

Ingrés d'Acadèmics numeraris

LA FISIOLOGIA, MARE DE CIÈNCIES. DE LA FISIOLOGIA I FISIOPATOLOGIA DE L'HUMOR AQUÓS

Arcadi GUAL i SALA

Dedicatòria

*A tot el jovent que s'esforça fent ciència
i a tot el professorat que facilita fer ciència al jovent*

Excel·lentíssim Sr. President, Molt Il·lustres Acadèmics, Autoritats, Senyores i Senyors,

"Sempre he temut l'obligació d'un discurs acadèmic. El que es fa obligat –i a fe que la present obligació representa per a mi una honra no esperada!– mata l'espontani, i en ciència, com en tota activitat humana, els treballs arriben a la seva hora de maduresa i no és possible forçar l'esperit en qualsevol moment, sense perill d'escriure pàgines debades. D'aquí el meu temor. Tingueu-me en compte aquesta situació i sigueu benèvolos en el present com ho vàreu ser el dia en què em va honorar la vostra confiança".

Aquestes paraules les faig meves tot i que ja van ser llegides, en castellà, en aquest mateix Amfiteatre Gimbernat, el 27 de febrer de 1910 pel Dr. August Pi Sunyer en el seu discurs com a membre de número. A les seves paraules voldria afegir que no solament agraeixo la confiança sinó que considero obligat manifestar que vindré a aquesta casa amb esperit de servir a la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya, tot tenint en compte que l'Acadèmia no són les pedres d'aquest bell i vell edifici. L'Acadèmia és i serà el que són els seus acadèmics i, per tant, manifesto que vinc a servir a tots vostès que m'han proposat com a company. Estic segur que servir-los serà una bona manera de fer país i retornar a la ciutadania el que estigui a les nostres mans.

Per escollir el tema més adequat per aquesta ocasió he tingut en compte diferents aspectes. En primer lloc entre els discursos d'ingrés no he trobat cap lliçó que versí directament sobre fisiologia i en segon lloc que les darreres temàtiques han anat virant a formes més sociològiques o d'àmbit més general. Tenint en compte aquests dos aspectes, vaig proposar com a títol: La fisiologia, mare de ciències. De la fisiologia i fisiopatologia de l'humor aquós. Voldria mostrar a través d'un

petit recorregut per diferents treballs de recerca focalitzats en la fisiologia de l'humor aquós (HA), i en una malaltia d'alta prevalença com és el glaucoma, com, en els darrers 50 anys, els estudis sobre la funció i la fisiologia de diferents òrgans i sistemes ha estat clau en el naixement de diverses ciències que avui estan consolidades, i de les quals la fisiologia se'n pot sentir mare. Algunes d'aquestes ciències són especialment rellevants i altres especialment prometedores, com la bioquímica i la biologia molecular, la biofísica, la biologia cel·lular, la immunologia, la genètica, la proteòmica, la genòmica, l'epigenètica i altres que veurem néixer d'aquí a poc. El pla d'estudis de l'any 1959 tenia dues fisiologies, la general i l'especial. La primera, la general, incloïa com a gruix els aspectes bioquímics i, a més, el que en deien la "fisiologia cel·lular" que acabaria essent la biologia cel·lular, però també incloïa la immunologia i la genètica. Era la fisiologia especial la que acabaria essent la fisiologia humana. Poc a poc va arribar professorat especialitzat i va ocupar les noves assignatures de biologia cel·lular, biofísica, immunologia, genètica i no caldrà esperar massa per donar la benvinguda a professionals per la proteòmica o la genòmica. Sense exagerar podem dir que les àrees funcionals del coneixement bàsic biomèdic, és a dir, les que estudien la funció, han estat branques o filles de la fisiologia.

DE LA FISIOLOGIA I FISIOPATOLOGIA DE L'HUMOR AQUÓS (HA)

És l'hora de parlar de la fisiologia de l'humor aquós (l'HA) i de com els investigadors ens hem aproximat a estudiar aquest circuit tan petit i tan curt, però tan determinant per una patologia com és el glaucoma. L'HA té dues grans funcions: nodrir les estructures avasculares -còrnia i cristal·lí- i determinar la pressió intraocular (IOP). L'HA es secreta en els processos ciliars situats a la cambra posterior de l'ull i, passant per la pupil·la, s'encamina cap a l'angle iridocornial on drena travessant la xarxa trabecular (XT) i l'endoteli del canal de Schlemm (CS) cap a la llum d'aquest últim i d'aquí, cap a les venes

aqueoses; hi ha altres vies de drenatge de l'HA, com la via uveoescleral, però la via del CS és coneguda com la via convencional i s'il·lustra en la figura 1.

L'ull manté les seves propietats diòptriques sempre que en la càmera anterior de l'ull es mantinguin uns valors normals d'IOP que oscil·len entre 12 i 21 mmHg. A més, hi ha variacions circadiàries. Si la pressió és massa baixa les lents del globus ocular no mantenen la seva curvatura i no enfoquen adequadament. Si l'IOP és massa alta es compromet la circulació sanguínia dins l'ull, es pot afectar el nervi òptic i ambdues coses condueixen cap a la ceguesa. Encara que podem trobar glaucomes amb tensió ocular normal, l'elevació de l'IOP és el factor de risc més determinant del glaucoma. La prevalença del glaucoma oscil·la entre l'1,5 i el 2% entre els majors de 40 anys i és una de les causes principals de ceguesa al món, essent-ne la forma més freqüent, el 60% dels casos, el glaucoma d'angle obert primari o glaucoma crònic simple (American Academy of Ophthalmology [AAO], 2008).

L'Organització Mundial de la Salut va estimar, a principis dels anys 90, que el nombre de persones al món amb IOP seriosament alta era de 105 milions, que se'n diagnosticarien prop de 2,4 milions a l'any i que el nombre de cecs per aquesta causa seria de 8 milions, cosa que situaria el glaucoma com la tercera causa de ceguesa a nivell mundial, només superada per la cataracta i l'oncocercosi (American Academy of Ophthalmology [AAO], 2008). Aquesta breu explicació posa de relleu la importància de conèixer i estudiar a fons els factors que contribueixen a determinar l'IOP i molt especialment els mecanismes de drenatge a través de la XT.

COM ÉS POSSIBLE APROPAR-SE A L'ESTUDI DE LA FISIOLOGIA DE L'HUMOR AQUÓS (HA)?

Apropar-se a l'estudi de la fisiologia de l'HA amb una sola aproximació no seria eficient donat que la recerca requereix apropar-se al problema des de diferents perspectives. Repassarem els factors, les metodologies i tècniques i, les millors aproximacions per a l'estudi de la fisiologia de l'HA.

Hi ha diversos factors que afecten la via convencional de drenatge de l'HA. Malgrat que molts d'ells estan íntimament relacionats, els agruparem en vuit apartats que es descriuen a continuació (Figura 1):

A. La innervació

És rellevant un treball del grup de la professora Lütjen-Drecoll en què es descriu tant la innervació eferent, de tipus vegetatiu, com l'aferent de tipus sensorial (Selbach et al. 2000) plantejant la possibilitat que la XT tingui capacitat d'autoregular l'evacuació d'HA.

B. Tipus i característiques de les cèl·lules de la xarxa trabecular (XT) i de l'endoteli del canal de Schlemm(CS)

Diferents investigadors es van preguntar si la influència de les cèl·lules trabeculars sobre el flux d'HA és activa o passiva. Al respecte són rellevants EL treball d'Alvarado et al. (1991) que van evidenciar que les XTs d'ulls glaucomatosos d'angle obert tenen un nombre de cèl·lules inferior a les d'XTs normals i el de Coroneo et al. (1991) que va demostrar a la XT diferents tipus cel·lulars amb diferents comportaments.

ElkeLütjen-Drecoll (1998) ha descrit amb gran precisió tota l'estructura funcional de la XT. És de gran interès un treball seu (2009) en què s'especifiquen les diferències de la XT en tres tipus de glaucoma d'angle obert: i) primari d'angle obert, ii) induït per corticosteroïdes i iii) pigmentari.

C. Estímul mecànics

KristineErickson-Lamy va mostrar la viabilitat d'una preparació molt interessant basada en el cultiu de teixit de la XT en què es poden perfondre ulls enucleats i mesurar la facilitat d'evacuació de l'HA a través del trabècul (Erickson-Lamy et al. 1988 i 1991). El Laboratori de Neurofisiologia de la Universitat de Barcelona va posar en marxa aquesta preparació i va descriure millores substancials de la tècnica que són un referent de la preparació (Gual et al. 1997).

Aquesta preparació es va acoblar amb tècniques electrofisiològiques i altres tècniques com el registre de Patch-clampi Voltatge-clampen cèl·lules de la XT obtingudes de cultius primaris o altres tècniques de mesura de Ca²⁺ citosòlic lliure mitjançant colorants sensibles als canvis de voltatge. Aquest doble abordatge es complementa: per una part les tècniques fisiològiques convencionals per avaluar la funció de la XT i, per una altra, tècniques específiques com les electrofisiològiques, les de cultiu cel·lular, les bioquímiques, o les immunohistoquímiques, que permeten avaluar els diferents agents i mecanismes cel·lulars implicats. Aquesta doble aproximació va permetre identificar la presència de canals de K⁺ rectificadors -canals Kir- en les cèl·lules de la XT

(Llobet et al. 2001), i també la mecanosensibilitat del canal de Ca^{2+} activat per K^{+} (Gasull et al. 2003).

Posteriorment es va estudiar la modulació del flux d'HA per diferents mecanismes iònics de les cèl·lules de la XT (Soto et al. 2004), i la identificació i la caracterització de canals de clorur (CIC-2) en les cèl·lules de la XT (Comes et al. 2006). Vàrem poder observar com el volum intracel·lular de les cèl·lules XT determina la facilitat d'evacuació de l'HA (Gual et al. 1997) i que l'augment de volum de la cèl·lula activa un mecanisme regulador de volum que impliquen tant l'activació dels corrents de K^{+} i Cl^{-} com la participació dels receptors P2Y_2 (Soto et al. 2004); Aquestes dades permeten proposar que la regulació del volum cel·lular seria part dels mecanismes homeostàtics de la XT per regular el flux d'evacuació de l'HA. Experiments realitzats amb RT-PCR, van confirmar l'expressió molecular de canals CIC-2 (Comes et al. 2006) que se sumaven als canals reguladors de volum cel·lular (Clswell) i als canals de K^{+} activats per Ca^{2+} (BKCa).

Varem estudiar l'entrada capacitativa de Ca^{2+} a les cèl·lules de la XT en resposta a l'estimulació d'agonistes i la depleció dels dipòsits intracel·lulars de Ca^{2+} i vàrem observar com l'entrada de Ca^{2+} està condicionada per l'activació dels canals SOC. Així, els canals CRAC i TRPC actuen com a moduladors de la XT i milloren el drenatge de l'HA (Abad et al. 2008).

La contractilitat de l'actomiosina modula la resistència a la sortida de l'HA i com a conseqüència modifica l'IOP, raó per la qual es va estudiar l'efecte de la latrunculina-B que indueix la despolimerització de l'actina. La presència de latrunculina-B va disminuir molt la resistència de sortida respecte al control (MinHee et al. 2016), confirmant que els mecanismes contràctils d'actomiosina són importants per modular la resistència de sortida de l'HA.

D. Activitat tissular

Els teixits circumdants de la XT poden alliberar substàncies en diferents situacions, com la inflamació, després d'un traumatisme o durant el dolor neuropàtic. En aquest sentit vàrem estudiar amb col·laboració amb el Dr. Rafael Barraquer i el Dr. Josep Maria Nicolás, la capacitat de la bradicinina de disminuir la facilitat d'evacuació de l'HA, efecte mitjançat per l'activació de receptors BK-B2 (Llobet et al. 1999). Aquesta dadapermet postular mecanismes de contracció actius en les cèl·lules de la XT que podrien modificar activament el flux d'HA.

E. Matriu extracel·lular

Un treball realitzat amb microscòpia electrònica d'escaneig (Sampaolesi i Argento, 1977), va verificar dos aspectes que tenen correlació clínica: i) la pseudoexfoliació: que dificulta el pas d'HA, i ii) la descripció del lligament pectinat en el glaucoma congènit d'inici tardà.

F. L'expressió gènica

Fins a mitjans de la dècada dels 90 no apareixen en la literatura treballs que impliquin l'expressió gènica en la XT, l'HA, ni tampoc en el glaucoma. Cal revisar tres tipus de dades, sobre l'expressió gènica i els gens associats al glaucoma, sobre la transferència de gens -gen delivery- i per acabar la teràpia gènica associada al glaucoma.

Stone et al. (1997) van ser els primers en identificar mutacions del gen de la miocilina, responsable de casos de glaucoma juvenil d'angle obert hereditaris. Treballant en la recerca de l'expressió gènica de les estructures de l'ull destaca el grup de la Dra. Borrás de la University of Duke amb el que mantenim una estreta col·laboració. L'any 2000 ja es van aportar dades de com una IOP elevada induïa l'expressió d'alguns gens, en la XT (Gonzalez et al. 2000). Uns anys més tard Comes i Borrás (2009) publiquen la primera visió molecular sobre la variació de la resposta individual a l'IOP observada en l'entorn clínic. És rellevant la troballa, en un nombre important de famílies amb glaucoma primari d'angle obert, d'alteracions en el gen OPTN, gen responsable de la síntesi d'una proteïna, l'optineurina, que es detecta entre d'altres llocs en la XT (Rezaie et al. 2002).

Respecte la transferència de gens s'ha posat de manifest com vectors adenovirals són capaços de transferir gens actius a XT d'ulls humans intactes, fent possible pensar que es podran desenvolupar fàrmacs pel glaucoma mitjançant teràpies gèniques (Borrás et al. 1998; Comes i Borrás, 2007; Buie et al. 2010).

Finalment cal destacar les dades de com, en ovelles, la inducció gènica pot prevenir el glaucoma induït per esteroides (Borrás et al. 2016) i, per tant, pensem que la transferència per la seva utilització en humans no pot ser llunyana.

G. Factors externs

Una recent revisió de Ganesh Prasanna (Prasanna et al. 2016) sobre la farmacologia dirigida a modificar el flux d'HA a través de la via convencional, resumeix de forma excel·lent la situació actual en descriure els nous mecanismes que incrementen el flux d'evacuació a tra-

vés de la via convencional i els fàrmacs que han demostrat ser esperançadors per tal de reduir l'IOP modulant diverses vies; entre elles la Rho-cinasa, l'NO, la guanilat-ciclasa soluble, el GMPc, l'adenosina A1, la prostaglandina EP4, l'AMPc i els canals de potassi.

H. Aproximacions innovadores

Proteòmica

Un dels primers treballs sobre l'anàlisi del proteoma de les cèl·lules de la XT va ser el de Thomas Steely (Steely et al. 2006). L'objectiu del treball era engegar un estudi proteòmic de cèl·lules GTM3 com a pas inicial cap a la caracterització completa del proteoma humà de la XT.

La presència de dexametasona afecta l'expressió de les proteïnes del citoesquelet en el nivell transcripcional i traslacional, i mostra que un estudi combinat de genòmica i proteòmica és útil per a l'anàlisi de les proteïnes en la XT (Clark et al. 2013).

El segment anterior de l'ull és una part especialment complexa amb més de 5.000 proteïnes identificades i per això l'anàlisi proteòmica de diferents parts de l'ull implica mètodes d'alt rendiment que ajuden a identificar les proteïnes i les seves modificacions postraduccionals (Elsobky et al. 2014).

Cèl·lules mare (Stem-cells)

Donada la participació de les cèl·lules de la XT en la regulació de l'IOP s'ha proposat utilitzar cèl·lules mare de la XT per modificar el flux d'evacuació de l'HA (Yun et al. 2016); aquestes cèl·lules aplicades in vivo mostren la capacitat de retornar a la regió trabecular, fixar-s'hi i diferenciar-se a cèl·lules trabeculars.

Knockouts

S'han descrit knockouts de ratolins amb carència de receptors de melatonina tipus 1 que durant el període nocturn presenten una IOP significativament elevada (Alcantara-Contreras et al. 2011). També s'ha descrit que els ratolins transgènics que sobreexpressen NOS3 mostren una IOP menor i una facilitat d'evacuació augmentada, cosa que indica segurament que el senyal NO pot regular endògenament l'IOP (Stamer et al. 2011). Per contra, ratolins knockouts de NOS3 mostren una IOP elevada en comparació amb els ratolins control (Lei et al. 2015).

Models experimentals

El fet que s'hagin proposat diferents models per a l'estudi del glaucoma mostra tant la utilitat de trobar un bon model com que cap dels anteriors aconsegueix tots els requisits desitjables. Un model interessant és el de les microesferes de làtex (Weber i Zelenak, 2001). Un altre model és el de la injecció de microesferes magnètiques (Bunker et al. 2015) amb l'avantatge que es poden manipular des de fora. Finalment es va fabricar una estructura amb porus de les dimensions de la XT, la van tractar amb proteïnes d'adhesió, F-actina i la trunculina B, i posteriorment s'hi va fer créixer cèl·lules cultivades de la XT (Torrejon et al. 2013).

CONSIDERACIONS I REFLEXIONS FINALS

Aquesta breu i parcial revisió de la fisiologia de l'HA i de la seva fisiopatologia no ha tingut una altra intenció que la de servir d'exemple per mostrar com, per estudiar un aspecte funcional tan petit, tan irrellevant si el comparem amb altres funcions complexes del sistema nerviós, hem necessitat aproximar-nos-hi no solament des del vesant i les tècniques pròpies de la fisiologia sinó que també han estat necessàries aproximacions des d'altres vessants com la de la bioquímica, de la biologia molecular, de la immunohistoquímica, l'electrofisiologia, la genòmica, la proteòmica, l'epigenètica i encara d'altres. Aproximacions totes elles encaminades a avaluar la funció de sistemes, òrgans, o circuits complexos o suposadament senzills com el circuit de l'HA.

Durant vuit anys he tingut l'oportunitat d'estar al front del Departament de Ciències Fisiològiques I de la Universitat de Barcelona que aplegava les Unitats de Biofísica, Bioquímica, Genètica i Fisiologia, i avui, amb la reforma de departaments de la Universitat de Barcelona, ha passat a ser el Departament de Biomedicina que aplega, a més de les esmentades Unitats, les de Biologia Cel·lular, Histologia i Immunologia. És un honor continuar coordinant aquest nou Departament i, encara que ho comprenc, em permetran manifestar-los una certa nostàlgia per la pèrdua del nom. La fisiologia se sent mare de la major part de les ciències, ja consolidades, a què m'he referit i inclús se sent àvia d'alguna d'elles com la proteòmica o l'epigenètica que han nascut de mans de la bioquímica o la genètica. La fisiologia no se sent més important que qualsevol de les ciències que contribueixen a conèixer més i millor com funciona la complexitat del cos humà i les aplega sota el nom de ciències fisiològiques. Amb certa enveja contemplo el jovent científic que ens envolta, responsable d'un futur que es preveu cada vegada més potent i més productiu.

Una cosa més, la fisiologia i les ciències fisiològiques intenten explicar com funciona cada racó, cada trosset de l'economia del nostre cos i ho fa esperant de tots vostès, clínics, cirurgians, psiquiatres i especialistes de totes i cada una de les disciplines mèdiques que, quan estiguin davant d'un malalt, puguin guarir-lo, és a dir, li retornin la funció fisiològica; la medicina i la fisiologia són, doncs, dos mons inseparables i em permetran pregonar que la fisiologia se sent orgullosa d'estar al servei de tots els metges. Malgrat tot, la medicina i els professionals que l'emplenen de coneixements tenim la responsabilitat d'anar més enllà de guarir els malalts. Miguel Delibes reflexiona sobre la medicina i escriu¹: *La Medicina, pese a sus esfuerzos, no ha conseguido cambiarnos por dentro; nos ha hecho más pero no mejores. Estamos más juntos -y aún lo estaremos más- pero no más próximos.* Sres. i Srs. Acadèmics, no ens parem en la reflexió de Delibes i assumim la responsabilitat de liderar l'acció de millorar la humanitat per "dintre"; no sol·licito que surtin al carrer a fer-ho, sinó que pensin què s'ha de fer. Vostès, senyories, són experts en coneixement i fan que aquesta casa sigui rica en ciència, per això els demano no oblidin la prèdica de Ramon Llull en la què assevera "Pobre és el qui rep i no dona"; si donem ciència, el nostre cabal, la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya serà rica per sempre.

Bibliografia

- Abad E, Lorente G, Gavara N, Morales M, Gual A, and Gasull X. Activation of Store-Operated Ca² Channels in Trabecular-Meshwork Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 677–86.
- Alcantara-Contreras S, Baba K, and Tosini G. Removal of Melatonin Receptor Type 1 Increases Intraocular Pressure and Retinal Ganglion Cells Death in the Mouse. *Neurosci Lett* 2011; 494: 61–4.
- Alvarado, J, Murphy, C, and Juster, R. Trabecular Meshwork Cellularity in Primary Open-angle Glaucoma and Nonglaucomatous Normals. *Ophthalmology* 1984; 91: 564–79.
- American Academy of Ophthalmology. *Glaucoma 2008-2009*. Elsevier S.A. 2008, ISBN 978-84-8086-361-2. Consultat el 28 de juliol de 2016: <https://books.google.es/books?id=ufTi5RVDF3UC&pg=PA9&dq=glaucoma+tipos&cd=5#v=onepage&q=glaucoma%20tipos&f=false>
- Borrás T, Matsumoto Y, Epstein DL and Johnson DH. Gene Transfer to the Human Trabecular Meshwork by Anterior Segment Perfusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1503–7.
- Borrás T, Buie LK and Spiga MG. Inducible scAAV2.GRE.MMP1 lowers IOP long-term in a large animal model for steroid-induced glaucoma gene therapy. *Gene Therapy* 2016; 23: 438–49.
- Buie LK, Rasmussen CA, Porterfield EC, Ramgolam VS, Choi VW, Markovic-Plese S, Samulski RJ, Paul L. Kaufman PL and Borrás T. Self-complementary AAV Virus (scAAV) Safe and Long-term Gene Transfer in the Trabecular Meshwork of Living Rats and Monkeys. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 236–48.
- Bunker S, Holeniewska J, Vijay S, Dahlmann-Noor A, Khaw P, Ng YS, Shima D, Foxton, R. Experimental Glaucoma Induced by Ocular Injection of Magnetic Microspheres. *J Vis Exp* 2015; 96: e52400.
- Clark R, Nosie A, Walker T, Faralli JA, Filla MS, Barrett-Wilt G, and Peters DM. Comparative Genomic and Proteomic Analysis of Cytoskeletal Changes in Dexamethasone-Treated Trabecular Meshwork Cells. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12: 194–206.
- Comes N and Borrás T. Individual molecular response to elevated intraocular pressure in perfused postmortem human eyes. *Physiol Genomics* 2009; 38: 205–25.
- Comes N and Borrás T. Functional delivery of synthetic naked siRNA to the human trabecular meshwork in perfused organ cultures. *Molecular Vision* 2007; 13: 1363–74.
- Comes N, Abad E, Morales M, Borrás T, Gual A, Gasull X. Identification and functional characterization of CIC-2 chloride channels in trabecular meshwork cells. *Exp Eye Res* 2006; 83: 877–89.
- Coroneo MT, Korbmayer C, Flügel C, Stiemer B, Lütjen-Drecoll E, Wiederholt M. Electrical and morphological evidence for heterogeneous populations of cultured bovine trabecular meshwork cells. *Exp Eye Res* 1991; 52: 375–88.
- Elsobky S, Crane AM, Margolis M, Carreon TA, Bhattacharya SK. Review of application of mass spectrometry for analyses of anterior eye proteome. *World J Biol Chem* 2014; 5: 106–14.
- Erickson-Lamy K, Rohen JW, Grant WM. Outflow facility studies in the perfused bovine aqueous outflow pathways. *Curr Eye Res* 1988; 7: 799–807.
- Erickson-Lamy K, Rohen JW, Grant WM. Outflow facility studies in the perfused human ocular anterior segment. *Exp Eye Res* 1991; 52: 723–31.
- Gasull X, Ferrer E, Llobet A, Castellano A, Nicolás JM, Palés J, and Gual A. Cell Membrane Stretch Modulates the High-Conductance Ca²-Activated K Channel in Bovine Trabecular Meshwork Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 706–14.
- Gonzalez P, Epstein DL, and Borrás T. Genes Upregulated in the Human Trabecular Meshwork in Response to Elevated Intraocular Pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 352–61.
- Gual A, Llobet A, Gilabert R, Borrás M, Pales J, Bergamini MVW, and Belmonte C. Effects of Time of Storage, Albumin,

1. Miguel Delibes. 1975. *El sentido del progreso desde mi obra*. Miñón S.A., Valladolid.

- and Osmolality Changes on Outflow Facility (C) of Bovine Anterior Segment In Vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 2165-71.
- Lei Y, Zhang X, Song M, Wu J, Sun X. Aqueous humor outflow physiology in NOS3 knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 4891-8.
- Llobet A, Gasull X, Palés J, Martí E, and Gual A. Identification of Kir 2.1 Channel Activity in Cultured Trabecular Meshwork Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2371-9.
- Llobet A, Gual A, Palés J, Barraquer R, Tobias E, Nicolás JM. Bradykinin Decreases Outflow Facility in Perfused Anterior Segments and Induces Shape Changes in Passaged BTM Cells In Vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 113-25.
- Lütjen-Drecoll E. Functional Morphology of the Trabecular Meshwork in Primate Eyes. *Progress in Retinal and Eye Research* 1998; 18: 91-119.
- MinHee K. Ko, EunYoung Kim, Jose M. Gonzalez Jr. & James C. Tan. Dose- and time-dependent effects of actomyosin inhibition on live mouse outflow resistance and aqueous drainage tissues. *Scientific Reports* 2016; 6: 21492 | DOI: 10.1038/srep21492.
- Prasanna G, Li B, Mogi M, Rice DS. Pharmacology of novel intraocular pressure-lowering targets that enhance conventional outflow facility: Pitfalls, promises and what lies ahead? *Eur J Pharmacol* 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.03.003>
- Rezaie T, Child A, Hitchings R, Brice G, Miller L, Coca-Prados M, Héon E, Krupin T, Ritch R, Kreutzer D, Crick RP, Sarfarazi M. Science. Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* 2002; 295: 1077-9.
- Sampaolesi R and Argento C. Scanning electron microscopy of the trabecular meshwork in normal and glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977; 16: 302-14.
- Selbach JM, Gottanka J, Wittmann M and Lütjen-Drecoll. Efferent and Afferent Innervation of Primate Trabecular Meshwork and Scleral Spur. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2184-91.
- Soto D, Comes N, Ferrer E, Morales M, Escalada A, Palés J, Solsona C, Gual A, Gasull X. Modulation of Aqueous Humor Outflow by Ionic Mechanisms Involved in Trabecular Meshwork Cell Volume Regulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 3650-61.
- Stamer WD, Lei Y, Boussommier-Calleja A, Overby DR, Ethier CR. eNOS, a pressure-dependent regulator of intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 9438-44.
- Steely HT, Dillow GW, Bian L, Grundstad J, Braun TA, Casavant TL, McCartney MD, and Clark AF. Protein expression in a transformed trabecular meshwork cell line: proteome analysis. *Molecular Vision* 2006; 12: 372-83.
- Stone EM, Fingert JH, Alward WLM, Nguyen TD, Polansky JR, Sunden SLF, Nishimura D, Clark AF, Nystuen A, Nichols BE, Mackey DA, Ritch R, Kalenak JW, Craven ER, Sheffield VC. Identification of a Gene That Causes Primary Open Angle Glaucoma. *Science* 1997; 275: 668-70.
- Tektas OY and Lütjen-Drecoll E. Structural changes of the trabecular meshwork in different kinds of glaucoma. *Experimental Eye Research* 2009; 88: 769-75.
- Torrejón KY, Pu D, Bergkvist M, Danias J, Sharfstein ST, Xie Y. Recreating a Human Trabecular Meshwork Outflow System on Microfabricated Porous Structures. *Biotechnol Bioeng* 2013; 110: 3205-18.
- Weber AJ and Zelenak D. Experimental glaucoma in the primate induced by latex microspheres. *J Neurosci Methods* 2001; 111: 39-48.
- Yun H, Zhou Y, Wills A, and Du Y. Stem Cells in the Trabecular Meshwork for Regulating Intraocular Pressure. *J Ocul Pharmacol Ther* 2016; 32: 253-60.

Elements i factors que afecten a la via convencional de drenatge de l'humor aquós (HA) (xarxa trabecular (XT) i canal de Schlemm (CS))

