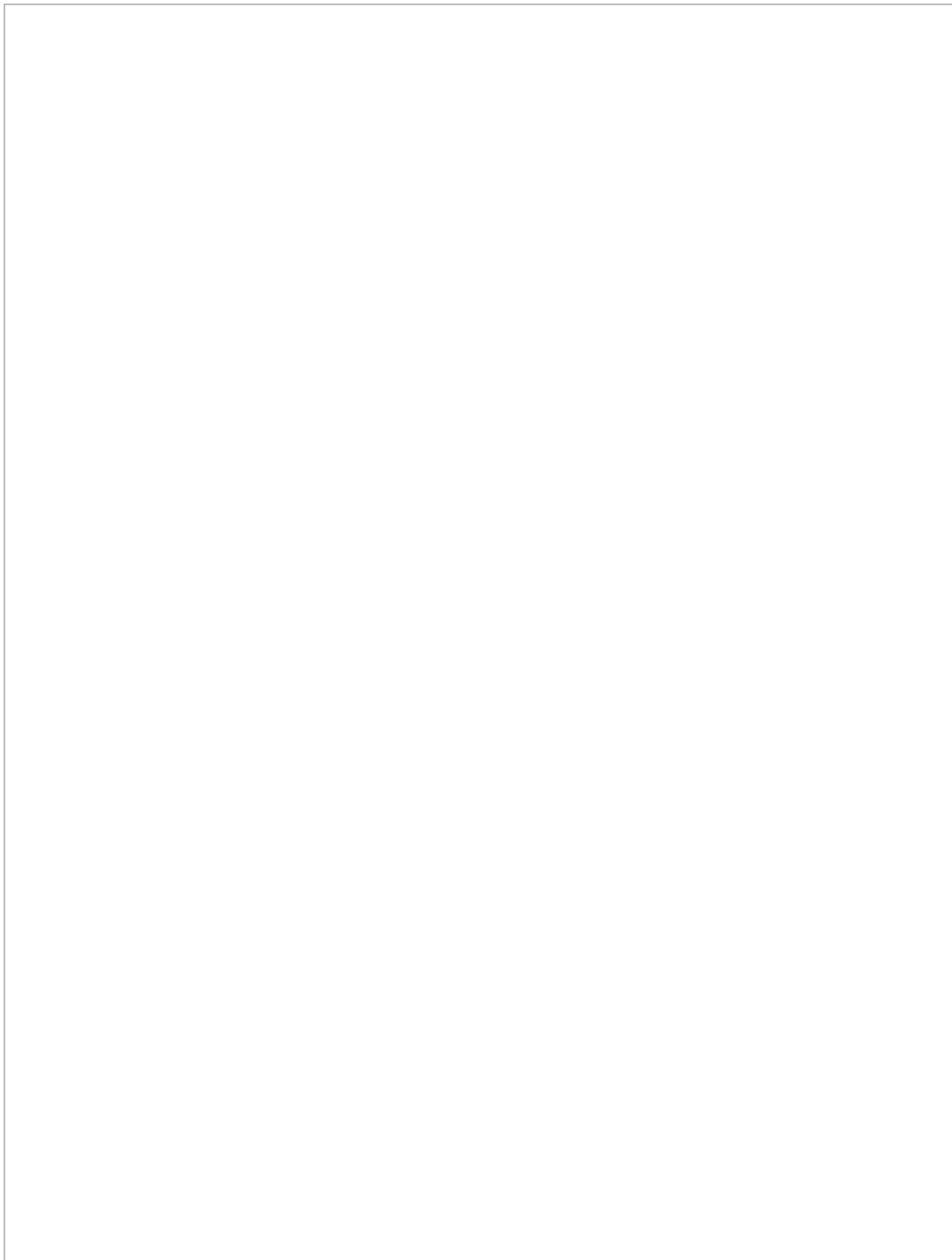
Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

136 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

Discusión

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

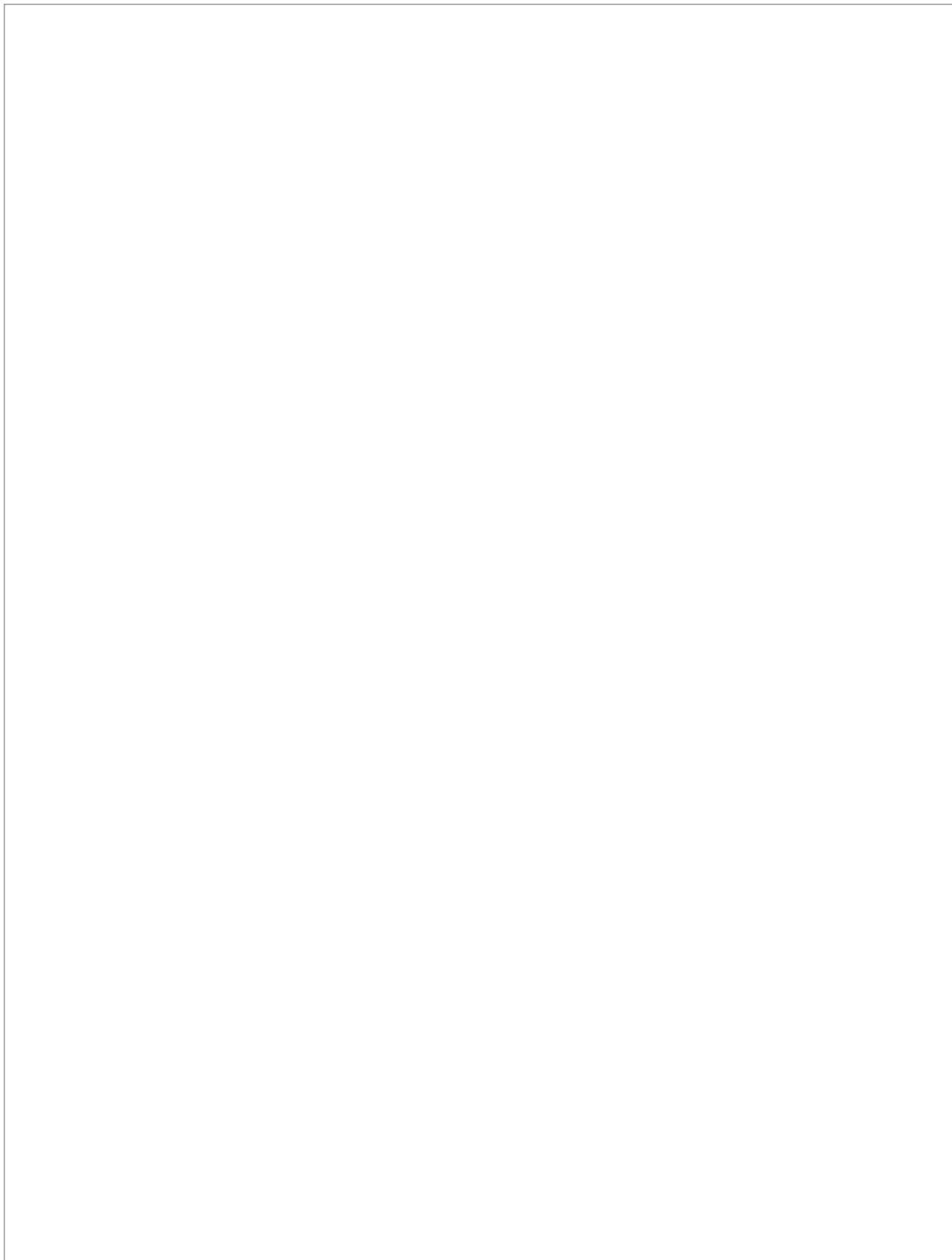
137 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

137 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

138 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

D1

Discusión

Introducción

La HTA es considerada responsable de entre 8 y 5 millones de muertes prematuras por accidente cerebrovascular, cardiopatía isquémica, enfermedades vasculares, enfermedades renales en todo el mundo^{145,146}. Según un estudio realizado por el NCD Risk Factor Collaboration, la cantidad de personas adultas entre los 30 y los 79 años que desarrollan HTA se ha duplicado en los últimos 30 años, pasando de 650 millones a 1280 millones personas. El mismo estudio indica que más de la mitad de las personas diagnosticadas no recibían el tratamiento adecuado¹⁴⁷, lo que indica una alta prevalencia de la HTA sostenida o no tratada a largo plazo. La HTA sostenida también ha sido relacionada con daños histológicos y cambios en la fisiología de los vasos sanguíneos y de las barreras celulares^{135,148,149}.

Un aspecto clave para un correcto funcionamiento ocular debe ser mantener un equilibrio en el balance acuático entre los distintos compartimentos, así como conservar la integridad de las barreras epiteliales (BSHA y BHRs), y de otras estructuras con importantes funciones fisiológicas (nutrición, oxigenación y eliminación de productos de desecho, transducción de la señal visual).

La HTA se ha relacionado con multitud de patologías oculares (RD, RH, GPAA, DM, NOH, OVCR y OACR).

En esta tesis doctoral se ha optado por realizar un estudio que engloba múltiples estructuras oculares de un mismo modelo animal que permite comprobar el efecto de la HTA sostenida sobre los PC, el iris, la red trabecular, la retina y el nervio óptico mediante un modelo animal que desarrolla HTA de

111

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

139 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

139 / 228

D.1 Introducción

manera espontánea para determinar en qué forma puede verse afectada la fisiología y el correcto funcionamiento del ojo.

112

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

140 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

140 / 228

D.2

Discusión

El modelo experimental SHR presenta un aumento significativo de la presión arterial y una disminución del peso corporal

Previo a su sacrificio, ambos grupos de animales experimentales fueron anestesiados y se les tomaron datos de la PAS, la PAD y el peso corporal. El hidrato cloral, utilizado como anestésico, es un sedativo hipnótico no barbitúrico que en dosis bajas produce relajación muscular y sedación con poca depresión en el sistema cardiorrespiratorio¹⁵⁰.

Como se detalló en los resultados, las ratas SHR presentaron un peso corporal inferior a las ratas WKY, siendo esta diferencia de 34 g. de media. El análisis estadístico de los datos reveló diferencias significativas cuando se realizó una prueba T-student para muestras independientes (p -valor <0.05). Estos datos concuerdan con datos previos de nuestro equipo¹⁵¹.

La medición de la PAS a nivel de la cola de las ratas reportó un valor medio de 179 mmHg para SHR y 131 mmHg para WKY a los 6 meses. Al ser analizados estadísticamente estos valores presentaron diferencias significativas a realizar una prueba T-student para muestras independientes con un p -valor <0.05 . Ambos resultados concuerdan con los valores publicados previamente¹⁵² donde observaron valores similares de PAS en ratas hipertensas (187mmHg en SHR frente a 124mmHg de WKY entre las 16 y las 28 semanas de vida).

Los resultados de la PAD fueron de 54 mmHg para WKY y 64 mmHg para SHR, resultando las diferencias estadísticamente significativas (T-student; p -

113

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

141 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

141 / 228

D.2 El modelo experimental SHR presenta un aumento significativo de la presión arterial y una disminución del peso corporal

valor<0.05) siendo los valores similares a los publicados previamente por nuestro grupo de investigación⁸⁶.

Atendiendo a estos resultados es posible determinar que la HTA sostenida genera tanto modificaciones en la PAS como en la PAD y a su vez provoca una disminución del peso corporal de las ratas SHR.

114

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

142 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

142 / 228

D.3

Discusión

La HTA produce un aumento de la perfusión de los PC, una alteración de la producción de HA y un incremento de su reabsorción

Muchos aspectos de la función ocular implican el transporte de fluidos y metabolitos entre el HA y la circulación sistémica, como el mantenimiento de la transparencia, la nutrición y la oxigenación de los PC, el iris, la córnea y el cristalino, así como la eliminación de productos de desecho del metabolismo ocular y la regulación de la PIO. El control de la PIO depende de un delicado equilibrio entre la producción y el drenaje del HA.

Al estudiar los efectos de la HTA sobre los PC, el iris y la red trabecular nos planteamos determinar si la HTA podría alterar la expresión de las proteínas encargadas de la producción y la reabsorción del HA.

El transporte de fluidos a través de la BSHA se produce gracias a la generación de un gradiente osmótico mediado por distintos tipos de transportadores de solutos que impulsa el movimiento del agua a través del epitelio ciliar.

La mayor parte del ojo está formado por agua. Las AQP son canales selectivos presentes en la membrana de las células que facilitan un transporte pasivo de agua a través de dichas membranas. Las AQP detectadas en los PC e iris son la AQP1 y la AQP4^{91,93}. El epitelio ciliar está compuesto por dos capas de células yuxtapuestas, el ENP y el EP. Estas dos capas de células epiteliales se continúan en el iris para formar el EAI y el EPI.

115

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

143 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

143 / 228

D.3 La HTA produce un aumento de la perfusión de los PC, una alteración de la producción de HA y un incremento de su reabsorción

En los PC, la AQP1 se expresó en el polo basal del endotelio de los vasos ciliares y en la parte anterior de la pars plicata, mientras, la AQP4 se encontró en la membrana basal del ENP. En el iris la AQP1 se detectó tanto en el EPI como en el EAI en toda la extensión del iris, mientras que el AQP4 sólo se encontró en la parte basal del primer tercio más próximo al PC del EPI. Esto fue consistente con los hallazgos de estudios previos^{93, 98}. En la investigación de Yamaguchi et al.,⁹³ los autores dividieron la expresión de AQP1 y AQP4 en tres regiones diferentes: una que incluía la mayor parte del iris y que sólo expresaba AQP1; otra zona en la que se detectó tanto AQP4 como AQP1 y que se sitúa entre la parte posterior del iris y la pars plicata anterior; y, por último, una zona que incluía la pars plicata media y posterior en la que sólo se expresaba AQP4. En consonancia con lo descrito por estos autores, los resultados obtenidos en a lo largo de este estudio mostraron los mismos patrones de localización descritos anteriormente, aunque se encontraron diferencias significativas en la expresión en la rata SHR. La AQP1 aumentó en el endotelio de los vasos ciliares, disminuyó en la pars plicata anterior y se mantuvo sin cambios en el iris. La expresión de AQP4 disminuyó en el ENP y aumentó en el iris donde su extensión fue mayor (Fig.D.3.1).

La Na^+/K^+ ATPasa es una enzima que utiliza la energía liberada al hidrolizar ATP en ADP para transportar 3 iones de Na^+ al exterior de la célula e introducir 2 iones de K^+ en ella, generando así un gradiente osmótico que impulsa el agua a través de las membranas para formar el HA. La Na^+/K^+ ATPasa contiene 2 subunidades, una catalítica (α) que consta de varias isoformas (α_1 y α_2 y α_3) y otra no catalítica (β).

Dos isoformas α de la Na^+/K^+ ATPasa se localizaron en los PC. La isoforma α_1 se expresó en la superficie basolateral del EP, mientras que la α_2 se localizó en la membrana basolateral del EPN, situada la parte celular en contacto directo con el HA, en la línea con los hallazgos previos de otros autores^{153, 154, 155}. La rata hipertensa mostró diferencias significativas con las ratas WKY. La cuantificación de Na^+/K^+ ATPasa α_1 reveló un aumento en el EP y la Na^+/K^+ ATPasa α_2 mostró una disminución en el ENP (Fig.D.3.1). Estos resultados de la expresión de la

116

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

144 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

144 / 228

Discusión

Na⁺/K⁺ ATPasa para ratas SHR fueron descritos por primera vez por nuestro grupo de investigación⁸⁶.

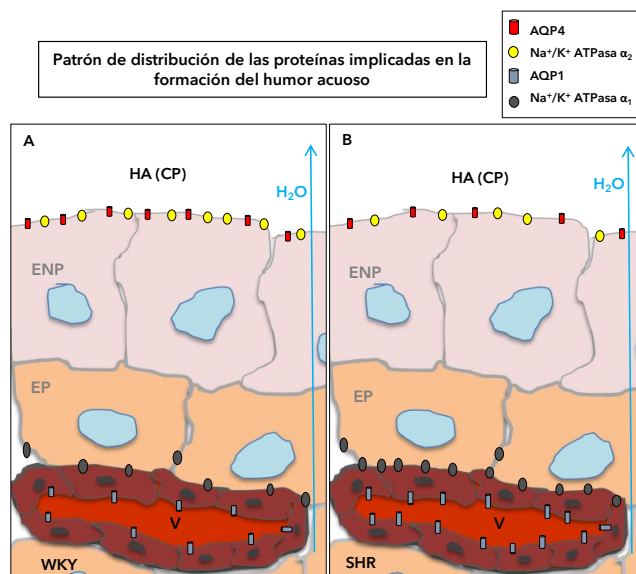


Figura.D.3.1. Diagrama esquemático de los PC. **A.** Patrón de distribución de AQP1, AQP4, Na⁺/K⁺ ATPasa α₁ y Na⁺/K⁺ ATPasa α₂ en ratas WKY. **B.** Patrón de distribución de AQP1, AQP4, Na⁺/K⁺ ATPasa α₁ y Na⁺/K⁺ ATPasa α₂ en rata SHR. Flecha azul indica dirección del flujo de agua; V: vaso sanguíneo; EP: Epitelio pigmentado; ENP: Epitelio no pigmentado; CP: Cámara posterior; HA: Humor acuoso. Tomado de González-Marrero et al (2018)⁸⁶.

Los cambios encontrados en los niveles AQPs y de las isoformas de Na⁺/K⁺ ATPasa debido a la HTA parecen estar relacionados con alteraciones en la producción de HA. El aumento de los niveles de AQP1 en los vasos ciliares junto con unos mayores niveles de Na⁺/K⁺ ATPasa α₁ en el EP se traduce en una mayor perfusión, dando lugar a un incremento de la ultrafiltración y con ello un aumento de la formación de HA. Por otra parte, una disminución de la AQP4 y menores niveles de la Na⁺/K⁺ ATPasa α₂ observados en el ENP de las ratas SHR

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

D.3 La HTA produce un aumento de la perfusión de los PC, una alteración de la producción de HA y un incremento de su reabsorción

se puede considerar como un mecanismo para reducir la cantidad de agua que pasa a la cámara posterior en la formación del HA.

Zhang et al., demostraron la implicación de la AQP1 en la formación de HA, de forma que ratones knockout de AQP1 presentaban una menor producción de HA¹⁵⁶. Las alteraciones en los niveles de las proteínas estudiadas indican que es posible que un aumento de la PA conduzca a una perfusión elevada en los vasos ciliares, lo que se traduce en un aumento de la ultrafiltración y de la producción de HA¹⁵⁷. Sin embargo, este aumento en la formación de humor acuoso no sería tan evidente ya que pueden existir mecanismos que controlen la formación de HA cuando la elevación de la PA es reciente y aún no hay daño arterial o remodelación vascular. En este sentido, la Na⁺/K⁺ ATPasa presente en los procesos ciliares está modulada por varios factores que afectan al HA^{158, 159}.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que la HTA provoca una alteración en la producción de HA en los PC. El aumento de los niveles de AQP1 y Na⁺/K⁺ ATPasa α_1 sugiere que existe un aumento de la perfusión en el cuerpo ciliar mientras la disminución de los niveles de AQP4 y Na⁺/K⁺ ATPasa α_2 indican una menor formación de HA en los PC.

Desde hace tiempo, algunos autores, consideran que el iris puede estar implicado en la producción de HA^{160, 161}. Dichos autores han informado de una expresión de AQP1 en el iris, tanto en la EPI como en la EAI, y de que AQP4 se expresa en la membrana basal de la EPI. Se ha sugerido que la expresión de AQP1 en el epitelio del iris está relacionada con la producción de HA y por tanto con la regulación de la PIO⁹³. También se ha descrito que el epitelio del iris es más activo en la producción de HA durante el desarrollo fetal que el PC. Este patrón contrasta con el del ojo adulto, en el que los PC son el lugar dominante de expresión de AQPs¹⁶¹. Más recientemente, Huang et al.¹⁶² han detectado un incremento de la expresión de AQP1 en iris de pacientes con GPAA respecto a pacientes no glaucomatosos que podría relacionarse con un aumento de la producción de HA¹⁶².

118

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

146 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

146 / 228

Discusión

Los datos obtenidos en esta investigación muestran que, en las ratas hipertensas, la detección de AQP4 es mayor en el iris y en la región de la pars plicata anterior. También detectamos una zona de colocalización de AQP1 y AQP4 en las SHR mucho más amplia que en las ratas WKY. La intensidad de marcado es mayor en las ratas SHR en comparación con las WKY debido a la mayor extensión de la expresión de AQP4 (Fig. D.3.2)

Si se confirma que el iris participa en la formación del HA, estos resultados implicarían una mayor tasa producción de HA como consecuencia de la HTA.

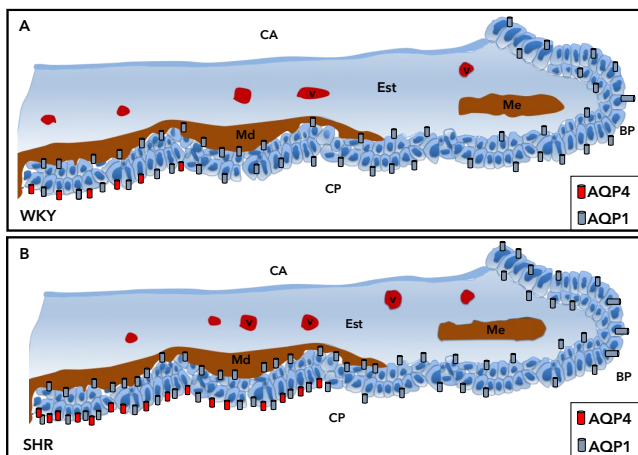


Figura D.3.2. Diagrama esquemático del iris. **A.** Distribución de AQP1 y AQP4 en ratas WKY y **B.** Distribución de AQP1 y AQP4 en ratas SHR. CA: cámara anterior; V: vaso sanguíneo; Md: músculo dilatador; CP: Cámara posterior; BP: Borde pupilar; Me: músculo del esfínter; Est: estroma. Tomado de González-Marrero et al (2018)⁸⁶.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
 María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

D.3 La HTA produce un aumento de la perfusión de los PC, una alteración de la producción de HA y un incremento de su reabsorción

La red trabecular es una intrincada red hidráulica, encargada del drenaje del HA a través de 2 vías: la vía convencional y la vía no convencional. En la vía convencional el HA recorre la red trabecular, atraviesa la pared interna del PAA y termina vertiendo al sistema venoso episcleral, donde se une en la circulación sistémica^{95, 96}. A la hora de examinar la red trabecular, nos planteamos la posibilidad de que la HTA pudiera tener efectos sobre los niveles de expresión de los canales de agua encargados de drenar el fluido del HA.

Investigaciones previas han detectado la AQP1 en la red trabecular y en la pared interna del PAA de ratas, conejos, vacas^{98, 163} así como en el canal de Schlemm en humanos^{94, 99, 164}. La AQP1 comienza a expresarse en las células fetales de la red trabecular y el PAA de manera débil alrededor de la semana 24 de gestación, y sus niveles alcanzan su máximo en la semana 32 de gestación, manteniéndose en estos niveles hasta la edad adulta^{165, 166}.

Las razones por las que se detecta AQP1 en la red trabecular y en PAA no están claras; por un lado, algunos autores consideran que la AQP1 puede estar relacionada con el flujo de drenaje del HA a través de la pared interna del PAA^{99, 167}, mientras, otros autores, consideran que la presencia de AQP1 en la red trabecular puede estar más relacionada con el aumento del volumen de las células de la red trabecular, que actúan como mecanismo protector ante un incremento de la tensión de los tejidos circundantes, afectando con ello a la regulación de la PIO^{100, 156, 168, 169}.

Los datos obtenidos por nuestro grupo de investigación muestran que existe expresión de AQP1 en la red trabecular y en la pared interna del PAA tanto de las ratas control como de las SHR, detectándose un incremento de los niveles de expresión en las ratas hipertensas. Esto concuerda con investigaciones previas en conejos diagnosticados con GPAA y en cultivos de células trabeculares humanas, sometidas a tensiones, que simulan estados de aumento de la presión intraocular¹⁶⁹. Estos datos, previamente publicados podrían, indicar que existe un incremento de la producción de HA en nuestro modelo experimental de HTA, y que por ello sean necesarios mayores niveles de AQP1

120

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

148 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

148 / 228

Discusión

en la red trabecular para aumentar el drenaje de HA. Sin embargo, en patologías como el glaucoma de ángulo cerrado se ha descrito una disminución de los niveles de AQP1 en tejidos trabeculares en ojos de conejo¹⁷⁰. La HTA provoca cambios en la expresión de AQP1 en la red trabecular. Estas modificaciones en los niveles de expresión podrían estar causados por a un aumento del flujo de drenaje de HA en un intento de mantener estable la PIO.

121

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

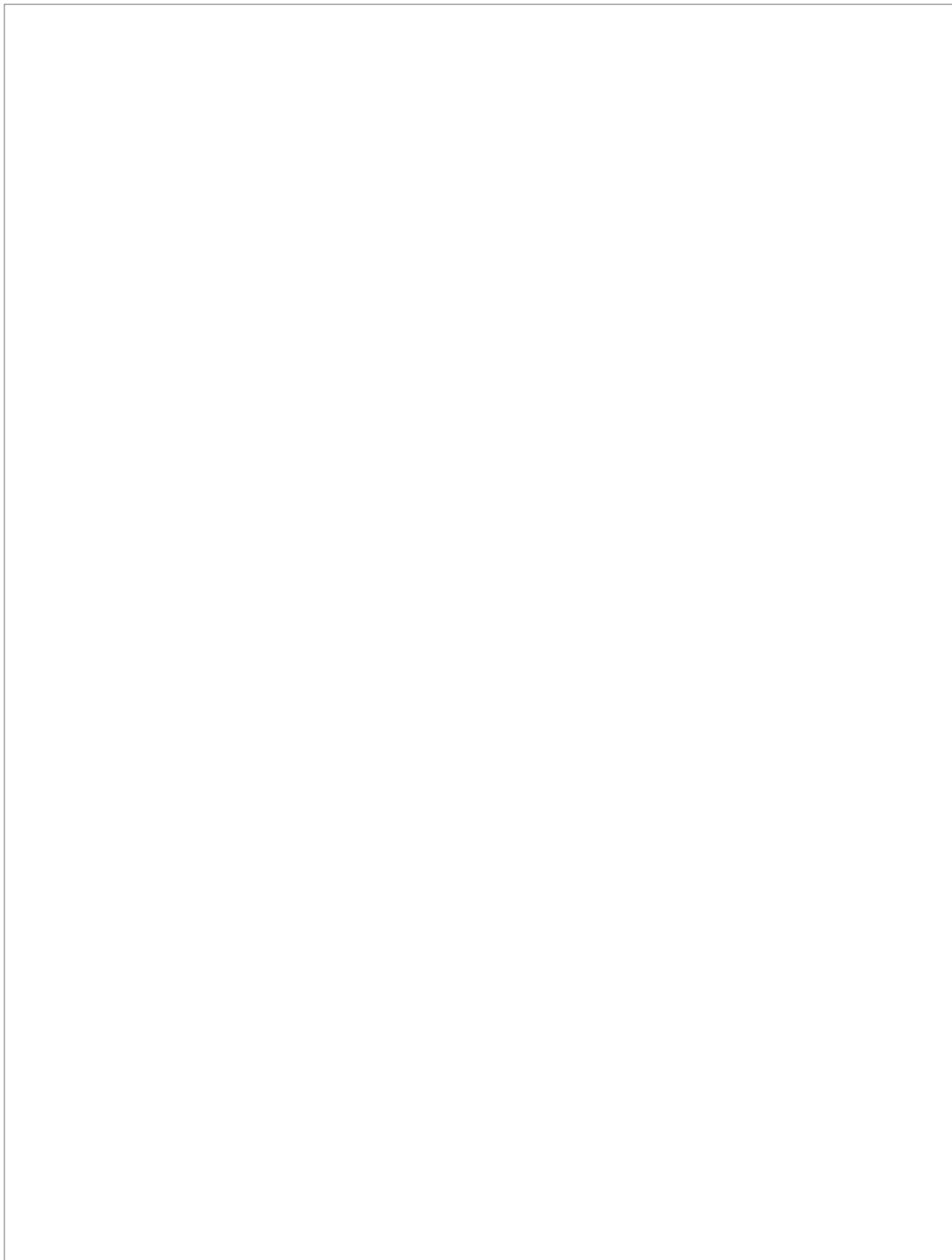
149 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

149 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

150 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

150 / 228

Discusión

D.4

Discusión

Desarrollo de gliosis en la retina y alteración de la BHRi en respuesta a la elevación de la PA mantenida

La regulación de los fluidos y nutrientes en la retina es necesaria para una óptima función visual. Para que esta función visual se lleve a cabo en las mejores condiciones se requiere un continuo movimiento de fluidos y moléculas entre los compartimentos oculares, así como entre estos mismos compartimentos y la circulación sistémica, permitiendo la eliminación de los productos metabólicos. Uno de los objetivos de esta tesis es determinar qué efectos tiene la HTA sostenida sobre la estructura, morfología y el correcto funcionamiento de la retina y la BHRi.

Las células gliales de la retina (Células de Müller y astrocitos) desempeñan multitud de funciones fisiológicas y de desarrollo, incluyendo el suministro metabólico por medio de la glutamina y la taurina, el mantenimiento del equilibrio de iones y agua, la protección contra el estrés oxidativo, el reciclaje de pigmentos de los de las células fotorreceptoras, la liberación de sustancias neuro y vasoactivas, y la función estructural^{171, 172, 173, 174}. La BHRi, constituida por una única capa de células endoteliales, es la encargada de controlar el movimiento de fluidos y moléculas entre la circulación sistémica y la retina interna, evitando la infiltración de macromoléculas y otros agentes potencialmente dañinos^{103, 175}. De igual manera, para un correcto funcionamiento de las células retinales es necesario un aporte continuo de glucosa. Dado que retina es uno de los tejidos metabólicamente más activo del cuerpo, el transporte de glucosa a través de la

123

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

151 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

151 / 228

D.4 Desarrollo de gliosis en la retina y alteración de la BHRi en respuesta a la elevación de la PA mantenida

BHRi ha de ser constante para hacer frente a las altas exigencias energéticas derivadas de la función visual¹⁷⁶.

Como ya ha sido descrito previamente, la HTA sobre la retina se relaciona con patologías como la RH, RD, el GPAA^{177, 178, 179}. En estos procesos patológicos retinales se observan alteraciones en sus características fisiológicas y morfológicas de la glía^{74, 173, 180} y de la BHR^{181, 182}. Estas alteraciones implican cambios en la homeostasis del agua, los iones y nutrientes de la retina^{183, 184, 185, 186}.

Estudios previos han descrito que, tras una lesión en la retina, las células de Müller comienzan a sufrir un fenómeno conocido como gliosis reactiva, abarcando una amplia gama de eventos moleculares, bioquímicos y morfológicos¹⁸⁷. Este proceso conduce a un aumento del tamaño de las células de Müller y a un aumento de la expresión de AQP4, GFAP y Vimentina^{188, 189, 190}. Además, en la BHRi también se han descrito cambios estructurales asociados a daños retinales asociados a patologías sistémicas como alteración en la expresión de GLUT1¹⁹¹.

Investigaciones previas localizaron AQP4 rodeando a los capilares de la retina interna, en las CCG y alrededor de las fibras nerviosas^{192, 193}. En los datos obtenidos mediante experimentos de inmunofluorescencia llevados a cabo en esta investigación la AQP4 se detectó en las ratas control en la CCG y en la CPE, estando en consonancia con estos autores^{192, 193}. El análisis de los datos de las ratas SHR reveló diferencias significativas en la expresión y la distribución de AQP4 respecto a las ratas WKY. La expresión de AQP4 aumentó tanto en la CCG como en la CPE. Varias patologías de la retina se acompañan de alteraciones en la cantidad y/o distribución espacial de AQP4. Mientras estudios realizados en RD mostraron una disminución de AQP4^{194, 195}. Qin et al.¹⁹⁰ encontraron que la combinación de diabetes e hipertensión provocaba un aumento de AQP4 en retinas de ratas SHR.

124

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

152 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

152 / 228

Discusión

GFAP es una proteína que se expresa en las membranas de las células gliales, implicada en múltiples funciones celulares. En condiciones normales, la expresión de GFAP retinal se localiza principalmente en los astrocitos, aunque también se localiza en menor medida en las células de Müller. Cuando se produce daño retinal la expresión de GFAP aumenta rápidamente en las células de Müller^{187, 196}. Como ya se ha descrito previamente la HTA causa gran variedad de daños en la retina, lo que se traduce en un aumento de la expresión de GFAP¹⁹⁷. Los resultados obtenidos en este estudio revelaron que, mientras en la rata control la expresión de GFAP se localizó en la CCG, las SHR presentaron una sobreexpresión de esta proteína en la CCG, extendiéndose la señal hacia las capas más exteriores. Estudios previos en ratas SHR muestran que existe una disminución de la señal de GFAP a las 8 semanas de edad¹⁹⁰, mientras que el mismo modelo mostró, entre los 4 y los 6 meses de edad, un aumento de la expresión de GFAP en la retina, coincidiendo con nuestros resultados¹⁹⁸.

La vimentina es una proteína que forma parte del citoesqueleto de las células gliales. En condiciones normales la vimentina se expresa en la CCG, en la CNI y en la CPE en las células de Müller¹⁸⁷. La vimentina aumenta tras un daño en la retina en las células de Müller^{189, 199}. En nuestro trabajo las ratas control presentaron un patrón de distribución de vimentina similar al descrito por los autores en condiciones normales. Al analizar las ratas hipertensas se detectó un leve incremento en la cuantificación, aunque tras el análisis estadístico las diferencias no resultaron significativas en los niveles de vimentina. Sin embargo, sí se encontró un cambio en la distribución espacial de la vimentina en la retina, disminuyendo sus niveles en la CCG y aumentando en la BHRi.

El paso de glucosa desde la sangre hasta la retina interna es a través de GLUT1, que se expresa en ambas membranas de las células endoteliales de los vasos retinales, que forma la BHRi^{182, 200, 201}. Hemos encontrado los mismos patrones de expresión que los descritos, aunque con diferencias significativas en la rata hipertensa. GLUT1 mostró un gran incremento en el endotelio de los vasos de la retina, donde, se observó un aumento de la tortuosidad y dilatación de los vasos. Estudios en ratas diabéticas, así como en humanos diagnosticados de esta

125

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

153 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

153 / 228

D.4 Desarrollo de gliosis en la retina y alteración de la BHRi en respuesta a la elevación de la PA mantenida

enfermedad, detectaron disminuciones de la expresión de GLUT1 en la BHRi^{191, 202, 203}. En cultivos de células endoteliales retinianas con medios de altas concentraciones de glucosa no se observan cambios significativos en la expresión de este transportador^{204, 205}. Se detectaron menores niveles de GLUT1 en los vasos del corticales de ratas hipertensas, viéndose afectada la funcionalidad de la barrera cerebro-sangre²⁰⁶. Estos datos indican que la HTA podría aumentar las necesidades energéticas de la retina, por lo que es necesario un aumento de la expresión de GLUT1 para dar soporte a estas necesidades, con los consiguientes daños en los vasos retinales. La HTA parece producir una dilatación y un aumento tortuosidad de los vasos retinales.

Dadas las alteraciones en los niveles de expresión y en la distribución espacial encontradas en los biomarcadores asociados a daños retinales en las células gliales y la estructura de la BHRi, es posible determinar que la HTA provoca la activación de las células de Müller y astrocitos ligada a un proceso de gliosis reactiva, daños la BHRi y modificaciones en la estructura de los vasos retinales que pueden influir en patologías oculares como RH, glaucoma, RD.

126

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

154 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

154 / 228

D.5

Discusión

La HTA y su relación a largo plazo con el desarrollo de glaucoma

El glaucoma es la segunda causa de ceguera a nivel mundial siendo su prevalencia actual del 3,5% en personas entre 40 y 80 años, tan solo por detrás de la retinopatía diabética. Dado el rápido aumento del envejecimiento de la población mundial, se estima que en 2040 al menos 112 millones de personas estarán diagnosticadas de esta patología^{207,208}. De las distintas formas en que se presenta el glaucoma, el GPAA es el que se diagnostica de manera más común, siendo su prevalencia mayor en pacientes de ascendencia europea o africana^{209, 210}.

La correlación entre la HTA, la PIO y el glaucoma no está clara, y aún hoy sigue generando controversia. Varias investigaciones basadas en la población^{211, 212, 213, 214, 215, 216} y en modelos animales^{144, 217} han detectado de manera sistemática una asociación entre la HTA y el aumento de la PIO. De hecho, la HTA amplifica la presión de perfusión ocular (PPO) que eleva la presión de la arteria ciliar, aumentando la ultrafiltración, y, por lo tanto, la producción de HA, lo que da lugar a un incremento de la PIO^{218, 219}. La PPO se considera como la diferencia entre la presión de la arterial y la presión de las venas que drenan el ojo, cuyo valor es igual o un poco superior al valor de la PIO, por lo tanto:

$$PPO = PA - PIO$$

Pese a existir una clara relación entre la PA y la PIO, la relación entre la PA y el glaucoma resulta compleja ya que engloba a otros factores como el envejecimiento, pérdida de los mecanismos autorreguladores arteriales y la presencia de otras patologías oculares o sistémicas¹⁵⁷. Multitud de estudios

127

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

155 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilera UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

155 / 228

D.5 La HTA y su relación a largo plazo con el desarrollo de glaucoma

epidemiológicos y de casos control relacionan tanto PA bajas^{220, 221, 222} como PA altas^{212, 214, 223} con el desarrollo de patologías glaucomatosas.

Las PA bajas, que incluyen un descenso acusado de la PA nocturna y un tratamiento agresivo contra la HTA se han asociado con un incremento del riesgo de desarrollar glaucoma^{220, 224, 225}. Según la fórmula anterior un descenso de la PA supone una disminución de la PPO que afecta a los axones de las células ganglionares de la retina provocando la apoptosis de estas células.

A PA altas se pueden dar 2 situaciones: en pacientes jóvenes, en condiciones de HTA temprana, antes de la pérdida del mecanismo de autorregulación vascular y de la aparición de aterosclerosis, los pacientes se benefician de un incremento de la PPO y del flujo sanguíneo al ojo. En el extremo contrario, en personas mayores, la HTA sostenida, sumada al envejecimiento, el desarrollo de aterosclerosis y la pérdida del mecanismo de autorregulación vascular se traduce en una disminución de la PPO. Como respuesta a esta hipoperfusión se produce un aumento de la PIO y con ello una rápida progresión del daño glaucomatoso^{157, 213}.

Los resultados de este estudio reflejan que existe un aumento de los niveles de AQP1 en los vasos ciliares y de Na⁺/K⁺ ATPasa α_1 en el EP lo que implica un incremento del paso de agua desde los vasos ciliares al proceso ciliar favorecido por la HTA y la PPO. El descenso en los niveles de AQP4 y de Na⁺/K⁺ ATPasa α_2 en el ENP implica un menor paso de agua a la cámara posterior del ojo. En el caso de la red trabecular, la HTA provoca un aumento de AQP1 en la red trabecular y en el PAA. Estas modificaciones podrían estar causadas por un aumento del flujo de drenaje de HA y por el aumento del volumen de las células de la red trabecular. En ambos casos, estas respuestas compensatorias pueden estar relacionadas con un posible aumento de la PIO en SHR.

Se ha determinado que, entre las 5 y las 13 semanas de edad, las ratas SHR presentan una elevación de la PIO compatible con la fase inicial de la elevación de la presión arterial en estas ratas, cuando el aumento de la PPO

128

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

156 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

156 / 228

Discusión

resulta beneficioso y efectos de la HTA a largo plazo aún no están presentes¹⁴⁴.
Ene modelo SHR en este mismo modelo animal, entre las 21 semanas y los 12 meses de edad, se produce una disminución de la PIO, los vasos ciliares presentan una dilatación significativa y se observa una rarefacción vascular de los capilares de la coroides. Por otro lado, el número de fenestraciones encontradas en el endotelio de los vasos ciliares se vio reducida aproximadamente a la mitad en las ratas hipertensas observándose una hialinización del tejido conectivo alrededor de los vasos en la SHR^{226, 227}.

Las ratas SHR mostraron una disminución en la producción de HA en compensación al aumento de la perfusión de los PC por el aumento de la PA. El aumento de la AQP1 en la red trabecular del animal hipertenso podría implicar, por un lado, un aumento en la reabsorción de HA, o un aumento del volumen de las células trabeculares en respuesta a un posible incremento de la PIO. Con el tiempo, la HTA promueve modificaciones vasculares que resultan en una disminución de la perfusión sanguínea hacia los tejidos. Este efecto junto a la PA elevada y mantenida durante un largo período de tiempo, podría contribuir al desarrollo de la patología glaucomatosa. No estamos planteando que sea una causa directa, pero sí debería tenerse en cuenta como un factor de riesgo importante que sería fácilmente modificable.

129

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

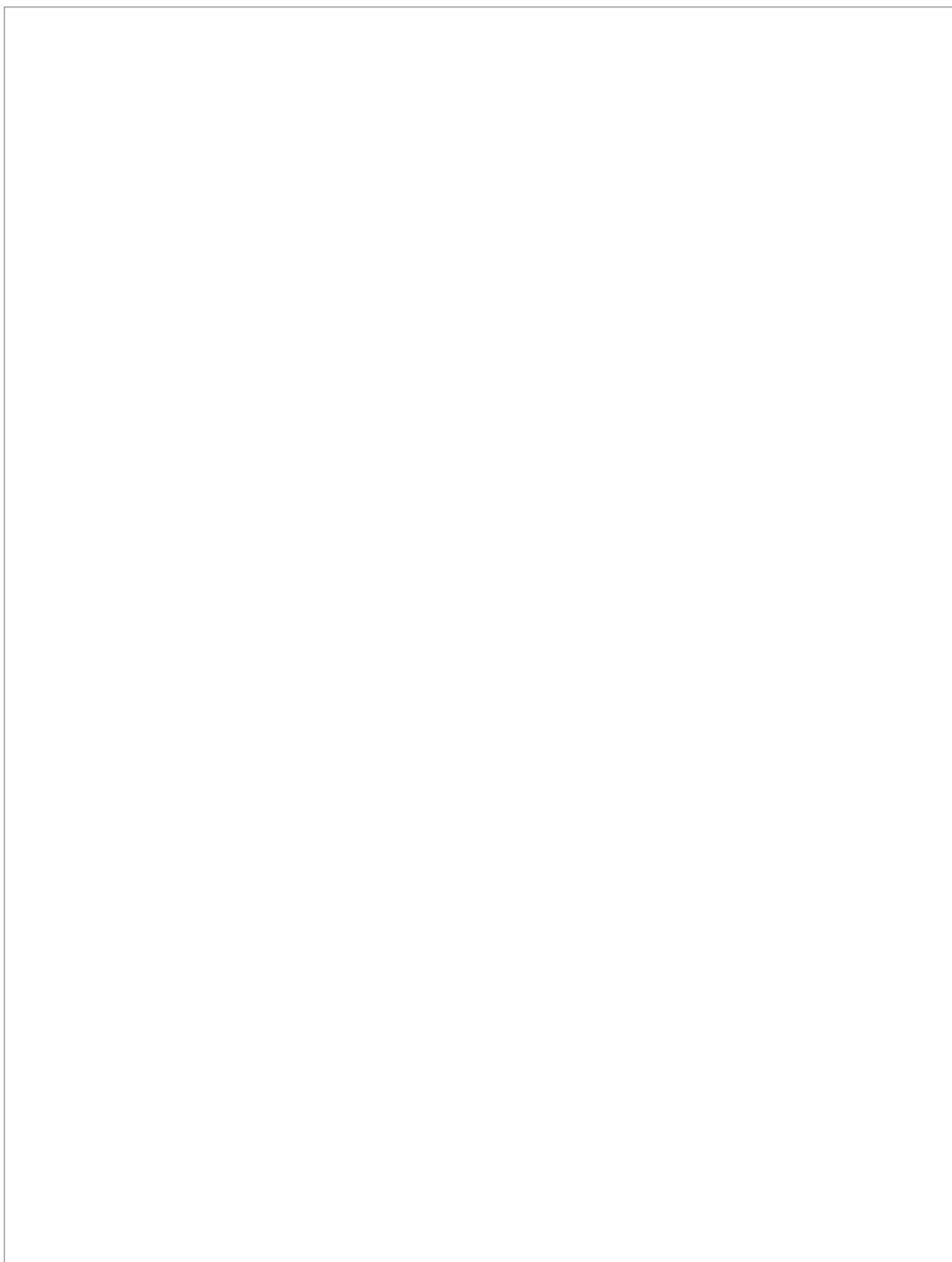
157 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

157 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

158 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

158 / 228

D.6

Discusión

La HTA produce una desmielinización del nervio óptico y la pérdida de astroglia acompañada de una desestructuración de los paquetes nerviosos

Tal como ya ha sido descrito previamente, la HTA mantenida provoca alteraciones en las estructuras oculares. Los resultados obtenidos del estudio del nervio óptico de las ratas SHR muestran que la HTA no tratada, causa graves alteraciones en la estructura del nervio óptico.

Al comparar nuestras ratas control con las ratas SHR observamos que, la HTA provocó una desmielinización en el nervio óptico junto a una desestructuración de los paquetes nerviosos y de los tubos gliales debido a una pérdida de células astrogliales. Las células astrogliales se encuentran rodeando los paquetes de fibras nerviosas, formando los tubos gliales y ponen en contacto las superficies del nervio y los espacios perivasculares, constituyendo los pies de los astrocitos perivasculares. La disminución de estas células astrogliales viene determinada por la disminución de los niveles de AQP4 y GFAP.

Tras revisar la bibliografía existente sobre la relación entre la HTA y los daños en el nervio óptico, no hemos encontrado estas alteraciones descritas en nuestro modelo animal, por lo que esta es la primera vez que se describen estos cambios en este modelo de HTA, sin embargo, si hemos encontrado publicaciones que detallan alteraciones similares asociadas a varias patologías en el nervio óptico.

131

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

159 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

D.6 La HTA produce una desmielinización del nervio óptico y la pérdida de astrogliá acompañada de una desestructuración de los paquetes nerviosos

Se ha observado que, cuando se realiza una transección parcial del nervio óptico, el daño causado provoca una reacción desmielinizante junto con una disminución de los niveles de GFAP²²⁸. Otro estudio relaciona los efectos patológicos observados en el desarrollo de la neuromielitis óptica con un descenso de los niveles de AQP4 y GFAP, una desmielinización y la aparición de células inmunes, lo que se traduce en la aparición de un daño axonal al nervio óptico²²⁹. Finalmente, un grupo de investigadores, utilizando un inductor químico de dimerización el cual se ha demostrado que produce en desmielinización en axones de la médula espinal, fue inyectado en el humor vítreo y observaron que daño producido causó una desmielinización en el nervio óptico²³⁰.

Los resultados obtenidos a partir de estos estudios, en lo que respecta a los niveles de AQP4, GFAP y la mielina, son muy similares a los resultados recogidos por inmunofluorescencia en el nervio óptico en esta tesis. Futuras investigaciones deberán tratar con mayor profundidad los mecanismos que causan estos daños para intentar encontrar un punto común.

Por otro lado, numerosas investigaciones relacionan la HTA con daños en la barrera hematoencefálica, tanto a nivel cerebral^{148, 231, 232, 233}, como a nivel del nervio óptico²³⁴. La barrera hematoencefálica juega un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis cerebral, y su alteración es el paso determinante en la progresión de las enfermedades neurológicas inflamatorias incluidas las neuritis ópticas, que se ha demostrado que cursa con una desmielinización de las fibras nerviosas²³⁵.

Con todo esto hemos supuesto que, debido a los cambios vasculares causados por la HTA mantenida a lo largo del tiempo, se producen alteraciones de la barrera hematoencefálica y una hipoperfusión sanguínea a nivel del nervio óptico, lo cual conduce a una desmielinización de las fibras nerviosas y a una desestructuración de los paquetes nerviosos debido a la disminución de las células astrogliales.

132

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

160 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

160 / 228

Discusión

A partir de estos datos, podemos suponer que el tratamiento con fármacos antihipertensivos en personas con HTA puede tener efectos beneficiosos en la protección del daño al nervio óptico, por ello, sería de gran interés realizar estudios del estado del nervio óptico tanto en otros modelos animales como en humanos hipertensos para determinar si el tratamiento antihipertensivo puede revertir estos daños en el nervio óptico.

133

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

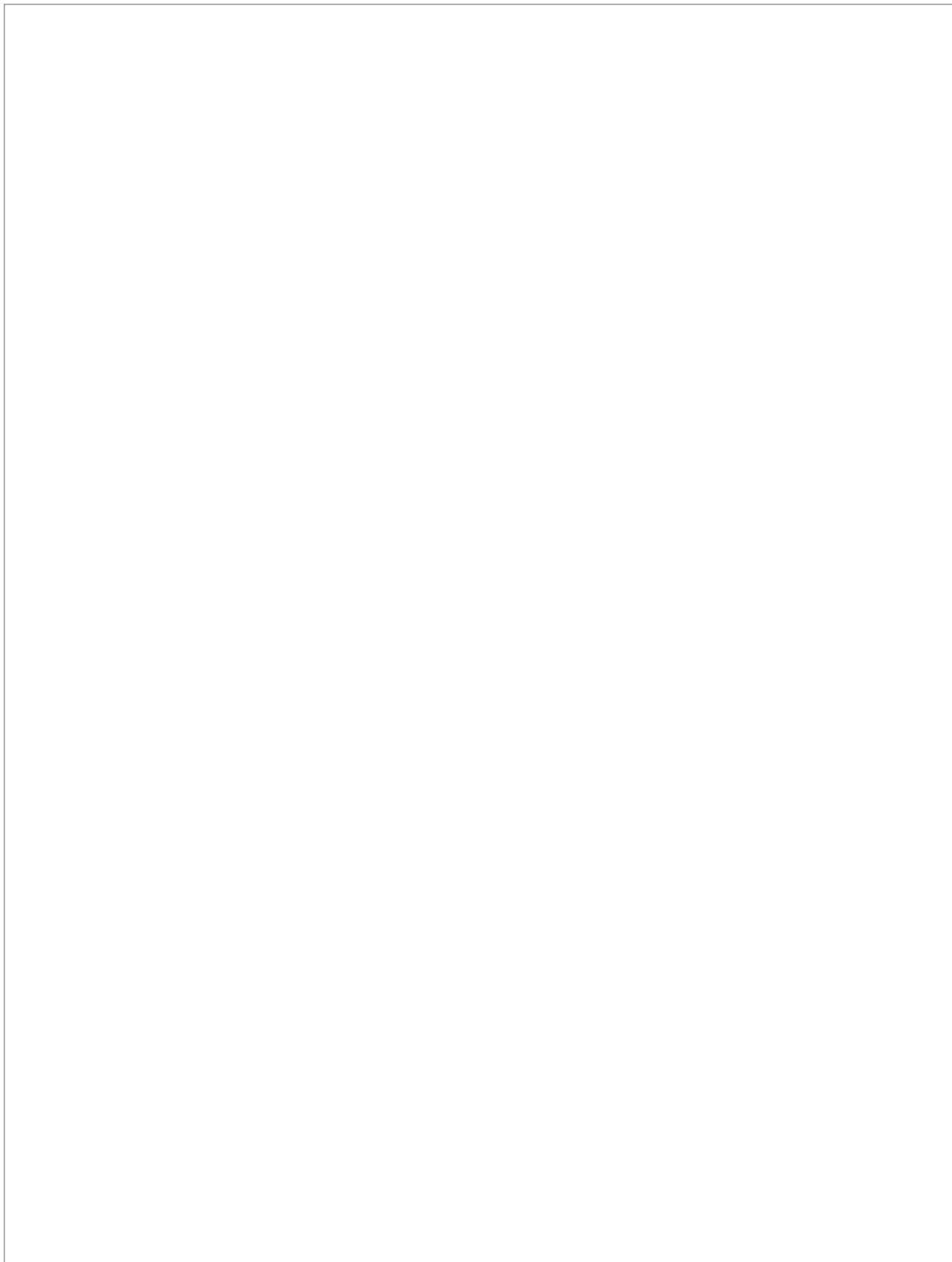
161 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

161 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

162 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

162 / 228

D.7

Discusión

Efecto de la HTA sobre el envejecimiento acelerado y la inflamación de estructuras oculares

La HTA se relaciona con un aumento de la inflamación, el estrés oxidativo y la muerte celular, causando un envejecimiento acelerado. Los ojos son, junto con el corazón, el riñón y el cerebro, una de las principales estructuras dañadas por un aumento de la PA^{236, 237}.

Los AGE son moléculas nocivas que aumentan en el plasma a lo largo del envejecimiento fisiológico y en las enfermedades relacionadas con la edad^{238, 239, 240}. El aumento de los niveles de AGE circulantes en adultos jóvenes se ha relacionado directamente con el riesgo de desarrollar varias enfermedades crónicas que comúnmente afectan a la población de edad avanzada²³⁹. En relación con el ojo, los AGE se asocian con la pérdida de visión en la degeneración de la mácula, la formación de cataratas, la RD y el glaucoma. Este potencial patógeno se atribuye principalmente a su acumulación en los tejidos oculares, donde median la reticulación aberrante de las proteínas de la matriz extracelular y la interrupción de los complejos de unión endotelial que afectan la permeabilidad celular, median en la angiogénesis y la ruptura de la BHR²⁴¹.

La evidencia científica indica que la glicación avanzada tiene lugar en muchas células y tejidos que componen el sistema visual, esto representa un factor patogénico común en muchos trastornos del ojo como la DM relacionada con la edad, la catarata y la RD¹³². Se ha descubierto que los AGE se acumulan en las estructuras oculares durante el envejecimiento y a un ritmo mayor en

135

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

163 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

163 / 228

D.7 Efecto de la HTA sobre el envejecimiento acelerado y la inflamación de estructuras oculares

enfermedades metabólicas que inducen entrecruzamiento de proteínas, cambio de estructura terciaria, inactivación enzimática y deterioro del reconocimiento del receptor¹³⁹.

Nuestros resultados muestran niveles elevados de AGE en las células endoteliales de los vasos sanguíneos BHRi y en las células de la CNE de la retina de las ratas SHR. Existe numerosa bibliografía que relaciona una alta formación de AGE en relación con niveles de PA elevada mantenidos y que la HTA se asocia a un envejecimiento acelerado, y que pueden tener mayor relevancia cuando van asociados a diabetes^{242, 243, 244}.

La unión AGE-RAGE puede inducir diferentes vías de señalización que inducen la activación de p21ras y MAPK con la posterior translocación de NF- κ B y la transcripción de genes diana, incluidos factores de crecimiento, moléculas de adhesión (endotelina-1, ICAM-1, VCAM-1), así como citocinas proinflamatorias, como IL-6, IL-1, TNF- α ^{245, 246, 247}. Por otro lado, se produce una mayor producción de especies reactivas de oxígeno con la unión de AGE-RAGE a través de la activación de NADPH^{248, 249}. Existe evidencia de que este proceso inflamatorio, una vez que pasa un umbral, termina en un círculo vicioso de activación de RAGE y producción de factores inflamatorios^{246, 250}, todo esto da como resultado una inflamación crónica.

En la retina, los efectos más destacados de los AGE incluyen la ruptura de la BHRi, la regulación al alza del potente factor de crecimiento endotelial vascular, alteran la estructura proteica intracelular y extracelular, elevan el estrés oxidativo y la inflamación, lo que promueve la disfunción vascular²⁵¹. Por ahora hemos encontrado el citado aumento en los niveles de AGE y RAGE en la retina, creemos que el efecto prolongado de la HTA puede tener relación en la formación de estos productos y de la sobreexpresión de su receptor. Como en la retina, se ha detectado un RAGE en los PC, en nuestro caso encontramos un aumento significativo en el animal hipertenso, sin embargo, no hemos encontrado AGE en dicha estructura. Lo que nos hace pensar que al ser RAGE un receptor multiligando, puede estar relacionado con otros procesos

136

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

164 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

164 / 228

Discusión

celulares. Todos estos hallazgos, apoyan los datos que relacionan la HTA con un envejecimiento acelerado, y cómo la HTA puede influir a largo plazo en diferentes patologías oculares si no se detecta o trata correctamente.

Klotho es una proteína antienvjecimiento que se puede encontrar en forma soluble o en la membrana plasmática^{126, 251}. El daño renal relacionado con la edad, la osteoporosis, el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas y las patologías vasculares pueden estar relacionados con la deficiencia de proteína Klotho²⁵¹. La deficiencia de proteína Klotho conduce a un rápido envejecimiento y muerte¹²⁶. Varios estudios han mostrado que Klotho se expresa en los riñones, el plexo coroideo y las neuronas^{251, 252, 253}. Klotho es protectora en enfermedades renales y patologías cardiovasculares debido a sus efectos antioxidantes^{251, 252}. Además, su nivel disminuye con el envejecimiento, puede estar asociada con hipertensión y trastornos de la vasculogénesis²⁵³. Yao et al.²⁵⁴ afirmó que la actividad antioxidante de Klotho puede deberse a la regulación positiva de los marcadores antioxidantes (superóxido dismutasa, óxido nítrico) y demostraron que Klotho protegía contra la disfunción endotelial.

Se ha descrito la presencia de Klotho en HA en diferentes patologías oculares. En un estudio sobre glaucoma y síndrome de pseudoexfoliación se encontró que los niveles de Klotho en suero y en el HA en ambas patologías estaban disminuidos respecto a los controles¹²³. Otra investigación mostró que los niveles de Klotho en el HA eran inferiores y se asociaban con el estrés oxidativo y la inflamación en pacientes con DM relacionada con el envejecimiento¹²². En un trabajo con GPAA, síndrome de pseudoexfoliación y glaucoma pseudoexfoliativo reportaron que los niveles de Klotho en el suero y el HA eran menores en los tres grupos con patologías en comparación con el grupo control¹²¹. En ninguno de estos artículos se sugiere el origen de Klotho en el HA. En esta tesis hemos encontrado expresión de Klotho en los PC del animal hipertenso y de su control, detectando una reducción significativa en SHR en comparación a WKY. Es probable que el klotho que se produce en los PC sea secretado en su forma soluble al HA. La reducción de Klotho intraocular produce un aumento del estrés oxidativo y la inflamación, contribuyendo al desarrollo de

137

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

165 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

165 / 228

D.7 Efecto de la HTA sobre el envejecimiento acelerado y la inflamación de estructuras oculares

diferentes patologías oculares¹²¹. Creemos que el efecto de la HTA sobre los PC podría tener relación con los menores niveles de Klotho encontrados, por lo que esta sería una de las contribuciones de la PA elevada y mantenida a los procesos de envejecimiento acelerado.

La administración tópica, sistémica o intraocular de Klotho soluble recombinante para aumentar niveles intraoculares de Klotho, o la administración de sustancias para inducir su actividad y expresión endógena en los tejidos oculares, pueden ser enfoques terapéuticos para la prevención o incluso el tratamiento de diferentes patologías oculares relacionadas con la HTA. Se necesitarán más estudios para aclarar el papel de Klotho con relación al desarrollo de patologías y su regulación y expresión en diferentes tejidos oculares.

138

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

166 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

166 / 228

Conclusiones

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

167 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

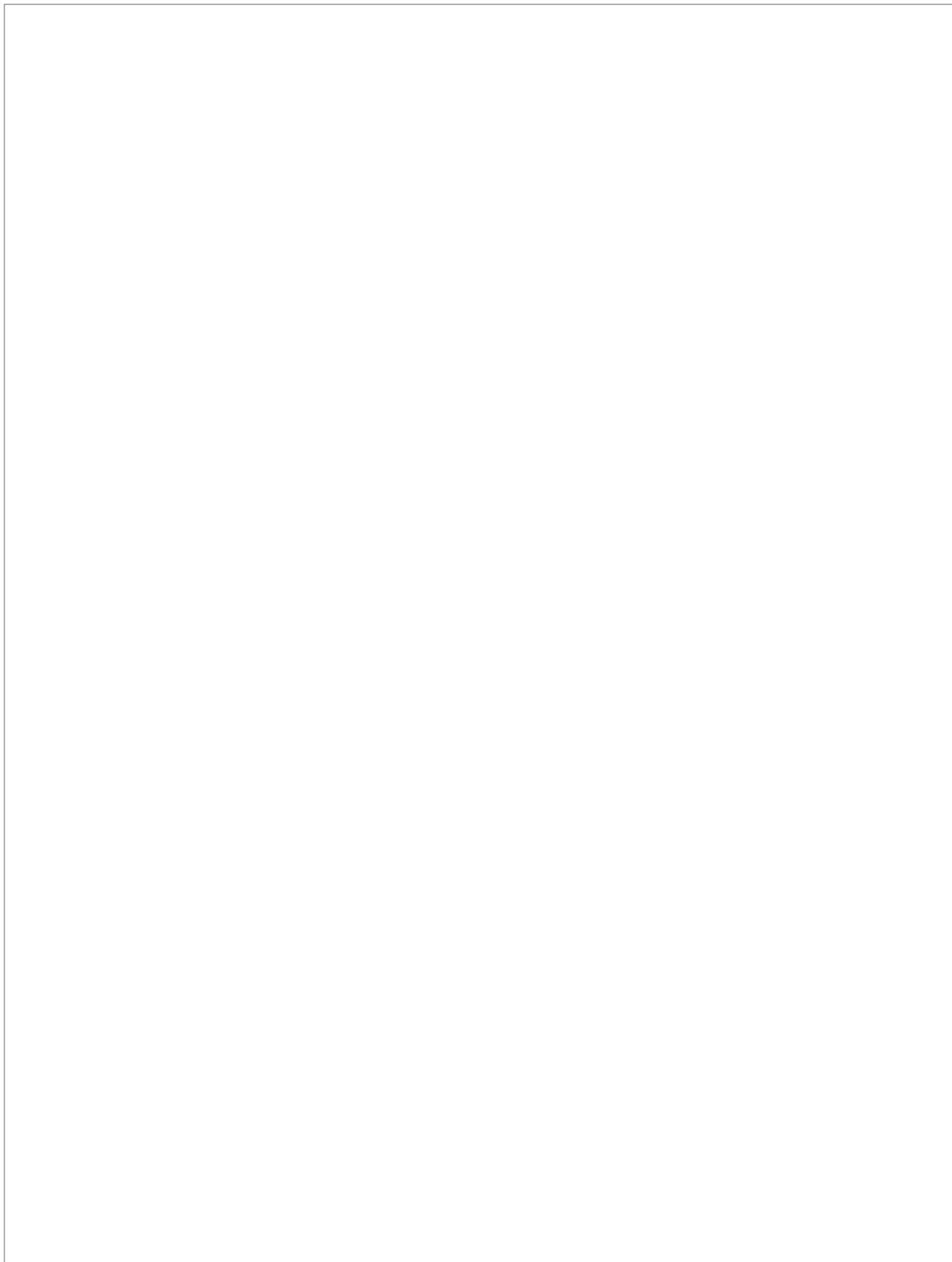
Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

167 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

168 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

168 / 228

Conclusiones

1. Se ha confirmado en el modelo SHR el aumento tanto de la PAS y la como de la PAD. Esta elevación de la PA ha producido cambios anatómicos y funcionales en diferentes estructuras oculares como los PC, retina y nervio óptico.
2. La elevación de la PA induce un aumento de AQP1 en las células endoteliales de los vasos ciliares y de la Na⁺/K⁺ ATPasa α_1 en las células del EP de los PC. Estas alteraciones aumentan el paso de agua desde los vasos sanguíneos ciliares al EP en el proceso de ultrafiltración. Es posible que este incremento en la perfusión de los PC tenga incidencia en la formación de HA.
3. En el ENP de los PC, los niveles de AQP4 y Na⁺/K⁺ ATPasa α_2 disminuyeron en el modelo de HTA en comparación con su control. Este cambio representa una disminución en el proceso de secreción y difusión en la formación de HA.
4. La HTA provoca un aumento de AQP1 en la red trabecular y en el PAA. Estas modificaciones podrían estar causadas por un aumento del flujo de drenaje de HA y por el aumento del volumen de las células de la red trabecular. En ambos casos, estas respuestas compensatorias pueden estar relacionadas con un posible aumento de la PIO en SHR.
5. En el modelo animal de HTA encontramos un incremento de GLUT1 en el endotelio de los vasos sanguíneos de la retina interna. Además, se observaron cambios en la glía de la retina, donde se encontró un aumento de AQP4, GFAP y vimentina. Estos cambios podrían implicar una reducción de las células de Müller y un incremento de astrocitos,

141

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

169 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilera UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

169 / 228

Conclusiones

produciendo una gliosis reactiva. Por otro lado, esta pérdida de la unidad neurovascular alteraría la funcionalidad de la BHRi.

6. Posiblemente la HTA tenga incidencia sobre el desarrollo de una neuropatía óptica en SHR. Nuestros resultados muestran una reducción en la mielina del nervio óptico y una desestructuración de los paquetes nerviosos. Junto con esto, hemos detectado una disminución de AQP4 y GFAP que podrían indicar una pérdida del tejido glial en el nervio óptico. Estos cambios pueden estar relacionados con la alteración del flujo sanguíneo al nervio óptico y la remodelación vascular como consecuencia de la HTA mantenida en el tiempo.
7. Existe numerosa bibliografía que relaciona la HTA con un envejecimiento acelerado. Los AGE, su receptor y el Klotho, son algunas de las moléculas más estudiadas con relación al efecto de la HTA sobre el envejecimiento. En nuestro estudio, en la rata SHR, detectamos niveles menores de Klotho en los PC, un aumento de AGE en el endotelio de la BHRi y un aumento de RAGE en la CNE y CCG. Estas alteraciones se han relacionado con la senescencia acelerada en otras estructuras como cerebro y riñón. Por lo tanto, serían interesantes estudios con mayor profundidad de los efectos de la HTA y el avance del envejecimiento en las estructuras oculares y su relación con el desarrollo de patologías oculares.
8. A pesar de que la bibliografía existente sobre los efectos de la HTA en el modelo SHR es escasa, en esta tesis hemos realizado un estudio de los efectos de la elevación mantenida de la PA sobre diferentes estructuras oculares. Esta falta de bibliografía existente sobre los cambios moleculares en distintos trastornos oculares nos ha dificultado relacionar las alteraciones detectadas en este estudio con el inicio y el desarrollo de distintas patologías oculares. Sin embargo, parece claro que la HTA es un importante factor para la aparición de estas patologías. Futuras investigaciones deberían focalizar sus esfuerzos en determinar si el tratamiento de la HTA evita la aparición y/o ralentiza avance de este tipo de patologías.

142

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

170 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilera UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

170 / 228

Anexos

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

171 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

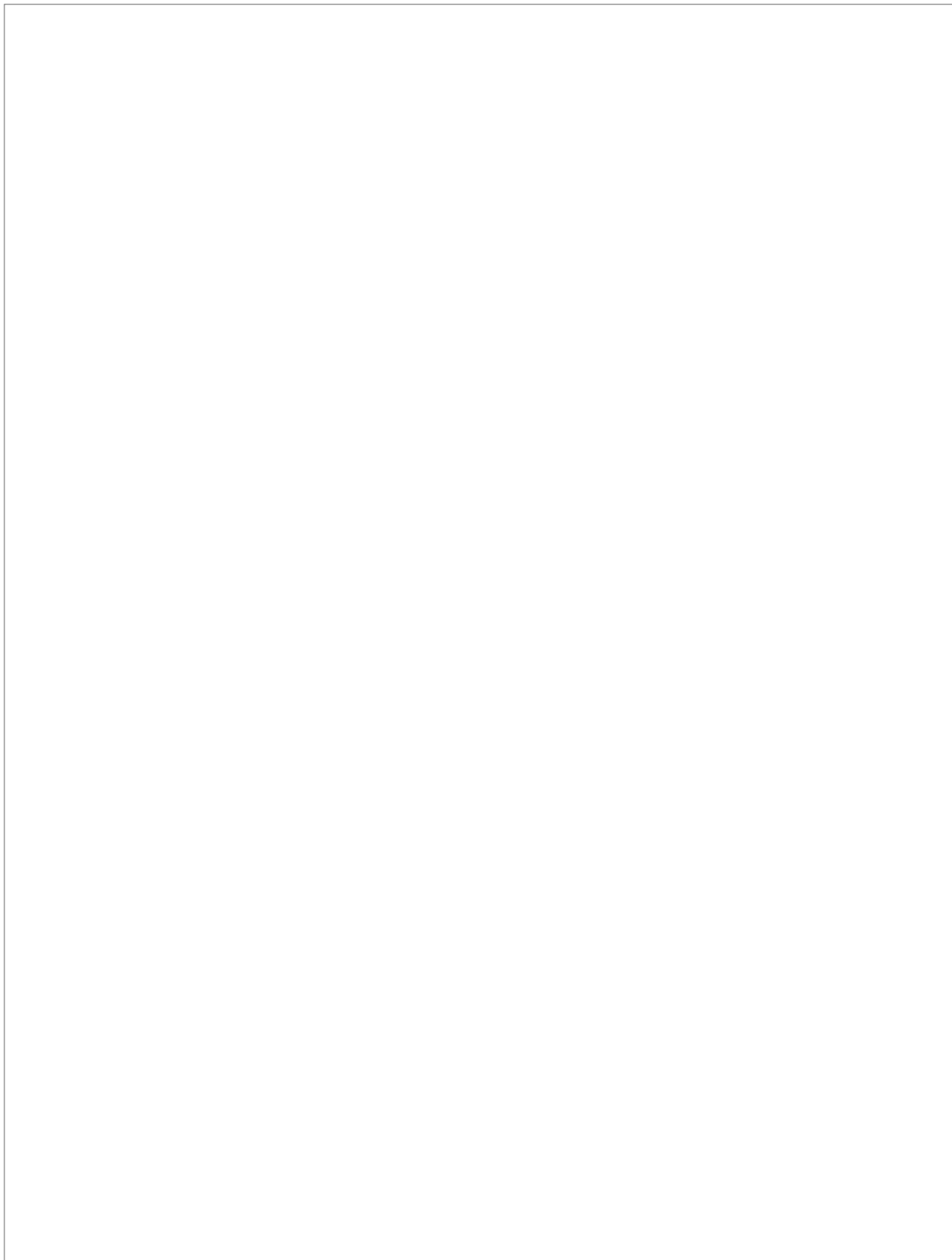
Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

171 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

172 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

172 / 228

Anexos

A.1 Artículo publicado relacionado con la elaboración de la tesis doctoral

González-Marrero I, Hernández-Abad LG, Carmona-Calero EM, Castañeyra-Ruiz L, Abreu-Reyes JA, Castañeyra-Perdomo A. Systemic Hypertension Effects on the Ciliary Body and Iris. An Immunofluorescence Study with Aquaporin 1, Aquaporin 4, and Na⁺, K⁺ ATPase in Hypertensive Rats. Cells. 2018 Nov 13;7(11):210. doi: 10.3390/cells7110210. PMID: 30428541; PMCID: PMC6262422.

145

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

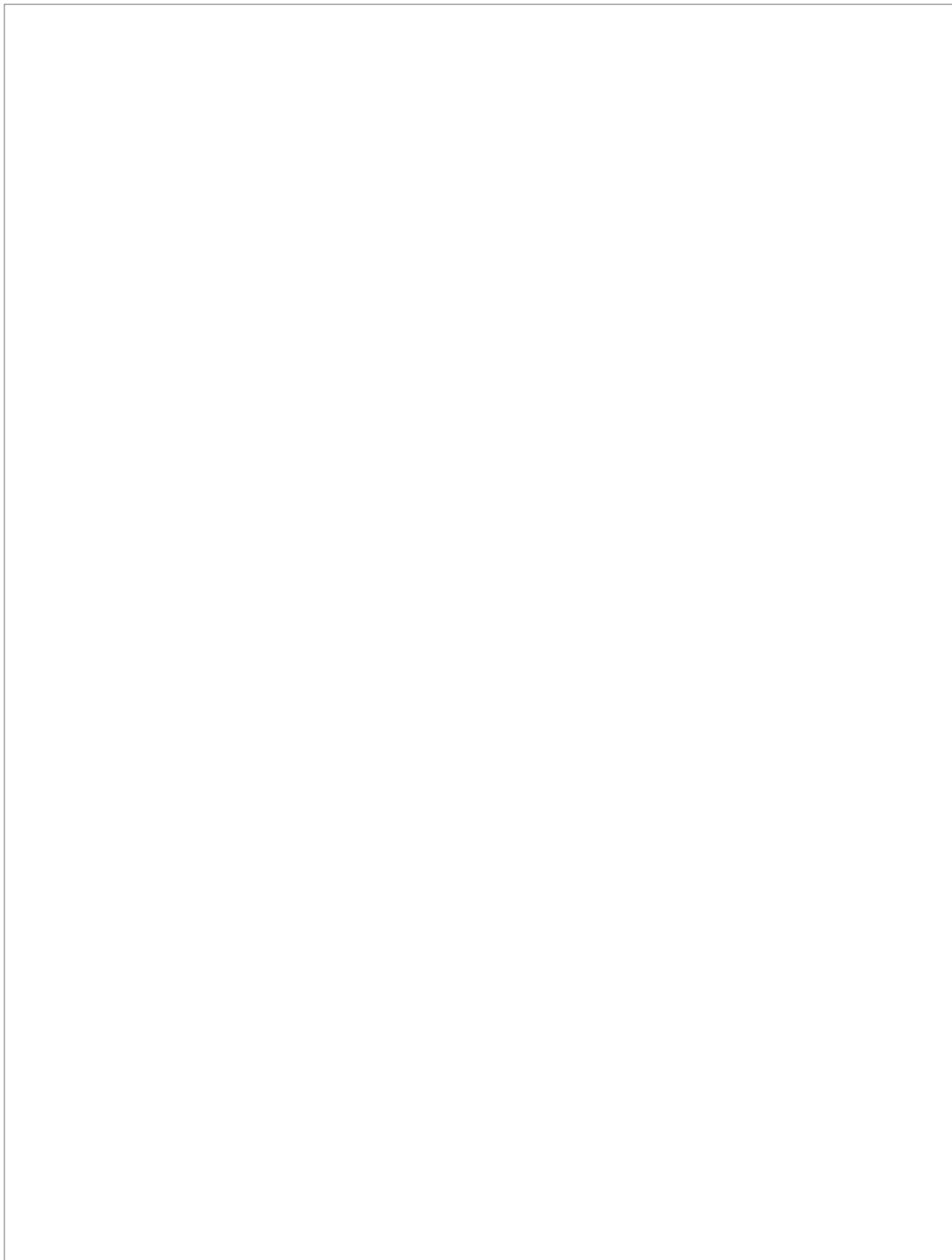
173 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

173 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

174 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

174 / 228

Anexos



Article

Systemic Hypertension Effects on the Ciliary Body and Iris. An Immunofluorescence Study with Aquaporin 1, Aquaporin 4, and Na⁺, K⁺ ATPase in Hypertensive Rats

Ibrahim González-Marrero ¹, Luis G. Hernández-Abad ², Emilia M. Carmona-Calero ¹, Leandro Castañeyra-Ruiz ¹, José A. Abreu-Reyes ³ and Agustín Castañeyra-Perdomo ^{1,*}

¹ Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Laguna, 38200 La Laguna, Spain; ibra.glez@gmail.com (I.G.-M.); ecarmona@ull.es (E.M.C.-C.); castaney84@gmail.com (L.C.-R.)

² Instituto de Investigación y Ciencias de Puerto del Rosario, 35600 Puerto del Rosario, Spain; lgarciah@ull.edu.es

³ Servicio de Oftalmología, Hospital Universitario de Canarias, 38200 La Laguna, Spain; jaabreureyes@gmail.com

* Correspondence: acastaneyra@gmail.com or acastane@ull.es; Tel: +44-922319352

Received: 4 October 2018; Accepted: 9 November 2018; Published: 13 November 2018



Abstract: Aquaporin 1 (AQP1) and aquaporin 4 (AQP4) have been identified in the eye as playing an essential role in the formation of the aqueous humor along with the Na⁺/K⁺ ATPase pump. Different authors have described the relationship between blood pressure, aqueous humor production, and intraocular pressure with different conclusions, with some authors supporting a positive correlation between blood pressure and intraocular pressure while others disagree. The aim of this work was to study the effect of high blood pressure on the proteins involved in the production of aqueous humor in the ciliary body (CB) and iris. For this purpose, we used the eyes of spontaneously hypertensive rats (SHR) and their control Wistar-Kyoto rats (WKY). Immunofluorescence was performed in different eye structures to analyze the effects of hypertension in the expression of AQP1, AQP4, and the Na⁺/K⁺ ATPase α 1 and α 2 subunits. The results showed an increase in AQP1 and Na⁺/K⁺ ATPase α 1 and a decrease in AQP4 and Na⁺/K⁺ ATPase α 2 in the CB of SHR, while an increase in AQP4 and no significant differences in AQP1 were found in the iris. Therefore, systemic hypertension produced changes in the proteins implicated in the movement of water in the CB and iris that could influence the production rate of aqueous humor, which would be affected depending on the duration of systemic hypertension.

Keywords: aquaporin 1; aquaporin 4; Na⁺/K⁺ ATPase; iris; ciliary body; hypertension

1. Background

The connection of systemic hypertension with changes in intraocular pressure (IOP) have not been clarified to date. High blood pressure (BP) could contribute to increase IOP due to different causes such as overproduction or damage to the outflow of the aqueous humor [1,2]. Many population-based studies have found a strong positive correlation between BP and IOP [3–9], but not with age. According to other authors, there is a strong positive association between systolic arterial pressure (SAP) and IOP, and a weaker association between diastolic arterial pressure (DAP) and IOP [10].

In animal models, it has been reported that eight-month old SHR rats showed a lower IOP (7.8 \pm 0.2 mm Hg) than normotensive WKY rats (15.9 \pm 0.4 mm Hg) [11,12]. On the other hand, a slight

Cells 2018, 7, 210; doi:10.3390/cells7110210

www.mdpi.com/journal/cells

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598

Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

11/07/2022 09:35:01

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

175 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775

Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

28/07/2022 15:49:39

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

A1 Artículo publicado relacionado con la elaboración de la tesis doctoral

Cells 2018, 7, 210

2 of 13

increase of the IOP (18.4 ± 0.8 mmHg) when compared to WKY (15.8 ± 0.9 mmHg) has been observed in eight-week old SHR rats [13].

The ciliary epithelium of the ciliary body (CB) and the trabecular meshwork are involved in the production and absorption of aqueous humor in the eye. The ciliary epithelium is composed of pigmented epithelium (PE) and non-pigmented epithelium (NPE) covering the CB (Figure 1), and the tight junctions of NPE form a barrier that separates different compartments and is called the blood-aqueous barrier [14]. The NPE is the forward continuation of the neural layer of the retina and is responsible for the secretion of aqueous humor, while the PE is the forward continuation of the retinal pigment epithelium and is related to solute uptake from the blood [15].

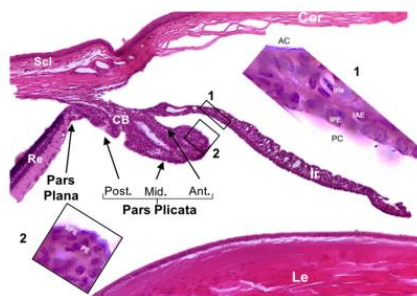


Figure 1. Hematoxylin-eosin stains on the rat eye indicating the ciliary body and iris structures. AC: anterior chamber; CB: ciliary body; Cor: cornea; IAE: iris anterior epithelium; IPE: iris posterior epithelium; Ir: iris; Le: lens; PC: posterior chamber; Re: retina; Scl: sclerotic.

It has been reported that aquaporins (AQP) and Na^+/K^+ ATPase control the rate of aqueous humor formation and are located in CB epitheliums and the iris [14]. AQP expression has been investigated in the ocular tissues of humans, mice, rats, dogs, and rabbits [16,17]. AQP studies suggest that AQPs are involved in regulating the water balance in ocular tissues to maintain transparency in the cornea and lens. They also regulate osmolarity, aqueous humor production, and retinal homeostasis. Furthermore, other investigations have implicated AQPs in the etiology of a variety of ocular diseases including retinal and corneal edema, Sjögren's syndrome, cataracts, and other retinopathies [18–21]. AQP1 and AQP4 are present in the epithelium of the CB and iris where they facilitate fluid secretion and absorption in the eye and are involved in the regulation of pressure, volume, and tissue hydration [13,22,23].

$\alpha 1$ and $\alpha 2$ subunits of Na^+/K^+ ATPase are present in the CB bilayer epithelium. The $\alpha 1$ subunit is present on the basolateral surface of the PE, while the $\alpha 2$ subunit is densely located in the NPE on the side facing the aqueous humor. Furthermore, earlier works have suggested that the Na^+/K^+ ATPase $\alpha 1$ in the PE might control overall sodium secretion to the aqueous humor while the Na^+/K^+ ATPase $\alpha 2$ may be responsible for the entry of sodium to the ciliary epithelium bilayer across the basolateral surface of the PE, then diffuse via gap junctions to the NPE to exit through the Na^+/K^+ ATPase $\alpha 2$ on the NPE cell's basolateral surface [14,24,25].

Therefore, the aim of this study was to analyze AQP1, AQP4, and Na^+/K^+ ATPase expression by immunofluorescence indifferent ocular structures, and to determine whether changes in BP have any influence on the proteins related to aqueous humor formation in hypertensive rats to elucidate whether changes in BP may affect the expression patterns of these proteins.

148

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598

Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

11/07/2022 09:35:01

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

176 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775

Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguiar

28/07/2022 15:49:39

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

176 / 228

Anexos

Cells 2018, 7, 210

3 of 13

2. Methods

2.1. Experimental Animal Protocol

All procedures were carried out following our institutional guidelines for animal experimentation. Wistar-Kyoto rats (WKY) rats and spontaneously hypertensive rats (SHR) were obtained from Charles River Laboratories (Barcelona). Animals were housed in the same environment (25 °C, 12:12-h light-dark cycle) and allowed free access to food and water. All experiments were conducted according to the European Directive 2010/69/EU for the maintenance and use of laboratory animals, which was approved by the Committee of Animal Use for Research at the University of La Laguna. The number of animals used as well as the stress and suffering of these subjects during handling and experimentation were minimized.

Eyes from 20 male rats sacrificed at 26 weeks of age, subdivided into two groups, were used: (a) ten WKY rats as a control group, and (b) ten SHR rats were fixed by intracardiac perfusion with Bouin's fluid, dehydrated, and embedded in paraffin under standard conditions. The eyes were cut into four serial sagittal sections. One of the serial sections was stained by the hematoxylin-eosin method.

All animals were weighed and blood pressure (BP) data were taken before sacrifice at 26 weeks. The systolic BP and diastolic BP were measured by a tail-cuff method with the rats under a conscious condition using a noninvasive BP measurement system (Panlab Non-Invasive Blood Pressure System for Rodents and Dogs, Harvard Apparatus, Cambridge, UK). The rats were placed in plastic restrainers and a cuff with a pneumatic pulse sensor was attached to the tail. The rats were habituated to this procedure for seven days before experiments were performed. BP was taken and determined three times blind to the randomization sequence at each time point and the mean values were used as the result. The same evaluator always took SAP and DAP measurements. The differences between WKY and SHR were significant when a Student's *t*-test was applied (* $p < 0.01$).

2.2. Immunofluorescence

Tissue sections were prepared for immunofluorescence as previously described [26]. All sections were incubated overnight at 4 °C with an appropriate primary antibody: rabbit anti-AQP4 (ab2218 Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Germany, 1:2500), mouse anti-AQP1 (Ab9566 Abcam, Cambridge, UK 1:1000), mouse anti-Na⁺/K⁺ ATPase α 1-subunit (Ab 7671 Abcam, 1:400), and rabbit anti-Na⁺/K⁺ ATPase α 2-subunit (07-674 Millipore, Burlington, MA, USA, 1:400). The primary antibodies were validated by Western blot in eye tissue. The procedure for performing immunofluorescence has been previously described [26] and the sections were incubated with the following secondary antibodies: Cyanine 3 (Cy3) dye goat anti-rabbit IgG (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA, 1:200) and Alexa Fluor 488 dye goat anti-mouse IgG (Invitrogen, 1:200). Nuclei were stained with 4'-6'-diamidino-2-phenylindole (Invitrogen, 1:5000). After washing, samples were mounted in Vectashield Medium (Vector Laboratories Inc., Orton Southgate, Peterborough, UK) for viewing with a confocal microscope (FV1000 Olympus, Olympus Europa Holding, Hamburg, Germany). The omission of incubation in the primary antibody was used as a negative control.

2.3. Image Acquisition and Immunofluorescence Quantification

Fluorescence intensities from images were analyzed by densitometry. Immunofluorescence slides were converted to digital images by using a confocal microscope FV1000 Olympus as 8-bit acquisitions of color. Image analysis was conducted in ImageJ (v. 1.43 u, NIH, Bethesda, MD, USA). Regions of interest (ROI) were selected and the RGB images were subsequently split into three 8-bit grayscale images containing the red, green, and blue components of the original. The selection of the immunostaining zone was made with the freehand tool of ImageJ and added to the ROI manager. The mean of the obtained values (relative units: r.u.) was calculated and plotted for each mean fluorescence value of the antibodies. A Kolmogorov–Smirnov test was used to check data normality in the statistical analysis of data; all data showed a non-normal distribution. Data were analyzed by

149

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598

Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

177 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775

Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

177 / 228

A1 Artículo publicado relacionado con la elaboración de la tesis doctoral

Cells 2018, 7, 210

4 of 13

the Mann–Whitney *U* test; the statistical analysis was performed with IBM SPSS Statistic 21 software (New York, NY, USA) where data were considered as statistically significant at * $p < 0.05$.

3. Results

3.1. BP and Body Weight

The mean body weight was 386 ± 2.1 g for the WKY rats and 352 ± 1.9 g for the SHR rats. The mean of the SAP was 131 ± 2.9 mmHg and the DAP was 58 ± 1.7 mmHg in WKY rats; the mean of the SAP was 179 ± 1.7 and the DAP was 64 ± 2.7 in SHR rats (Table 1).

Table 1. Mean values of body weight, systolic arterial pressure (SAP) and diastolic arterial pressure (DAP) in WKY and SHR rats. The differences between WKY and SHR were significant when a Student's *t*-test was applied (* $p < 0.01$).

| | WKY | SHR |
|---------------------------|---------------|-----------------|
| Body weight (g \pm SEM) | 386 ± 2.1 | 352 ± 1.9 * |
| SAP (mmHg \pm SEM) | 131 ± 2.9 | 179 ± 1.7 * |
| DAP (mmHg \pm SEM) | 58 ± 1.7 | 64 ± 2.7 * |

3.2. AQP1 in the Ciliary and Iris Epithelium

The iris and ciliary body were positive for AQP1-immunofluorescence (IF) where only ciliary epithelial cells localized anterior to the pars plicata, endothelial cells of CB blood vessels and iris showed immunofluorescence (Figure 2A,B). In the CB, NPE cells were stained, whereas the PE cells did not show AQP1-IF. AQP1 was present in the apical and basolateral membranes in NPE cells of the CB (Figure 2C,D). For all other pars plicata and pars plana, neither NPE cells nor PE cells displayed AQP1-IF. The intensity of AQP1-IF in the ciliary epithelial cells was higher in WKY than SHR rats (Figure 2C,D). A higher expression of AQP1 in the CB was detected in the endothelial cells of the blood vessels and this AQP1-IF was found widely distributed throughout the ciliary body, where immunoreaction was higher in the SHR than in the WKY rats (Figures 2G,H,K and 3).

Both layers of epithelial cells of the CB continued into the iris, AQP1-IF was observed in the anterior part of the iris epithelium (AIE) and the posterior part of the iris epithelium (PIE) (Figure 4A,B). Apical and basolateral plasma membranes were stained in the PIE, although AQP1-IF was only present in basal membranes in the AIE, this immunoreaction in the iris was found throughout the epithelium, and no differences in the expression of AQP1 were detected in SHR when compared to WKY rats (Figures 3 and 4A,B,K).

150

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598

Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

178 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775

Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

178 / 228

Anexos

Cells 2018, 7, 210

5 of 13

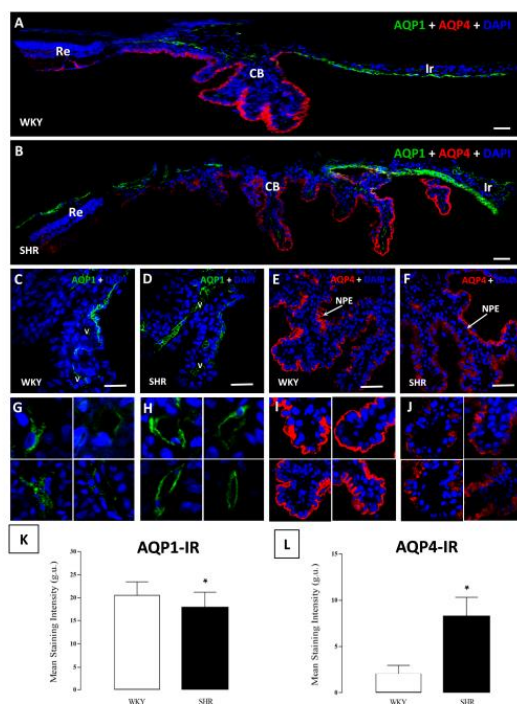


Figure 2. Confocal microscopy images of the expression of AQP1 and AQP4 in the ciliary body of WKY (A) rats and SHR (B) rats. A reduction of AQP1 was observed in the anterior part of the NPE of the CB in SHR when compared to WKY (C,D), while in the blood vessels of the CB, an increase of AQP1 was observed in the SHR (G,H) rats. AQP4 was located in the basal membrane (A,B), with the expression being higher in WKY than in SHR (E,F). An increase of CB immunofluorescence with AQP4 is shown in (I,J). At the bottom, values of stain intensities in relative units (r.u.) for AQP1 (K) and AQP4 (L) are represented as the means \pm SD ($n = 10$ animals per group) * $p < 0.05$ WKY vs. SHR rats. Ir: iris; CB: ciliary body; Re: retina; NPE: non-pigmented epithelium. Scale bars 40 μ m.

151

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

179 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

179 / 228

A1 Artículo publicado relacionado con la elaboración de la tesis doctoral

Cells 2018, 7, 210

6 of 13

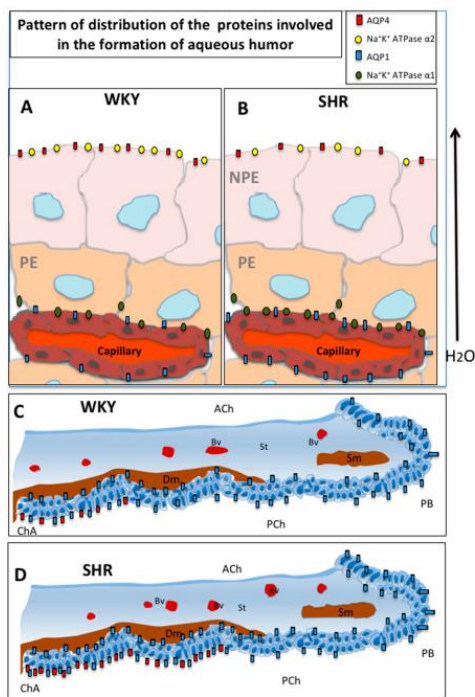


Figure 3. Schematic drawing of the ciliary body (A,B) and iris (C,D) showing the distribution of AQP1, AQP4, and Na⁺/K⁺ ATPase in WKY and SHR rats. Ach: anterior chamber; Bv: blood vessel; ChA: chamber angle; Dm: dilator muscle; NPE: non-pigmented epithelium; PCh: Posterior chamber; PE: pigmented epithelium; PD: pupillary border; Sm: sphincter muscle; St: stroma.

152

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

180 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

180 / 228

Anexos

Cells 2018, 7, 210

7 of 13

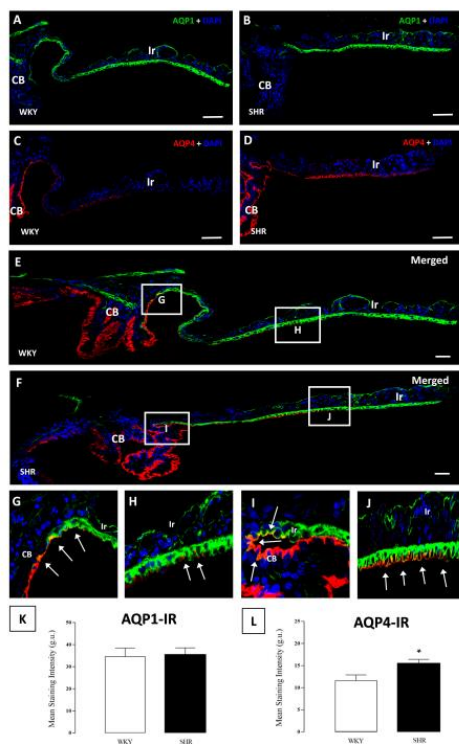


Figure 4. Confocal microscopy images of the expression of AQP1 and AQP4 in the iris of WKY (E) rats and SHR (F) rats. No differences were found in the iris AQP1 staining between WKY and SHR rats (A,B). A reduction in AQP4 expression was observed in the epithelium, which went towards the pupillary rim, and was higher in WKY rats (C,D). Images (G,I) represent the co-localization of AQP1 and AQP4 in the transition zone between the CB and iris, while (H,J) represent the co-localization in the iris. At the bottom, values of stain intensities in r.u. for AQP1 (K) and AQP4 (L) are represented as the means \pm SD ($n =$ ten animals per group) * $p < 0.05$ WKY vs. SHR rats. Ir: iris; CB: ciliary body; Scale bars 40 μ m.

153

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

181 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilár
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

181 / 228

A1 Artículo publicado relacionado con la elaboración de la tesis doctoral

Cells 2018, 7, 210

8 of 13

3.3. AQP4 in the Ciliary and Iris Epithelium

AQP4-IF was found in both the iris and CB but was detected to a lesser extent in the iris epithelium (Figure 4A,B). An immune reaction to AQP4 was only detected in the basal membrane facing the aqueous humor in the NPE of the CB, which was distributed throughout the pars plicata. The detected expression of AQP4-IF was lower in the SHR than in the WKY rats (Figures 3 and 4E,F,L).

Part of the AQP4 expression was found in the first part of the PIE, but only in the basal membrane, and it was observed that the expression of AQP4 continued in the PIE until it disappeared altogether. In the case of the SHR rats, the AQP4-IF was greater and also spread into more space across the iris (Figures 3 and 4C,D,L).

3.4. AQP1 and AQP4 Co-Localization in Ciliary and Iris Epithelium

The presence of AQP4 and AQP1 in the ciliary epithelium and iris has been described above; AQP1 was mainly found in the iris epithelium although it was observed in the most anterior part of pars plicata. On the other hand, AQP4 was mainly expressed in the ciliary body NPE and its expression continued until the iris epithelium. A co-localization of both AQP1 and AQP4 was observed in an area in the junction of both structures (Figure 4E-G,I). Furthermore, there was an increase in both the extension and quantity of AQP4 in the iris of SHR when compared to WKY rats (Figures 3 and 4E,F,H,J).

3.5. Na⁺/K⁺ ATPase in the Ciliary Epithelium

Although α subunits of Na⁺/K⁺ ATPase have the same function, they can be found in different tissues in the eye. The Na⁺/K⁺ ATPase α 1 subunit was found in the basolateral membrane of the PE while the Na⁺/K⁺ ATPase α 2 subunit was observed on the membrane of the NPE in contact with the aqueous humor of the CB (Figure 5A,B).

The Na⁺/K⁺ ATPase α 1 subunit was found in all pars plicata in the basolateral zone of the PE and surrounding the blood vessels, and its expression was higher in the SHR than in the WKY rats (Figure 5C,F,I). However, the expression of the Na⁺/K⁺ ATPase α 2 subunit in the NPE, which was located on the pole facing the aqueous humor, was lower in the SHR than in the WKY rats (Figure 5D,G,J).

154

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

182 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguilera

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

182 / 228

Anexos

Cells 2018, 7, 210

9 of 13

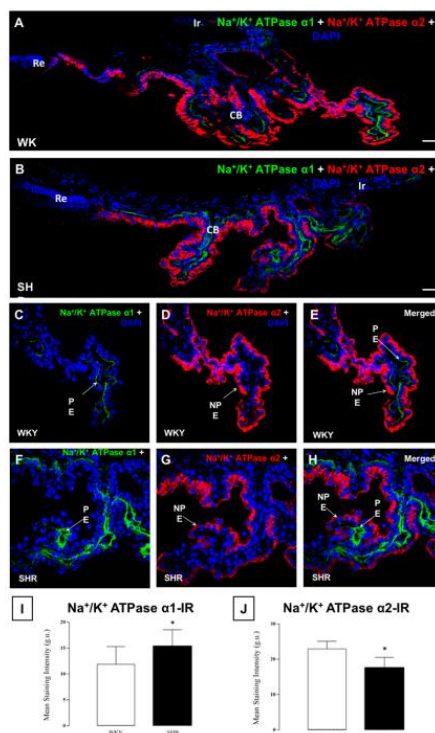


Figure 5. Confocal microscopy images of the expression of Na⁺/K⁺ ATPase α1 and α2 subunits in the basal membrane of the PE of the CB and the staining. The Na⁺/K⁺ ATPase α1 subunit is located in the basal membrane of the PE of the CB and the staining was higher in SHR when compared to WKY rats (C,F). A decrease in the expression of α2 in SHR (D,G) rats was observed in the basal membrane of the NPE of the ciliary body. Images (E,H) show the localization of both subunits in the CB. At the bottom, values of stain intensities in r.u. for Na⁺/K⁺ ATPase α1 (I) and Na⁺/K⁺ ATPase α2 (J) are represented as the means ± SD (n = ten animals per group) * p < 0.05 WKY vs. SHR rats. Ir: iris; CB: ciliary body; Re: retina; NPE: non-pigmented epithelium; Pe: pigmented epithelium. Scale bars 40 μm.

155

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

183 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

183 / 228

A1 Artículo publicado relacionado con la elaboración de la tesis doctoral

Cells 2018, 7, 210

10 of 13

4. Discussion

The data here regarding the cellular location of the studied proteins agreed with those of other authors [27,28]. The AQP4 was found in the basal membrane of the CB NPE while AQP1 was expressed in the endothelium basal pole of the CB blood vessels. Furthermore, in agreement with [28], AQP1 was also found in both the PIE and AIE of the whole iris, whereas AQP4 was only found in the basal part of the PIE. In the work of Yamaguchi et al. [28], the authors divided the expression of AQP1 and AQP4 into three different regions: one that included most of the iris and expressed only AQP1; another zone where there was co-localization of AQP4 and AQP1 and was situated between the posterior part of the iris and the anterior pars plicata; and finally, an area that included the medial and posterior pars plicata where only AQP4 was expressed.

The results here showed the same location patterns described above, although differences in the expression of AQP1 and AQP4 with arterial hypertension were found (Figure 3). In addition, the Na⁺/K⁺ ATPase α1 subunit was located in the PE and the Na⁺/K⁺ ATPase α2 subunit was present in the basal membrane of CB NPE in line with Araraki et al. [25].

The correlation between BP and aqueous humor formation and IOP is not clear; several studies have described different and opposite results: one study found no correlation of IOP with SAP values [29], another study hypothesized that the increase in BP could be associated with an elevated IOP, leading to increased risk of glaucoma [30], and another one found that arterial hypertension increased IOP slightly, but had an important negative effect on ocular perfusion [31].

Furthermore, in rats, four weeks of chronic hypertension compromised the benefit of high blood pressure against high IOP. This effect has been partially associated with a reduced capacity for ocular blood flow to autoregulate in response to high IOP in chronic hypertension. Structural changes to blood vessels arising from chronic hypertension may underlie some of our observations, but longer interventions are needed to evoke the long-term components (vascular and neural) of this response [32].

Experimental animals such as SHR showed lower intraocular pressure, despite high arterial blood pressure, than the normotensive WKY. The CB blood vessels in SHR showed a significant dilation of the vessels when compared to WKY. A vascular rarefaction has been reported in the capillaries of the CB as well as in the choroid capillaries [11,12]. The number of fenestrations found in the endothelium of the capillaries in all CB regions was reduced by about half in SHR. In addition, hyalinization of the connective tissue around the vessels in the CB has been observed in SHR. This low IOP described in SHR [11,12] could be explained by the low AQP4 expression described in the results here, which may be considered the cause of the reduced aqueous formation and is also supported by the decrease of the Na⁺/K⁺ ATPase α-2 found here to be clearly low in CB in SHR.

It is possible that in cases of an increase in systemic BP, this would lead to elevated perfusion in the CB, which produces an increase of ultrafiltration and aqueous humor production [33]. However, this increase in aqueous humor formation would not be so evident; compensatory mechanisms may exist when BP elevation has only recently been established and there is still no arterial damage or vascular remodeling. On the other hand, a significant reduction in intraocular pressure has been described in AQP1 knockout (KO) mice, which was attributed more to the reduced production of aqueous humor than output alterations [34].

In this respect, the results obtained in the present study are in line with the above, and AQP1 expression was greater in SHR rats than in WKY rats. In addition, Na⁺/K⁺ ATPase α1, which is involved in the passage of Na⁺ and in creating an osmotic gradient that allows water to pass through, was also greater in the WKY than in the SHR rats. Na⁺/K⁺ ATPase in the CB is modulated by various factors that affect aqueous fluid [35,36].

The above suggests that there is an increase in perfusion in CB. This finding agrees with the results described by a research study in SHR rats, where a slight increase in intraocular pressure (22.5 vs. 20.2 mmHg) was found when compared to controls at eight weeks of age [24]. However, a decrease in AQP4 and a lower expression of the Na⁺/K⁺ ATPase α2 observed in SHR here were responsible for the reduced passage of water to the posterior chamber in the formation of aqueous humor. These

156

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

11/07/2022 09:35:01

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

184 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár

28/07/2022 15:49:39

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

184 / 228

Anexos

Cells 2018, 7, 210

11 of 13

findings are consistent with research work on SHR rats that showed a lower IOP (7.8 vs. 15.9 mmHg) than that in WKY rats, and the decrease of IOP developed in parallel to the increase of BP between five and twenty-one weeks of age [12].

According to other authors [37,38], the iris may be involved in the production of aqueous humor. These authors have reported an expression of AQP1 in the iris, both in the PIE and the AIE, and that AQP4 is expressed in the basal membrane of the PIE. Furthermore, it has been suggested that AQP1 expression in the iris epithelium is related to the regulation of aqueous humor volume [28]. It has also been described that the epithelium of the iris is more active in the production of aqueous humor during fetal development than the ciliary body. This pattern contrasts with that in the adult eye, where the ciliary body is the dominant site of AQP expression [38]. In hypertensive rats, AQP1 and AQP4 are greater in the iris and the region of posterior iris-anterior pars plicata, respectively. In addition, in the area where they co-locate, the marking intensity is higher in SHR compared to WKY rats due to the increased extension of AQP4 expression in SHR. If it could be confirmed that the iris participates in the formation of aqueous humor, these results would imply a higher production of aqueous humor as a result of arterial hypertension.

One study reported that hypertensive younger people who were still without vessel damage could benefit from high BP to increase their ocular perfusion pressure, while older people with narrowed vessel lumen may have lower ocular perfusion pressure [39]. It could be assumed from the results here that the increase of AQP1 and Na⁺/K⁺ ATPase α 1 in SHR rats would increase the passage of water from the vessels to the CP cells and that there is a decrease in AQP4 and Na⁺/K⁺ ATPase α 2 to reduce the production of aqueous humor. This compensatory mechanism could produce a normal reduction in aqueous humor formation for a time, but would fail over time, which would explain the contradictory results reported by the different authors.

5. Conclusions

The results reported here suggest that systemic hypertension induces changes in protein expression related to the formation of aqueous humor. These changes are associated with an increase in the ocular perfusion pressure where adaptive mechanisms prevent an elevation of the formation of aqueous humor, thus keeping the IOP constant. The relationship between high BP and high IOP also probably depends on how long the hypertension lasts, in such a way that hypertension could produce a decrease in IOP at the beginning, but long term systemic hypertension produces an increase in IOP. The alterations of the CB, iris, and AQPs produced by high blood pressure may play an important role in this phenomenon. Further studies with older specimens and longer periods of untreated hypertension may be of interest in shedding light on these issues.

Author Contributions: I.G.-M., L.G.H.-A., E.M.C.-C., and L.C.-R. designed and conducted the experiments. I.G.-M., L.G.H.-A., J.A.A.-R., and A.C.-P. analyzed the data. I.G.-M., E.M.C.-C., and A.C.-P. wrote the paper.

Funding: This study was supported by the research projects from the "Fundación Canaria Instituto de Investigación y Ciencias de Puerto del Rosario (INIPRO)" Islas Canarias, Spain. Project no. INIPRO 01/14.

Acknowledgments: We wish to thank Lidia Ruiz-Mayor for her technical support and Patrick Dennis for his help with the English language of the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Quigley, H.A.; West, S.K.; Rodriguez, J.; Munoz, B.; Klein, R.; Snyder, R. The prevalence of glaucoma in a population-based study of Hispanic subjects: Proyecto VER. *Arch. Ophthalmol.* **2001**, *119*, 1819–1826. [CrossRef] [PubMed]
2. Bonomi, L.; Marchini, G.; Marraffa, M.; Morbio, R. The relationship between intraocular pressure and glaucoma in a defined population. Data from the Egna-Neumarkt Glaucoma Study. *Ophthalmologica* **2001**, *215*, 34–38. [CrossRef] [PubMed]

157

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598

Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

185 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775

Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

185 / 228

A1 Artículo publicado relacionado con la elaboración de la tesis doctoral

Cells 2018, 7, 210

12 of 13

3. Nomura, H.; Ando, F.; Niino, N.; Shimokata, H.; Miyake, Y. The relationship between age and intraocular pressure in a Japanese population: The influence of central corneal thickness. *Curr. Eye Res.* **2002**, *24*, 81–85. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Yoshida, M.; Ishikawa, N.M.; Kokaze, A.; Sekine, Y.; Matsunaga, N.; Uchida, Y.; Takashima, Y. Association of life-style with intraocular pressure in middle-aged and older Japanese residents. *Jpn. J. Ophthalmol.* **2003**, *47*, 191–198. [\[CrossRef\]](#)
5. Mitchell, P.; Leung, H.; Wang, J.J.; Rochtchina, E.; Lee, A.J.; Wong, T.Y.; Klein, R. Retinal vessel diameter and open-angle glaucoma: The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* **2005**, *112*, 245–250. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Chen, H.Y.; Lai, S.W. Relationbetween intraocular pressure and systemic health parameters in Taiwan. *South. Med. J.* **2005**, *98*, 28–32. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. McLeod, S.D.; West, S.K.; Quigley, H.A.; Fozard, J.L. A longitudinal study of the relationship between intraocular and blood pressures. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **1990**, *31*, 2361–2366.
8. Nakano, T.; Tatemichi, M.; Miura, Y.; Sugita, M.; Kitahara, K. Long-term physiologic changes of intraocular pressure: A 10-year longitudinal analysis in young and middle-aged Japanese men. *Ophthalmology* **2005**, *112*, 609–616. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Wu, S.Y.; Nemesure, B.; Hennis, A.; Leske, M.C. Nine-year changes in intraocular pressure: The barbados eye studies. *Arch. Ophthalmol.* **2006**, *124*, 1631–1636. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
10. Deokule, S. How is systemic blood pressure and intraocular pressure related? *J. Curr. Glaucoma Pract.* **2009**, *3*, 1–4. [\[CrossRef\]](#)
11. Funk, R.; Rohen, J.W. Comparative morphological studies on blood vessels in eyes of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Exp. Eye Res.* **1985**, *40*, 191–203. [\[CrossRef\]](#)
12. Funk, R.; Rohen, J.W.; Skolasinska, K. Intraocular pressure and systemic blood pressure after administration of vasoactive substances in hypertensive and normal rats. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **1985**, *223*, 145–149. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Vaajanan, A.; Mervaala, E.; Oksala, O.; Vapaatalo, H. Is there a relationship between blood pressure and intraocular pressure? An experimental study in hypertensive rats. *Curr. Eye Res.* **2008**, *33*, 325–332. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Delamere, N.A. Ciliary Body and Ciliary Epithelium. *Adv. Organ Biol.* **2005**, *10*, 127–148. [\[PubMed\]](#)
15. To, C.H.; Kong, C.W.; Chan, C.Y.; Shahidullah, M.; Do, C.W. The mechanism of aqueous humour formation. *Clin. Exp. Optom.* **2002**, *85*, 335–349. [\[PubMed\]](#)
16. Bogner, B.; Schroedl, F.; Trost, A.; Kaser-Eichberger, A.; Runge, C.; Strohmaier, C.; Motloch, K.A.; Bruckner, D.; Hauser-Kronberger, C.; Bauer, H.C.; et al. Aquaporin expression and localization in the rabbit eye. *Exp. Eye Res.* **2016**, *147*, 20–30. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Castañeyra-Ruiz, L.; González-Marrero, I.; Castañeyra-Ruiz, A.; González-Toledo, J.M.; Castañeyra-Ruiz, M.; Perez-Molto, F.J.; Carmona-Calero, E.M.; Castañeyra-Perdomo, A. The Neuroepithelium Disruption Could Generate Autoantibodies against AQP4 and Cause Neuromyelitis Optica and Hydrocephalus. *Int. Sch. Res. Not.* **2014**, *2014*, 580572. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Castle, N.A. Aquaporins as targets for drug discovery. *Drug Discov. Today* **2004**, *10*, 485–493. [\[CrossRef\]](#)
19. Verkman, A.S. Aquaporins in clinical medicine. *Annu. Rev. Med.* **2012**, *63*, 303–316. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Huber, V.J.; Tsujita, M.; Nakada, T. Aquaporins in drug discovery and pharmacotherapy. *Mol. Asp. Med.* **2012**, *33*, 691–703. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Schey, K.L.; Wang, Z.; Wenke, J.L.; Qi, Y. Aquaporins in the eye: Expression, function, and roles in ocular disease. *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, *1840*, 1513–1523. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Verkman, A.S. Role of aquaporin water channels in eye function. *Exp. Eye Res.* **2003**, *76*, 137–143. [\[CrossRef\]](#)
23. Fischbarg, J. Water channels and their roles in some ocular tissues. *Mol. Asp. Med.* **2012**, *33*, 638–641. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Ghosh, S.; Hernando, N.; Martin-Alonso, J.M.; Martin-Vasallo, P.; Coca-Prados, M. Expression of multiple Na⁺, K⁺-ATPase genes reveals a gradient of isoforms along the nonpigmented ciliary epithelium: Functional implications in aqueous humor secretion. *J. Cell. Physiol.* **1991**, *149*, 184–194. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Arakaki, X.; McCleary, P.; Tegy, M.; Chiang, J.; Kuo, L.; Fonteh, A.N.; Armstrong, B.; Levy, D.; Harrington, M.G. Na, K-ATPase alpha isoforms at the blood-cerebrospinal fluid-trigeminal nerve and blood-retina interfaces in the rat. *Fluids Barriers CNS* **2013**, *10*, 1–14. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

158

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598

Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo

11/07/2022 09:35:01

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

186 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775

Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguiar

28/07/2022 15:49:39

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

186 / 228

Anexos

Cells 2018, 7, 210

13 of 13

26. González-Marrero, I.; Giménez-Llort, L.; Johanson, C.E.; Carmona-Calero, E.M.; Castañeyra-Ruiz, L.; Brito-Armas, J.M.; Castañeyra-Perdomo, A.; Castro-Fuentes, R. Choroid plexus dysfunction impairs beta-amyloid clearance in a tripletransgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Front. Cell. Neurosci.* **2015**, *9*, 17. [CrossRef] [PubMed]
27. Hamann, S.; Zeuthen, T.; La Cour, M.; Nagelhus, E.A.; Ottersen, O.P.; Agre, P.; Nielsen, S. Aquaporins in complex tissues: Distribution of aquaporins 1–5 in human and rat eye. *Am. J. Physiol.* **1998**, *274*, C1332–C1345. [CrossRef] [PubMed]
28. Yamaguchi, Y.; Watanabe, T.; Hirakata, A.; Hida, T. Localization and ontogeny of aquaporin-1 and -4 expression in iris and ciliary epithelial cells in rats. *Cell Tissue Res.* **2006**, *325*, 101–109. [CrossRef] [PubMed]
29. Tenorio-Guajardo, G.; AvilaRamirez, L.; HenriquezBonillac, J.C.; Zamora de la Cruz, D.; Garcia Garcia, J.; Izzola Conde, C. Cambios de la presión intraocular en pacientes con hipertensión arterial. *Rev. Med. Hosp. Gen. Mex.* **2014**, *77*, 101–107. [CrossRef]
30. Zhao, D.; Cho, J.; Kim, M.H.; Guallar, E. The association of blood pressure and primary open-angle glaucoma: A meta-analysis. *Am. J. Ophthalmol.* **2014**, *158*, 615–627.e9. [CrossRef] [PubMed]
31. Erb, C.; Predel, H.G. Relevance of arterial hypertension in primary open-angle glaucoma. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* **2014**, *231*, 136–143. [PubMed]
32. He, Z.; Vingrys, A.J.; Armitage, J.A.; Nguyen, C.T.; Bui, B.V. Chronic hypertension increases susceptibility to acute IOP challenge in rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2014**, *55*, 7888–7895. [CrossRef] [PubMed]
33. He, Z.; Armitage, J.A.; Bui, B.V. The role of blood pressure in glaucoma. *Clin. Exp. Optom.* **2011**, *94*, 133–149. [CrossRef] [PubMed]
34. Zhang, D.; Vetrivel, L.; Verkman, A.S. Aquaporin deletion in mice reduces intraocular pressure and aqueous fluid production. *J. Gen. Physiol.* **2014**, *119*, 561–569. [CrossRef]
35. Ellis, D.Z.; Nathanson, J.A.; Rabe, J.; Sweadner, K.J. Carbachol and nitric oxide inhibition of Na, K-ATPase activity in bovine ciliary processes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2001**, *42*, 2625–2631.
36. Yadav, U.C.; Srivastava, S.K.; Ramana, K.V. Inhibition of aldose reductase attenuates endotoxin signals in human non-pigmented ciliary epithelial cells. *Exp. Eye Res.* **2010**, *90*, 555–563. [CrossRef] [PubMed]
37. Green, K.; Pederson, J.E. Aqueous humor formation. *Exp. Eye Res.* **1973**, *16*, 273–286. [CrossRef]
38. Hasegawa, H.; Lian, S.C.; Finkbeiner, W.E.; Verkman, A.S. Extrarenal tissue distribution of CHIP28 water channels by in situ hybridization and antibody staining. *Am. J. Physiol.* **1994**, *266*, C893–C903. [CrossRef] [PubMed]
39. Choi, J.; Kook, M.S. Systemic and Ocular Hemodynamic Risk Factors in Glaucoma. *Biomed. Res. Int.* **2015**, *2015*, 141905. [CrossRef] [PubMed]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

159

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

187 / 228

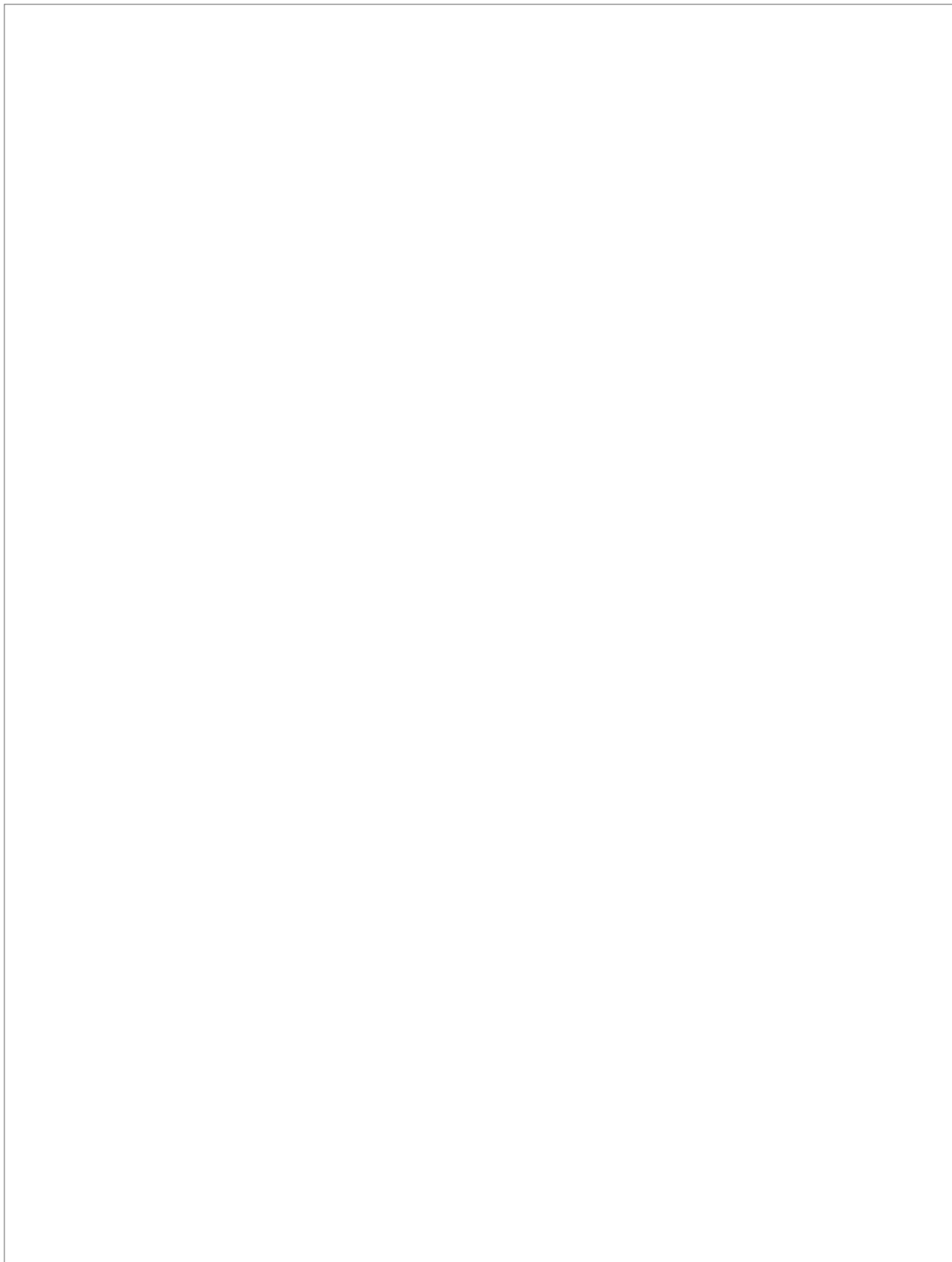
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

187 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

188 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

188 / 228

Bibliografía

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

189 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

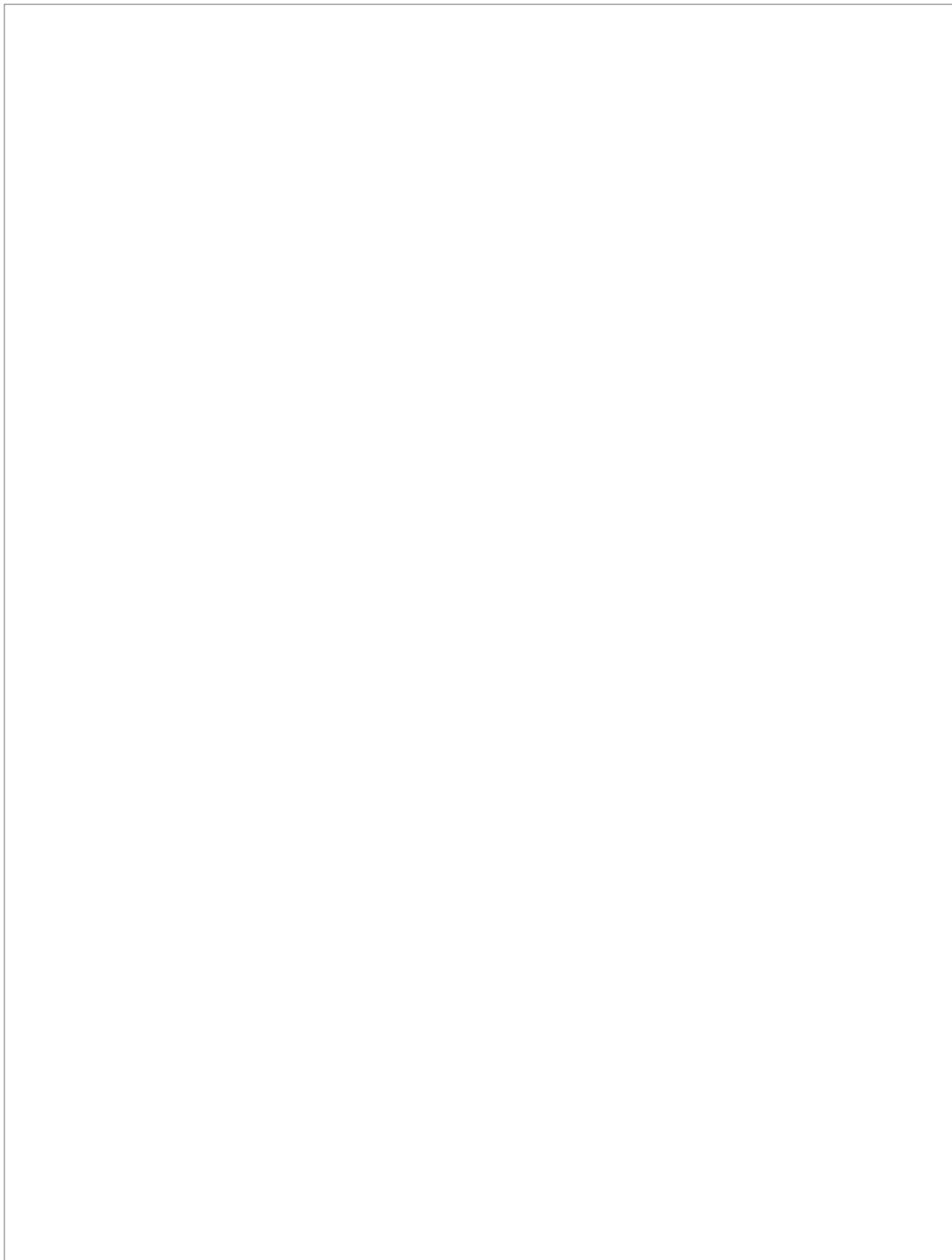
Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39

189 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

190 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

190 / 228

Bibliografía

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. Lancet. 2017 Jan 7;389(10064):37-55. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31919-5. Epub 2016 Nov 16. Erratum in: Lancet. 2020 Sep 26;396(10255):886. PMID: 27863813; PMCID: PMC5220163
2. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. Lancet. 2021 Sep 11;398(10304):957-980. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01330-1. Epub 2021 Aug 24. Erratum in: Lancet. 2022 Feb 5;399(10324):520. PMID: 34450083; PMCID: PMC8446938.
3. Whitworth JA; World Health Organization, International Society of Hypertension Writing Group. 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. J Hypertens. 2003 Nov;21(11):1983-92. doi: 10.1097/00004872-200311000-00002. PMID:14597836.
4. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. Lancet. 2005 Jan 15-21;365(9455):217-23. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17741-1. PMID: 15652604.
5. Saxena T, Ali AO, Saxena M. Pathophysiology of essential hypertension: an update. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2018 Dec;16(12):879-887. doi: 10.1080/14779072.2018.1540301. PMID: 30354851. Klein R, Sharrett AR, Klein BE, Chambless LE, Cooper LS, Hubbard LD, Evans G. Are retinal arteriolar abnormalities related to atherosclerosis?: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000 Jun;20(6):1644-50. doi: 10.1161/01.atv.20.6.1644. PMID: 10845884.

163

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

191 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

191 / 228

Bibliografía

6. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, de Simone G, Dominiczak A, Kahan T, Mahfoud F, Redon J, Ruilope L, Zanchetti A, Kerins M, Kjeldsen SE, Kreutz R, Laurent S, Lip GYH, McManus R, Narkiewicz K, Ruschitzka F, Schmieder RE, Shlyakhto E, Tsioufis C, Aboyans V, Desormais I; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. Eur Heart J. 2018 Sep 1;39(33):3021-3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339. Erratum in: Eur Heart J. 2019 Feb 1;40(5):475. PMID: 30165516.
7. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. Lancet. 2002 Dec 14;360(9349):1903-13. doi: 10.1016/s0140-6736(02)11911-8. Erratum in: Lancet. 2003 Mar 22;361(9362):1060. PMID: 12493255.
8. Wong TY, Mitchell P. Hypertensive retinopathy. N Engl J Med. 2004 Nov 25;351(22):2310-7. doi: 10.1056/NEJMra032865. PMID: 15564546.
9. Wang JJ, Liew G, Wong TY, Smith W, Klein R, Leeder SR, Mitchell P. Retinal vascular calibre and the risk of coronary heart disease-related death. Heart. 2006 Nov;92(11):1583-7. doi: 10.1136/hrt.2006.090522. Epub 2006 Jul 13. PMID: 16840510; PMCID: PMC1861253.
10. Liew G, Campbell S, Klein R, Klein BE, Sharrett AR, Cotch MF, Wang JJ, Wong TY. Ten-year longitudinal changes in retinal microvascular lesions: the atherosclerosis risk in communities study. Ophthalmology. 2011 Aug;118(8):1612-8. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.01.003. Epub 2011 Apr 29. PMID: 21529953; PMCID: PMC3150229.
11. Wang S, Xu L, Jonas JB, Wong TY, Cui T, Li Y, Wang YX, You QS, Yang H, Sun C. Major eye diseases and risk factors associated with systemic hypertension in an adult Chinese population: the Beijing Eye Study. Ophthalmology. 2009 Dec;116(12):2373-80. doi: 10.1016/j.ophtha.2009.05.041. Epub 2009 Oct 7. PMID: 19815279.
12. Xu W, Grunwald JE, Metelitsina TI, DuPont JC, Ying GS, Martin ER, Dunaief JL, Brucker AJ. Association of risk factors for choroidal

164

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

192 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

192 / 228

Bibliografía

- neovascularization in age-related macular degeneration with decreased foveolar choroidal circulation. Am J Ophthalmol. 2010 Jul;150(1):40-47.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2010.01.041. Epub 2010 May 20. PMID: 20493466; PMCID: PMC2900527
13. Biesenbach G, Zazgornik J. High prevalence of hypertensive retinopathy and coronary heart disease in hypertensive patients with persistent microalbuminuria under short intensive antihypertensive therapy. Clin Nephrol. 1994 Apr;41(4):211-8. PMID: 8026113.
 14. Pontremoli R, Sofia A, Tirota A, Ravera M, Nicoletta C, Viazzi F, Bezante GP, Borgia L, Bobola N, Ravazzolo R, Sacchi G, Deferrari G. The deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with target organ damage in essential hypertension. J Am Soc Nephrol. 1996 Dec;7(12):2550-8. doi: 10.1681/ASN.V7122550. PMID: 8989733.
 15. Poulter NR. Independent effects of smoking on risk of hypertension: small, if present. J Hypertens. 2002 Feb;20(2):171-2. doi: 10.1097/00004872-200202000-00002. PMID: 11821697.
 16. Henderson AD, Bruce BB, Newman NJ, Biousse V. Hypertension-related eye abnormalities and the risk of stroke. Rev Neurol Dis. 2011;8(1-2):1-9. PMID: 21769065; PMCID: PMC3448945.
 17. Knudtson MD, Lee KE, Hubbard LD, Wong TY, Klein R, Klein BE. Revised formulas for summarizing retinal vessel diameters. Curr Eye Res. 2003 Sep;27(3):143-9. doi: 10.1076/ceyr.27.3.143.16049. PMID: 14562179.
 18. Wong TY. Fred Hollows lecture: hypertensive retinopathy - a journey from fundoscopy to digital imaging. Clin Exp Ophthalmol. 2006 Jul;34(5):397-400. doi: 10.1111/j.1442-9071.2006.01233.x. PMID: 16872333.
 19. Wolffsohn JS, Hurcomb PG. Hypertension and the eye. Curr Hypertens Rep. 2002 Dec;4(6):471-6. doi: 10.1007/s11906-002-0028-z. PMID: 12419177.
 20. Katsi V, Marketou M, Vlachopoulos C, Tousoulis D, Souretis G, Papageorgiou N, Stefanadis C, Vardas P, Kallikazaros I. Impact of arterial hypertension on the eye. Curr Hypertens Rep. 2012 Dec;14(6):581-90. doi: 10.1007/s11906-012-0283-6. PMID: 22673879.

165

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

193 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

193 / 228

Bibliografía

21. Konstantinidis L, Guex-Crosier Y. Hypertension and the eye. *Curr Opin Ophthalmol.* 2016 Nov;27(6):514-521. doi: 10.1097/ICU.0000000000000307. PMID: 27662019.
22. Karia N. Retinal vein occlusion: pathophysiology and treatment options. *Clin Ophthalmol.* 2010 Jul 30;4:809-16. doi: 10.2147/ophth.s7631. PMID: 20689798; PMCID: PMC2915868.
23. Scott IU, Ip MS, VanVeldhuisen PC, Oden NL, Blodi BA, Fisher M, Chan CK, Gonzalez VH, Singerman LJ, Tolentino M; SCORE Study Research Group. A randomized trial comparing the efficacy and safety of intravitreal triamcinolone with standard care to treat vision loss associated with macular edema secondary to branch retinal vein occlusion: the Standard Care vs Corticosteroid for Retinal Vein Occlusion (SCORE) study report 6. *Arch Ophthalmol.* 2009 Sep;127(9):1115-28. doi: 10.1001/archophthalmol.2009.233. Erratum in: *Arch Ophthalmol.* 2009 Dec;127(12):1655. PMID: 19752420; PMCID: PMC2806600.
24. Qian T, Zhao M, Xu X. Comparison between anti-VEGF therapy and corticosteroid or laser therapy for macular oedema secondary to retinal vein occlusion: A meta-analysis. *J Clin Pharm Ther.* 2017 Oct;42(5):519-529. doi: 10.1111/jcpt.12551. Epub 2017 Jun 22. PMID: 28639290.
25. Mehta N, Marco RD, Goldhardt R, Modi Y. Central Retinal Artery Occlusion: Acute Management and Treatment. *Curr Ophthalmol Rep.* 2017 Jun;5(2):149-159. doi: 10.1007/s40135-017-0135-2. Epub 2017 Apr 18. PMID: 29051845; PMCID: PMC5642921.
26. Callizo J, Feltgen N, Pantenburg S, Wolf A, Neubauer AS, Jurklics B, Wachter R, Schmoor C, Schumacher M, Junker B, Pielen A., European Assessment Group for Lysis in the Eye. Cardiovascular Risk Factors in Central Retinal Artery Occlusion: Results of a Prospective and Standardized Medical Examination. *Ophthalmology.* 2015 Sep;122(9):1881-8. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.05.044. Epub 2015 Jul 21. PMID: 26231133.
27. Fraser SG, Adams W. Interventions for acute non-arteritic central retinal artery occlusion. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009 Jan

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

Bibliografía

- 21;(1):CD001989. Update in: Cochrane Database Syst Rev. 2009;(1):CD001989. PMID: 11869617.
28. Chen CS, Lee AW, Campbell B, Lee T, Paine M, Fraser C, Grigg J, Markus R. Efficacy of intravenous tissue-type plasminogen activator in central retinal artery occlusion: report from a randomized, controlled trial. Stroke. 2011 Aug;42(8):2229-34. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.613653. Epub 2011 Jul 14. PMID: 21757667.
29. Crăițoiu S. Aspects morphopathologiques de la rétinopathie diabétique [The morphopathological aspects of diabetic retinopathy]. Oftalmologia. 1992 Apr- Jun;36(2):141-8. French. PMID: 1525142.
30. Garner A. Histopathology of diabetic retinopathy in man. Eye (Lond). 1993;7 (Pt 2):250-3. doi: 10.1038/eye.1993.58. PMID: 7607344.
31. Matthews DR, Stratton IM, Aldington SJ, Holman RR, Kohner EM; UK Prospective Diabetes Study Group. Risks of progression of retinopathy and vision loss related to tight blood pressure control in type 2 diabetes mellitus: UKPDS 69. Arch Ophthalmol. 2004 Nov;122(11):1631-40. doi: 10.1001/archophth.122.11.1631. PMID: 15534123.
32. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of diabetic retinopathy. XIV. Ten-year incidence and progression of diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol. 1994 Sep;112(9):1217-28. doi: 10.1001/archophth.1994.01090210105023. PMID: 7619101.
33. Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms. ETDRS report number 11. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology. 1991 May;98(5 Suppl):807-22. PMID: 2062514.
34. Leske MC, Wu SY, Hennis A, Nemesure B, Hyman L, Schachat A; Barbados Eye Studies Group. Incidence of diabetic retinopathy in the Barbados Eye Studies. Ophthalmology. 2003 May;110(5):941-7. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00086-1. PMID: 12750094.
35. Leske MC, Wu SY, Hennis A, Hyman L, Nemesure B, Yang L, Schachat AP; Barbados Eye Study Group. Hyperglycemia, blood pressure, and the 9-year incidence of diabetic retinopathy: the Barbados Eye Studies. Ophthalmology. 2005 May;112(5):799-805. doi: 10.1016/j.ophtha.2004.11.054. PMID: 15878059.

167

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

195 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

195 / 228

Bibliografía

36. Cook C, Foster P. Epidemiology of glaucoma: what's new? Can J Ophthalmol. 2012 Jun;47(3):223-6. doi: 10.1016/j.jco.2012.02.003. PMID: 22687296.
37. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma. Lancet. 2017 Nov 11;390(10108):2183-2193. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31469-1. Epub 2017 May 31. PMID: 28577860.
38. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. Br J Ophthalmol. 2006 Mar;90(3):262-7. doi: 10.1136/bjo.2005.081224. PMID: 16488940; PMCID: PMC1856963.
39. Prum BE Jr, Rosenberg LF, Gedde SJ, Mansberger SL, Stein JD, Moroi SE, Herndon LW Jr, Lim MC, Williams RD. Primary Open-Angle Glaucoma Preferred Practice Pattern® Guidelines. Ophthalmology. 2016 Jan;123(1):P41-P111. doi: 10.1016/j.optha.2015.10.053. Epub 2015 Nov 12. Erratum in: Ophthalmology. 2018 Jun;125(6):949. PMID: 26581556.
40. Greenwood M, Berdahl J. Cerebrospinal Fluid Pressure and Glaucoma. Curr Ophthalmol. Rep 4, 2016; 180-186. <https://doi.org/10.1007/s40135-016-0110-3>
41. Quigley HA, Addicks EM. Regional differences in the structure of the lamina cribrosa and their relation to glaucomatous optic nerve damage. Arch Ophthalmol. 1981 Jan;99(1):137-43. doi: 10.1001/archoph.1981.03930010139020. PMID: 7458737.
42. Morgan-Davies J, Taylor N, Hill AR, Aspinall P, O'Brien CJ, Azuara-Blanco A. Three dimensional analysis of the lamina cribrosa in glaucoma. Br J Ophthalmol. 2004 Oct;88(10):1299-304. doi: 10.1136/bjo.2003.036020. PMID: 15377555; PMCID: PMC1772339.
43. Sit AJ, Pruet CM. Personalizing Intraocular Pressure: Target Intraocular Pressure in the Setting of 24-Hour Intraocular Pressure Monitoring. Asia Pac J Ophthalmol (Phila). 2016 Jan-Feb;5(1):17-22. doi: 10.1097/APO.0000000000000178. PMID: 26886115.
44. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CM, Klein R, Cheng CY, Wong TY. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis.

168

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

196 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

196 / 228

Bibliografía

- Lancet Glob Health. 2014 Feb;2(2):e106-16. doi: 10.1016/S2214-109X(13)70145-1. Epub 2014 Jan 3. PMID: 25104651.
45. Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Mitchell P, Vingerling JR, Klein BE, Smith W, De Jong PT. Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology*. 2004 Jul;111(7):1280-7. doi: 10.1016/j.ophtha.2003.11.010. PMID: 15234127.
46. Delcourt C, Michel F, Colvez A, Lacroux A, Delage M, Vernet MH; POLA Study Group. Associations of cardiovascular disease and its risk factors with age-related macular degeneration: the POLA study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2001 Sep;8(4):237-49. doi: 10.1076/opep.8.4.237.1613. PMID: 11471092.
47. Ding X, Patel M, Chan CC. Molecular pathology of age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res*. 2009 Jan;28(1):1-18. doi: 10.1016/j.preteyeres.2008.10.001. Epub 2008 Nov 6. PMID: 19026761; PMCID: PMC2715284.
48. Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, Holz FG, Wong TY. Age-related macular degeneration. *Lancet*. 2012 May 5;379(9827):1728-38. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60282-7. PMID: 22559899.
49. Age-Related Eye Disease Study Research Group. The Age-Related Eye Disease Study system for classifying age-related macular degeneration from stereoscopic color fundus photographs: the Age-Related Eye Disease Study Report Number 6. *Am J Ophthalmol*. 2001 Nov;132(5):668-81. doi: 10.1016/s0002-9394(01)01218-1. PMID:11704028.
50. Raviola G. The fine structure of the ciliary zonule and ciliary epithelium. With special regard to the organization and insertion of the zonular fibrils. *Invest Ophthalmol*. 1971 Nov;10(11):851-69. PMID: 4107306.
51. Tormey JM. The ciliary epithelium: an attempt to correlate structure and function. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1966 Sep-Oct;70(5):755-66. PMID: 5970712.

169

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

197 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilera UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

197 / 228

Bibliografía

52. Tamm ER, Lütjen-Drecoll E. Ciliary body. *Microsc Res Tech.* 1996 Apr 1;33(5):390-439. doi: 10.1002/(SICI)1097-0029(19960401)33:5<390::AID-JEMT2>3.0.CO;2-S. PMID: 8695897.
53. Calasans OM. The architecture of the ciliary muscle in man. *Ann Fac Med Univ Sao Paulo* 1953 27:3-27.
54. Rohen, Johannes W. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen.* Springer, 1964.
55. To CH, Kong CW, Chan CY, Shahidullah M, Do CW. The mechanism of aqueous humour formation. *Clin Exp Optom.* 2002 Nov;85(6):335-49. PMID: 12452784.
56. Toris CB. Aqueous Humor Dynamics and Intraocular Pressure Elevation. In *Medical Diagnosis and Therapy.* Vol. 1. Elsevier Inc. 2015. p. 47-56 <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5193-7.00006-6>
57. Toris C.B, Tye G, Pattabiraman P. Changes in Parameters of Aqueous Humor Dynamics Throughout Life. In: Guidoboni, G., Harris, A., Sacco, R. (eds) *Ocular Fluid Dynamics. Modeling and Simulation in Science, Engineering and Technology.* Birkhäuser, Cham 2019. https://doi.org/10.1007/978-3-030-25886-3_6
58. Delamere NA. Ciliary Body and Ciliary Epithelium. *Adv Organ Biol.* 2005 Jan 1;10:127-148. doi: 10.1016/S1569-2590(05)10005-6. PMID: 21234280; PMCID: PMC3018825.
59. Moazed KT. Iris Anatomy. In: *The Iris: Understanding the Essentials.* Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 15-29
60. Fine BS, Yanoff M, editors. *Ocular histology: a text and atlas.* 2nd ed. New York: Harper & Row; 1972. p. 168-212.
61. Sires B. Orbital and ocular anatomy. In: Wright, editor. *Textbook of Ophthalmology.* Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1997.
62. Goel M, Picciani RG, Lee RK, Bhattacharya SK. Aqueous humor dynamics: a review. *Open Ophthalmol J.* 2010 Sep 3;4:52-9. doi: 10.2174/1874364101004010052. PMID: 21293732; PMCID: PMC3032230.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

Bibliografía

63. Shahidullah M, Hassan W, Delamere NA. Mechanism of Aqueous Humor Secretion, Its Regulation and Relevance to Glaucoma. Glaucoma - Basic and Clinical Concepts; 2011. doi:10.5772/26559
64. Lütjen-Drecoll E. Functional morphology of the trabecular meshwork in primate eyes. Prog Retin Eye Res. 1999 Jan;18(1):91-119. doi: 10.1016/s1350-9462(98)00011-1. PMID: 9920500.
65. Buller C, Johnson D. Segmental variability of the trabecular meshwork in normal and glaucomatous eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1994 Oct;35(11):3841-51. PMID: 7928181.
66. Johnson DH, Johnson M. How does nonpenetrating glaucoma surgery work? Aqueous outflow resistance and glaucoma surgery. J Glaucoma. 2001 Feb;10(1):55-67. doi: 10.1097/00061198-200102000-00011. PMID: 11219641.
67. Buffault J, Labbé A, Hamard P, Brignole-Baudouin F, Baudouin C. The trabecular meshwork: Structure, function and clinical implications. A review of the literature. J Fr Ophtalmol. 2020 Sep;43(7):e217-e230. doi: 10.1016/j.jfo.2020.05.002. Epub 2020 Jun 16. PMID: 32561029.
68. Tamm ER. The trabecular meshwork outflow pathways: structural and functional aspects. Exp Eye Res. 2009 Apr;88(4):648-55. doi: 10.1016/j.exer.2009.02.007. Epub 2009 Feb 23. PMID: 19239914.
69. Faralli JA, Filla MS, Peters DM. Role of Fibronectin in Primary Open Angle Glaucoma. Cells. 2019 Nov 26;8(12):1518. doi: 10.3390/cells8121518. PMID: 31779192; PMCID: PMC6953041.
70. Pizzirani S, Gong H. Functional Anatomy of the Outflow Facilities. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2015 Nov;45(6):1101-26, v. doi: 10.1016/j.cvsm.2015.06.005. Epub 2015 Aug 31. PMID: 26337760; PMCID: PMC4787989.
71. Ansari M, Nadeem A. The Eyeball: Some Basic Concepts. Atlas of Ocular Anatomy. 2016;:11-27.
72. Hoon M, Okawa H, Della Santina L, Wong RO. Functional architecture of the retina: development and disease. Prog Retin Eye Res. 2014 Sep;42:44-84. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.06.003. Epub 2014 Jun 28. PMID: 24984227; PMCID: PMC4134977.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

Bibliografía

73. Kolb H, Fernandez E, Nelson R, editors. Webvision: The Organization of the Retina and Visual System [Internet]. Salt Lake City (UT): University of Utah Health Sciences Center; 1995-. PMID: 21413389.
74. Vecino E, Rodríguez FD, Ruzafa N, Pereiro X, Sharma SC. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. Prog Retin Eye Res. 2016 Mar;51:1-40. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.06.003. Epub 2015 Jun 23. PMID: 26113209.
75. Toma N. Anatomy of the Ophthalmic Artery: Embryological Consideration. Neurol Med Chir (Tokyo). 2016 Oct 15;56(10):585-591 doi: 10.2176/nmc.ra.2015-0324. Epub 2016 Jun 8. PMID: 27298261; PMCID: PMC5066078.
76. Selhorst JB, Chen Y. The optic nerve. Semin Neurol. 2009 Feb;29(1):29-35. doi: 10.1055/s-0028-1124020. Epub 2009 Feb 12. PMID: 19214930.
77. De Moraes CG. Anatomy of the visual pathways. J Glaucoma. 2013 Jun-Jul;22 Suppl 5:S2-7. doi: 10.1097/JG.0b013e3182934978. PMID: 23733119.
78. Jonas JB, Berenshtein E, Holbach L. Lamina cribrosa thickness and spatial relationships between intraocular space and cerebrospinal fluid space in highly myopic eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004 Aug;45(8):2660-5. doi: 10.1167/iovs.03-1363. PMID: 15277489.
79. Downs JC, Roberts MD, Burgoyne CF. Mechanical environment of the optic nerve head in glaucoma. Optom Vis Sci 2008;85:425-35. doi: 10.1097/OPX.0b013e31817841cb. PMID: 18521012; PMCID: PMC2714589.
80. Ren R, Wang N, Li B, Li L, Gao F, Xu X, Jonas JB. Lamina cribrosa and peripapillary sclera histomorphometry in normal and advanced glaucomatous Chinese eyes with various axial length. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009 May;50(5):2175-84. doi: 10.1167/iovs.07-1429. PMID: 19387083.
81. Sampaolesi R, Sampaolesi J, Zárate J. The Optic Disk, Optic Nerve Head, or Papilla. The Glaucomas. 2013;;323-339.
82. Cole D. Secretion of the aqueous humour. Experimental Eye Research. 1977;25:161-176.

172

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

200 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

200 / 228

Bibliografía

83. Helbig H, Korbmacher C, Nawrath M, Erb C, Wiederholt M. Sodium bicarbonate cotransport in cultured pigmented ciliary epithelial cells. *Curr Eye Res.* 1989 Jun;8(6):595-8. doi: 10.3109/02713688908995759. PMID: 2545409.
84. Dunn JJ, Lytle C, Crook RB. Immunolocalization of the Na-K-Cl cotransporter in bovine ciliary epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Feb;42(2):343-53. PMID: 11157865.
85. Helbig H, Korbmacher C, Stumpff F, Coca-Prados M, Wiederholt M. Na⁺/H⁺ exchange regulates intracellular pH in a cell clone derived from bovine pigmented ciliary epithelium. *J Cell Physiol.* 1988 Nov;137(2):384-9. doi: 10.1002/jcp.1041370225. PMID: 2848042.
86. González-Marrero I, Hernández-Abad LG, Carmona-Calero EM, Castañeyra-Ruiz L, Abreu-Reyes JA, Castañeyra-Perdomo A. Systemic Hypertension Effects on the Ciliary Body and Iris. An Immunofluorescence Study with Aquaporin 1, Aquaporin 4, and Na⁺, K⁺ ATPase in Hypertensive Rats. *Cells.* 2018 Nov 13;7(11):210. doi: 10.3390/cells7110210. PMID: 30428541; PMCID: PMC6262422.
87. Edelman JL, Loo DD, Sachs G. Characterization of potassium and chloride channels in the basolateral membrane of bovine nonpigmented ciliary epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995 Dec;36(13):2706-16. PMID: 7499093.
88. Shahidullah M, To CH, Pelis RM, Delamere NA. Studies on bicarbonate transporters and carbonic anhydrase in porcine nonpigmented ciliary epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009 Apr;50(4):1791-800. doi: 10.1167/iovs.08-2487. Epub 2008 Nov 14. PMID: 19011010; PMCID: PMC2744210.
89. Dobbs PC, Epstein DL, Anderson PJ. Identification of isoenzyme C as the principal carbonic anhydrase in human ciliary processes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1979 Aug;18(8):867-70. PMID: 110725.
90. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science.* 1992 Apr 17;256(5055):385-7. doi: 10.1126/science.256.5055.385. PMID: 1373524.

173

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

201 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

201 / 228

Bibliografía

91. Verkman AS. Role of aquaporin water channels in eye function. *Exp Eye Res.* 2003 Feb;76(2):137-43. doi: 10.1016/s0014-4835(02)00303-2. PMID: 12565800.
92. Tran TL, Hamann S, Heegaard S. Aquaporins in the Eye. *Adv Exp Med Biol.* 2017;969:193-198. doi: 10.1007/978-94-024-1057-0_12. PMID: 28258574.
93. Yamaguchi Y, Watanabe T, Hirakata A, Hida T. Localization and ontogeny of aquaporin-1 and -4 expression in iris and ciliary epithelial cells in rats. *Cell Tissue Res.* 2006 Jul;325(1):101-9. doi: 10.1007/s00441-005-0122-z. Epub 2006 Mar 7. PMID: 16525835.
94. Costagliola C, dell'Omo R, Agnifili L, Bartollino S, Fea AM, Uva MG, Zeppa L, Mastropasqua L. How many aqueous humor outflow pathways are there? *Surv Ophthalmol.* 2020 Mar-Apr;65(2):144-170. doi: 10.1016/j.survophthal.2019.10.002. Epub 2019 Oct 14. PMID: 31622628.
95. Tripathi RC. Ultrastructure of the exit pathway of the aqueous in lower mammals. (A preliminary report on the "angular aqueous plexus"). *Exp Eye Res.* 1971 Nov;12(3):311-4. doi: 10.1016/0014-4835(71)90155-2. PMID: 5130275.
96. Carreon T, van der Merwe E, Fellman RL, Johnstone M, Bhattacharya SK. Aqueous outflow - A continuum from trabecular meshwork to episcleral veins. *Prog Retin Eye Res.* 2017 Mar;57:108-133. doi: 10.1016/j.preteyeres.2016.12.004. Epub 2016 Dec 24. PMID: 28028002; PMCID: PMC5350024.
97. Stamer WD, Snyder RW, Smith BL, Agre P, Regan JW. Localization of aquaporin CHIP in the human eye: implications in the pathogenesis of glaucoma and other disorders of ocular fluid balance. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994 Oct;35(11):3867-72. PMID: 7523327.
98. Hamann S, Zeuthen T, La Cour M, Nagelhus EA, Ottersen OP, Agre P, Nielsen S. Aquaporins in complex tissues: distribution of aquaporins 1-5 in human and rat eye. *Am J Physiol.* 1998 May;274(5):C1332-45. doi: 10.1152/ajpcell.1998.274.5.C1332. PMID: 9612221.
99. Stamer WD, Peppel K, O'Donnell ME, Roberts BC, Wu F, Epstein DL. Expression of aquaporin-1 in human trabecular meshwork cells: role in

174

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

202 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

202 / 228

Bibliografía

- resting cell volume. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001 Jul;42(8):1803-11. PMID: 11431445.
100. Stamer WD, Chan DW, Conley SM, Coons S, Ethier CR. Aquaporin-1 expression and conventional aqueous outflow in human eyes. Exp Eye Res. 2008 Oct;87(4):349-55. doi: 10.1016/j.exer.2008.06.018. Epub 2008 Jul 9. PMID:
101. Johnson M, McLaren JW, Overby DR. Unconventional aqueous humor outflow: A review. Exp Eye Res. 2017 May;158:94-111. doi: 10.1016/j.exer.2016.01.017. Epub 2016 Feb 2. PMID: 26850315; PMCID: PMC4970980.
102. Cunha-Vaz J. The blood-ocular barriers. Surv Ophthalmol. 1979 Mar-Apr;23(5):279-96. doi: 10.1016/0039-6257(79)90158-9. PMID: 380030.
103. Cunha-Vaz J, Bernardes R, Lobo C. Blood-retinal barrier. Eur J Ophthalmol. 2011;21 Suppl 6:S3-9. doi: 10.5301/EJO.2010.6049. PMID: 23264323.
104. Campbell M, Humphries P. The blood-retina barrier: tight junctions and barrier modulation. Adv Exp Med Biol. 2012;763:70-84. PMID: 23397619.
105. Klaassen I, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions. Prog Retin Eye Res. 2013 May;34:19-48. doi: 10.1016/j.preteyeres.2013.02.001. Epub 2013 Feb 13. PMID: 23416119.
106. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin water channels in the nervous system. Nat Rev Neurosci. 2013 Apr;14(4):265-77. doi: 10.1038/nrn3468. Epub 2013 Mar 13. PMID: 23481483; PMCID: PMC3732112.
107. Spadoni I, Fornasa G, Rescigno M. Organ-specific protection mediated by cooperation between vascular and epithelial barriers. Nat Rev Immunol. 2017 Dec;17(12):761-773. doi: 10.1038/nri.2017.100. Epub 2017 Sep 4. PMID: 28869253.

175

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

203 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguiar 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

203 / 228

Bibliografía

108. Pournaras CJ, Rungger-Brändle E, Riva CE, Hardarson SH, Stefansson E. Regulation of retinal blood flow in health and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2008 May;27(3):284-330. doi: 10.1016/j.preteyeres.2008.02.002. Epub 2008 Feb 23. PMID: 18448380.
109. Niemeyer G. Glucose concentration and retinal function. *Clin Neurosci.* 1997;4(6):327-35. PMID: 9358976.
110. Tachikawa M, Hosoya K, Ohtsuki S, Terasaki T. A novel relationship between creatine transport at the blood-brain and blood-retinal barriers, creatine biosynthesis, and its use for brain and retinal energy homeostasis. *Subcell Biochem.* 2007;46:83-98. doi: 10.1007/978-1-4020-6486-9_5. PMID: 18652073.
111. Runkle EA, Antonetti DA. The blood-retinal barrier: structure and functional significance. *Methods Mol Biol.* 2011;686:133-48. doi: 10.1007/978-1-60761-938-3_5. PMID: 21082369.
112. Hosoya K, Tachikawa M. The Inner Blood-Retinal Barrier. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2013;;85-104.
113. Oeppen J, Vaupel JW. Demography. Broken limits to life expectancy. *Science.* 2002 May 10;296(5570):1029-31. doi: 10.1126/science.1069675. PMID: 12004104.
114. Christensen K, Doblhammer G, Rau R, Vaupel JW. Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet.* 2009 Oct 3;374(9696):1196-208. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61460-4. PMID: 19801098; PMCID: PMC2810516.
115. Santos CY, Snyder PJ, Wu WC, Zhang M, Echeverria A, Alber J. Pathophysiologic relationship between Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and cardiovascular risk: A review and synthesis. *Alzheimers Dement (Amst).* 2017 Feb 9;7:69-87. doi: 10.1016/j.dadm.2017.01.005. PMID: 28275702; PMCID: PMC5328683.
116. Howes KA, Liu Y, Dunaief JL, Milam A, Frederick JM, Marks A, Baehr W. Receptor for advanced glycation end products and age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 Oct;45(10):3713-20. doi: 10.1167/iops.04-0404. PMID: 15452081.

176

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

204 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

204 / 228

Bibliografía

117. Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. RAGE: therapeutic target and biomarker of the inflammatory response--the evidence mounts. *J Leukoc Biol.* 2009 Sep;86(3):505-12. doi: 10.1189/jlb.0409230. Epub 2009 May 28. PMID: 19477910.
118. Kierdorf K, Fritz G. RAGE regulation and signaling in inflammation and beyond. *J Leukoc Biol.* 2013 Jul;94(1):55-68. doi: 10.1189/jlb.1012519. Epub 2013 Mar 29. PMID: 23543766.
119. Neyra JA, Hu MC, Moe OW. Klotho in Clinical Nephrology: Diagnostic and Therapeutic Implications. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2020 Dec 31;16(1):162-176. doi: 10.2215/CJN.02840320. Epub 2020 Jul 22. PMID: 32699047; PMCID: PMC7792642.
120. Kim JH, Hwang KH, Park KS, Kong ID, Cha SK. Biological Role of Anti-aging Protein Klotho. *J Lifestyle Med.* 2015 Mar;5(1):1-6. doi: 10.15280/jlm.2015.5.1.1. Epub 2015 Mar 30. PMID: 26528423; PMCID: PMC4608225.
121. Tokuc EO, Yuksel N, Kir HM, Acar E. Evaluation of serum and aqueous humor klotho levels in pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliation and primary open-angle glaucoma. *Int Ophthalmol.* 2021 Jul;41(7):2369-2375. doi: 10.1007/s10792-021-01790-5. Epub 2021 Mar 18. PMID: 33738657.
122. Ma Z, Liu J, Li J, Jiang H, Kong J. Klotho Levels are Decreased and Associated with Enhanced Oxidative Stress and Inflammation in the Aqueous Humor in Patients with Exudative Age-related Macular Degeneration. *Ocul Immunol Inflamm.* 2020 Oct 13:1-8. doi: 10.1080/09273948.2020.1828488. Epub ahead of print. PMID: 33048602.
123. Ahoor MH, Ghorbanihaghjo A, Sorkhabi R, Kiavar A. Klotho and Endothelin-1 in Pseudoexfoliation Syndrome and Glaucoma. *J Glaucoma.* 2016 Dec;25(12):919-922. doi: 10.1097/IJG.0000000000000553. PMID: 27755351.
124. Kanbay M, Demiray A, Afsar B, Covic A, Tapoi L, Ureche C, Ortiz A. Role of Klotho in the Development of Essential Hypertension. *Hypertension.* 2021 Mar 3;77(3):740-750. doi:

177

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

205 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

205 / 228

Bibliografía

- 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.16635. Epub 2021 Jan 11. PMID: 33423524.
125. Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Nandi A, Gurnani P, McGuinness OP, Chikuda H, Yamaguchi M, Kawaguchi H, Shimomura I, Takayama Y, Herz J, Kahn CR, Rosenblatt KP, Kuro-o M. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. *Science*. 2005 Sep 16;309(5742):1829-33. doi: 10.1126/science.1112766. Epub 2005 Aug 25. PMID: 16123266; PMCID: PMC2536606.
126. Xu Y, Sun Z. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging. *Endocr Rev*. 2015 Apr;36(2):174-93. doi: 10.1210/er.2013-1079. Epub 2015 Feb 19. PMID: 25695404; PMCID: PMC4399270.
127. Monnier VM, Sell DR, Genuth S. Glycation products as markers and predictors of the progression of diabetic complications. *Ann N Y Acad Sci*. 2005 Jun;1043:567-81. doi: 10.1196/annals.1333.065. PMID: 16037280.
128. Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D, Nowygrod R, Neeper M, Przysiecki C, Shaw A, et al. Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *Am J Pathol*. 1993 Dec;143(6):1699-712. PMID: 8256857; PMCID: PMC1887265.
129. Miyazaki D, Kandori-Inoue M, Shimizu Y, Ohtani F, Chono I, Inoue Y, Yamagami S. Role Played by Receptors for Advanced Glycosylation End Products in Corneal Endothelial Cells after HSV-1 Infection. *Int J Mol Sci*. 2021 May 29;22(11):5833. doi: 10.3390/ijms22115833. PMID: 34072468; PMCID: PMC8199122.
130. Kokkinaki M, Abu-Asab M, Gunawardena N, Ahern G, Javidnia M, Young J, Golestaneh N. Klotho regulates retinal pigment epithelial functions and protects against oxidative stress. *J Neurosci*. 2013 Oct 9;33(41):16346-59. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0402-13.2013. Erratum in: *J Neurosci*. 2016 Jun 15;36(24):6597. PMID: 24107965; PMCID: PMC3810551.
131. Rodriguez J, Sanchez R, Munoz B, West SK, Broman A, Snyder RW, Klein R, Quigley H. Causes of blindness and visual impairment in a population-based sample of U.S. Hispanics. *Ophthalmology*. 2002

178

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

206 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilera 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

206 / 228

Bibliografía

- Apr;109(4):737-43. doi: 10.1016/s0161-6420(01)01008-9. PMID: 11927431.
132. Stitt AW. The maillard reaction in eye diseases. Ann N Y Acad Sci. 2005 Jun;1043:582-97. doi: 10.1196/annals.1338.066. PMID: 16037281.
133. Nagaraj RH, Linetsky M, Stitt AW. The pathogenic role of Maillard reaction in the aging eye. Amino Acids. 2012 Apr;42(4):1205-20. doi: 10.1007/s00726-010-0778-x. Epub 2010 Oct 21. PMID: 20963455.4
134. Semba RD, Cotch MF, Gudnason V, Eiriksdottir G, Harris TB, Sun K, Klein R, Jonasson F, Ferrucci L, Schaumberg DA. Serum carboxymethyllysine, an advanced glycation end product, and age-related macular degeneration: the Age, Gene/Environment Susceptibility-Reykjavik Study. JAMA Ophthalmol. 2014 Apr 1;132(4):464-70. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.7664. PMID: 24481410; PMCID: PMC4169215.
135. Amenta F, Di Tullio MA, Tomassoni D. Arterial hypertension and brain damage--evidence from animal models (review). Clin Exp Hypertens. 2003 Aug;25(6):359-80. doi: 10.1081/ceh-120023545. PMID: 12940473.
136. Li Y, Wang Q, Muir ER, Kiel JW, Duong TQ. Retinal Vascular and Anatomical Features in the Spontaneously Hypertensive Rat. Curr Eye Res. 2020 Nov;45(11):1422-1429. doi: 10.1080/02713683.2020.1752738. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32255364.
137. Mizuno K, Ozawa K, Nishida S, Aoki K. Hereditary retinal dystrophic rats in strain of spontaneously hypertensive rat. In: Okamoto, K., ed. Spontaneous hypertension: Its pathogenesis and complications. Berlin: Springer-Verlag; 1972:23-30.
138. Zarbin MA, Wamsley JK, Palacios JM, Kuhar MJ. Autoradiographic localization of high affinity GABA, benzodiazepine, dopaminergic, adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in the rat, monkey and human retina. Brain Res. 1986 May 21;374(1):75-92. doi: 10.1016/0006-8993(86)90396-3. PMID: 3013364.

179

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

207 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

207 / 228

Bibliografía

139. Mancini MA, Frank RN, Keirn RJ, Kennedy A, Khoury JK. Does the retinal pigment epithelium polarize the choriocapillaris? Invest Ophthalmol Vis Sci. 1986 Mar;27(3):336-45. PMID: 3949463.
140. Bhutto IA, Amemiya T. Choroidal vasculature changes in spontaneously hypertensive rats - transmission electron microscopy and scanning electron microscopy with casts. Ophthalmic Res. 2002 Mar-Apr;34(2):54-62. doi: 10.1159/000048329. PMID: 11914606.
141. Bhutto IA, Amemiya T. Vascular changes in retinas of spontaneously hypertensive rats demonstrated by corrosion casts. Ophthalmic Res. 1997;29(1):12-23. doi: 10.1159/000267986. PMID: 9112262.
142. Takahashi, S. On the fundus of spontaneously hypertensive rats. In: Okamoto, K., ed. Spontaneous hypertension: Its pathogenesis and complications. Berlin: Springer-Verlag; 1972:160-165.
143. Lightman S, Rechthand E, Latker C, Palestine A, Rapoport S. Assessment of the permeability of the blood-retinal barrier in hypertensive rats. Hypertension. 1987 Oct;10(4):390-5. doi: 10.1161/01.hyp.10.4.390. PMID: 3653967.
144. Vaajanen A, Mervaala E, Oksala O, Vapaatalo H. Is there a relationship between blood pressure and intraocular pressure? An experimental study in hypertensive rats. Curr Eye Res. 2008 Apr;33(4):325-32. doi: 10.1080/02713680802011679. PMID: 18398707.
145. Olsen MH, Angell SY, Asma S, Boutouyrie P, Burger D, Chirinos JA, Damasceno A, Delles C, Gimenez-Roqueplo AP, Hering D, López-Jaramillo P, Martinez F, Perkovic V, Rietzschel ER, Schillaci G, Schutte AE, Scuteri A, Sharman JE, Wachtell K, Wang JG. A call to action and a lifecourse strategy to address the global burden of raised blood pressure on current and future generations: the Lancet Commission on hypertension. Lancet. 2016 Nov 26;388(10060):2665-2712. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31134-5. Epub 2016 Sep 23. PMID: 27671667.
146. Zhou B, Perel P, Mensah GA, Ezzati M. Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. Nat Rev Cardiol. 2021 Nov;18(11):785-802. doi:

180

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

208 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

208 / 228

Bibliografía

- 10.1038/s41569-021-00559-8. Epub 2021 May 28. PMID: 34050340; PMCID: PMC8162166.
147. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *Lancet*. 2021 Sep 11;398(10304):957-980. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01330-1. Epub 2021 Aug 24. Erratum in: *Lancet*. 2022 Feb 5;399(10324):520. PMID: 34450083; PMCID: PMC8446938.
148. Biancardi VC, Son SJ, Ahmadi S, Filosa JA, Stern JE. Circulating angiotensin II gains access to the hypothalamus and brain stem during hypertension via breakdown of the blood-brain barrier. *Hypertension*. 2014 Mar;63(3):572-9. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01743. Epub 2013 Dec 16. PMID: 24343120; PMCID: PMC4080808.
149. Biancardi VC, Stern JE. Compromised blood-brain barrier permeability: novel mechanism by which circulating angiotensin II signals to sympathoexcitatory centres during hypertension. *J Physiol*. 2016 Mar 15;594(6):1591-600. doi: 10.1113/JP271584. Epub 2015 Dec 21. PMID: 26580484; PMCID: PMC4799983.
150. McDermott JME, Umaña ME, Alfaro AS, McDermott RE. Efectos cardiorrespiratorios de xilacina, hidrato de cloral y ketamina como régimen anestésico de corta duración en equinos. *Ciencias Veterinarias*. 2007;25(1), 293-307.
151. González-Marrero I, Castañeyra-Ruiz L, González-Toledo JM, Castañeyra-Ruiz A, de Paz-Carmona H, Ruiz-Mayor L, Castañeyra-Perdomo A, Carmona-Calero EM. High Blood Pressure Effects on the Brain Barriers and Choroid Plexus Secretion. *Neuroscience and Medicine*. 2012;03(01):60-64.
152. Luo Y, Owens D, Mulder G, McVey A, Fisher T. Blood pressure characterization of hypertensive and control rats for cardiovascular studies. AHA, Atlanta: Charles River, 2008.

181

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

209 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

209 / 228

Bibliografía

153. Usukura J, Fain GL, Bok D. [3H]Jouabain localization of Na-K-ATPase in the epithelium of rabbit ciliary body pars plicata. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1988 Apr;29(4):606-14. PMID: 2833460.
154. Ghosh S, Hernando N, Martín-Alonso JM, Martín-Vasallo P, Coca-Prados M. Expression of multiple Na⁺,K⁺-ATPase genes reveals a gradient of isoforms along the nonpigmented ciliary epithelium: functional implications in aqueous humor secretion. J Cell Physiol. 1991 Nov;149(2):184-94. doi: 10.1002/jcp.1041490203. PMID: 1660898.
155. Arakaki X, McCleary P, Techy M, Chiang J, Kuo L, Fonteh AN, Armstrong B, Levy D, Harrington MG. Na,K-ATPase alpha isoforms at the blood-cerebrospinal fluid-trigeminal nerve and blood-retina interfaces in the rat. Fluids Barriers CNS. 2013 Mar 14;10(1):14. doi: 10.1186/2045-8118-10-14. PMID: 23497725; PMCID: PMC3636111.
156. Zhang D, Vetrivel L, Verkman AS. Aquaporin deletion in mice reduces intraocular pressure and aqueous fluid production. J Gen Physiol. 2002 Jun;119(6):561-9. doi: 10.1085/jgp.20028597. PMID: 12034763; PMCID: PMC2233864.
157. He Z, Vingrys AJ, Armitage JA, Bui BV. The role of blood pressure in glaucoma. Clin Exp Optom. 2011 Mar;94(2):133-49. doi: 10.1111/j.1444-0938.2010.00564.x. Epub 2011 Jan 24. PMID: 21255075.
158. Ellis DZ, Nathanson JA, Rabe J, Sweadner KJ. Carbachol and nitric oxide inhibition of Na,K-ATPase activity in bovine ciliary processes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001 Oct;42(11):2625-31. PMID: 11581209.
159. Yadav UC, Srivastava SK, Ramana KV. Inhibition of aldose reductase attenuates endotoxin signals in human non-pigmented ciliary epithelial cells. Exp Eye Res. 2010 May;90(5):555-63. doi: 10.1016/j.exer.2010.01.012. Epub 2010 Feb 4. PMID: 20138035; PMCID: PMC2854217.
160. Green K, Pederson JE. Aqueous humor formation. Exp Eye Res. 1973 Aug 10;16(4):273-86. doi: 10.1016/0014-4835(73)90093-6. PMID: 4741254.
161. Hasegawa H, Lian SC, Finkbeiner WE, Verkman AS. Extrarenal tissue distribution of CHIP28 water channels by in situ hybridization and

182

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

210 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

210 / 228

Bibliografía

- antibody staining. Am J Physiol. 1994 Apr;266(4 Pt 1):C893-903. doi: 10.1152/ajpcell.1994.266.4.C893. PMID: 7513954.
162. Huang OS, Seet LF, Ho HW, Chu SW, Narayanaswamy A, Perera SA, Husain R, Aung T, Wong TT. Altered Iris Aquaporin Expression and Aqueous Humor Osmolality in Glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2021 Feb 1;62(2):34. doi: 10.1167/iovs.62.2.34. PMID: 33616622; PMCID: PMC7910645.
163. Patil RV, Saito I, Yang X, Wax MB. Expression of aquaporins in the rat ocular tissue. Exp Eye Res. 1997 Feb;64(2):203-9. doi: 10.1006/exer.1996.0196. PMID: 9176054.
164. Stamer WD, Seftor RE, Snyder RW, Regan JW. Cultured human trabecular meshwork cells express aquaporin-1 water channels. Curr Eye Res. 1995 Dec;14(12):1095-1100. doi: 10.3109/02713689508995815. PMID: 8974838.
165. Lin S, Lee OT, Minasi P, Wong J. Isolation, culture, and characterization of human fetal trabecular meshwork cells. Curr Eye Res. 2007 Jan;32(1):43-50. doi: 10.1080/02713680601107058. PMID: 17364734.
166. Hara S, Tsujikawa M, Nishida K. Identification and application of p75 neurotrophin receptor-expressing human trabecular meshwork progenitor cells. Biochem Biophys Res Commun. 2019 Jun 30;514(3):580-585. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.04.178. Epub 2019 May 4. PMID: 31060779.
167. Li X, He F, Gabelt BT, Wang Y, Cai S, Cao J, Fan N, Kaufman PL, Liu X. Effects of Latanoprost and Bimatoprost on the Expression of Molecules Relevant to Ocular Inflow and Outflow Pathways. PLoS One. 2016 Mar 24;11(3):e0151644. doi: 10.1371/journal.pone.0151644. PMID: 27011234; PMCID: PMC4807090.
168. Baetz NW, Hoffman EA, Yool AJ, Stamer WD. Role of aquaporin-1 in trabecular meshwork cell homeostasis during mechanical strain. Exp Eye Res. 2009 Jun 15;89(1):95-100. doi: 10.1016/j.exer.2009.02.018. Epub 2009 Mar 4. PMID: 19268465; PMCID: PMC2733866.

183

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

211 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

211 / 228

Bibliografía

169. Zhao Y, Zhu H, Yang Y, Ye Y, Yao Y, Huang X, Zhang Y, Shu X, Chen X, Yang Y, Ma J, Cheng L, Wang X, Ying Y. AQP1 suppression by ATF4 triggers trabecular meshwork tissue remodelling in ET-1-induced POAG. *J Cell Mol Med.* 2020 Mar;24(6):3469-3480. doi: 10.1111/jcmm.15032. Epub 2020 Feb 13. PMID: 32052937; PMCID: PMC7131939.
170. Jiang Y, Zhang C, Ma J, Wang L, Gao J, Ren J, He W, Wang S, Sheng S, Huang X. Expression of matrix Metalloproteinases-2 and aquaporin-1 in corneoscleral junction after angle-closure in rabbits. *BMC Ophthalmol.* 2019 Feb 4;19(1):43. doi: 10.1186/s12886-019-1058-5. PMID: 30717683; PMCID: PMC6360660.
171. Marc RE, Murry RF, Fisher SK, Linberg KA, Lewis GP, Kalloniatis M. Amino acid signatures in the normal cat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998 Aug;39(9):1685-93. PMID: 9699558.
172. García M, Vecino E. Role of Müller glia in neuroprotection and regeneration in the retina. *Histol Histopathol.* 2003 Oct;18(4):1205-18. doi: 10.14670/HH-18.1205. PMID: 12973689.
173. Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchkov SN, Osborne NN, Reichenbach A. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res.* 2006 Jul;25(4):397-424. doi: 10.1016/j.preteyeres.2006.05.003. Epub 2006 Jul 12. PMID: 16839797.
174. Lewis G, Fisher S. Retinal Plasticity and Interactive Cellular Remodeling in Retinal Detachment and Reattachment. *Plasticity in the Visual System.* 2006;;55-78.
175. Moseley H, Foulds WS, Allan D, Kyle PM. Routes of clearance of radioactive water from the rabbit vitreous. *Br J Ophthalmol.* 1984 Mar;68(3):145-51. doi: 10.1136/bjo.68.3.145. PMID: 6696868; PMCID: PMC1040278.
176. Graymore, C. N., 1970, Biochemistry of the retina, in: Biochemistry of the Eye (C. N. Graymore, ed.), Academic Press, London, pp. 645-735.
177. Lieth E, Barber AJ, Xu B, Dice C, Ratz MJ, Tanase D, Strother JM. Glial reactivity and impaired glutamate metabolism in short-term experimental diabetic retinopathy. Penn State Retina Research Group.

184

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

212 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

212 / 228

Bibliografía

- Diabetes. 1998 May;47(5):815-20. doi: 10.2337/diabetes.47.5.815.
Erratum in: Diabetes 1998 Jul;47(7):1170. PMID: 9588455.
178. Gallego BI, Salazar JJ, de Hoz R, Rojas B, Ramírez AI, Salinas-Navarro M, Ortín-Martínez A, Valiente-Soriano FJ, Avilés-Trigueros M, Villegas-Perez MP, Vidal-Sanz M, Triviño A, Ramírez JM. IOP induces upregulation of GFAP and MHC-II and microglia reactivity in mice retina contralateral to experimental glaucoma. J Neuroinflammation. 2012 May 14;9:92. doi: 10.1186/1742-2094-9-92. PMID: 22583833; PMCID: PMC3410794.
179. Cremer A, Amraoui F, Lip GY, Morales E, Rubin S, Segura J, Van den Born BJ, Gosse P. From malignant hypertension to hypertension-MOD: a modern definition for an old but still dangerous emergency. J Hum Hypertens. 2016 Aug;30(8):463-6. doi: 10.1038/jhh.2015.112. Epub 2015 Nov 19. PMID: 26582411.
180. Bringmann A, Reichenbach A. Role of Muller cells in retinal degenerations. Front Biosci. 2001 Oct 1;6:E72-92. doi: 10.2741/bringman. PMID: 11578954.
181. Kumagai AK, Vinos SA, Pardridge WM. Pathological upregulation of inner blood-retinal barrier Glut1 glucose transporter expression in diabetes mellitus. Brain Res. 1996 Jan 15;706(2):313-7. doi: 10.1016/0006-8993(95)01335-0. PMID: 8822374.
182. Kumagai AK. Glucose transport in brain and retina: implications in the management and complications of diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 1999 Jul-Aug;15(4):261-73. doi: 10.1002/(sici)1520-7560(199907/08)15:4<261::aid-dmrr43>3.0.co;2-z. PMID: 10495475.
183. Liu XQ, Kobayashi H, Jin ZB, Wada A, Nao-I N. Differential expression of Kir4.1 and aquaporin 4 in the retina from endotoxin-induced uveitis rat. Mol Vis. 2007 Mar 1;13:309-17. PMID: 17356517; PMCID: PMC2642914.
184. Iandiev I, Pannicke T, Hollborn M, Wiedemann P, Reichenbach A, Grimm C, Remé CE, Bringmann A. Localization of glial aquaporin-4 and Kir4.1 in the light-injured murine retina. Neurosci Lett. 2008 Apr

185

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

213 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

213 / 228

Bibliografía

- 4;434(3):317-21. doi: 10.1016/j.neulet.2008.02.026. Epub 2008 Feb 16. PMID: 18328627.
185. Rehak M, Hollborn M, Iandiev I, Pannicke T, Karl A, Wurm A, Kohlen L, Reichenbach A, Wiedemann P, Bringmann A. Retinal gene expression and Müller cell responses after branch retinal vein occlusion in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 May;50(5):2359-67. doi: 10.1167/iovs.08-2332. Epub 2008 Sep 20. PMID: 18806298.
186. Zhao M, Bousquet E, Valamanesh F, Farman N, Jeanny JC, Jaisser F, Behar-Cohen FF. Differential regulations of AQP4 and Kir4.1 by triamcinolone acetonide and dexamethasone in the healthy and inflamed retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Aug 11;52(9):6340-7. doi: 10.1167/iovs.11-7675. PMID: 21724913.
187. Luna G, Lewis GP, Banna CD, Skalli O, Fisher SK. Expression profiles of nestin and synemin in reactive astrocytes and Müller cells following retinal injury: a comparison with glial fibrillar acidic protein and vimentin. *Mol Vis*. 2010 Nov 27;16:2511-23. PMID: 21139996; PMCID: PMC2997333.
188. Erickson PA, Fisher SK, Guérin CJ, Anderson DH, Kaska DD. Glial fibrillary acidic protein increases in Müller cells after retinal detachment. *Exp Eye Res*. 1987 Jan;44(1):37-48. doi: 10.1016/s0014-4835(87)80023-4. PMID: 3549345.
189. Lewis GP, Matsumoto B, Fisher SK. Changes in the organization and expression of cytoskeletal proteins during retinal degeneration induced by retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995 Nov;36(12):2404-16. PMID: 7591630.
190. Qin Y, Ren H, Hoffman MR, Fan J, Zhang M, Xu G. Aquaporin changes during diabetic retinopathy in rats are accelerated by systemic hypertension and are linked to the renin-angiotensin system. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 May 17;53(6):3047-53. doi: 10.1167/iovs.11-9154. PMID: 22491408.
191. Tang J, Mohr S, Du YD, Kern TS. Non-uniform distribution of lesions and biochemical abnormalities within the retina of diabetic

186

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

214 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

214 / 228

Bibliografía

- humans. Curr Eye Res. 2003 Jul;27(1):7-13. doi: 10.1076/ceyr.27.2.7.15455. PMID: 12868004.
192. Nagelhus EA, Veruki ML, Torp R, Haug FM, Laake JH, Nielsen S, Agre P, Ottersen OP. Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Müller cells and fibrous astrocytes. J Neurosci. 1998 Apr 1;18(7):2506-19. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-07-02506.1998. PMID: 9502811; PMCID: PMC6793100.
193. Nagelhus EA, Horio Y, Inanobe A, Fujita A, Haug FM, Nielsen S, Kurachi Y, Ottersen OP. Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Müller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. Glia. 1999 Mar;26(1):47-54. doi: 10.1002/(sici)1098-1136(199903)26:1<47::aid-glia5>3.0.co;2-5. PMID: 10088671.
194. Pannicke T, Iandiev I, Wurm A, Uckermann O, vom Hagen F, Reichenbach A, Wiedemann P, Hammes HP, Bringmann A. Diabetes alters osmotic swelling characteristics and membrane conductance of glial cells in rat retina. Diabetes. 2006 Mar;55(3):633-9. doi: 10.2337/diabetes.55.03.06.db05-1349. PMID: 16505225.
195. Iandiev I, Pannicke T, Reichenbach A, Wiedemann P, Bringmann A. Diabetes alters the localization of glial aquaporins in rat retina. Neurosci Lett. 2007 Jun 27;421(2):132-6. doi: 10.1016/j.neulet.2007.04.076. Epub 2007 May 29. PMID: 17566653.
196. Fernández-Sánchez L, Lax P, Campello L, Pinilla I, Cuenca N. Astrocytes and Müller Cell Alterations During Retinal Degeneration in a Transgenic Rat Model of Retinitis Pigmentosa. Front Cell Neurosci. 2015 Dec 22;9:484. doi: 10.3389/fncel.2015.00484. PMID: 26733810; PMCID: PMC4686678.
197. Matteucci A, Ricceri L, Fabbri A, Fortuna A, Travaglione S, Guidotti M, Martinelli A, Villa M, Pricci F, Maroccia Z, Campana G, Malchiodi-Albedi F, Fiorentini C, Loizzo S. Eye Drop Instillation of the Rac1 Modulator CNF1 Attenuates Retinal Gliosis and Ameliorates Visual Performance in a Rat Model of Hypertensive Retinopathy. Neuroscience. 2019 Jul 15;411:119-

187

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

215 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

215 / 228

Bibliografía

129. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.05.021. Epub 2019 May 23. PMID: 31128161.
198. Sabbatini M, Strocchi P, Vitaioli L, Amenta F. Changes of retinal neurons and glial fibrillary acid protein immunoreactive astrocytes in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* 2001 Oct;19(10):1861-9. doi: 10.1097/00004872-200110000-00022. PMID: 11593108.
199. Lewis GP, Fisher SK. Up-regulation of glial fibrillary acidic protein in response to retinal injury: its potential role in glial remodeling and a comparison to vimentin expression. *Int Rev Cytol.* 2003;230:263-90. doi: 10.1016/s0074-7696(03)30005-1. PMID: 14692684.
200. Kumagai AK, Glasgow BJ, Pardridge WM. GLUT1 glucose transporter expression in the diabetic and nondiabetic human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994 May;35(6):2887-94. PMID: 8188484.
201. Takata K, Hirano H, Kasahara M. Transport of glucose across the blood-tissue barriers. *Int Rev Cytol.* 1997;172:1-53. doi: 10.1016/s0074-7696(08)62357-8. PMID: 9102392.
202. Puchowicz MA, Xu K, Magness D, Miller C, Lust WD, Kern TS, LaManna JC. Comparison of glucose influx and blood flow in retina and brain of diabetic rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004 Apr;24(4):449-57. doi: 10.1097/00004647-200404000-00010. PMID: 15087714.
203. Fernandes R, Carvalho AL, Kumagai A, Seica R, Hosoya K, Terasaki T, Murta J, Pereira P, Faro C. Downregulation of retinal GLUT1 in diabetes by ubiquitinylation. *Mol Vis.* 2004 Aug 30;10:618-28. PMID: 15359219.
204. Rajah TT, Olson AL, Grammas P. Differential glucose uptake in retina- and brain-derived endothelial cells. *Microvasc Res.* 2001 Nov;62(3):236-42. doi: 10.1006/mvre.2001.2337. PMID: 11678626.
205. Busik JV, Olson LK, Grant MB, Henry DN. Glucose-induced activation of glucose uptake in cells from the inner and outer blood-retinal barrier. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002 Jul;43(7):2356-63. PMID: 12091438.
206. Ishida H, Takemori K, Dote K, Ito H. Expression of glucose transporter-1 and aquaporin-4 in the cerebral cortex of stroke-prone spontaneously hypertensive rats in relation to the blood-brain barrier

188

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

216 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

216 / 228

Bibliografía

- function. Am J Hypertens. 2006 Jan;19(1):33-9. doi: 10.1016/j.amjhyper.2005.06.023. PMID: 16461188.
207. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. Ophthalmology. 2014 Nov;121(11):2081-90. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013. Epub 2014 Jun 26. PMID: 24974815.
208. Kang JM, Tanna AP. Glaucoma. Med Clin North Am. 2021 May;105(3):493-510. doi: 10.1016/j.mcna.2021.01.004. Epub 2021 Apr 2. PMID: 33926643.
209. Rahmani B, Tielsch JM, Katz J, Gottsch J, Quigley H, Javitt J, Sommer A. The cause-specific prevalence of visual impairment in an urban population. The Baltimore Eye Survey. Ophthalmology. 1996 Nov;103(11):1721-6. doi: 10.1016/s0161-6420(96)30435-1. PMID: 8942862.
210. Quigley HA, Vitale S. Models of open-angle glaucoma prevalence and incidence in the United States. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1997 Jan;38(1):83-91. PMID: 9008633.
211. McLeod SD, West SK, Quigley HA, Fozard JL. A longitudinal study of the relationship between intraocular and blood pressures. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1990 Nov;31(11):2361-6. PMID: 2243000.
212. Dielemans I, Vingerling JR, Algra D, Hofman A, Grobbee DE, de Jong PT. Primary open-angle glaucoma, intraocular pressure, and systemic blood pressure in the general elderly population. The Rotterdam Study. Ophthalmology. 1995 Jan;102(1):54-60. doi: 10.1016/s0161-6420(95)31054-8. PMID: 7831042.
213. Tielsch JM, Katz J, Sommer A, Quigley HA, Javitt JC. Hypertension, perfusion pressure, and primary open-angle glaucoma. A population-based assessment. Arch Ophthalmol. 1995 Feb;113(2):216-21. doi: 10.1001/archophth.1995.01100020100038. PMID: 7864755.
214. Klein BE, Klein R, Knudtson MD. Intraocular pressure and systemic blood pressure: longitudinal perspective: the Beaver Dam Eye Study. Br J

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Bibliografía

- Ophthalmol. 2005 Mar;89(3):284-7. doi: 10.1136/bjo.2004.048710. PMID: 15722304; PMCID: PMC1772559.
215. Tenorio-Guajardo, G.; AvilaRamirez, L.; HenriquezBonillac, J.C.; Zamora de la Cruz, D.; García García, J.J.; Izazola Conde, C. Cambios de la presión intraocular en pacientes con hipertensión arterial. Rev. Med. Hosp. Gen. Mex. 2014, 77, 101-107.
216. Zhao D, Cho J, Kim MH, Guallar E. The association of blood pressure and primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. Am J Ophthalmol. 2014 Sep;158(3):615-27.e9. doi: 10.1016/j.ajo.2014.05.029. Epub 2014 May 28. PMID: 24879946.
217. Harrison JM, Kiel JW, Smith S. Effect of ocular perfusion pressure on retinal function in the rabbit. Vision Res. 1997 Sep;37(17):2339-47. doi: 10.1016/s0042-6989(97)00044-8. PMID: 9381670.
218. Pederson JE, Green K. Aqueous humor dynamics: experimental studies. Exp Eye Res. 1973 Mar;15(3):277-97. doi: 10.1016/0014-4835(73)90147-4. PMID: 4695439.
219. Carel RS, Korczyn AD, Rock M, Goya I. Association between ocular pressure and certain health parameters. Ophthalmology. 1984 Apr;91(4):311-4. doi: 10.1016/s0161-6420(84)34282-8. PMID: 6717917.
220. Kaiser HJ, Flammer J, Graf T, Stümpfig D. Systemic blood pressure in glaucoma patients. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1993 Dec;31(12):677-80. doi: 10.1007/BF00919280. PMID: 8299973.
221. Topouzis F, Coleman AL, Harris A, Jonescu-Cuyper C, Yu F, Mavroudis L, Anastasopoulos E, Pappas T, Koskosas A, Wilson MR. Association of blood pressure status with the optic disk structure in non-glaucoma subjects: the Thessaloniki eye study. Am J Ophthalmol. 2006 Jul;142(1):60-67. doi: 10.1016/j.ajo.2006.02.055. PMID: 16815251.
222. Leske MC, Heijl A, Hyman L, Bengtsson B, Dong L, Yang Z; EMGT Group. Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial. Ophthalmology. 2007 Nov;114(11):1965-72. doi: 10.1016/j.ophtha.2007.03.016. Epub 2007 Jul 12. PMID: 17628686.
223. Orzalesi N, Rossetti L, Omboni S; OPTIME Study Group (Osservatorio sulla Patologia glaucomatosa, Indagine Medico

190

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

218 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

218 / 228

Bibliografía

- Epidemiologica); CONPROSO (Collegio Nazionale dei Professori Ordinari di Scienze Oftalmologiche). Vascular risk factors in glaucoma: the results of a national survey. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2007 Jun;245(6):795-802. doi: 10.1007/s00417-006-0457-5. Epub 2006 Nov 22. PMID: 17120006.
224. Hayreh SS, Zimmerman MB, Podhajsky P, Alward WL. Nocturnal arterial hypotension and its role in optic nerve head and ocular ischemic disorders. Am J Ophthalmol. 1994 May 15;117(5):603-24. doi: 10.1016/s0002-9394(14)70067-4. PMID: 8172267.
225. Choi J, Jeong J, Cho HS, Kook MS. Effect of nocturnal blood pressure reduction on circadian fluctuation of mean ocular perfusion pressure: a risk factor for normal tension glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006 Mar;47(3):831-6. doi: 10.1167/iovs.05-1053. PMID: 16505014.
226. Funk R, Rohen JW. Comparative morphological studies on blood vessels in eyes of normotensive and spontaneously hypertensive rats. Exp Eye Res. 1985 Feb;40(2):191-203. doi: 10.1016/0014-4835(85)90004-1. PMID: 3979460.
227. Funk R, Rohen JW, Skolasinska K. Intraocular pressure and systemic blood pressure after administration of vasoactive substances in hypertensive and normal rats. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1985;223(3):145-9. doi: 10.1007/BF02148890. PMID: 3849458.
228. Fitzgerald M, Bartlett CA, Harvey AR, Dunlop SA. Early events of secondary degeneration after partial optic nerve transection: an immunohistochemical study. J Neurotrauma. 2010 Feb;27(2):439-52. doi: 10.1089/neu.2009.1112. PMID: 1985258
229. Zhang Y, Tian K, Jiang H, Wang B, Han S. Combination Treatment of C16 Peptide and Angiopoietin-1 Alleviates Neuromyelitis Optica in an Experimental Model. Mediators Inflamm. 2018 Feb 18;2018:4187347. doi: 10.1155/2018/4187347. PMID: 29670463; PMCID: PMC5835265.
230. Pajooesh-Ganji A, Miller RH. Targeted Oligodendrocyte Apoptosis in Optic Nerve Leads to Persistent Demyelination. Neurochem Res. 2020 Mar;45(3):580-590. doi: 10.1007/s11064-019-02754-z. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30848441; PMCID: PMC7058578.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Bibliografía

231. Al-Sarraf H, Ghaeedi F, Redzic Z. Time course of hyperosmolar opening of the blood-brain and blood-CSF barriers in spontaneously hypertensive rats. *J Vasc Res.* 2007;44(2):99-109. doi: 10.1159/000098260. Epub 2006 Dec 28. PMID: 17191032.
232. González-Marrero I, Castañeyra-Ruiz L, González-Toledo JM, Castañeyra-Ruiz A, de Paz-Carmona H, Castro R, Hernandez-Fernaud JR, Castañeyra-Perdomo A, Carmona-Calero EM. High blood pressure effects on the blood to cerebrospinal fluid barrier and cerebrospinal fluid protein composition: a two-dimensional electrophoresis study in spontaneously hypertensive rats. *Int J Hypertens.* 2013;2013:164653. doi: 10.1155/2013/164653. Epub 2013 Jan 21. PMID: 23401751; PMCID: PMC3564429.
233. Naessens DMP, de Vos J, VanBavel E, Bakker ENTP. Blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barrier permeability in spontaneously hypertensive rats. *Fluids Barriers CNS.* 2018 Sep 24;15(1):26. doi: 10.1186/s12987-018-0112-7. PMID: 30244677; PMCID: PMC6151927.
234. Tasaki A, Shimizu F, Sano Y, Fujisawa M, Takahashi T, Haruki H, Abe M, Koga M, Kanda T. Autocrine MMP-2/9 secretion increases the BBB permeability in neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014 Apr;85(4):419-30. doi: 10.1136/jnnp-2013-305907. Epub 2013 Nov 20. PMID: 24259591.
235. Shimizu F, Kanda T. [Disruption of the blood-brain barrier in inflammatory neurological diseases]. *Brain Nerve.* 2013 Feb;65(2):165-76. Japanese. PMID: 23399674.
236. Guzik TJ, Touyz RM. Oxidative Stress, Inflammation, and Vascular Aging in Hypertension. *Hypertension.* 2017 Oct;70(4):660-667. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.07802. Epub 2017 Aug 7. PMID: 28784646.
237. Kućmierz J, Frąk W, Młynarska E, Franczyk B, Rysz J. Molecular Interactions of Arterial Hypertension in Its Target Organs. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 7;22(18):9669. doi: 10.3390/ijms22189669. PMID: 34575833; PMCID: PMC8471598.

192

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

220 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

220 / 228

Bibliografía

238. Suji G, Sivakami S. Glucose, glycation and aging. *Biogerontology*. 2004;5(6):365-73. doi: 10.1007/s10522-004-3189-0. PMID: 15609100.
239. Semba RD, Nicklett EJ, Ferrucci L. Does accumulation of advanced glycation end products contribute to the aging phenotype? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010 Sep;65(9):963-75. doi: 10.1093/gerona/gdq074. Epub 2010 May 17. PMID: 20478906; PMCID: PMC2920582.
240. Kim CS, Park S, Kim J. The role of glycation in the pathogenesis of aging and its prevention through herbal products and physical exercise. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2017 Sep 30;21(3):55-61. doi: 10.20463/jenb.2017.0027. PMID: 29036767; PMCID: PMC5643203.
241. Kandarakis SA, Piperi C, Topouzis F, Papavassiliou AG. Emerging role of advanced glycation-end products (AGEs) in the pathobiology of eye diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2014 Sep;42:85-102. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.05.002. Epub 2014 Jun 4. PMID: 24905859.
242. Gryszyńska B, Budzyń M, Begier-Kraśńska B, Osińska A, Boruckowski M, Kaczmarek M, Bukowska A, Iskra M, Kasprzak MP. Association between Advanced Glycation End Products, Soluble RAGE Receptor, and Endothelium Dysfunction, Evaluated by Circulating Endothelial Cells and Endothelial Progenitor Cells in Patients with Mild and Resistant Hypertension. *Int J Mol Sci*. 2019 Aug 13;20(16):3942. doi: 10.3390/ijms20163942. PMID: 31412635; PMCID: PMC6720658.
243. Nikolov A, Blazhev A, Tzekova M, Kostov K, Popovski N. Serum Levels of Antibodies to Advanced Glycation End Products in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Hypertension. *Folia Med (Plovdiv)*. 2020 Jun 30;62(2):295-301. doi: 10.3897/foamed.62.e47788. PMID: 32666760.
244. Huang QF, Cheng YB, Guo QH, Liu CY, Kang YY, Sheng CS, Li Y, Wang JG. Clinic and ambulatory blood pressure in relation to the interaction between plasma advanced glycation end products and sodium dietary intake and renal handling. *Hypertens Res*. 2022 Apr;45(4):665-674. doi: 10.1038/s41440-021-00805-z. Epub 2021 Dec 3. PMID: 34862479.
245. Schmidt AM, Stern DM. RAGE: a new target for the prevention and treatment of the vascular and inflammatory complications of diabetes.

193

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

221 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

221 / 228

Bibliografía

- Trends Endocrinol Metab. 2000 Nov;11(9):368-75. doi: 10.1016/s1043-2760(00)00311-8. PMID: 11042467.
246. Schmidt AM, Stern DM. Receptor for age (RAGE) is a gene within the major histocompatibility class III region: implications for host response mechanisms in homeostasis and chronic disease. *Front Biosci.* 2001 Oct 1;6:D1151-60. doi: 10.2741/schmidt. PMID: 11578972.
247. Ramasamy R, Vannucci SJ, Yan SS, Herold K, Yan SF, Schmidt AM. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. *Glycobiology.* 2005 Jul;15(7):16R-28R. doi: 10.1093/glycob/cwi053. Epub 2005 Mar 10. PMID: 15764591.
248. Mukhopadhyay S, Mukherjee TK. Bridging advanced glycation end product, receptor for advanced glycation end product and nitric oxide with hormonal replacement/estrogen therapy in healthy versus diabetic postmenopausal women: a perspective. *Biochim Biophys Acta.* 2005 Sep 10;1745(2):145-55. doi: 10.1016/j.bbamcr.2005.03.010. Epub 2005 Apr 8. PMID: 15890418.
249. Tanaka N, Yonekura H, Yamagishi S, Fujimori H, Yamamoto Y, Yamamoto H. The receptor for advanced glycation end products is induced by the glycation products themselves and tumor necrosis factor-alpha through nuclear factor-kappa B, and by 17beta-estradiol through Sp-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 2000 Aug 18;275(33):25781-90. doi: 10.1074/jbc.M001235200. PMID: 10829018.
250. Onyango IG, Tuttle JB, Bennett JP Jr. Altered intracellular signaling and reduced viability of Alzheimer's disease neuronal cybrids is reproduced by beta-amyloid peptide acting through receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Mol Cell Neurosci.* 2005 Jun;29(2):333-43. doi: 10.1016/j.mcn.2005.02.012. PMID: 15911356.
251. Maltese G, Karalliedde J. The putative role of the antiageing protein klotho in cardiovascular and renal disease. *Int J Hypertens.* 2012;2012:757469. doi: 10.1155/2012/757469. Epub 2011 Oct 29. PMID: 22121479; PMCID: PMC3205678.

194

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

222 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

222 / 228

Bibliografía

252. Olejnik A, Franczak A, Krzywonos-Zawadzka A, Kałużna-Oleksy M, Bil-Lula I. The Biological Role of Klotho Protein in the Development of Cardiovascular Diseases. *Biomed Res Int.* 2018 Dec 24;2018:5171945. doi: 10.1155/2018/5171945. Erratum in: *Biomed Res Int.* 2020 Sep 29;2020:1463925. PMID: 30671457; PMCID: PMC6323445.
253. Mencke R, Hillebrands JL; NIGRAM consortium. The role of the anti-ageing protein Klotho in vascular physiology and pathophysiology. *Ageing Res Rev.* 2017 May;35:124-146. doi: 10.1016/j.arr.2016.09.001. Epub 2016 Sep 28. PMID: 27693241.
254. Yao Y, Wang Y, Zhang Y, Liu C. Klotho ameliorates oxidized low density lipoprotein (ox-LDL)-induced oxidative stress via regulating LOX-1 and PI3K/Akt/eNOS pathways. *Lipids Health Dis.* 2017 Apr 13;16(1):77. doi: 10.1186/s12944-017-0447-0. PMID: 28407763; PMCID: PMC5390438.

195

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

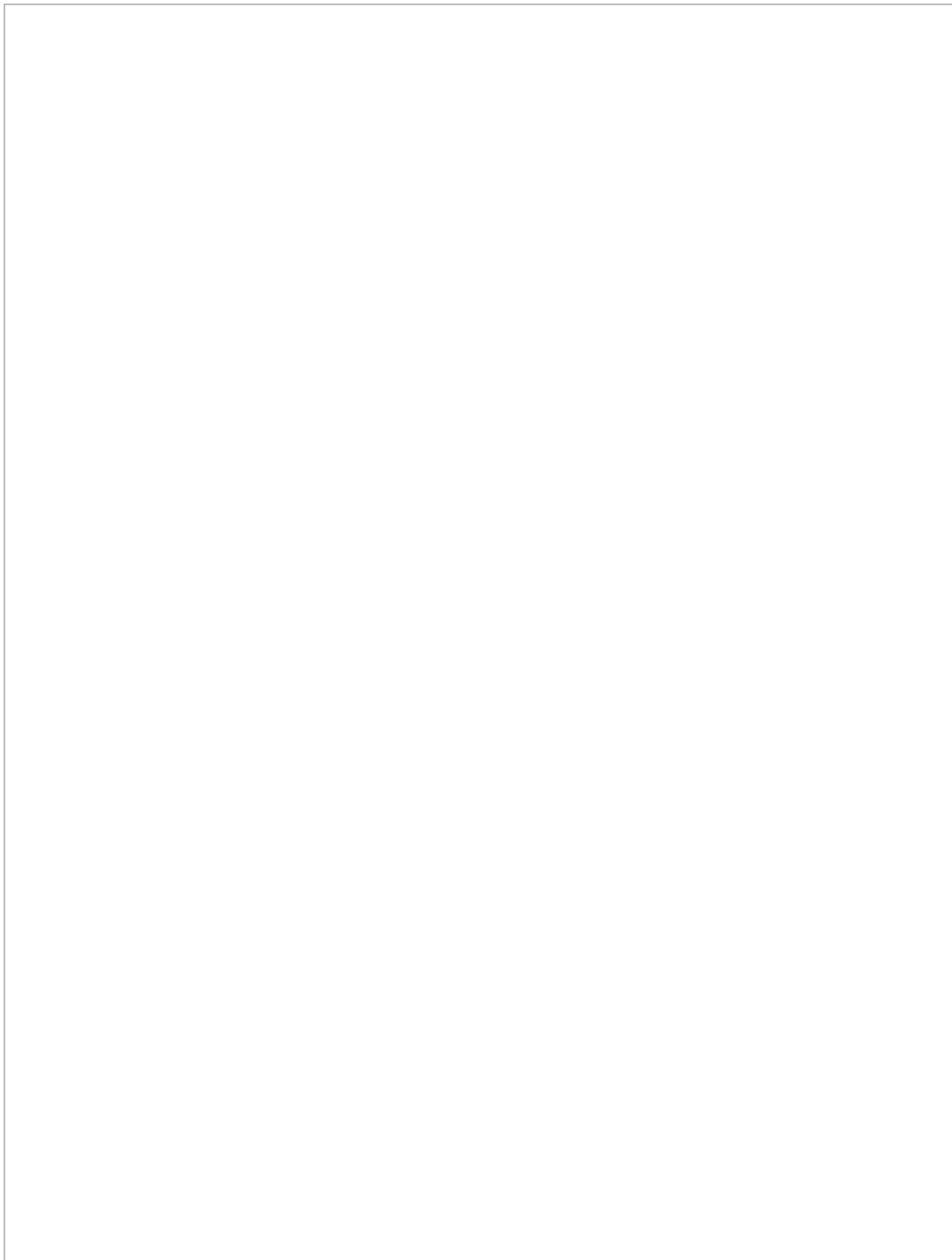
223 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

223 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

224 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

224 / 228

Sobre el autor

Luis García Hernández-Abad es licenciado en Biología por la Universidad de La Laguna, con un Máster en Análisis Forense por la Universidad del País Vasco y graduado en Fisioterapia por la Universidad Europea de Canarias.

Desde 2020 es profesor contratado laboral interino (CLI), en el área de Anatomía y Embriología Humana del departamento de Ciencias Médicas Básicas, en la Sección de Medicina de la facultad de Ciencias de la Salud en la Universidad de La Laguna.

197

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Ibrahim González Marrero UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 08/07/2022 19:25:56 |
| Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 11/07/2022 09:35:01 |

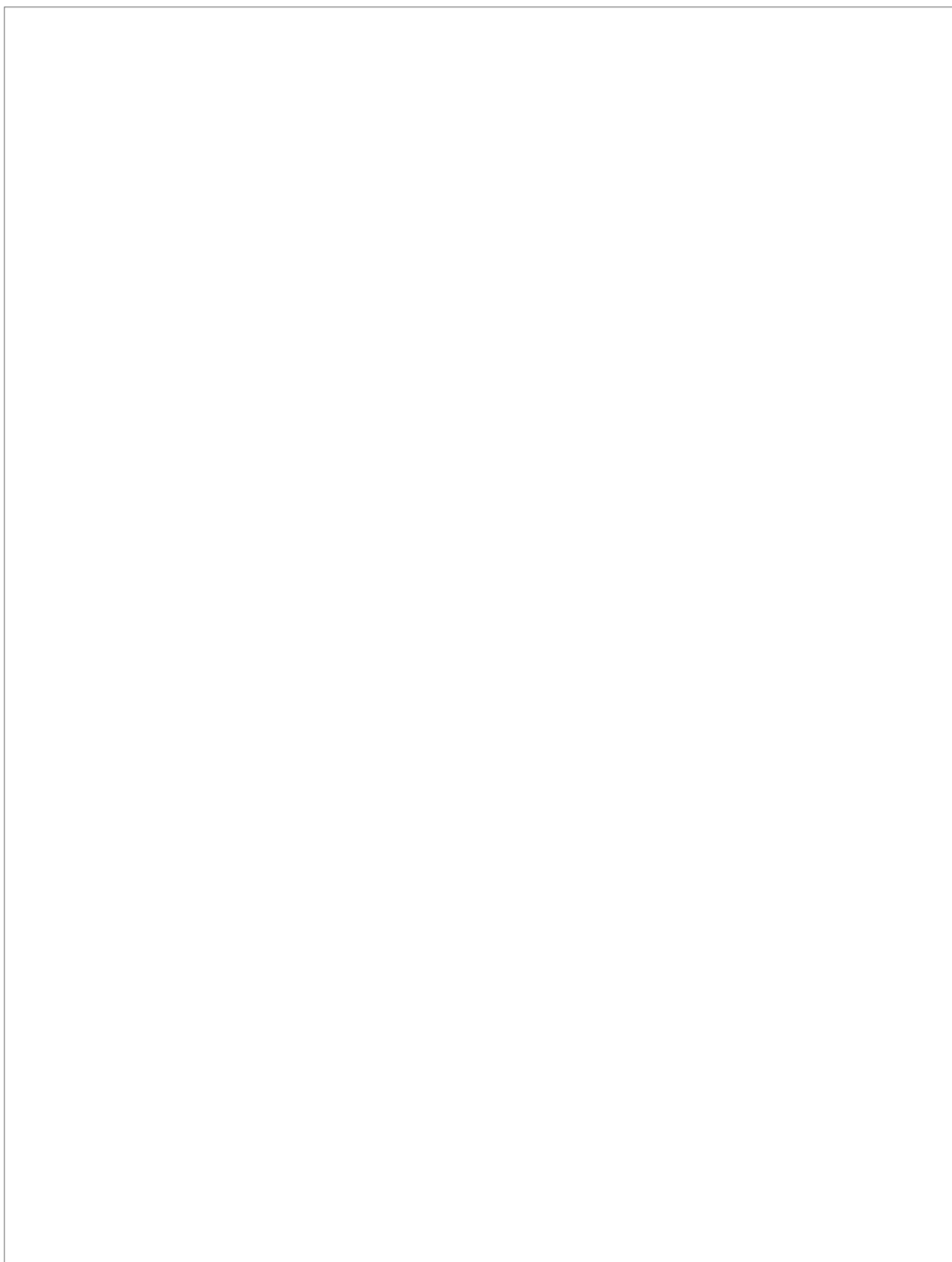
225 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

| | |
|---|----------------------------|
| Firmado por: Luis García Hernández-Abad UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | Fecha: 14/07/2022 15:55:17 |
| María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA | 28/07/2022 15:49:39 |

225 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

226 / 228

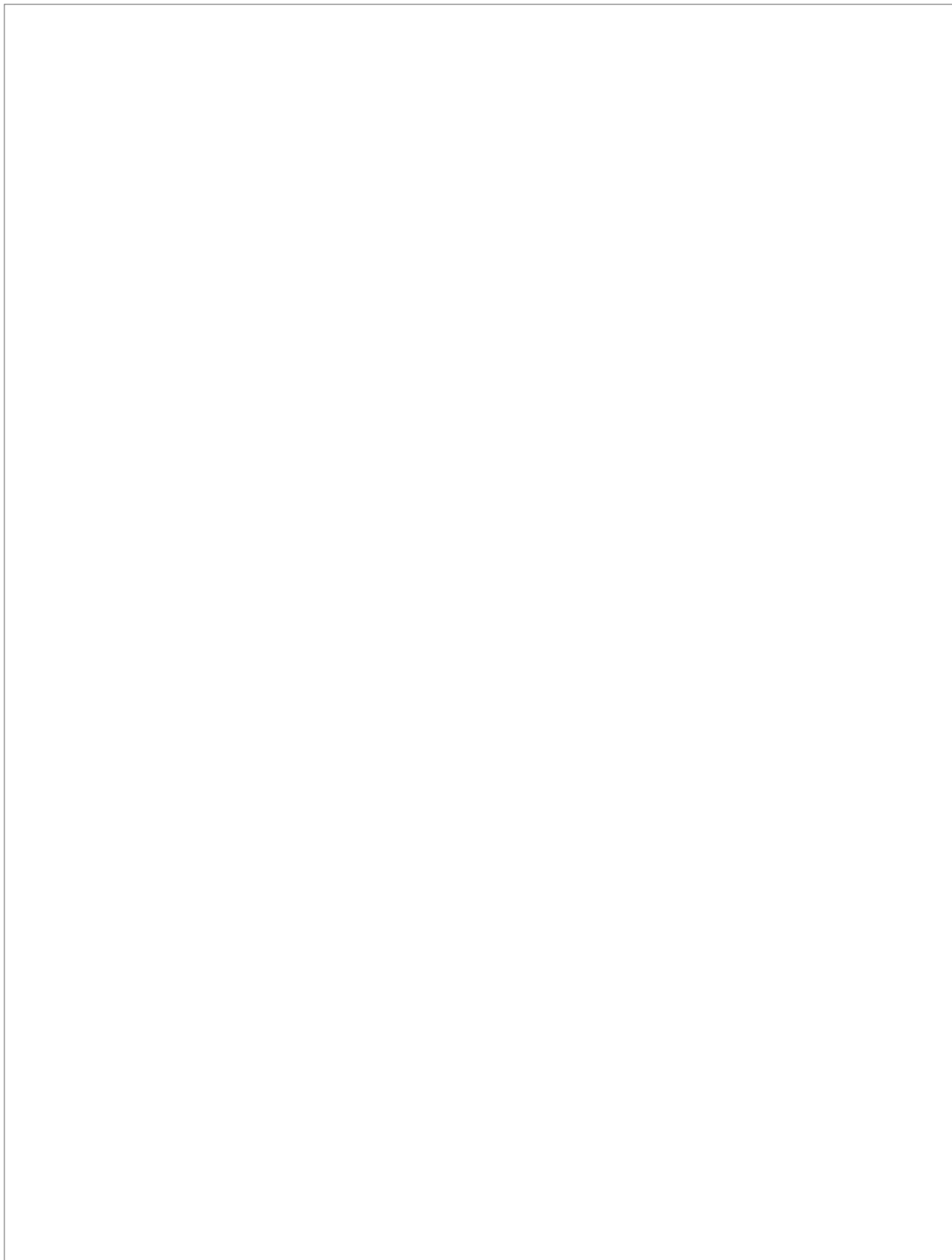
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

226 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero Fecha: 08/07/2022 19:25:56
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo 11/07/2022 09:35:01
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

227 / 228

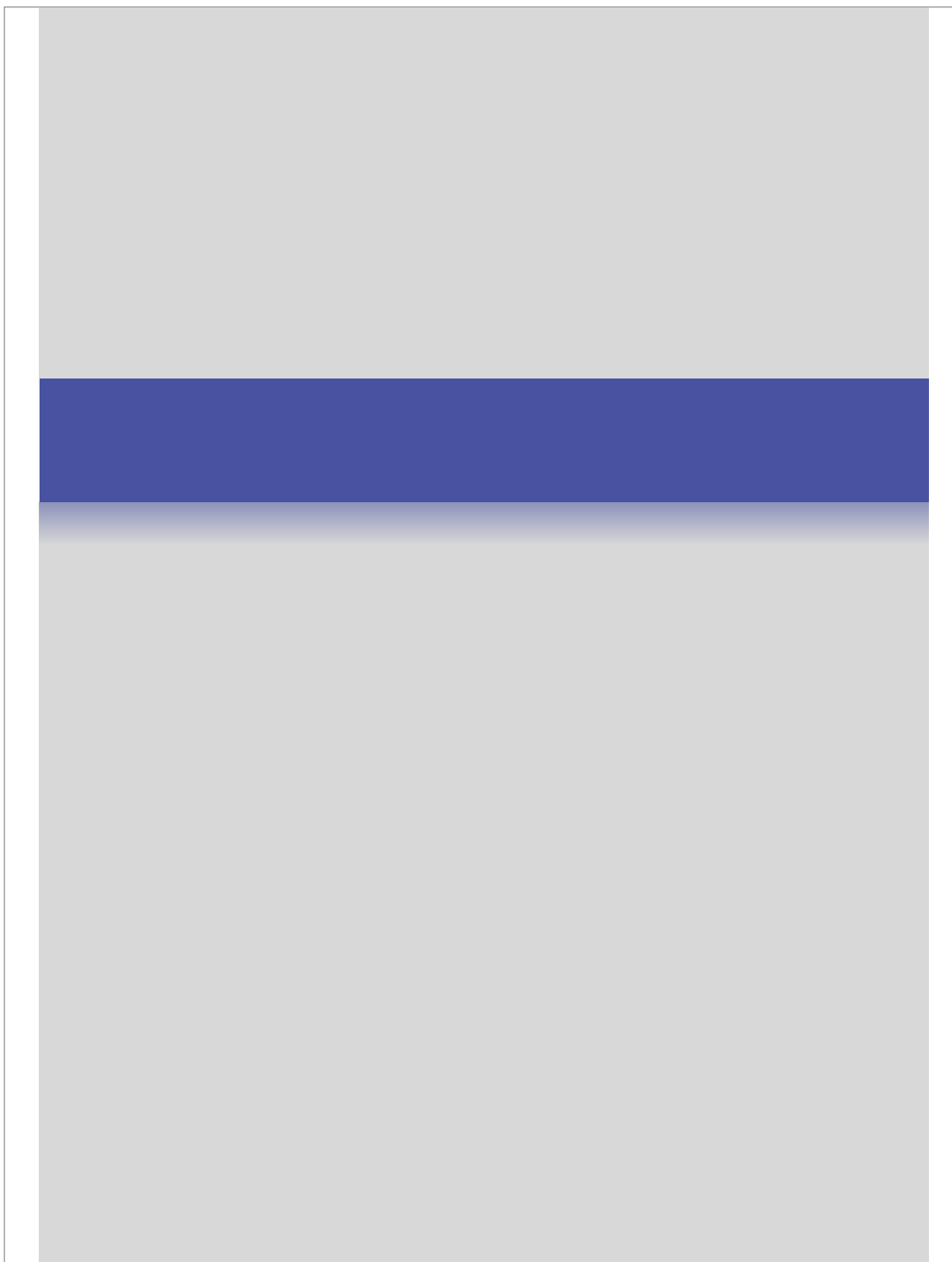
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad Fecha: 14/07/2022 15:55:17
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

María de las Maravillas Aguiar Aguilár 28/07/2022 15:49:39
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

227 / 228



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4631598 Código de verificación: 54jPQwXd

Firmado por: Ibrahim González Marrero
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 08/07/2022 19:25:56

Agustín Lorenzo Castañeyra Perdomo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

11/07/2022 09:35:01

228 / 228

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 4649775 Código de verificación: Ac9zHLAT

Firmado por: Luis García Hernández-Abad
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/07/2022 15:55:17

María de las Maravillas Aguiar Aguiar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

28/07/2022 15:49:39