

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
FACULTAT DE MEDICINA
DEPARTAMENT DE CIRURGIA
HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

CUANTIFICACIÓN DE
ERITROPOYETINA Y
SOMATOSTATINA INTRAVÍTREA:
ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE
PACIENTES CON DIABETES
MELLITUS Y TROMBOSIS VENOSA
RETINIANA

TESIS DOCTORAL

CARME MACIÀ BADIA

DIRECTORES: JOSÉ GARCÍA-ARUMÍ, ÀLEX FONOLLOSA

BARCELONA, 2008

JOSÉ GARCÍA-ARUMÍ, Catedrático de Oftalmología de la Universidad Autónoma de Barcelona, Jefe de Servicio del Servicio de Oftalmología del Hospital Vall d'Hebrón,

CERTIFICA:

Que CARME MACIÀ BADIA, Licenciada en Medicina y Cirugía, especialista en Oftalmología ha trabajado bajo mi dirección, habiendo obtenido y estudiado personalmente el material del trabajo titulado

“CUANTIFICACIÓN DE ERITROPOYETINA Y SOMATOSTATINA INTRAVÍTREA: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS Y TROMBOSIS DE VENA RETINIANA”

Estudio que termina en el día de la fecha con todo aprovechamiento, habiéndolo revisado el que suscribe y estando conforme con su presentación para ser juzgado como Tesis Doctoral.

Y para que conste a todos los efectos, firmo la presente en

Barcelona, 26 de Febrero del 2008

ÁLEX FONOLLOSA CALDUCH, Doctor en Medicina y Cirugía, Especialista en Oftalmología del Hospital Vall d'Hebrón,

CERTIFICA

Que CARME MACIÀ BADIA, Licenciada en Medicina y Cirugía, especialista en Oftalmología, ha trabajado bajo mi dirección, en el transcurso del proyecto de Tesis Doctoral titulado

“CUANTIFICACIÓN DE ERITROPOYETINA Y SOMATOSTATINA INTRAVÍTREA: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS Y TROMBOSIS DE VENA RETINIANA”, habiendo supervisado personalmente el trabajo efectuado así como la redacción y la presentación del mismo.

Por la tanto considero que el trabajo reúne las condiciones necesarias para ser definido ante el tribunal estipulado, para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad Autónoma de Barcelona.

Y para que conste a todos los efectos, firmo la presente en

Barcelona, 26 de Febrero del 2008.

Al Josep, la meva germana i els meus pares

AGRADECIMIENTOS

Al Dr Àlex Fonollosa, mi tutor y amigo, por quien siento un profundo cariño y admiración, le agradezco la preciosa oportunidad que me ofreció para introducirme en el fascinante campo de investigación del análisis molecular de los factores vítreos. Su dedicación ha sido constante realizando la revisión del trabajo, y gracias a la confianza que depositó en mi ha sido posible este proyecto. Es un placer poder compartir y disfrutar de su entusiasmo por la investigación.

Al Dr. José García-Arumí, Jefe del Servicio de Oftalmología del Hospital Vall d'Hebrón y Catedrático de Oftalmología de la Universitat Autònoma de Barcelona, por dirigir este Proyecto y hacer posible su desarrollo con su continuo apoyo y consejo. Gracias a sus enseñanzas en el mundo de la oftalmología a lo largo de los 4 años de residencia.

A todos los adjuntos del servicio de Oftalmología del Hospital Vall d'hebrón a los que debo mi formación y la ilusión por la Oftalmología.

A todos los Residentes del Servicio, por lo que aprendí de todos ellos, por su ejemplo y amistad. Todos, de una manera u otra, han trabajado para que este proyecto de investigación pudiera realizarse.

Las enfermeras del servicio, tanto de consultas externas como de quirófano, también han contribuido a la realización de este trabajo, por su espíritu de ayudar y facilitar la tarea.

Vull fer un agraïment especial als meus pares per haver-me inculcat els valors de l'esforç, la perseverància i l'amor per la feina; per haver estat sempre una font d'ànim per a la realització d'aquesta tesi. Montse, m'has donat suport en tot moment i m'has ajudat a tirar endavant en els moments difícils.

Al Josep, per estar sempre al meu costat, per compartir amb mi tant els moments bons com els de desànim, per la gran ajuda incondicional que m'has brindat en la realització d'aquesta tesi. Gràcies pel recolzament constant i les hores de dedicació ajudant-me en tot moment.

Aquesta tesi no hauria estat possible sense tots ells. Gràcies a tots.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AGF	Angiografía Fluoresceínica
ANV	Neovascularización del ángulo
ArV	Arrosariamiento venoso
AV	Agudeza Visual
BHR	Barrera Hemato-retiniana
CRA	Anastomosis corioretiniana
DM	Diabetes mellitus
DMNID	Diabetes mellitus no insulinodependiente
EM	Edema Macular
EMD	Edema Macular Diabético
EPO	Eritropoyetina
EPR	Epitelio Pigmentario de la Retina
FGF	Fibroblast Growth Factor
GNV	Glaucoma Neovascular
HDL	High density lipoprotein
HGF	Hepatocyte Growth Factor
HTA	Hipertensión Arterial
IGF	Insulin Growth Factor
INV	Neovascularización del iris
IRMA	Anomalia vascular intraretiniana
NOR	Neurotomía óptica radial
OCT	Tomografía de coherencia óptica
ORVR	Oclusión de rama venosa retiniana
OVCR	Oclusión de vena central de la retina
OVR	Oclusión venosa retiniana
PDGF	Platelet derived growth factor
PEDF	Pigment epithelium derived factor
PFC	Panfotocoagulación
RD	Retinopatía Diabética
RDNP	Retinopatía Diabética No Proliferativa
RDP	Retinopatía Diabética Proliferativa
SST	Somatostatina
TGFB	Transforming growth factor β
TRV	Trombosis de Rama Venosa
TVCR	Trombosis de Vena Central de la Retina
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VPP	Vitrectomía vía Pars Plana

ÍNDICE

I.	<u>JUSTIFICACIÓN</u>	7
II.	<u>HIPÓTESIS DE TRABAJO</u>	11
III.	<u>OBJETIVOS</u>	15
IV.	<u>INTRODUCCIÓN</u>	19
IV.1.	RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	19
IV.1.1.	EPIDEMIOLOGÍA DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA	19
IV.1.2.	PATOGÉNESIS DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	20
IV.1.3.	CLASIFICACIÓN.....	21
IV.1.3.1.	Retinopatía diabética no proliferativa.....	22
IV.1.3.2.	Progresión de retinopatía diabética no proliferativa a retinopatía diabética proliferativa.....	25
IV.1.3.3.	Retinopatía diabética proliferativa.....	27
IV.1.3.4.	Edema macular diabético.....	32
IV.1.4.	FACTORES SISTÉMICOS QUE AFECTAN LA RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	33
IV.1.5.	EFFECTO DEL CONTROL GLICÉMICO.....	34
IV.1.6.	TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	36
IV.1.6.1.	Fotocoagulación láser.....	37
IV.1.6.2.	Tratamiento quirúrgico.....	41
IV.1.6.3.	Trigon i antiVEGF.....	43
IV.2.	ENFERMEDAD OCLUSIVA VENOSA.....	44
IV.2.1.	OCLUSIÓN DE RAMA VENOSA RETINIANA.....	46
IV.2.1.1.	Manifestaciones clínicas.....	46
IV.2.1.2.	Diagnóstico diferencial.....	48
IV.2.1.3.	Tratamiento.....	49
IV.2.2.	OCLUSIÓN DE VENA CENTRAL DE LA RETINA.....	54
IV.2.2.1.	Manifestaciones clínicas.....	54
IV.2.2.2.	Patogenia.....	55
IV.2.2.3.	Clasificación.....	55
IV.2.2.4.	Diagnóstico diferencial.....	58
IV.2.2.5.	Opciones terapéuticas.....	59
IV.3.	FACTORES INTRAVÍTREOS.....	64

IV.3.1. FACTORES DE CRECIMIENTO Y RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	64
IV.3.1.1. Retinopatía diabética, isquemia y angiogenesis.....	64
IV.3.1.2. Modelos in vivo para el estudio de factores de crecimiento angiogénicos y antiangiogénicos.....	64
IV.3.2. FACTORES ANGIOGÉNICOS.....	65
IV.3.2.1. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF).....	65
IV.3.2.2. Insulin-Like Growth factor (IGF).....	70
IV.3.2.3. Platelet-Derived Growth Factor (PDGF).....	71
IV.3.2.4. Basic Fibroblast Growth Factor (FGF).....	72
IV.3.2.5. Hepatocyte Growth Factor (HGF)	73
IV.3.2.6. Angiopoyetina.....	74
IV.3.2.6. Eritropoyetina.....	75
IV.3.3. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN IMPLICADOS EN LA PATOGENIA DE LA RDP.....	78
IV.3.3.1. Hypoxia Inducible Factor (HIF).....	78
IV.3.4. FACTORES ANTIANGIOGÉNICOS.....	79
IV.3.4.1. Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF).....	79
IV.3.4.2. Transforming Growth Factor β (TGF- β).....	80
IV.3.4.3. Trombospondina.....	81
IV.3.4.4. Angiostatina.....	82
IV.3.4.5. Somatostatina	83
IV.3.5. USOS TERAPÉUTICOS.....	87
IV.3.5.1. Anti-VEGF en el tratamiento de la RD.....	87
IV.3.5.2. Potencial uso del octreotido en el tratamiento de la RD.....	89
V. <u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	95
V.1. MATERIAL.....	95
V.1.1. PACIENTES.....	95
V.1.1.1. Criterios de Inclusión.....	95
V.1.1.2. Criterios de Exclusión.....	96
V.1.1.3. Captación de pacientes y visita preoperatoria.....	97
V.1.1.4. Anamnesis.....	97
V.1.2. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS.....	98
V.1.2.1. Exploración oftalmológica.....	98
V.1.2.2. Angiografía fluoresceínica.....	99
V.2. MÉTODO.....	99
V.2.1. TÉCNICA QUIRÚRGICA.....	99
V.2.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	102

V.2.3. DETERMINACIÓN DE LABORATORIO.....	103
V.2.3.1. Determinación de Somatostatina.....	104
V.2.3.2. Determinación de Eritropoyetina.....	104
V.2.3.3. Determinación de Hemoglobina intravítrea.....	104
V.2.3.4. Determinación de proteínas vítreas.....	104
V.2.4. MÉTODO ESTADÍSTICO.....	105
VI. <u>RESULTADOS</u>	109
VI.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.....	109
VI.1.1. SOMATOSTATINA: DESCRIPCIÓN DE LOS CASOS.....	109
VI.1.1.1. Distribución por sexo.....	110
VI.1.1.2. Distribución por edad.....	111
VI.1.1.3. Ojo afecto.....	113
VI.1.1.4. Factores de riesgo.....	114
VI.1.2. ERITROPOYETINA: DESCRIPCIÓN DE LOS CASOS.....	116
VI.1.2.1. Distribución por sexo.....	117
VI.1.2.2. Distribución por edad.....	118
VI.1.2.3. Ojo afecto.....	120
VI.1.2.4. Factores de riesgo.....	121
VI.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL. TEST DE HIPÓTESIS.....	123
VI.2.1. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: COMPARABILIDAD ENTRE LOS GRUPOS.....	123
VI.2.1.1. Comparabilidad entre los grupos según la edad.....	123
VI.2.1.2. Comparabilidad entre los grupos según el sexo.....	123
VI.2.1.3. Comparabilidad entre los grupos según el ojo afecto.....	124
VI.2.1.4. Comparabilidad entre los grupos según el tipo de diabetes.....	124
VI.2.1.5. Comparabilidad entre los grupos según el tipo de trombosis.....	125
VI.2.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: PROTEÍNAS INTRAVÍTREAS.....	126
VI.2.3. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: SOMATOSTATINA PLASMÁTICA.....	127
VI.2.4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: ERITROPOYETINA SÉRICA.....	128
VI.2.5. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: SOMATOSTATINA INTRAVÍTREA.....	129
VI.2.5.1. SST: comparación entre pacientes con EMD y RDP.....	129
VI.2.5.2. SST: comparación entre pacientes con EMD y OVR.....	131
VI.2.5.3. SST: comparación entre pacientes con EMD y control.....	132
VI.2.5.4. SST: comparación entre pacientes con RDP y OVR.....	133
VI.2.5.5. SST: comparación entre pacientes con RDP y control.....	135

VI.2.5.6. SST: comparación entre pacientes con OVR y control.....	136
VI.2.6. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: EPO INTRAVÍTREA.....	138
VI.2.6.1. EPO: comparación entre pacientes con EMD y RDP.....	138
VI.2.6.2. EPO: comparación entre pacientes con EMD y OVR.....	139
VI.2.6.3. EPO: comparación entre pacientes con EMD y control.....	140
VI.2.6.4. EPO: comparación entre pacientes con RDP y OVR.....	141
VI.2.6.5. EPO: comparación entre pacientes con RDP y control.....	142
VI.2.6.6. EPO: comparación entre pacientes con OVR y control.....	143
VII. <u>DISCUSIÓN</u>	147
VII.1. DISCUSIÓN SOBRE LA INCLUSIÓN Y LA EXCLUSIÓN DE CASOS.....	147
VII.2. DISCUSIÓN SOBRE EL MÉTODO.....	149
VII.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS.....	150
VII.3.1. Resultados Somatostatina.....	152
VII.3.2. Resultados Eritropoyetina.....	156
VIII. <u>CONCLUSIONES</u>	163
IX. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	167

CAPÍTULO I

JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es la enfermedad metabólica más frecuente y extendida en todo el mundo y la retinopatía diabética (RD) es una de sus complicaciones microvasculares crónicas. En los países industrializados, la RD se ha convertido en la principal causa de deficiencia visual y ceguera en adultos entre los 25 y 74 años de edad.¹⁻³ Es por lo tanto un importante problema de salud pública, a la que el oftalmólogo debe enfrentarse en su práctica clínica habitual.

Las enfermedades oclusivas venosas retinianas (OVR) son la segunda patología vascular retiniana, siguiendo en frecuencia a la RD. Implican una importante morbilidad ocular.⁴ Ocurren predominantemente en pacientes mayores de 65 años y comportan una significativa disminución de la calidad de vida relativa a la visión comparado con los pacientes sin esta patología.⁵

El tratamiento de estas enfermedades tiene unos resultados limitados ya que en muchas ocasiones no se consigue mejoría de la agudeza visual (AV), tan solo frenar la pérdida de la misma. Aproximadamente el 60% de los pacientes con RD proliferativa (RDP) responden a la panfotocoagulación con regresión de la neovascularización en 3 meses.⁶ Por este motivo, muchos pacientes requieren tratamiento con láser adicional y hasta un 4,5% requieren vitrectomía pars plana (VPP) a pesar de la fotocoagulación panretiniana. Aunque se puede prevenir la pérdida visual con la panfotocoagulación en muchos casos, ésta es un proceso destructivo, doloroso y con efectos adversos.

La mejoría espontánea de la agudeza visual es infrecuente en los pacientes con oclusión venosa central y hemicentral de la forma isquémica.^{7, 8} Hasta el momento no existe tratamiento efectivo en los pacientes mayores de 60 años con trombosis de la vena central de la retina (TVCR) y AV inferior a 20/200.^{8, 9}

La isquemia retiniana es la causa de muchas enfermedades oculares que comportan daño neuronal y ceguera. La RDP y las OVR comparten varias características clínicas e histopatológicas. La pérdida de AV está provocada por aumento de la permeabilidad de la barrera hemato-retiniana (BHR) que provoca edema macular o por isquemia retiniana severa que conlleva retinopatía proliferativa. También comparten mecanismos moleculares responsables de las alteraciones estructurales. El factor de crecimiento más

importante implicado en ambas enfermedades retinianas es el Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), que provoca la disrupción de la barrera hemato-retiniana y la aparición de neovascularización retiniana.^{6, 10-14} Otros muchos factores proliferativos y antiproliferativos se están estudiando para conocer mejor los mecanismos moleculares implicados en estas retinopatías.

La somatostatina (SST) es un factor antiproliferativo cuya concentración vítrea está disminuida tanto en la RDP¹⁵ como en el edema macular diabético (EMD).¹⁶ Es probable que la isquemia no sea el estímulo fundamental para la disminución de síntesis de SST y ésta estaría más relacionada con la neurodegeneración retiniana diabética. No hay estudios que analicen la concentración vítrea de este neuropéptido en los pacientes con EM por oclusión venosa retiniana.

La eritropoyetina (EPO) es otra proteína estimulada principalmente por la isquemia cuya expresión retiniana está elevada en la RDP¹⁷⁻¹⁹ y en el EMD²⁰. Sin embargo, pensamos que en los pacientes con EMD el aumento de síntesis de EPO estaría relacionada con su actividad neurotrófica. De hecho se sabe que la EPO disminuye la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, que tiene una estructura similar a la barrera hemato-retiniana. No se conoce tampoco la concentración de este glicopéptido en los pacientes con edema macular por oclusión venosa retiniana.

El estudio y la identificación de los factores de crecimiento, así como, entender su mecanismo de acción a nivel oftalmológico son fundamentales para poder ofrecer nuevas opciones terapéuticas. El reconocimiento del VEGF como factor principal en la fisiopatología de la RD y la OVR ha posibilitado el diseño de nuevos fármacos que bloquean su actividad.

CAPÍTULO II

HIPÓTESIS DE TRABAJO

I. HIPÓTESIS DE TRABAJO

1. En pacientes con edema macular secundario a oclusiones venosas la concentración intravítrea de somatostatina sería normal.
2. En pacientes con edema macular secundario a retinopatía diabética esta concentración estaría disminuida respecto a los pacientes con oclusión venosa.
3. En pacientes con edema macular secundario a oclusiones venosas la concentración de eritropoyetina sería normal.
4. En pacientes con edema macular secundario a retinopatía diabética esta concentración estaría disminuida respecto a los pacientes con oclusión venosa.

CAPÍTULO III

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo de investigación son:

1. Determinar y comparar la concentración de somatostatina intravítrea en pacientes con edema macular diabético, retinopatía diabética proliferativa, enfermedad oclusiva venosa retiniana y pacientes controles
2. Determinar y comparar la concentración de eritropoyetina intravítrea en pacientes con edema macular diabético, retinopatía diabética proliferativa, enfermedad oclusiva venosa retiniana y pacientes controles.

CAPÍTULO IV

INTRODUCCIÓN

IV. INTRODUCCIÓN

IV.1. RETINOPATÍA DIABÉTICA

IV.1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

La DM es la enfermedad endocrina más frecuente y una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en la sociedad contemporánea. La verdadera prevalencia de la DM es difícil de estimar, pero oscila entre el 6% y el 10% de la población, mientras que la intolerancia oral a la glucosa alcanza el 11% de la población. La forma más frecuente de DM es la tipo II, que representa el 85% del total. Su prevalencia está aumentando de forma rápida, en parte debido a los cambios en los hábitos de vida y a la mayor esperanza de vida de la población. La obesidad, la disminución del ejercicio físico y la dieta rica en grasas saturadas se relaciona estrechamente con la DM tipo II. Así, el 80% de los diabéticos de este tipo son obesos y se ha observado que por cada kilogramo de peso ganado el riesgo de padecer DM aumenta.²¹ Se calcula que en la próxima década se doblará la prevalencia mundial de la DM. Hay que destacar que el 50% de los individuos con DM tipo II no han sido diagnosticados y que el 20% de los pacientes que se diagnostican de diabetes tipo II presentan datos de complicaciones crónicas ya en el momento del diagnóstico.²²

La prevalencia de retinopatía en la población diabética aumenta con la duración de la diabetes y la edad del paciente. Es raro encontrar RD en niños menores de 10 años, sea cual sea la duración de la enfermedad. El riesgo de RD aumenta después de la pubertad. Sabemos que, con el paso de los años, casi todos los pacientes con DM desarrollan algún grado de retinopatía. Aproximadamente el 98% de las personas con diabetes tipo I, el 80% de los diabéticos tipo II insulino-dependientes y el 50% de los no insulino-dependientes desarrollarán retinopatía en los primeros 20 años después del diagnóstico de la DM.²² Además, después de 20 años, aproximadamente un 50% de los individuos con DM tipo I presentarán RDP en comparación con menos de un 10% de los individuos con una DM tipo II.^{1,2}

La RD constituye en la actualidad la principal causa de deficiencia visual y ceguera entre los adultos de 25 a 74 años de edad en los países industrializados. No todos los pacientes con RD desarrollarán una pérdida visual severa. Son dos las entidades clínicas

que marcan el pronóstico visual de estos pacientes: la RDP y el EMD. Así, después de 15 años de DM aproximadamente un 10% de los individuos serán ciegos, y un 10% desarrollarán una pérdida visual severa.^{1, 2, 23} El riesgo de ceguera en los diabéticos es unas 25 veces superior al resto de la población.²⁴

IV.1.2. PATOGÉNESIS DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

La fisiopatología de la RD no se conoce completamente. La hiperglicemia mantenida conlleva cambios bioquímicos y fisiológicos que en última instancia causan daño del endotelio vascular. Las vías metabólicas afectadas por la hiperglicemia son la de los polioles y la hexosamina, la síntesis “de novo” del diacylglycerol-proteincinasa C (DAG-PKC) y la producción de radicales libres.²⁵ Hay evidencia de que los mecanismos inflamatorios también juegan un papel importante.²⁶ La activación de estas vías provoca anomalías en la retina neural (neurodegeneración retiniana) y en el lecho capilar (daño microangiopático). Los cambios degenerativos en la neurorretina incluyen aumento de la apoptosis, reactividad de las células gliales, activación de la microglia y metabolismo alterado del glutamato. Estas alteraciones de la retina neuronal explican parte del déficit de visión funcional que aparece en pacientes diabéticos, incluso antes de poder apreciar alteraciones en la exploración fundoscópica. La neurodegeneración podría ser la patología primaria que comportará los cambios microvasculares.²⁷

Sobre el daño de los pequeños vasos retinianos se han centrado la mayoría de las investigaciones. De importancia es que se trata de daños evaluables por el oftalmólogo en las revisiones rutinarias de los pacientes diabéticos. Los cambios microvasculares incluyen pérdida de pericitos, engrosamiento de la membrana basal endotelial con compromiso del lumen capilar y descompensación de la función de barrera endotelial (disrupción de las “tight junctions”).²⁸ La pérdida de pericitos, con la consiguiente formación de microaneurismas, es el principal factor responsable de las primeras anomalías detectadas en la exploración fundoscópica. Los pericitos contienen filamentos de actina y sitios de anclaje para la endotelina 1. En consecuencia, actúan como células con acción de musculatura lisa regulando el tono vascular y la presión de perfusión.²⁹ También están en contacto directo con las células endoteliales a través de las fenestraciones de la membrana basal y pueden inhibir la replicación endotelial activando el TGF- β 1.³⁰ El engrosamiento y la consiguiente disfunción de la membrana basal disminuyen el contacto entre el pericito y la célula endotelial, disminuyendo la

nutrición del pericito y contribuyendo a su muerte por apoptosis. Se han correlacionado con la severidad de la RD multitud de anomalías hematológicas y bioquímicas: a) incremento de la agregación plaquetaria, b) aumento de la agregación de los eritrocitos, c) incremento de los lípidos séricos, d) alteraciones en la fibrinólisis y e) anomalías en la viscosidad del suero sanguíneo.³¹

IV.1.3. CLASIFICACIÓN

Existen múltiples clasificaciones de la RD; la más usada actualmente para la evaluación clínica y experimental de la RD es la versión final de la escala de severidad del ETDRS.³² La RD se clasifica en un estadio inicial: la RD no proliferativa (RDNP) y en un estadio más avanzado: RD proliferativa (RDP). La RDNP se divide en 4 grupos en función del riesgo de progresión a RDP: leve, moderada, severa y muy severa. La RDP puede ser sin características de alto riesgo, con características de alto riesgo o severa. El edema macular puede estar presente en cualquier nivel de retinopatía.³³

Cada uno de estos estadios se caracteriza por la aparición de unas lesiones básicas que no son específicas de la RD, pero sí lo es la distribución de las mismas y el curso natural de la enfermedad. Así, la RD progresa desde una RDNP leve, caracterizada por un aumento de la permeabilidad vascular, a una RDNP moderada y severa, caracterizada por la oclusión vascular y finalmente, a una RDP en la que el crecimiento de nuevos vasos anormales en la retina y parte posterior del vítreo es lo característico.

El diagnóstico de la RD es oftalmoscópico y no angiográfico. La angiografía fluoresceínica (AGF) no es necesaria actualmente ni para el diagnóstico, ni para establecer niveles de severidad o predecir el progreso de la RD. La Academia Americana de Oftalmología ha recomendado unas indicaciones para esta técnica.³⁴ Así, estaría indicado realizar una AGF en los siguientes casos: para establecer el patrón de tratamiento en un edema macular; para evaluar una pérdida visual inexplicada; para determinar la extensión de áreas no perfundidas; y para diferenciar Anomalías microvasculares intraretinianas (IRMA) de los neovasos (lesiones características de la RDNP severa y de la RDP, respectivamente). A estas indicaciones podríamos añadir, la de realizar una AGF después de un tratamiento con láser, para conocer el resultado del mismo.

IV.1.3.1. RETINOPATÍA DIABÉTICA NO PROLIFERATIVA

Los cambios microvasculares que ocurren en la RDNP están limitados a la retina y no se extienden más allá de la membrana limitante interna. Los hallazgos característicos incluyen:

a) **Microaneurismas:** se localizan en la capa nuclear interna y son las primeras lesiones clínicamente detectables de RD. Aparecen como pequeños puntos redondeados, generalmente temporales a la mácula. Cuando están cubiertos por sangre pueden ser indistinguibles de puntos hemorrágicos. Los microaneurismas no son patognomónicos de la diabetes pues aparecen en varias enfermedades oculares. Su número es muy variable y se relaciona con la severidad de la retinopatía.³⁵ Así, su número aumenta de forma gradual al progresar la enfermedad, excepto cuando se producen áreas de no perfusión. En estos casos otros signos clínicos como los IRMA, característicos de estadios más avanzados, son más frecuentes.

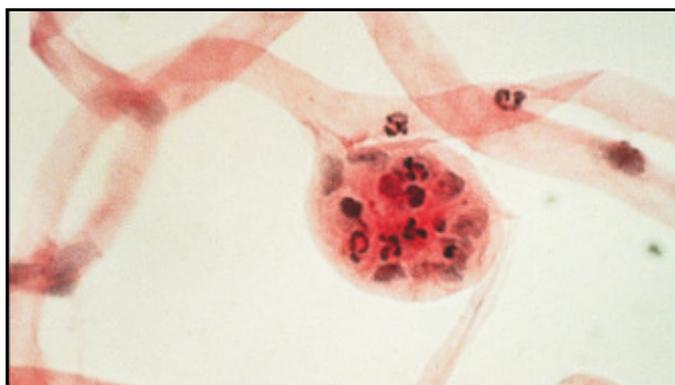


Fig 1: Formación de un microaneurisma en un perro alimentado con galactosa durante 27 meses (tinción con acid-Schiff-hematoxylin x570). (Adaptado de www.retinatext.com)

b) **Hemorragias intra-retinianas:** se originan en los extremos venosos de los capilares y se localizan en las capas medias compactas de la retina y tienen una configuración en forma de “punto-mancha”. Las hemorragias en forma de llama, que se originan de las arteriolas precapilares más superficiales, siguen el curso de la capa de fibras nerviosas retinianas.³⁴

c) **Exudados duros:** son depósitos extracelulares de lípidos y lipoproteínas de origen plasmático, extravasadas principalmente a través de la pared lesionada de los

microaneurismas y también de algunos vasos sanguíneos con permeabilidad anormalmente aumentada. Normalmente se localizan en la capa plexiforme externa de la retina, pero pueden ser más superficiales o incluso ocupar el espacio subretiniano, donde pueden provocar degeneración de los fotorreceptores. Al examen clínico oftalmoscópico aparecen como depósitos blancos o blancoamarillentos (color de cera) con límites irregulares pero nítidos. Son de tamaño variable, desde formaciones puntiformes hasta grandes placas confluentes. Se localizan en cualquier parte de la retina, pero tienen predilección por la mácula. Se ven aislados o agrupados en forma de estrella, anillo o placas compactas. Cuando se disponen en forma de anillo, los vasos o microaneurismas anormales, a partir de los cuales se originan, suelen situarse en el centro y los exudados duros en los límites de la zona edematosa. A nivel macular se asocian estrechamente con el engrosamiento de la retina y a veces se disponen en forma de estrella debido a la especial configuración de la capa plexiforme externa (capa de Henle) a dicho nivel.³⁴

d) **Edema retiniano:** está localizado inicialmente entre las capas plexiforme externa y nuclear interna. Más tarde puede afectar las capas plexiforme interna y de fibras nerviosas, y a veces todo el espesor de la retina puede estar edematoso. Con la acumulación posterior de líquido la fovea adopta un aspecto quístico. Clínicamente, el edema retiniano se caracteriza por engrosamiento que oscurece el epitelio pigmentario retiniano subyacente y la coroides. Se detecta con más facilidad mediante biomicroscopía con lámpara de hendidura con una lente de +78D.³⁴

e) **Infartos de la capa de fibras:** oftalmoscópicamente son formaciones redondeadas u ovals, blanco-amarillentas, de bordes difusos y localizados superficialmente en la capa de fibras nerviosas de la retina. Son de tamaño variable y generalmente mayores que los exudados duros. Son el resultado de una oclusión arteriolar. La zona de retina no perfundida por la arteriola ocluida desarrolla de forma aguda un edema de los axones retinianos debido a la alteración del flujo axoplásmico en el área no perfundida. Son, por tanto, microinfartos de la capa de fibras nerviosas producidos por oclusión brusca de las arteriolas precapilares y corresponden a esa acumulación de material axoplásmico en el margen del infarto microvascular. Se observan con mayor frecuencia cerca del nervio óptico, donde los axones son más numerosos. Se conocen también como manchas algodinosas o exudados blandos,

término incorrecto patogénicamente, pero que se ha implantado y aceptado desde hace tiempo.³⁶

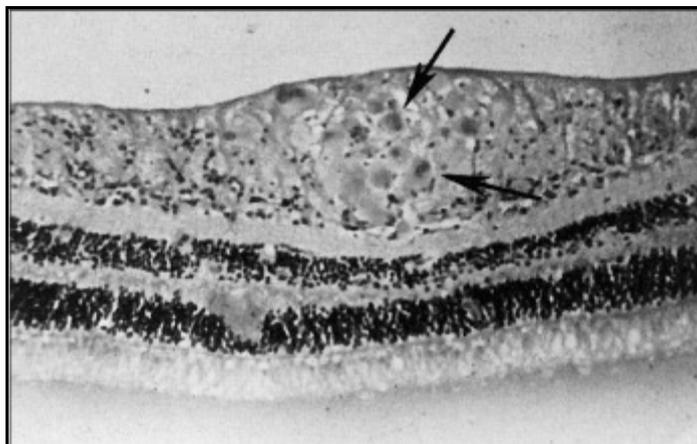


Fig 2: Sección microscópica de un infarto de la capa de fibras nerviosas de la retina que muestra cuerpos cistoides (flechas). (Hematoxilina-eosina x 25). (Adaptado de www.retinatext.com)

f) **Anormalidades vasculares retinianas:** Estas anomalías se asocian con amplias áreas de no perfusión capilar e isquemia de la retina. Entre las múltiples anomalías vasculares observadas en la RD el arrosariamiento venoso (ArV) y las anomalías microvasculares intra-retinianas (IRMA) son las más estudiadas. El **arrosariamiento venoso** es el cambio vascular más importante en la clasificación de la RD, se emplea para referirse a las vénulas de la retina de calibre irregular con zonas sucesivas de dilatación y estrechamiento tomando una apariencia característica en forma de salchicha o de cuentas de rosario. En la AGF las venas con ArV no suelen presentar fugas de fluoresceína, pero muchas veces se tiñe su pared con dicho colorante. Se asocia con una alta probabilidad de progresión a RDP. El número de cuadrantes afectados por el ArV determina el nivel de la RDNP. La presencia de ArV en un cuadrante se asocia con RDNP moderada, pero si afecta a 2 o 3 cuadrantes indica RDNP severa y si aparece en 4, una RDNP muy severa. Las **anomalías microvasculares intra-retinianas** son alteraciones de la red capilar en forma de segmentos vasculares intrarretinianos dilatados y tortuosos. Aparecen en respuesta a la isquemia focal de la retina y generalmente se encuentran alrededor o adyacentes a zonas de no perfusión arteriolar o capilar. Los IRMA pueden ser anormalmente permeables a las proteínas plasmáticas y presentar fugas graduales, de forma similar como lo hacen otros capilares dilatados y los

microaneurismas, y pueden ser, por tanto, origen de edema retiniano. Clínicamente las IRMA pueden parecerse a áreas focales de neovascularización retiniana plana. Los principales signos distintivos de los IRMA son: su localización intra-retiniana, la ausencia de extravasación profusa de colorante en la AGF y la imposibilidad de cruzar sobre los vasos sanguíneos retinianos principales. Los IRMA se encuentran en el interior de la retina y, por tanto, no recubren los vasos retinianos ni dan lugar a hemorragias prerretinianas o vítreas. Si bien, algunas áreas de IRMA son grandes y ocasionalmente difíciles de diferenciar de la neovascularización superficial inicial y ambas pueden presentar fugas de fluoresceína en la AGF, pero, en general, los IRMA no presentan fugas tan profusas como los neovasos superficiales. En el angiograma, los IRMA se observan en el borde de amplias áreas de no perfusión capilar, y se ramifican formando múltiples bucles en forma de horquillas. Las puntas de estos bucles se dirigen al centro del área no perfundida y se tiñen con fluoresceína, pero no presentan fugas como los vasos neoformados extrarretinianos. La severidad de los IRMA y el número de cuadrantes afectados por las mismas determina el nivel de RDNP. La presencia de IRMA leves en 1-4 cuadrantes indica una **RDNP moderada**. La presencia de IRMA moderados o extensos en 1-3 cuadrantes indica una **RDNP severa** y en 4 cuadrantes **RDNP muy severa**. La severidad de la RD aumenta cuando los IRMA se asocian con otras lesiones.³⁷

La RDNP puede afectar la agudeza visual por dos mecanismos principalmente:

1. grados variables de oclusión de capilares retinianos que comportan isquemia macular.
2. aumento de la permeabilidad vascular que comporta edema macular, siendo este la causa más frecuente de pérdida visual de los pacientes diabéticos.³⁸

IV.1.3.2. PROGRESIÓN DE RETINOPATÍA DIABÉTICA NO PROLIFERATIVA A RETINOPATÍA DIABÉTICA PROLIFERATIVA

La clasificación del ETDRS identifica aquellos pacientes con más riesgo de progresar a RDP dentro del grupo de RDNP severa. Estos pacientes tienen una probabilidad del 15% de progresión a RDNP muy severa en 1 año. Los pacientes con RDNP muy severa tienen un riesgo de progresión a RDP del 45% en 1 año. Algunas de las lesiones o signos clínicos de la RDNP pueden predecir el progreso de la RD a una RDP, de forma

estadísticamente significativa.³⁹ Otros, sin embargo, tienen poco o ningún valor predictivo. Tienen un valor predictivo importante:

- a) El ArV
- b) La severidad creciente de las hemorragias y/o microaneurismas
- c) Los IRMA

Son, en el orden citado, los precursores más importantes de la neovascularización. Los ojos que presentan estos signos tienen un riesgo mayor (cuatro veces o más) de progresar a una RDP. Si se comparan de forma individual los diferentes signos, el ArV es el de mayor capacidad para predecir la aparición futura de una RDP.³⁹



Fig 3: Paciente de 52 años en el que se diagnosticó la DM por pérdida de visión bilateral. El fondo de ojo muestra edema macular clínicamente significativo con retinopatía diabética no proliferativa moderada.

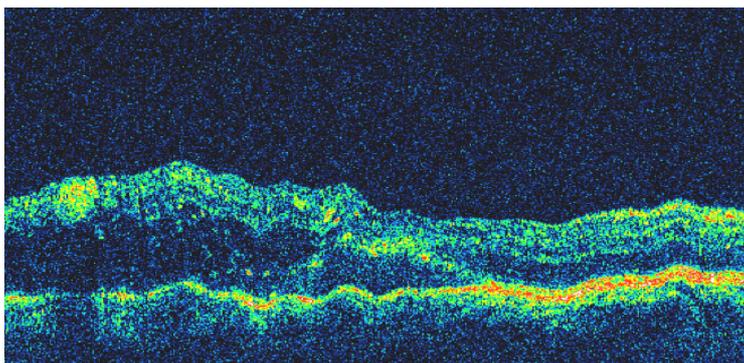


Fig 4: Tomografía de coherencia óptica (OCT) del paciente anterior que muestra engrosamiento retiniano y exudación lipídica..

IV.1.3.3. RETINOPATÍA DIABÉTICA PROLIFERATIVA

La proliferación de células endoteliales en el tejido retiniano forma las lesiones de la RDNP severa como son el ArV y los IRMA. Sin embargo, la presencia de estas lesiones no es suficiente para definir la retinopatía diabética proliferativa (RDP), la cual requiere la presencia de vasos sanguíneos o tejido fibroso neoformado provenientes de la retina o el disco óptico y que se extienden a través de la superficie interna de la retina o papila o en la cavidad vítrea.

La formación de neovasos en la retina adulta se produce en respuesta a la isquemia y ocurre de una forma similar al proceso de formación vascular embrionario. Los neovasos son capilares sin uniones estrechas entre sus células endoteliales. Se originan en los tramos venosos situados en las zonas de no perfusión. Primero crecen dentro de la retina y luego atraviesan la membrana limitante interna y continúan creciendo a lo largo de la hialoides posterior. Los neovasos proliferan rápidamente sobre la superficie de la retina y aumentan de diámetro. El tejido fibroso o glial prolifera en un intento de proveer soporte a estos vasos recién formados. Los neovasos pueden proliferar en un diámetro o menos de la cabeza del nervio óptico (NVD) o a lo largo del curso de los vasos principales (NVC). Se ha estimado que más de una cuarta parte de la retina debe estar sin perfusión antes que se desarrollen NVD. La ausencia de la membrana limitante interna sobre la cabeza del nervio óptico puede explicar parcialmente la predilección por la neovascularización en este lugar. La gravedad de la neovascularización está determinada por el área cubierta por vasos nuevos en comparación con el diámetro del disco óptico. También se debería observar si los nuevos vasos son planos o elevados, porque estos últimos responden en menor grado al tratamiento. La localización de la

neovascularización también es importante porque los ojos que sólo tienen NVC tienen menos probabilidades de sangrar que los que tienen NVD. La fibrosis asociada con neovascularización es importante, porque los ojos con proliferación fibrosa significativa también tienen riesgo de desprendimiento de retina traccional.³⁷

Las complicaciones de la RDP se producen por la tracción que ejerce el tejido proliferativo fibrovascular sobre el vítreo. El desprendimiento del vítreo desempeña un papel importante en la progresión de la RDP. La red fibrovascular se vuelve adherente a la cara vítrea posterior y extravasa plasma dentro del gel vítreo adyacente. Si, en este estadio, el vítreo se desprende totalmente los nuevos vasos regresan, pero en general, como resultado de las fuertes adherencias del vítreo cortical a las áreas de proliferación fibrovascular, el desprendimiento vítreo posterior es parcial. Inicialmente, la tracción en estos sitios de contractura vítrea causa elevación de los vasos por encima del plano de la retina. El tejido fibrovascular sigue proliferando a lo largo de la superficie posterior del vítreo parcialmente desprendido y después es empujado de forma progresiva hacia dentro de la cavidad vítrea hasta producirse una hemorragia. Hasta el inicio de la hemorragia vítrea, la RDP es completamente asintomática y sólo se puede detectar mediante controles periódicos. Las hemorragias prerretinianas, subhialoides o retrohialoides se producen cuando la sangre queda atrapada entre la retina y la hialoides posterior. Es frecuente que forme un nivel líquido, que le da un aspecto navicular (en forma de nave o canoa). Se aclaran en semanas o meses según su tamaño y aunque los neovasos asociados al proceso puedan quedar ocultos por la sangre, la hemorragia prerretiniana sugiere claramente la existencia de una RDP y la necesidad de realizar una fotocoagulación panretiniana. La hemorragia vítrea se produce cuando la sangre atraviesa la membrana limitante interna o la hialoides posterior y penetra en la cavidad vítrea. La mayoría de las hemorragias vítreas se producen durante el sueño, el porque no está claro; pero se ha hipotetizado pudiera ser debido, bien a la fase REM (“Rapid Eye Movement”) o bien al aumento de presión arterial secundario a la hipoglucemia matutina. Dado que son pocas las hemorragias que se producen durante el ejercicio, no parece necesario restringir en exceso la actividad física a los pacientes con RDP.⁴⁰

El tejido fibrovascular puede provocar a su vez tracciones vítreas que ocasionan desprendimiento de retina por tracción o heterotopia macular. La contracción de la proliferación fibrovascular y el vítreo puede provocar roturas retinianas y

desprendimiento de retina regmatógeno. El desprendimiento de retina se descubre al valorar el fondo de ojo oftalmoscópicamente o biomicroscópicamente si los medios son transparentes y a través de ultrasonidos si los medios son opacos. La presencia de desprendimiento de retina crónico en ojos con RDP contribuye a la isquemia retiniana y puede aumentar el riesgo de neovascularización iridiana en estos ojos. En la clasificación de la RD los desprendimientos de retina traccionales de la retina se subdividen en extramaculares (mucho más frecuentes y sólo un pequeño porcentaje de los mismos afecta a la mácula de forma progresiva por lo que pueden observarse sin cirugía) y maculares (cuando se desprende la mácula y requieren un tratamiento urgente con vitrectomía).⁴¹

En los estadios finales se produce rubeosis iridis, glaucoma neovascular y ptisis bulbi. En la RDP severa se puede producir una neovascularización del iris (INV) o del ángulo (ANV) de la cámara anterior. Esta neovascularización del iris puede deberse a una isquemia retiniana amplia e intensa o a un desprendimiento de la retina traccional extenso. Al principio, los neovasos se encuentran en el borde pupilar y luego se extienden sobre la superficie anterior del iris y se unen con la arteria circunferencial del cuerpo ciliar. Entonces prolifera el tejido neovascular a través de la cara del cuerpo ciliar y el espolón escleral para invadir el ángulo. En el ángulo los nuevos vasos sanguíneos se ramifican y forman una membrana fibrovascular, que bloquea el trabeculum y origina un glaucoma secundario de ángulo abierto. Posteriormente, el tejido fibrovascular del ángulo se contrae y estira del iris periférico, formándose las sinequias anteriores periféricas que obstruyen la red trabecular, causando de forma característica un aumento de presión intraocular, dolor, descompensación corneal y pérdida de visión.⁴⁰

La DM supone el 32% de los casos de glaucoma neovascular.⁴¹ Los pacientes con diabetes de larga duración (10 años o más) que además presentan RDP están especialmente en riesgo. El riesgo de glaucoma disminuye con la fotocoagulación panretiniana adecuada, pero aumenta con la extracción de una catarata, sobre todo si es intracapsular, o con la VPP cuando se realiza en un ojo con una retina isquémica o cuando se ha aplicado una terapia con láser inadecuada. El período de riesgo para el desarrollo de rubeosis iridis, después de la extracción de una catarata, son las primeras tres o cuatro semanas. Por tanto, es muy importante observar al paciente frecuentemente durante este período. El cuadro de glaucoma neovascular es capaz de ocasionar una

ceguera dolorosa con hipema recurrente, que puede requerir una evisceración o enucleación. Estos ojos, como consecuencia de la evolución natural o de los tratamientos, pueden acabar en ptisis.⁴⁰

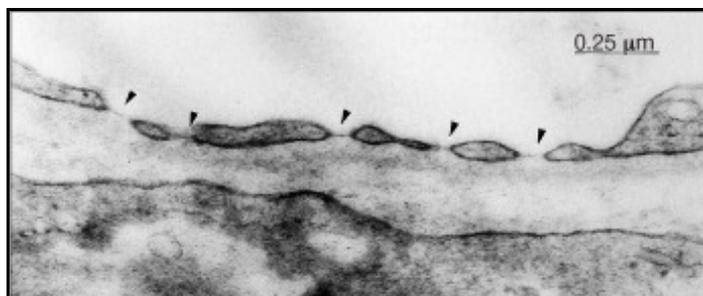


Fig 5: Microscopia electrónica de las fenestraciones endoteliales (flechas) en un penacho neovascular de un paciente de 59 años con retinopatía diabética proliferativa. Los ojos fueron obtenidos en la autopsia después de la muerte del paciente por accidente cerebrovascular (Wallow IHL, Geldner PS. Endothelial fenestrae in proliferative diabetic retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 1980; 19:1176)

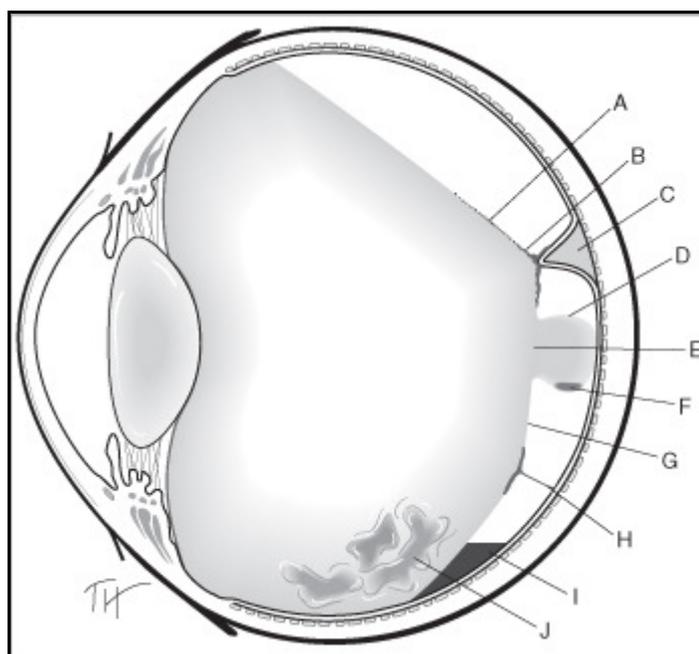


Fig 6: Desprendimiento de vítreo en la retinopatía diabética proliferativa. A: sangre depositada en la superficie del DVP. B: proliferación fibrovascular que crea una adhesión vitreo-retiniana, que tracciona la retina ocasionando un área de desprendimiento fraccional de la retina. C: colección localizada de fluido subretiniano. D: a través de un agujero en la hialoides posterior el gel vítreo se extiende posteriormente alcanzando la retina con forma de "champiñón". E: agujero en la hialoides posterior. F: sangre coleccionada en la porción inferior del segmento vítreo en forma de "champiñón" después de una hemorragia en el vítreo. G: superficie posterior del vítreo. H: neovaso que tracciona entre la retina y la hialoides posterior sin ocasionar desprendimiento fraccional de la retina. I: Nivel de sangre entre la retina y la superficie posterior del vítreo. J: hemovítreo. (Adaptado de www.retinatext.com)



Fig 7: Áreas de neovascularización retiniana en un perro de 45 días de vida expuesto a una concentración de oxígeno del 100% los primeros 4 días de vida. (OAS y hematoxilina x125) (Adaptado de www.retinatext.com)

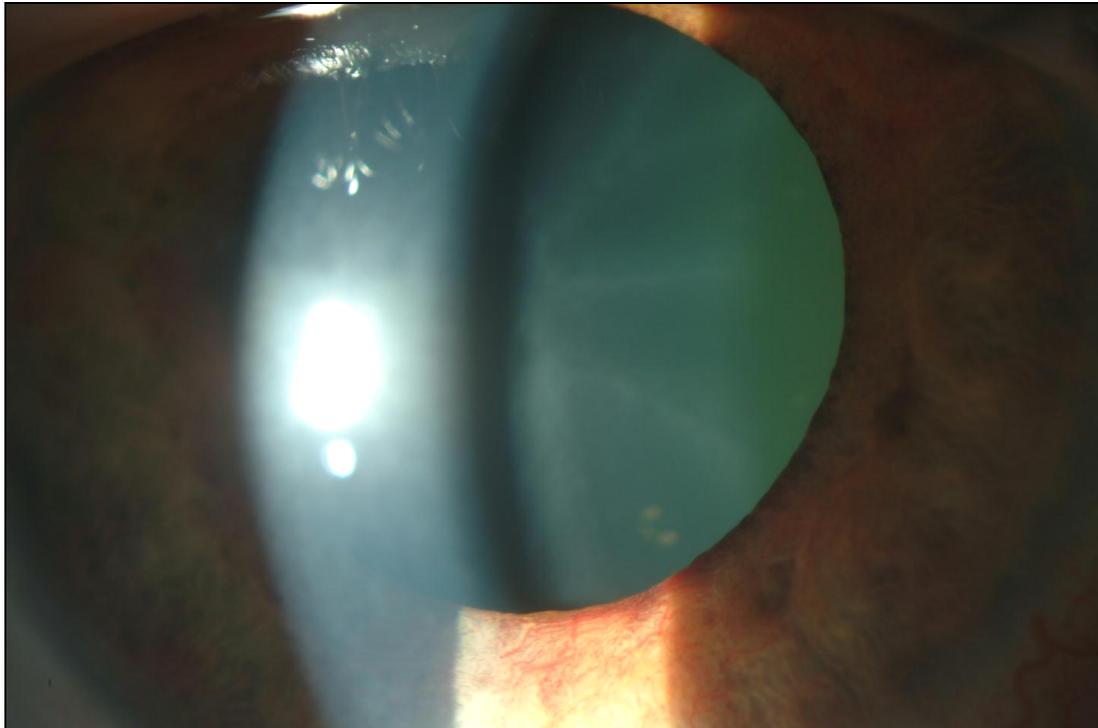


Fig 8: Neovasos en iris en un glaucoma neovascular secundario a RDP avanzada.

IV.1.3.4. EDEMA MACULAR DIABÉTICO

El edema macular (EM) es la causa más frecuente de pérdida de visión en los pacientes con RD. El edema macular diabético se caracteriza por la acumulación de fluido extracelular entre la capa de Henle y la capa nuclear interna de la retina. Varios mecanismos interrelacionados explican su formación: a) rotura de la barrera hemato-retiniana (BHR) con la consiguiente salida de fluido desde los capilares retinianos anormales y los microaneurismas;⁴² b) la secreción, desde la retina al vítreo, de factores que aumentan la permeabilidad vascular como el VEGF, la interleuquina-6 (IL-6) o, la angiotensina II, cuyas concentraciones están elevadas en el vítreo de pacientes con EM;^{6, 43} c) la hipoxia retiniana;⁴⁴ y d) la existencia de adhesiones vítreo-retinianas que producirían una tracción sobre la mácula.⁴⁵

Desde el punto de vista de la patogenia y el tratamiento, el EM se divide en 2 subtipos: focal y difuso:

- a) El EM focal, hace referencia a áreas localizadas de engrosamiento retiniano que son el resultado de una fuga focal desde los microaneurismas y con menor frecuencia desde las AMIR. En este tipo de edema, las áreas focales de edema suelen aparecer delimitadas de la retina adyacente no edematosa, por anillos completos o parciales de exudados duros.
- b) El EM difuso se caracteriza por capilares retinianos anómalos, es un engrosamiento de la retina más extenso producido por una pérdida generalizada desde los capilares, anormalmente permeables y con frecuencia dilatados en todo el polo posterior. Se define como un engrosamiento de la retina de dos o más áreas de disco con afectación de alguna porción de la zona avascular foveal con o sin EM cistoideo. En este edema la barrera hemato-retiniana se afecta de forma difusa y la red capilar aparece dilatada en todo el polo posterior. Los ojos con edema macular difuso, no suelen tener exudados duros asociados, sino que tienen una tendencia a la bilateralidad y simetría y en ocasiones se resuelven de forma espontánea con el control de los factores sistémicos de riesgo (enfermedad renal, HTA) y pueden aparecer de nuevo más tarde.⁴⁰

Los dos tipos de edema pueden coexistir, pero con frecuencia predomina uno de ellos.

Actualmente el diagnóstico del EM se realiza por oftalmoscopia, fotografías de fondo de ojo, angiografía y por la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT), técnica que ha demostrado tener una buena correlación con el diagnóstico clínico mediante fotografías estereoscópicas de fondo de ojo, con el diagnóstico angiográfico del EMD y que es una técnica sensible para detectar las anomalías tempranas en la región macular de los diabéticos y para cuantificar la mejoría, tras el tratamiento del EM.⁴⁶

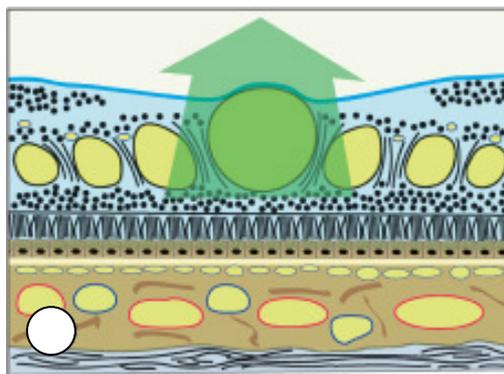


Fig 9: Edema macular quístico: dibujo esquemático de la mácula que muestra grandes espacios quísticos en la capa plexiforme externa. (Adaptado de www.retinatext.com)

IV.1.4. FACTORES SISTÉMICOS QUE AFECTAN LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

El efecto del embarazo sobre la RD es controvertido. Algunos autores afirman que acelera el curso de la enfermedad, mientras que otros piensan que no tiene ningún efecto. Klein et al ⁴⁷ mostraron evidencia de que el embarazo promueve la progresión de la retinopatía en pacientes diabéticas. Compararon mujeres embarazadas con diabetes con mujeres no embarazadas con edades comparables y la misma duración de la diabetes. El resultado fue que el embarazo está asociado significativamente con el riesgo de progresión de la retinopatía (odds ratio de 2,3).

Entre los factores sistémicos que afectan al curso de la retinopatía diabética, la hipertensión arterial (HTA) ha sido uno de los más estudiados. Múltiples estudios habían indicado que la progresión de la retinopatía de base y de la RDP se correlacionaba con los niveles de tensión arterial sistólica y diastólica.^{48, 49} Pero pocos de ellos tenían en cuenta si la hipertensión era primaria (más probablemente factor causal de la progresión de la retinopatía) o secundaria a la nefropatía diabética y así

poder ser simplemente un acontecimiento asociado indicando aquellos individuos que podían tener un mayor riesgo de complicaciones microvasculares graves consecuencia de la progresión de la diabetes. En el estudio UKPDS ⁴⁹ se intentó clarificar esta cuestión. Se aleatorizaron 1148 pacientes con DM tipo II e HTA entre un control estricto de la presión sanguínea (TA<150 /85 mm Hg) y un control menos estricto de ésta (TA<180/105 mm Hg). Los fármacos administrados para conseguir estos niveles de presión fueron un bloqueante adrenérgico como el atenolol o un inhibidor del enzima convertidor de la angiotensina como el captopril. Después de 9 años de seguimiento, con una media de reducción de la presión arterial en el grupo con un control estricto de 144/82 mmHg y en el otro grupo de 154/87 mmHg, se obtuvo una reducción en el riesgo de progresión de la retinopatía del 34% en el grupo con un control estricto de control de la presión arterial (p=0,0004), y un 47% de reducción del riesgo de pérdida de agudeza visual de más de 3 líneas (p=0,004). Estos resultados dejaron claro que la HTA aumenta el riesgo de desarrollar y acelerar la progresión de la RD.

Muchos estudios sugieren el papel de los factores hormonales, que intervienen en el paso a la pubertad, como claves para la progresión de la retinopatía diabética.⁵⁰ El principal factor de crecimiento implicado sería el Insulin-like growth factor-1 (IGF-1), polipéptido sintetizado en el hígado bajo la influencia de la hormona de crecimiento (GH). Merimee et al ⁵¹ encontraron niveles en suero de IGF-1 superiores en pacientes con RDP que en pacientes normales. Meyer-Schwickerath et al⁵² hallaron niveles elevados de IGF-1 e IGF-2 en el vítreo de pacientes diabéticos a los que se había realizado vitrectomía por las complicaciones de su RDP.

IV.1.5. EFECTO DEL CONTROL GLICÉMICO

Hasta 1993 no se publicó el primer estudio que demostraba el beneficio de un más estricto control de la glicemia sobre la progresión de la retinopatía diabética con el DCCT.⁵³ Previamente no se había demostrado que el buen control glicémico fuera beneficioso para la RD. Se habían publicado algunos estudios con un seguimiento de dos años, en los que no se encontraban diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con mejor y peor control de la glicemia.^{54, 55} En estos primeros estudios se encontró sorprendentemente un empeoramiento de la retinopatía diabética en un 10% de los pacientes sometidos a un más estricto control de la glicemia durante el primer año de

seguimiento, sin embargo, al terminar el estudio, no había diferencias entre los dos grupos.⁵⁵

Las causas de no haberse demostrado hasta entonces esta asociación pueden ser que anteriormente no existían los medidores de glicemia capilar domiciliarios que permitieran la documentación de la glucemia a lo largo del día, ni tampoco se usaba la medición de la hemoglobina glicosilada, dato que nos permite una aproximación al control glicémico durante las seis-doce semanas previas al análisis. Además, los últimos avances en el tratamiento de la diabetes como son el aumento del uso de las múltiples inyecciones diarias de insulina con combinaciones de insulina ultrarrápida, rápida, intermedia y larga o las bombas de insulina semiautomáticas, que permiten una inyección de insulina de base con bolus con las comidas, dependiendo del control previo de glucemia, han permitido a los pacientes un mejor control de la glucemia, permitiendo una dosis diaria de insulina con un perfil más parecido al fisiológico.

En 1998 se realizó con el UKPDS⁵⁶ un estudio similar con pacientes con DM tipo II. En este estudio clínico controlado, más de 3800 pacientes con DM tipo II diagnosticada de novo fueron randomizados a control dietético solo, o tratamiento con insulina o antidiabéticos orales (sulfonilureas) para obtener el mejor control glicémico. Los pacientes fueron seguidos un mínimo de diez años y se analizaron diferentes parámetros. Se concluyó que un mejor control glicérico, ya fuera con insulina o sulfonilureas, (ambos tratamientos obtuvieron mejores tasas de hemoglobina glicosilada respecto a los pacientes que habían realizado sólo dieta) comportaba reducción del riesgo de fotocoagulación retiniana.

El DCCT⁵³ fue un estudio clínico controlado que incluyó más de 140 pacientes menores de 30 años con DM tipo I de menos de 10 años de duración. Los pacientes fueron asignados a un control estricto o a un control estándar de forma aleatorizada. En ambos grupos se randomizaron unos pacientes que no tenían evidencia de retinopatía diabética y otros con retinopatía diabética de leve a preproliferativa. El seguimiento al finalizar el estudio fue de 5 a 10 años. No hubo diferencias en la severidad de la retinopatía entre los dos grupos durante los 2 primeros años de seguimiento. En realidad, en el grupo con un control estricto de la glucemia, aproximadamente el 10% de los pacientes que ya presentaban retinopatía diabética al ser incluidos en el estudio, presentaron un empeoramiento de su retinopatía, comparado con los pacientes con un

control estándar. Sin embargo, después de 2 años de seguimiento, aquellos pacientes con un control estricto de la glucemia presentaron una disminución en la progresión de la retinopatía, que fue estadísticamente significativo en comparación a los pacientes con un control estándar.

IV.1.6. TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

La única actuación médica con capacidad demostrada para prevenir la incidencia y el desarrollo de la RD es mantener un buen control de la glucemia. Tras la publicación del DCCT⁵³ y del UKPDS,⁵⁶ no existen dudas sobre el efecto beneficioso que tiene conseguir la normoglicemia para prevenir o retrasar la aparición de complicaciones micro y macrovasculares. Pero, no sólo ha de buscarse un control glicémico lo más cercano a la normalidad, sino que es igualmente esencial intentar controlar los otros factores de riesgo tales como la dislipemia y la hipertensión arterial. La monitorización de los diabéticos se realiza mediante la automedición de la glicemia capilar y, sobre todo, mediante la determinación de la hemoglobina glicosilada (HbA1C). Este parámetro nos informa del grado de control glucémico los 2-3 meses previos. Tanto en la DM tipo I como tipo II, la dieta es una parte esencial del tratamiento, cuyo objetivo es mantener el peso ideal del paciente. Otra parte importante del tratamiento es el ejercicio, sobre todo en los diabéticos tipo II, que a menudo son obesos. El ejercicio físico continuado aumenta la sensibilidad tisular a la insulina, disminuye las cifras de triglicéridos, aumenta las cifras de colesterol HDL y disminuye la presión arterial.⁵⁴

Es importante controlar la HTA, porque es un importante factor de riesgo para el desarrollo y progresión de la RD. La elevación de la presión sanguínea favorece la alteración de la permeabilidad de la barrera hemato-retiniana y puede exacerbar el edema macular, por lo que la corrección de esta anomalía sistémica, con medicación antihipertensiva, debe formar parte del tratamiento de los pacientes con RD y edema macular. Además, la HTA aumenta el riesgo de padecer otras complicaciones derivadas de la diabetes, en los pacientes con DMNID. Cualquier reducción en la misma disminuye el riesgo de todas estas complicaciones.⁵⁷ También es importante reducir la hiperlipemia, especialmente en pacientes con exudados duros. Los pacientes diabéticos, con concentraciones séricas elevadas de estos lípidos, tienen un riesgo aumentado, tanto de RDP como de pérdida de visión por edema macular asociado a estos exudados duros,⁵⁸ por lo que el control de los mismos puede aminorar el mencionado riesgo.⁵⁹

Los ojos con RD de base no asociada con edema macular clínicamente significativo no requieren tratamiento. Sin embargo, deberían ser explorados cada año y se deberían corregir, si es posible, los factores asociados como hipertensión, anemia o insuficiencia renal.⁴⁰

Los pacientes con cambios preproliferativos deberían ser observados con frecuencia, debido a que un número significativo de ellos pueden progresar a RDP. El tratamiento mediante fotocoagulación suele ser innecesario, a menos que el seguimiento regular sea imposible; en especial si el paciente ha perdido la visión en el otro ojo por complicaciones de la RDP.⁴⁰

IV.1.6.1. FOTOCOAGULACIÓN LÁSER

El empleo de la fotocoagulación (FC) con láser es uno de los avances más importantes en oftalmología. En la RD se emplean fundamentalmente láseres de efecto térmico, producidos por un haz de luz de alta energía. La FC se consigue por aumento de la temperatura (de 10 a 20 °C) en la retina. Se produce una vaporización del tejido con necrosis celular, desnaturalización de las proteínas y coagulación intravascular. La zona retiniana tratada toma un aspecto blanco amarillento. El láser más empleado para tratar la RD es el láser de argón. Este láser emite dos longitudes de onda, la azul-verde (488-532 nm) y la verde (514 nm). Ambas longitudes de onda son absorbidas por la melanina y la hemoglobina. Son por tanto apropiadas para fotocoagular las lesiones vasculares de la retina y coroides.³⁴

Existen 2 tipos de tratamiento con láser: la panretinofotocoagulación (consistente en fotocoagular toda la retina) y la fotocoagulación macular (que se aplica específicamente a esta zona de la retina). Ambas se realizan con anestesia tópica y lentes de contacto.

a) **Panfotocoagulación** (PFC): La causa de la proliferación neovascular es la isquemia retiniana y la clave de su tratamiento consiste en la destrucción selectiva del tejido isquémico mediante láser.^{60, 61} El objetivo del tratamiento mediante fotocoagulación con láser es inducir la involución de los nuevos vasos y prevenir las complicaciones derivadas de los mismos. Con la PFC se reduce la producción de los factores vasoproliferativos, inducidos por la isquemia retiniana. Los niveles de VEGF disminuyen más de un 75%, después de una PFC efectiva para la neovascularización retiniana.⁶² Los límites se extienden desde 2 diámetros papilares del centro de la mácula

y 500 micras del borde nasal del disco óptico hasta el ecuador, como mínimo, evitando el tratamiento directo de los vasos retinianos mayores y de las cicatrices coriorretinianas cuando existan. El ETDRS³⁹ aconseja aplicar un mínimo de 1200 y un máximo de 1600 impactos de 500 micras, con un tiempo de exposición de 0,1 a 0,2 segundos. Con ello se consigue la destrucción aproximada de un 15% de la superficie retiniana. Es aconsejable realizar la PFC en varias sesiones (2 ó 3) con objeto de disminuir la incidencia de efectos adversos, como el empeoramiento del edema macular, el desprendimiento seroso de retina y coroides, el cierre angular y la reducción transitoria o permanente de la AV. No deben aplicarse más de 900 impactos en una sola sesión y el tratamiento inicial debería completarse en unas 5 semanas. La división del tratamiento en varias sesiones hace que la retina reciba menores dosis de energía láser y, con ello, disminuye el dolor postoperatorio, el edema macular y la incidencia de complicaciones. El orden es opcional; si se realiza en 3 sesiones, en la primera se puede tratar la parte nasal, en la segunda la parte inferior y en la tercera la parte superior. Otros autores tratan primero la parte más posterior de todos los cuadrantes y, subsiguientemente, las partes más periféricas.

Los efectos secundarios de la PFC son varios, pero los más frecuentes son un pequeño aumento inicial en el riesgo de pérdida visual moderada, generalmente sólo de una línea en un 15% de los pacientes tratados y una pequeña disminución del campo visual periférico, en un 10%. Subjetivamente, muchos pacientes refieren dificultades de adaptación a la oscuridad y para la conducción nocturna y cambios en la percepción del color. Estos efectos pueden manifestarse especialmente entre la segunda y tercera décadas después del tratamiento y podrían ser debidos a un crecimiento de las cicatrices del láser. Estudios recientes han puesto de manifiesto que el 89,5 % de las cicatrices aumentan gradualmente de tamaño, siendo la media de expansión anual de un 12,7% para las cicatrices situadas en el polo posterior y de un 7 % para las de la media periferia y que son las cicatrices secundarias al láser argón las que menos aumentan de tamaño, ya que cuanto mayor es la longitud de onda del láser empleado en la fotocoagulación, mayor es la expansión de estas cicatrices.⁶³

Otros efectos adversos, poco frecuentes, incluyen las quemaduras a nivel de cornea, iris o cristalino, la elevación transitoria de la presión intraocular y el cierre angular, hemorragias en retina o vítreo y neovascularizaciones coroideas secundarias a perforaciones de la membrana de Bruch, de la retina o de ambas, desprendimiento

exudativo de la retina y, excepcionalmente, neuropatía óptica por fotocoagulación muy próxima a la cabeza del nervio óptico.³⁹

Las indicaciones del tratamiento dependen del riesgo de una posterior pérdida visual grave si el tratamiento se demora. Todos los ojos con características de alto riesgo deberían ser tratados y los que tienen factores de bajo riesgo pueden ser controlados. Los signos clínicos de los ojos de alto riesgo según el ETDRS³⁹ son los siguientes:

- 1) NV del disco o neovascularización con un área de más de un tercio de disco;
- 2) NV del disco menos extensos, si se asocian con hemorragia vítrea o prerretiniana;
- 3) NV extrapapilares, con un área superior a medio disco con hemorragia vítrea o prerretiniana.⁴⁰

El control de seguimiento debe hacerse después de un intervalo de 4-8 semanas. En los ojos con neovascularización papilar grave pueden ser precisas varias sesiones de tratamiento, con 5000 quemaduras o más, aunque en algunos casos la eliminación completa de los neovasos papilares puede ser muy difícil y debería plantearse la cirugía vítrea precoz. Los signos de involución son regresión de la neovascularización, dejando sólo vasos “fantasma” o tejido fibroso, disminución de la dilatación venosa, absorción de las hemorragias retinianas y palidez del disco. En la mayoría de los ojos, una vez que la retinopatía está quiescente, se mantiene una visión estable. Es importante recalcar que la fotocoagulación influye sólo en el componente vascular del proceso fibrovascular. Los ojos en los que los vasos nuevos han regresado dejando sólo tejido fibroso no deberían ser tratados de nuevo. El tratamiento de la recurrencia debería tratarse o bien con nueva fotocoagulación con láser, llenando los espacios entre las cicatrices previas del láser; o bien con crioterapia de la retina anterior, especialmente útil cuando es imposible una nueva fotocoagulación como resultado de una visualización inadecuada del fondo de ojo, a causa de unos medios opacos.⁶⁴

b) Fotocoagulación del edema macular

Todos los ojos con EMCS deberían ser valorados para su tratamiento con fotocoagulación con láser, independientemente del grado de agudeza visual, porque el tratamiento reduce el riesgo de pérdida visual en un 50%. La angiografía con fluoresceína antes del tratamiento es útil para delimitar el área y la extensión de la

extravasación. También es útil para detectar la presencia de falta de perfusión capilar en la fovea, lo que supone un peor pronóstico y es una contraindicación para el tratamiento. Las técnicas de fotocoagulación con láser son las siguientes:

- 1) El tratamiento focal o directo supone aplicar quemaduras con láser a los microaneurismas y las lesiones microvasculares en el centro de anillos de exudados duros, localizados entre 500 y 3000 μm (2 diámetros del disco) desde el centro de la fovea. El tamaño del punto está entre 100 y 200 μm con una duración de 0,1 segundos y potencia suficientes para obtener un sutil blanqueo u oscurecimiento del microaneurisma. El tratamiento de las lesiones entre 300 y 500 μm desde el centro de la fovea debería considerarse si el EMCS persiste, a pesar del tratamiento previo y si la agudeza visual es inferior a 6/12. En estos casos, se recomienda un tiempo de exposición inferior a 0,05 segundos.
- 2) El tratamiento en rejilla se usa para áreas de engrosamiento retiniano difuso, localizado a más de 500 μm desde el centro de la fovea y 500 μm desde el margen temporal del disco óptico. El tamaño del punto es 100-200 μm y el tiempo de exposición es de 0,1 segundos. Las quemaduras deberían ser de una intensidad muy suave y separadas por una amplitud equivalente a una quemadura. En los pacientes que requieren tratamiento directo y en rejilla, el directo debería llevarse a cabo primero.^{57, 65, 66}



Fig 10: Edema macular diabético clínicamente significativo.

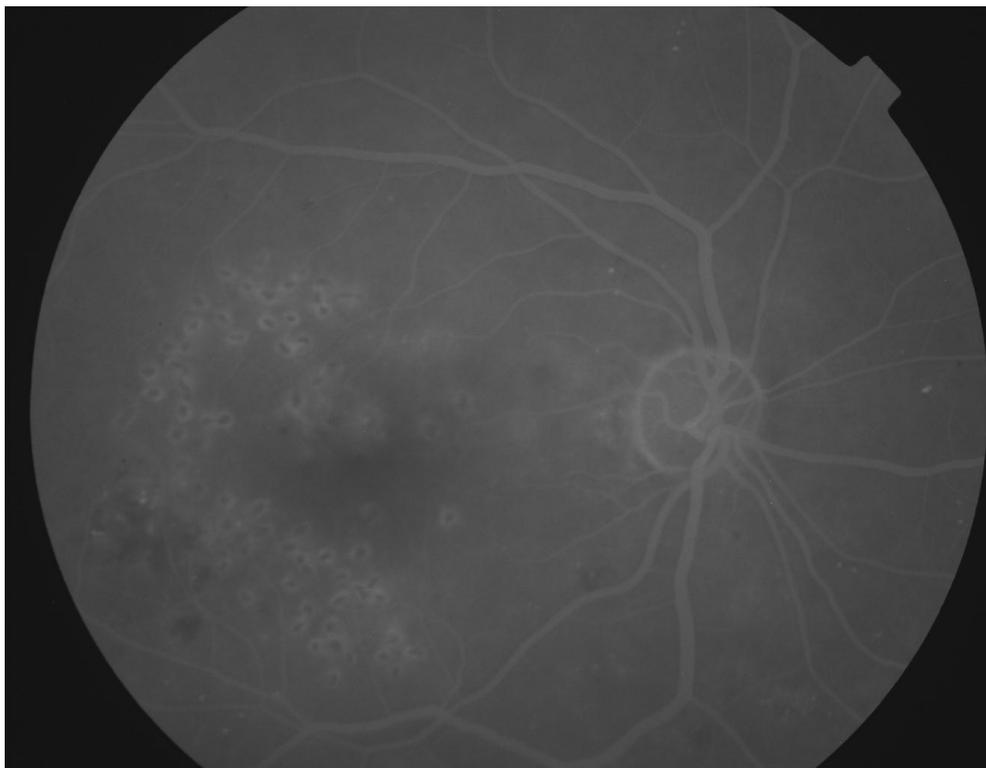


Fig 11: Fotocoagulación láser argón multifocal

IV.1.6.2. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

La indicación más frecuente de la cirugía del vítreo es el tratamiento de las complicaciones de la RD, aunque actualmente las indicaciones se han ampliado a otras alteraciones como el edema macular. El objetivo de esta cirugía es restaurar o mantener la visión del paciente.

Las siguientes son las indicaciones de **vitrectomía pars plana (VPP)** en pacientes diabéticos:^{67, 68}

a) La hemorragia vítrea persistente grave es la indicación más frecuente. En estos casos, la densidad de la hemorragia impide el tratamiento adecuado con PFC. En los pacientes con DM tipo I sería preferible la cirugía precoz de 1 a 6 meses, después de la pérdida visual. En cambio, en los pacientes con DM tipo II no hay diferencias en mejora de AV por encima de 10/20 entre los pacientes con hemovítreo por RDP en que se realizaba VPP precoz y aquellos en que se esperaba más de 6 meses. La razón de la no

existencia de diferencias podría encontrarse en una mayor frecuencia de maculopatía diabética en los pacientes con DM tipo II.

b) El desprendimiento de retina (DR) traccional que afecta la mácula. Cuando existe un DR traccional sobre la mácula o cuando el DR traccional progresa por dentro de las arcadas vasculares, debe realizarse la vitrectomía lo antes posible; esta cirugía se considera sólo cuando la mácula se desprendió en los meses anteriores. Sin embargo, si la mácula estuvo desprendida durante más de 6 meses, el pronóstico funcional es malo aunque se reaplique la retina y, normalmente, impide la recuperación de visión útil. No obstante, algunos ojos con desprendimientos antiguos, de varios años de evolución, han recuperado una visión útil para la deambulaci3n. En estas condiciones (mácula desprendida menos de 6 meses) el 3xito anatómico se consigue en un 65-80% de los casos (6 meses de seguimiento) con una mejoría visual del 26 al 65% de los casos.⁴⁰

c) El desprendimiento de retina combinado traccional y regmat3geno debería tratarse urgentemente, incluso si la mácula est3 aplicada, porque es probable que el líquido subretiniano difunda rápidamente hasta afectar la mácula. La tracci3n permanente sobre la retina de las proliferaciones fibrovasculares puede producir agujeros retinianos y convertir el DR traccional en regmat3geno.

d) RDP severa activa. Puede aparecer una proliferaci3n fibrovascular inevitablemente progresiva, a pesar de una fotocoagulaci3n con láser, que puede ser adecuada en una pequeña proporci3n de pacientes con DM y si no se trata con vitrectomía, la p3rdida visual puede suceder rápidamente.

e) Hemorragias subhialoideas premaculares: Ocurre en un 3rea de neovascularizaci3n sin desprendimiento posterior de vítreo. La hemorragia confinada entre la hialoides posterior y la retina, tiene una severa incidencia de formaci3n de una membrana epirretiniana, con la posibilidad de desprendimiento traccional macular o ectopia foveal por contracci3n de la membrana epirretiniana. Realizar la cirugía dentro de los dos primeros meses consigue resultados visuales mejores y menos complicaciones.

f) Glaucoma de células fantasmas o eritroclástico. Hay una obstrucci3n trabecular por hematíes degenerados, que pasan del humor vítreo al interior de la cámara anterior. Después de 2 semanas en el humor vítreo, se pierde la hemoglobina de los hematíes y

éstos se convierten en células “fantasmas” degeneradas, que pasan a través de un defecto en la cara anterior del humor vítreo hacia la cámara anterior. Debido a que han perdido su flexibilidad normal, estas células quedan atrapadas en los poros del trabeculum y obstruyen el drenaje del humor acuoso.⁴⁰

g) La rubeosis iridis asociada con hemorragia vítrea, que es suficientemente densa para impedir el tratamiento con PFC, debe tratarse mediante vitrectomía y endofotocoagulación, para prevenir la progresión a glaucoma neovascular.³⁴

h) Edema macular difuso, con y sin tracción premacular hialoidea Varios tratamientos se han empleado para conseguir la resolución del edema macular difuso como la fotocoagulación láser,^{65, 66} inyección intravítrea de triamcinolona⁶⁹ o fármacos antiVEGF.⁷⁰⁻⁷² Pero, en aquellos casos en que el EMD no responde a ninguno de estos tratamientos, se puede optar por la VPP.⁴⁵ La vitrectomía en el EMD puede tener efecto beneficioso a través de varios mecanismos: aumentando la concentración de oxígeno en la cavidad vítrea, disminuyendo la tracción mecánica sobre la mácula, en los casos de hialoides posterior engrosada y eliminando factores de permeabilidad vascular adyacentes a la mácula.⁴⁵

Hay varios estudios que sugieren que después de la cirugía de la catarata la retinopatía diabética puede progresar.⁷³ En los pacientes con EMCS, RDNP severa o RDP, en los que se plantea la cirugía de cataratas, se debería plantear el tratamiento con fotocoagulación láser. Si la catarata no permite la evaluación adecuada de retinopatía diabética se debería hacer una evaluación postoperatoria sin dilación.

Todos los pacientes con retinopatía diabética antes de la cirugía de la catarata se deberían reevaluar después de la cirugía.⁴⁰

IV.1.6.3. Triamcinolona y anti VEGF intravítreos

El **acetónido de triamcinolona**, experimentalmente, ha demostrado que reduce el aumento de permeabilidad de la barrera hemato-retiniana, cuando es inyectado a nivel intravítreo.⁷⁴ Estudios animales han demostrado que, administrado intravítreo, no es tóxico para los fotorreceptores y que en su forma depot se mantiene entre 16 y 41 días. En ojos no vitrectomizados puede incluso mantenerse más días.⁷⁵⁻⁷⁷ Un estudio de farmacocinética humana de ojos no vitrectomizados que recibieron una sola dosis de

4mg de trigón, éste tuvo una vida media de 18,6 días con concentraciones medibles hasta 3 meses después de la inyección.⁷⁸ En un primer estudio de Martidis et al,⁶⁹ en el que el EMD no respondía al tratamiento con láser, se evidenció una disminución en el grosor macular central medido por OCT después de la inyección intravítrea de acetónido de triamcinolona. La inyección de corticosteroides intravítreos aumenta el riesgo de desarrollo de cataratas, hipertensión ocular y endoftalmitis, ya sea estéril o infecciosa. Los estudios de triamcinolona intravítrea tienen relativamente corto seguimiento. El efecto del trigón es de duración limitada.⁴⁰

IV.2. ENFERMEDAD OCLUSIVA VENOSA

La oclusión venosa retiniana es la segunda enfermedad vascular retiniana más frecuente.^{4,79}

La edad avanzada es un importante factor predisponente, ya que la mayoría de los pacientes afectados están en la sexta y séptima décadas de la vida. La hipertensión sistémica y la diabetes se asocian con un riesgo aumentado de oclusión de una rama venosa retiniana y oclusión venosa retiniana central. Cualquier causa que produzca un enlentecimiento del flujo venoso puede producir la oclusión venosa, ya que el drenaje venoso se produce a favor de un gradiente presión arterial > presión ocular > presión venosa, de forma que puede verse afectado si cae el aporte arterial (arteriosclerosis o HTA), aumenta la PIO (glaucoma) o se eleva la presión venosa (fístula carótido-cavernosa).⁸⁰ Las discrasias sanguíneas pueden predisponer raramente a oclusión venosa retiniana, al producir hiperviscosidad como resultado de un aumento del número de células circulantes (leucemias crónicas, policitemia) o cambios en las proteínas plasmáticas (macroglobulinemia de Waldenström).⁸¹

Entre los factores predisponentes oculares encontramos la presión intraocular aumentada, ya sea en pacientes con glaucoma de ángulo abierto primario o hipertensión ocular.⁴ También se asocia con un mayor riesgo de ORVR la hipermetropía por un mecanismo desconocido.⁸² En adultos jóvenes, anomalías congénitas de la vena central de la retina pueden favorecer la OVCR.⁸³ Cabe mencionar también las enfermedades autoinmunes, entre ellas la sarcoidosis y la enfermedad de Behçet, como causa de periflebitis, que ocasiona la oclusión de la vena central retiniana por mecanismo

inflamatorio. Una masa orbitaria también puede producir oclusión venosa por mecanismo compresivo local.^{4, 84}

En el sistema arterial terminal de la retina, la oclusión venosa produce una elevación de la presión venosa y capilar y un estancamiento del flujo sanguíneo. Este estancamiento da lugar a hipoxia de la retina drenada por la vena obstruida. La hipoxia, a su vez, produce lesión de las células endoteliales capilares, originando extravasación de los componentes de la sangre en el espacio tisular. La presión extracelular está aumentada, causando estancamiento posterior de la circulación e hipoxia, de forma que se establece un círculo vicioso.³⁴

FACTORES DE RIESGO Y ENFERMEDADES ASOCIADAS A LA OVCR

- **Enfermedades vasculares sistémicas:** DM, HTA, Insuficiencia carotídea
- **Enfermedades oculares:** Glaucoma de ángulo abierto, neuropatía óptica isquémica, hipertensión intracraneal idiopática, drusas del nervio óptico, nervio óptico repleto.
- **Alteraciones hematológicas:** Síndromes de hiperviscosidad, disproteinémias (mieloma múltiple), discrasias sanguíneas (policitemia vera, linfoma, leucemia, anemia falciforme), anemia, elevación de homocisteína plasmática, déficit de factor XII, síndrome antifosfolípido, resistencia a la proteína C, déficit de proteína C, déficit de preoteína S.
- **Enfermedad autoinmune/inflamatoria:** Lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Behçet, Sarcoidosis, vasculitis idiopática.
- **Fármacos:** Anticonceptivos orales, diuréticos, vacuna de la Hepatitis B.
- **Vasculitis infecciosa:** Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), sífilis, herpes zoster.
- **Otros:** Anestesia retrobulbar, deshidratación, embarazo.

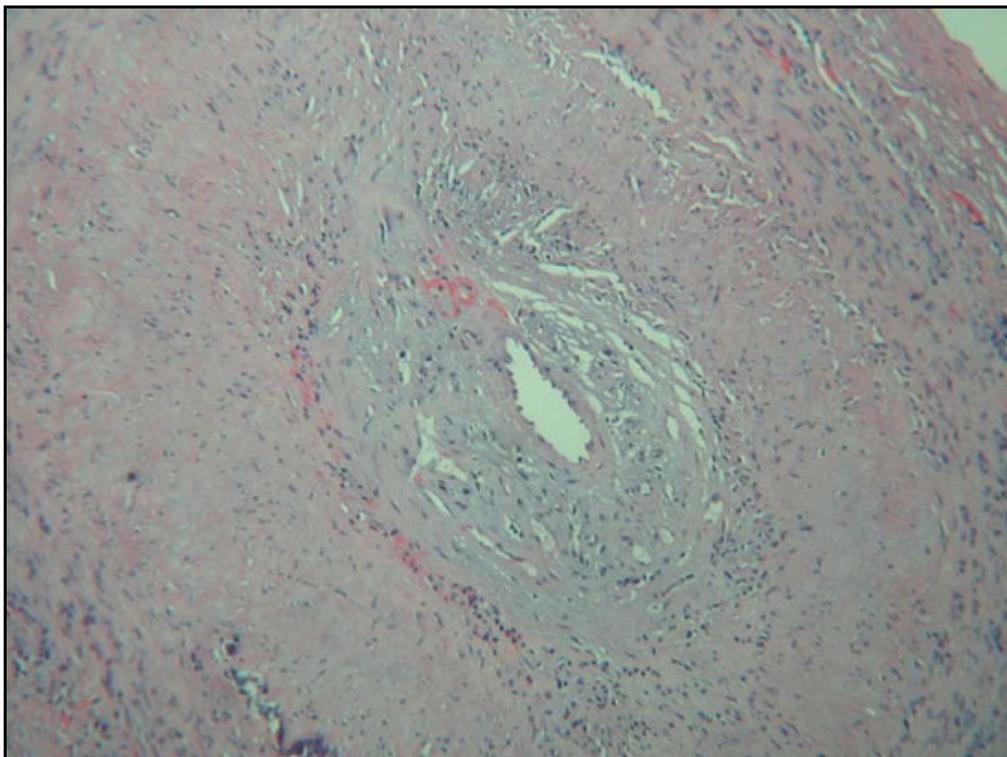


Fig 12: Corte histológico que muestra vasculitis crónica secundaria a arteritis de células gigantes caracterizada por inflamación granulomatosa y epitelioides en la capa arterial media y adventicia. (Adaptado de www.djo.harvard.edu).

IV.2.1. OCLUSIÓN DE RAMA VENOSA RETINIANA

Es una enfermedad vascular retiniana frecuente, que afecta por igual hombres y mujeres entre la sexta y séptima décadas de la vida. La interrupción del flujo venoso ocurre con frecuencia en un cruce arteriovenoso. En pacientes con enfermedades inflamatorias oculares puede ocurrir lejos del cruce entre la arteria y la vena. Los factores predisponentes a la oclusión de rama venosa retiniana (ORVR) son la hipertensión sistémica, enfermedad cardiovascular, glaucoma, aumento del Índice de masa corporal a los 20 años de edad, niveles plasmáticos altos de alpha-2-globulina, etc. Factores protectores son los niveles altos plasmáticos de colesterol HDL (High density lipoprotein) y consumo de alcohol.^{7, 8, 34, 40}

IV.2.1.1. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La ORVR se presenta casi siempre de forma súbita, el paciente presenta visión borrosa o defecto en el campo visual. La exploración fundoscópica revela hemorragias

retinianas en un sector retiniano. Si la oclusión es no isquémica las hemorragias son menos marcadas que si ésta es isquémica. La vena obstruida está dilatada y tortuosa, la arteria acompañante puede también presentar el calibre disminuido. El cuadrante más frecuentemente afectado es el superotemporal (63%), las oclusiones nasales raramente son detectadas clínicamente. Si las oclusiones no afectan venas tributarias del drenaje sanguíneo macular, éstas pueden no afectar a la agudeza visual. Si la obstrucción no es completa, el cuadro clínico puede presentarse con hemorragias de pequeño tamaño, que se hacen más extensas en meses o semanas, conforme progresa la trombosis. En ocasiones, con una variación congénita en la anatomía de la vena central retiniana, podemos encontrar oclusiones de la mitad inferior o superior de la retina (oclusión hemisférica o hemicentral).⁴⁰

En la mayoría de los casos, un año o más después de la oclusión, las hemorragias intraretinianas se reabsorben completamente. Sin éstas, el diagnóstico oftalmoscópico puede ser más difícil. Nos debe hacer pensar en una oclusión venosa antigua la distribución segmentaria de anomalías vasculares retinianas: falta de perfusión capilar, dilatación de los capilares, microaneurismas y formación de circulación colateral.

Estudios histológicos sugieren que la arteria y su correspondiente vena comparten una capa adventicia común en los cruces arteriovenosos. Cuando la pared arterial se engrosa comprime la vena, produciendo una turbulencia de flujo, daño de las células endoteliales y oclusión trombótica. El trombo se extiende histológicamente al lecho capilar. Aunque las arterias también pueden estar esclerosadas, no se observa trombo en su lecho.⁸⁵ La oclusión venosa resulta en un aumento de la presión venosa, que puede provocar la rotura de la vena con hemorragia intraretiniana.⁴⁰

El pronóstico visual está relacionado con la extensión del daño vascular y la isquemia retiniana. La AGF se usa para demostrar la extensión y localización de la falta de perfusión capilar. La integridad de los capilares parafoveales es un importante factor pronóstico para la recuperación visual. Las principales causas de disminución de agudeza visual en las fases agudas son edema macular, hemorragia retiniana y oclusión de los capilares retinianos parafoveales. La formación de circulación colateral permite la restitución del flujo, con disminución del edema en algunos casos; sin embargo, en otros ocurre un progresivo cierre de capilares. La isquemia retiniana extensa mayor de 5

diámetros de disco es el principal factor pronóstico de neovascularización retiniana o del disco óptico en un 40% de los casos, el 60% de éstos desarrollaran sangrado prerretiniano si no se realiza fotocoagulación láser. En general, el 50-60% de los pacientes mantienen una agudeza visual al cabo de un año de la oclusión retiniana de 20/40 o superior.⁷⁹ En los casos en que la pérdida de agudeza visual es permanente podemos encontrar: isquemia macular, edema macular quístico crónico, edema macular con exudación lipídica, alteraciones de la pigmentación del EPR macular, fibrosis subretiniana, formación de una membrana epirretiniana, hemorragia vítrea o desprendimiento de la retina traccional y/o regmatógeno (habitualmente por una rotura en la retina adyacente a el área de neovascularización retiniana).³⁴



Fig 13: Angiografía fluoresceínica de paciente mujer hipertensa de 69 años de edad que muestra oclusión venosa de la rama temporal superior en su ojo derecho a los 5 segundos y al minuto de la inyección del contraste endovenoso. Muestra el retraso en el retorno venoso de la vena temporal superior con ingurgitación, dilatación y tortuosidad venosa. Muestra también bloqueo de contraste a causa de las hemorragias retinianas.

IV.2.1.2. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

- a) Retinopatía diabética: Hemorragias puntiformes y en mancha y microaneurismas, que se extienden más allá del rafe horizontal. Prácticamente siempre bilateral

- b) Retinopatía hipertensiva: Adelgazamiento de las arteriolas de retina. Las hemorragias no se limitan a un sector de la retina y, habitualmente, cruzan el rafe horizontal. Bilateral en la mayor parte de los casos.

IV.2.1.3. TRATAMIENTO

La terapia anticoagulante no está recomendada, ya que además de asociarse a complicaciones sistémicas, podría en teoría aumentar la severidad de las hemorragias intraretinianas de la fase aguda. El tratamiento de la ORVR está orientado a las complicaciones que afectan a la agudeza visual, como son la neovascularización y el edema macular.

a) Neovascularización y hemorragia vítrea

La neovascularización tiene lugar en un 30 a 50 % de los ojos con áreas significativas de falta de perfusión capilar, después de una ORVR principal. La neovascularización del disco se asocia, invariablemente, con extensas áreas de cierre capilar en el área de la retina drenada por la vena obstruida (más de 5 diámetros de disco). La neovascularización puede producirse en cualquier momento en los 3 primeros años, pero suele aparecer durante los primeros 6-12 meses. De los ojos que desarrollan neovascularización, aproximadamente el 60% tienen episodios de hemorragia vítrea si no se tratan. En ocasiones, la hemorragia es leve y se resuelve espontáneamente. La neovascularización del iris es del 1% en ojos con ORVR.

El Branch Vein Occlusion Study Group ⁷⁹ estudió el tratamiento con fotocoagulación del área de isquemia, para prevenir la neovascularización retiniana y demostró que los ojos fotocoagulados tenían menos probabilidad de desarrollar neovasos y hemovítreo. Aunque el estudio no se diseñó para demostrar si era mejor la fotocoagulación preventiva o tras diagnosticar los neovasos. Los datos acumulados en este estudio sugieren que el tratamiento de fotocoagulación láser debería ser aplicado después del desarrollo de la neovascularización y no antes. El tratamiento de la neovascularización establecida consiste en aplicar impactos (diámetro de 200-500 μm), separados por la distancia de un impacto, para conseguir una reacción blanca suave con un patrón difuso, cubriendo todo el segmento afectado a 2 diámetros de disco de la fovea. El BVOS mostró que en aquellos ojos con neovascularización retiniana, a los que se realizó fotocoagulación, según los parámetros indicados el riesgo de hemovítreo disminuyó del 60% al 30%. En aquellos ojos con hemovítreo que no se reabsorbe o desprendimiento de retina está indicada la vitrectomía con endofotocoagulación.



Fig 14: Retinografía, autofluorescencia y AGF de paciente mujer de 67 años de edad con antecedentes de hipertensión arterial que presentó una oclusión de rama venosa temporal superior y que dos años más tarde se complicó con la aparición de neovascularización retiniana en el área de la oclusión antigua. En las fases precoces de la AGF se muestra la captación de fluorescencia por los neovasos.

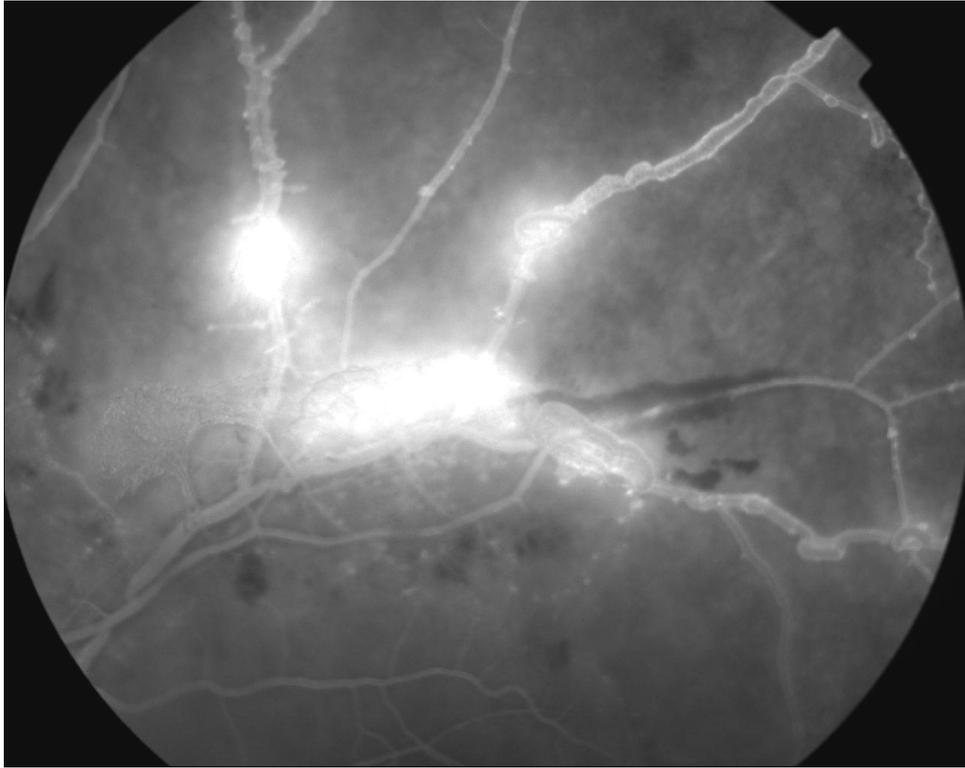


Fig 15: Fases tardías de la AGF que muestran la difusión del contraste por los neovasos.

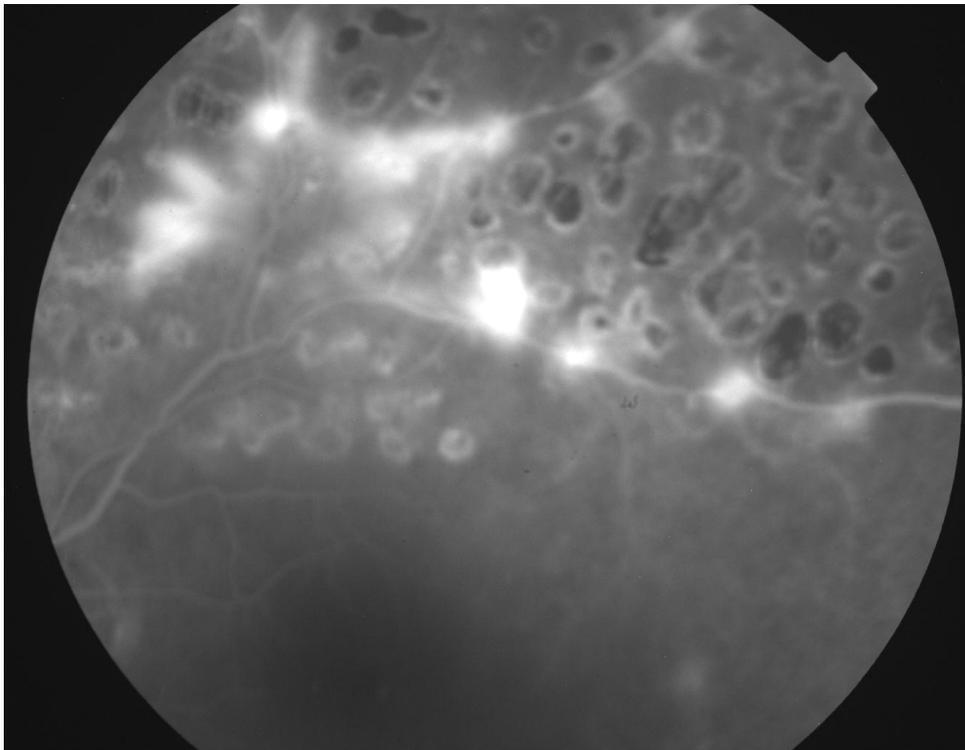


Fig 16: Dos meses después del diagnóstico de retinopatía proliferativa secundaria a ORVTS se realizó fotocoagulación sectorial de rama temporal superior pero 2 años después aún persistían los neovasos como se observa en las fases tardías de esta AGF que se realizó a la paciente que muestra difusión de fluoresceína.

b) Edema macular

El edema macular crónico es la causa más frecuente de mala agudeza visual persistente después de una ORVR. Antes de recomendar el tratamiento, es importante asegurarse de que la pérdida visual está causada por edema macular y no por isquemia macular, y es conveniente esperar de 6 a 12 semanas para que las hemorragias retinianas se aclaren lo suficiente. Antes del tratamiento, debería estudiarse atentamente la AGF para identificar las áreas de extravasación. El BVOS demostró que en aquellos ojos con vascularización foveal intacta y edema macular que disminuía la visión de 20/40 a 20/200, la fotocoagulación con láser argón podía mejorar la AV.⁸⁶ Los criterios de inclusión del BVOS fueron: edema macular profundado, diagnosticado por AGF, reabsorción de las hemorragias intraretinianas del centro foveal, y ORVR reciente, normalmente entre 3 y 18 meses, después de la instauración del cuadro clínico. La fotocoagulación con láser argón fue aplicada con un patrón en rejilla, en el área de permeabilidad capilar. No debe ser aplicada en el área de no perfusión capilar foveal ni fuera de las arcadas vasculares. Los parámetros de tratamiento recomendados son de una duración de 0,1 segundos, con un diámetro de spot de 100 μm y una potencia suficiente para producir un blanqueamiento medio. Después del tratamiento se debería realizar una AGF en 2-4 meses y también fotocoagulación adicional en las áreas de difusión residual si la AV persiste disminuida. A 3 años de seguimiento, el 63% de los ojos tratados ganaron 2 o más líneas de visión, comparado al 36% de los ojos control. No se conoce con exactitud el mecanismo por el cual el láser en rejilla puede disminuir el edema macular en estos casos. En estudios experimentales, en primates normales se mostró que cuando la absorción del láser ocurría en el EPR, se producía una disminución en el diámetro capilar. Una posible explicación sobre el efecto de la fotocoagulación en rejilla sería que produce un adelgazamiento de la retina, pudiendo la vascularización coroidea suplir parte de las capas internas retinianas, produciendo una vasoconstricción autorreguladora de la vascularización retiniana en el área de difusión, disminuyendo el edema. El principal efecto secundario puede ser producción de escotomas. No hay que realizar fotocoagulación láser en pacientes con hemorragias intraretinianas, ya que en estos casos la energía del láser puede ser absorbida por la hemorragia en lugar de por el EPR, dañando la capa de fibras nerviosas y pudiendo producir fibrosis preretiniana.⁸⁷

Una opción reciente en el tratamiento del edema macular ha sido la inyección intraocular de corticosteroides. Los precedentes para el uso de éste fármaco en estos pacientes han sido el uso en el EMD y el de la OVCR. Se está realizando un estudio multicéntrico aleatorizado en fase 3 (SCORE: Standard Care vs Corticosteroid for Retinal Vein Occlusion), para determinar la eficacia y seguridad del tratamiento con triamcinolona del edema macular asociado a oclusión venosa versus el tratamiento convencional.

Kumar et al ⁸⁸ propusieron la disección de la capa adventicia común a arteria y vena, para descomprimir ésta última como tratamiento quirúrgico para la ORVR. En un primer estudio de Osterloh y Charles ⁸⁹ publicaron una mejoría significativa en la AV, después de realizar disección de la adventicia en pacientes con ORVR (20/200 a 20/25 en más de 8 meses). Opremcak y Bruce ⁹⁰ también encontraron un aumento de AV en 12 de 15 pacientes (80%). García Arumí et al ⁹¹ combinaron la disección de la adventicia en el cruce arteriovenoso mediante técnica bimanual, seguido de intercambio fluido-aire e inyección de RTPA sobre el área de la vena ocluida. Los resultados fueron la liberación del trombo en 27,5% de los casos, la disección de la adventicia en el 100% de los 40 pacientes. La media de agudeza visual mejoró de 20/100 a 20/40, con un 70% de los pacientes, que mejoraron 3 o más líneas de visión. La cirugía precoz se correlacionó con mayor liberación del trombo. El grosor macular medido con OCT disminuyó más del 40% en 31 pacientes (77,5%) comparado al preoperatorio, y se corelacionó con la mejoría de agudeza visual postoperatoria. No hay estudios controlados y aleatorizados realizados para evaluar el beneficio de esta técnica quirúrgica.

Hay evidencia de que la adhesión vítreo-macular pueda contribuir al desarrollo del edema macular en la ORVR. Kurimoto et al ⁹² realizaron vitrectomía con separación de la hialoides posterior, en pacientes con EM secundario a ORVR y, en todos ellos, se redujo el grosor macular medido por OCT. 6 de los 7 ojos mejoraron la AV a los 3 meses de seguimiento. Saika et al ⁹³ publicaron resultados similares de disminución del edema macular en 10 de 19 ojos, en los que realizaron vitrectomía, separación de la hialoides posterior y taponamiento con gas intraocular. Las posibles explicaciones para las mejorías clínicas tras vitrectomía podrían ser: la desaparición de la tracción vítrea, el aumento de oxigenación de la mácula y el taponamiento macular por el gas intraocular.⁹³

IV.2.2. OCLUSIÓN DE VENA CENTRAL DE LA RETINA

La oclusión de la vena central de la retina (OVCR) es una enfermedad vascular retiniana, que puede causar alta morbilidad ocular. Suele afectar por igual a ambos sexos y es más frecuente en edades superiores a los 65 años.⁹⁴ Los pacientes más jóvenes que se presentan con este cuadro suelen tener una causa inflamatoria.⁹⁵

La prevalencia de OVCR en estudios poblacionales se ha estimado en 0,1 a 0,4%.⁸⁰ Normalmente, la enfermedad es unilateral, pero el riesgo anual de padecer cualquier tipo de oclusión vascular retiniana en el ojo contralateral es aproximadamente del 1%³ Se estima que hasta el 7% de pacientes desarrollaran una OVCR en el ojo contralateral durante los 5 años posteriores a la afectación del primer ojo.^{80,96}

IV.2.2.1. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Usualmente se presenta como pérdida brusca e indolora de visión unilateral, pero también puede presentarse como pérdida gradual de visión en casos de obstrucciones menos severas. En la exploración biomicroscópica encontramos hemorragias (ya sea en llama superficiales o profundas) en los 4 cuadrantes, con un sistema venoso retiniano tortuoso y dilatado. Las hemorragias superficiales son radiales a la cabeza del nervio óptico. El disco óptico puede estar edematoso. Sobretudo en los casos de oclusión isquémica, encontramos también infartos de la capa de fibras nerviosas. Puede haber grados variables de edema macular. Puede presentarse también como hemorragia vítrea. En algunas ocasiones puede acompañarse de oclusión de la arteria central de la retina.⁹⁷

Con el tiempo, la extensión de las hemorragias retinianas tiende a disminuir o desaparecer completamente con las consecuentes alteraciones en la pigmentación del epitelio pigmentario de la retina. El tiempo de resolución de las hemorragias depende de la cantidad de hemorragias producidas por la oclusión. A pesar de la disminución de las hemorragias retinianas, de forma frecuente persiste el edema macular. La resolución de las hemorragias puede seguirse de la formación de membranas epirretinianas. En ocasiones se forman “shunts” optociliares en la cabeza del nervio óptico, como manifestación de la circulación colateral con los vasos coroideos.⁹⁸

IV.2.2.2. PATOGENIA

El cuadro clínico de OVCR se explica por la oclusión del tronco principal de la vena central retiniana. Estudios histopatológicos en ojos enucleados por OVCR demuestran un trombo que ocluye el lumen de la vena central retiniana en la lamina cribosa o proximal a ella. En la porción retrolaminar del nervio óptico, la vena central retiniana y la arteria están alineadas y paralelas en una vaina tisular común. Al atravesar la lámina, la arteria y la vena están comprimidas de forma natural y, justo antes de atravesar la lámina, reciben colaterales vasculares. Estas colaterales pueden estar comprimidas por aumento de la presión intraocular, que causa un estrechamiento de la lámina con el consiguiente impacto en la vena central retiniana. También los factores locales como la arteriosclerosis de la arteria central retiniana o la inflamación, pueden influir en la OVCR.⁹⁹

IV.2.2.3. CLASIFICACIÓN

Según los hallazgos en la AGF, podemos clasificar la OVCR en 3 tipos:

- a) **OVCR no isquémica** (también llamada profundida o parcial): LA AGF muestra éstasis venosa y se define porque encontramos menos de 10 diámetros de disco de isquemia. Es el tipo más frecuente y supone un 75% de todos los casos. La presentación es con pérdida moderada de la agudeza visual. En la exploración fundoscópica encontramos tortuosidad y dilatación leves, de todas las ramas de la vena central de la retina y hemorragias retinianas medias o moderadas (en forma de “mancha-punto” o en llama), distribuidas por los cuatro cuadrantes y más numerosas en la periferia. Las manchas algodonosas, si existen, son escasas. El edema del disco óptico leve o moderado y el edema macular son frecuentes. La conversión a una OVCR isquémica aparece en el 15% de los casos en 4 meses y en el 34% en 3 años.

- b) **OVCR isquémica** (también llamada no perfundida, hemorrágica o completa): Se define por un área de isquemia en la AGF superior a 10 diámetros de disco. La presentación suele ser con pérdida grave de la agudeza visual, que suele ser inferior a 6/60 y, frecuentemente, se reduce a contar los dedos o peor. Suele tener pupila de Marcus Gunn, lo que indica una isquemia retiniana grave. En el fondo de ojo encontramos tortuosidad e ingurgitación evidentes de las venas

retinianas, extensas hemorragias retinianas que afectan la retina periférica y el polo posterior. Pueden existir manchas algodonosas y edema del disco óptico e hiperemia graves. La AGF muestra enmascaramiento central del lecho vascular retiniano por hemorragias retinianas y extensas áreas de falta de perfusión capilar.

- c) **OVCR indeterminada:** cuando las hemorragias intra-retinianas no permiten determinar el estado de perfusión retiniano.¹⁰⁰

Los pacientes pueden tener síntomas premonitorios de disminución de visión transitoria previos. Los pacientes con OVCR de los dos tipos tienen características epidemiológicas similares, aunque las oclusiones no isquémicas generalmente ocurren a una edad ligeramente más joven.

Esta clasificación según el estado de perfusión es importante, ya que determina la historia natural de la enfermedad. Los ojos que inicialmente entran en la categoría de perfundidos desarrollan neovascularización del segmento anterior (neovascularización del iris (INV)/neovascularización del ángulo (ANV)) en un 10%, mientras que el 35% de las oclusiones isquémicas o indeterminadas desarrollarán INV/ANV. La baja AV al inicio de la enfermedad, así como grandes áreas de no perfusión al diagnóstico son factores predictivos que aumentan el riesgo de desarrollar INV/ANV. La agudeza visual baja se correlaciona significativamente con el grado de no perfusión ($p < 0,001$).^{96, 101} El pronóstico visual es malo en pacientes con oclusión isquémica; tan solo el 10% de los pacientes consiguen una AV mejor de 20/400. La incidencia de glaucoma neovascular en estos pacientes es alta en los ojos con amplias zonas de isquemia (hasta el 60%) y suele ocurrir a los 3-5 meses del inicio de los síntomas.

Un importante indicador del pronóstico visual final es la AV en el momento del diagnóstico. La AV inicial en el CVOS⁹⁶ (Central Vein Occlusion Study) era la siguiente: 20/40 o superior en el 29%, entre 20/50 y 20/200 en el 43% y inferior a 20/250 en el 28%. La media de AV era de 20/80. Aquellos pacientes que presentaban buena AV al diagnóstico (AV de 20/40 o superior) la mayoría la mantenían. Los pacientes con una AV intermedia (20/50 a 20/200) tenían una evolución variable: 21% mejoraban la AV a más de 20/50, 41% se mantenían en el mismo grupo de AV

intermedia y en el 38% empeoraba a una AV inferior a 20/200. Los pacientes con una AV inicial menor de 20/200 tenían mal pronóstico y tan sólo el 20% mejoraba la AV.

La AV al diagnóstico decide el seguimiento que haremos de los pacientes. Si la AV inicial es superior a 20/40 los exámenes médicos deberían ser cada 1-2 meses, los primeros 6 meses, y si no hay empeoramiento, después anualmente. Los pacientes con una AV inicial inferior a 20/200 deberían ser examinados mensualmente hasta los 6 meses, después bimensualmente hasta el año, ya que éstos tienen una menor perfusión y más riesgo de desarrollar INV/ANV. Cuando la AV está entre 20/200 y 20/50 deberían también ser visitados mensualmente los primeros 6 meses, ya que tienen un riesgo intermedio de desarrollar INV/ANV. En todos los exámenes debería tomarse la AV y realizar una biomicroscopía detallada, con presión intraocular y gonioscopía, con la pupila no dilatada, para examinar la existencia de neovasos en ángulo. Si en alguna de las visitas de seguimiento la AV cae por debajo de 20/200, debería repetirse la AGF, para evaluar el estado de perfusión y realizarse visitas mensuales los siguientes 6 meses.⁹⁶

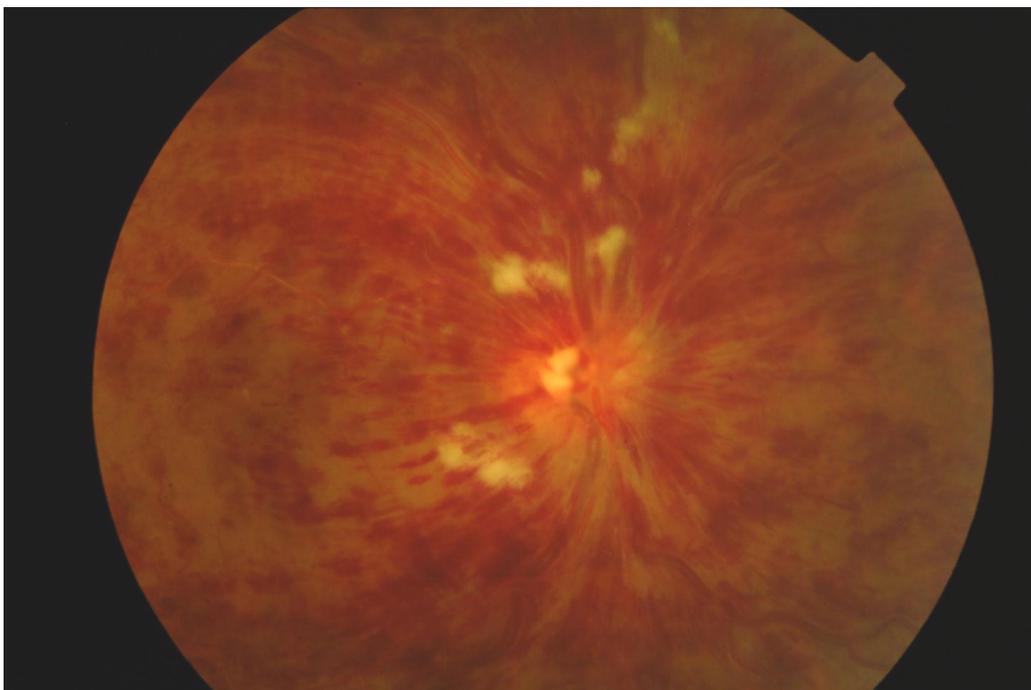


Fig17: Oclusión de vena central de la retina, en la retinografía se observan edema de papila y hemorragias en astilla de los 4 cuadrantes junto con infartos de la capa de fibras. Las venas son tortuosas e ingurgitadas.

IV.2.2.4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Se debe siempre plantear el diagnóstico diferencial con las siguientes entidades:

1) Síndrome isquémico ocular (enfermedad oclusiva carotídea): Las venas generalmente están dilatadas y de calibre irregular, pero por lo general no son tortuosas; a menudo, no hay edema de disco ni hemorragias sobre él, aunque la neovascularización del disco está presente en más de un tercio de los casos; las hemorragias tienden a localizarse en la periferia media. Es típica la disminución de la visión, dolor ocular o periorbitario, postimágenes o recuperación prolongada de la visión posterior a estímulo luminoso brillante. Habitualmente, es unilateral y ocurre en pacientes entre 50 y 80 años de edad. Los varones exceden en número a las mujeres (2:1). Puede acompañarse de inyección episcleral, edema corneal, uveítis anterior leve, glaucoma neovascular, atrofia de iris, catarata, microaneurismas de retina, manchas algodinosas, pulsación espontánea de la arteria central de retina y mancha rojo cereza macular. Puede haber obstrucción de la arteria central de retina. La presión intraocular a menudo está baja por isquemia del cuerpo ciliar, pero también puede estar elevada por glaucoma neovascular. La causa es la enfermedad carotídea, con una estenosis superior al 90% y raramente debida a enfermedad de la arteria oftálmica. En esta entidad, la presión de riego de la arteria central de retina es baja y se puede distinguir de la OVCR, por oftalmodinamometría.

2) Retinopatía diabética: Habitualmente, las hemorragias y los microaneurismas se concentran en el polo posterior, los exudados son más prominentes y el cuadro es típicamente bilateral.

3) Papiledema: Edema de disco bilateral, con hemorragias en llama que rodean el disco, pero no se extienden hacia la retina periférica; es secundario a aumento de la presión intracraneal.

4) Retinopatía por radiación: El antecedente de radiación previa es crítico para el diagnóstico. Puede haber edema de disco con papilopatía por radiación y neovascularización en retina. Generalmente, las manchas algodinosas son un hallazgo más prominente que las hemorragias. Puede aparecer en cualquier momento después de la radiación, pero suele ocurrir después de varios años.

- 5) Anemia: Predominan las hemorragias sin cambios vasculares notorios.
- 6) Enfermedad vascular en enfermedades del colágeno: Puede cursar con múltiples manchas algodinosas, pero con pocos o ninguno de los demás signos característicos de hipertensión. Puede acompañarse de vasculitis.⁴⁰
- 7) Retinopatía hipertensiva: Generalmente asintomática, aunque puede haber disminución de la visión. Se presenta con estrechamiento arterial en retina, generalizado o localizado, casi siempre bilateral. La hipertensión aguda se presenta con exudados duros a menudo con aspecto de “estrella macular”, edema de retina, puntos algodinosos, hemorragias en llama, edema de la cabeza del nervio óptico. Rara vez desprendimiento de retina seroso y hemorragia en vítreo. La atrofia retinocoroidea focal (puntos de Elsching de no riego coroideo) son signos de episodios antiguos de hipertensión aguda. Muchos de los signos de hipertensión crónica se solapan en OVCR agudas, ya que la causa más frecuente de esta entidad es la HTA. Estos cambios son: cruces arteriovenosos, esclerosis arteriolar de retina (alambres de “cobre” o de “plata”), manchas algodinosas, hemorragias en llama, macroaneurismas arteriales, etc.³⁴

IV.2.2.5. OPCIONES TERAPÉUTICAS

- TRATAMIENTO MÉDICO

Las consideraciones terapéuticas empiezan por el tratamiento de la patología médica asociada, como son la hipertensión arterial, diabetes y dislipemia. No hay evidencia que los fármacos antiagregantes o anticoagulantes alteren el curso natural de la enfermedad. Así, pacientes en tratamiento anticoagulante pueden desarrollar una OVCR, aunque los niveles farmacológicos sean los terapéuticos. El uso profiláctico de éstos fármacos puede ser útil para prevenir episodios trombóticos no oculares, especialmente en los individuos con enfermedad vascular sistémica conocida.¹⁰²

La pentoxifilina, un potente vasodilatador, se ha demostrado que puede aumentar la velocidad de flujo venoso y así disminuir el edema macular, pero no se han encontrado cambios significativos en la AV.¹⁰³

La constatación de un aumento de viscosidad plasmática en los pacientes con OVCR, ha conllevado el interés en el tratamiento, mediante hemodilución sistémica para aumentar el aporte de oxígeno en la retina. En un estudio prospectivo, aleatorizado, comparando

la terapia mediante pentoxifilina y hemodilución con infusión de suero salino, se evidenció una mejoría significativa en la AV al año (aumento de 1,5 líneas en el grupo tratado, comparado con una disminución de 1,5 líneas en el grupo control) que fue atribuida a la mejoría en el flujo sanguíneo, al disminuir la viscosidad.¹⁰⁴

- FOTOCOAGULACIÓN LÁSER

1) Neovascularización

El CVOS grupo N ¹⁰⁵ estudió si la panfotocoagulación retiniana profiláctica, en los pacientes con OVCR isquémica, podía prevenir la neovascularización iridiana o si era mejor no aplicar la PFC hasta que la INV/ANV ocurriera. Concluyó que la PFC profiláctica no prevenía totalmente la INV/ANV y que la regresión de la INV/ANV era más rápida y probable en aquellos ojos que no la habían recibido previamente. Los autores recomiendan observación frecuente de los pacientes, en los primeros meses posteriores a la OVCR, para detectar aquellos ojos con INV/ANV y sólo en éstos, practicar la PFC.

2) Edema macular

El CVOS grupo M ¹⁰⁶ estudió el efecto de la fotocoagulación en rejilla del edema macular, en pacientes con OVCR de más de 3 meses de evolución, no tratados previamente. La AV de los pacientes que entraron en el estudio debía ser entre 5/200 y 20/50. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes tratados con fotocoagulación y los controles no tratados en ningún punto de la evolución. La AV inicial era de 20/160 en los pacientes que recibieron tratamiento y 20/125 en los controles. La AV media final fue de 20/200 en los ojos tratados y de 20/160 en los controles. Sí se evidenció disminución del edema macular angiográfico. En conclusión, en los pacientes con características similares a los de este estudio, no se recomienda fotocoagulación en rejilla para el tratamiento del EM asociado a OVCR.

3) Anastomosis venosa coriorretiniana

En aquellos ojos con OVCR no isquémica la creación de una anastomosis coriorretiniana (CRA) entre la rama venosa retiniana nasal y la circulación coroidea podría crear un flujo venoso transretiniano retrogrado, que podría prevenir el desarrollo de isquemia retiniana. La AV podría mejorar como resultado de aumentar la perfusión

retiniana y disminuir el edema macular. La creación de esta anastomosis corioretiniana se puede realizar con láser argón o Nd:YAG, dirigido a la rama venosa retiniana para romper la pared retiniana posterior y la membrana de Bruch.¹⁰⁷ En aquellos casos con éxito anatómico, se demuestra la vena retiniana que drena a la coroides con dilatación de la porción proximal y estrechamiento de la porción distal de la vena tratada. Mc Allister et al ¹⁰⁸ crearon CRA en 33% de los pacientes tratados; en todos ellos mejoró la AV y la exploración fundoscópica. Las complicaciones de la técnica también descritas por el mismo autor son hemorragia inmediata intra-retiniana, subretiniana o vítrea. Las complicaciones a largo plazo incluyen hemovítreo, membrana epirretiniana, proliferación fibrovascular, neovascularización secundaria (coroidea, retiniana, coroidovítrea y del segmento anterior) y desprendimiento retiniano traccional. La mejoría de la AV está condicionada a la creación de la CRA. No se recomienda el tratamiento con láser para crear la CRA en ojos con oclusión isquémica, porque puede aumentar el riesgo de complicaciones fibrovasculares.¹⁰⁹

- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

Aquellos pacientes con complicaciones derivadas de la OVCR como hemovítreo, a consecuencia de neovascularización retiniana pueden requerir VPP. En el mismo procedimiento quirúrgico se puede también proceder a la extracción de membranas epirretinianas y proliferaciones fibrovasculares, así como proceder a la panfotocoagulación retiniana. En los pacientes con neovascularización del segmento anterior extensa o glaucoma neovascular, la VPP y el endoláser pueden ser combinados con un procedimiento de drenaje. La vitrectomía como técnica aislada actuaría mejorando la oxigenación retiniana.

1) Neurotomía óptica radial (NOR)

La anatomía del disco óptico, incluyendo la lámina cribosa y el anillo escleral, pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad vaso-oclusiva retiniana. La compresión neurovascular en este espacio reducido puede tener un papel en la patogenia de la OVCR. Opremcak et al ¹¹⁰ propusieron combinar la VPP con una incisión transvítrea del anillo escleral en su parte nasal, para disminuir la presión de la vena central de la retina a este nivel. Este procedimiento pretende mejorar el síndrome compartimental que se presume existe en el anillo escleral donde en 1,5 mm pasan el nervio óptico, la

vena central de la retina y la arteria retiniana. Previamente, se habían intentado descompresiones externas de la porción orbitaria del nervio óptico, con una fenestración de la vaina del nervio óptico y sección del anillo escleral posterior, sin buenos resultados. En un estudio retrospectivo inicial se realizó NOR en 11 pacientes. No hubo complicaciones secundarias al procedimiento. Todos los pacientes tuvieron mejoría fundoscópica y en la AGF. La AV postoperatoria se mantuvo o mejoró en el 82 % de los pacientes. Ocho pacientes (73%) tuvieron una rápida mejoría en la AV con una mejoría media de 5 líneas de visión. Concluyeron que la descompresión de la OVCR a través de la NOR es una técnica segura asociada con una rápida reperusión de la retina. La resolución de la hemorragia intra-retiniana, el edema y la isquemia pueden mejorar la AV y el pronóstico de estos pacientes. García Arumí et al ¹¹¹ publicaron en 2003 un estudio prospectivo no controlado de 14 pacientes, para evaluar la incidencia de anastomosis coriorretinianas después de la NOR y para determinar su efecto en la AV y el grosor foveal. No hubo complicaciones a raíz del procedimiento. Ocho pacientes (57,1%) ganaron 1 o más líneas de visión, 42,9% ganaron 2 o más líneas. La disminución en el grosor macular fue estadísticamente significativo. Seis ojos desarrollaron “shunts” retinocoroideos en la localización de la NOR. Se señaló el importante papel de los “shunts” retinocoroideos, para el drenaje de la circulación retiniana a la coroides, para mejorar el edema retiniano. En 2006 Opremcak ¹¹² ha publicado una nueva serie de 117 casos con OVCR y disminución severa de visión (igual o < 20/200) a los que realizó NOR. En el 95% de los pacientes hubo mejoría en el examen fundoscópico y en la AGF. La mejoría de la AV se produjo en el 71% de los pacientes. El 6% de ellos presentaron INV/ANV. En conclusión, estas publicaciones sugieren que la descompresión quirúrgica mediante la NOR puede aportar beneficio en los enfermos con OVCR, pero son necesarios más estudios con grupo control, para establecer la seguridad y eficacia del procedimiento (estudio ROVO).

3) Activador tisular del plasminógeno (r-TPA)

Hay estudios que administran diferentes dosis de rTPA intravítreo en el periodo precoz, después de una OVCR, y muestran que, especialmente en aquellos casos no isquémicos puede aumentar la AV con el tratamiento.¹¹³ La administración sistémica también puede aumentar la AV, pero se asocia con complicaciones sistémicas graves, como puede ser la hemorragia intracraneal.¹¹⁴ La administración endovascular de r-TPA en la vena retiniana, ya sea a través de un abordaje neuroradiológico o intravítreo, también puede

mejorar la AV, pero se asocia a complicaciones como pueden ser hemovítreo.¹¹⁵ Esta técnica se ha asociado igualmente a la inyección de triamcinolona intravítrea, para mejorar el edema macular.

4) Terapia corticoidea

Se ha estudiado la terapia corticoidea en la OVCR, con el propósito de actuar en el edema macular para mejorar la AV. No se conoce el mecanismo exacto, por el cual los corticosteroides pueden modular el edema retiniano, pero tienen un efecto combinado antiinflamatorio, con modulación de las citoquinas y los factores de crecimiento, para estabilizar la barrera hemato-retiniana con reducción de la permeabilidad vascular. No hay mucha experiencia en el tratamiento con corticosteroides orales en el tratamiento de la OVCR, a excepción de aquellos casos de papiloflebitis o vasculitis del disco óptico en adultos jóvenes, en que sí que está indicado el tratamiento corticoideo oral, ya que se piensa que la causa de la oclusión es inflamatoria.¹¹⁶

La administración intravítrea de corticosteroides consigue una mayor concentración en los vasos retinianos y en el tejido macular sin los efectos secundarios sistémicos. Park et al ¹¹⁷ realizaron un estudio retrospectivo en 10 ojos con edema macular secundario a OVCR no isquémica, a los que inyectaron 4 mg de acetónido de triamcinolona. Disminuyó el edema macular analizado por OCT y mejoró la AV. El 40% de los pacientes realizaron hipertensión ocular secundaria al tratamiento. Otras complicaciones son endoftalmitis estéril, progresión de cataratas y desprendimiento de retina.

IV.3. FACTORES INTRAVÍTREOS

IV.3.1. FACTORES DE CRECIMIENTO Y RETINOPATÍA DIABÉTICA

IV.3.1.1. RETINOPATÍA DIABÉTICA, ISQUEMIA Y ANGIOGÉNESIS

El proceso de neovascularización retiniana está temporalmente y espacialmente en relación a la hipoxia y/o isquemia retiniana. Hay evidencia clínica y experimental para confirmar esto. En primer lugar, en la retina normal hay un espacio libre de capilares alrededor de las arterias, pero no de las venas. Esto se debe a que la presión parcial de oxígeno alrededor de las arterias está más elevada que alrededor de las venas,

comportando disfunción capilar, por lo que no hay estímulo para su crecimiento. En segundo lugar, la neovascularización en la RD está siempre precedida de áreas de isquemia retiniana significativa, y los neovasos frecuentemente aparecen muy cerca de estas zonas. En tercer lugar, otras enfermedades que comportan neovascularización retiniana (OVCR, retinopatía del prematuro y retinopatía por radiación) están todas caracterizadas por isquemia retiniana, que precede a la formación de los neovasos. Así, la isquemia retiniana de cualquier origen puede llevar a la vía final común de neovascularización retiniana y sus complicaciones.

En el 1948 Isaac Michaelson ¹¹⁸ postuló a través de observaciones clínicas e histológicas, que la neovascularización era debida a la liberación de factores difundibles por parte de la retina isquémica. Estos factores serían descritos en 1970 y llamados factores de crecimiento.

Los factores de crecimiento son moléculas proteicas, de pequeño tamaño, originalmente llamadas así por su propiedad de inducir mitosis. Pero desempeñan muchas otras funciones: quimiotaxis, síntesis de la matriz extracelular, diferenciación celular y otros muchos efectos celulares. Hay multitud de factores celulares y extracelulares, que interactúan “in vivo” con los factores de crecimiento.¹¹⁹

IV.3.1.2. MODELOS “IN VIVO” PARA EL ESTUDIO DE FACTORES DE CRECIMIENTO ANGIOGÉNICOS Y ANTIANGIOGÉNICOS

El estudio de los factores de crecimiento en las enfermedades vasculares retinianas se basa en observaciones clínicas y experimentales.

Existen varios modelos experimentales de neovascularización retiniana. Entre ellos, se usan ratones recién nacidos, a los que se expone a una alta concentración de oxígeno. Durante el periodo de hiperoxia, los vasos retinianos se ocluyen debido al exceso de oxígeno, ya que el oxígeno proveniente de la coroides es suficiente para abastecer de oxígeno las células neuroretinianas. Cuando la concentración de oxígeno se normaliza, las áreas de oclusión vascular se vuelven isquémicas, ya que los vasos retinianos no pueden repermeabilizarse. Los astrocitos también son muy sensibles a la hipoxia y degeneran. Consecuentemente, se forman neovasos en el límite entre la retina isquémica y la normal. Debido al déficit de astrocitos, estos neovasos no crecen con su patrón histológico normal y, en lugar de vascularizar la retina isquémica, invaden la cavidad

vítrea. Además, son hiperpermeables por alteración de la función normal de la barrera hemato-retiniana.¹²⁰ Otro modelo de neovascularización retiniana es la trombosis venosa retiniana, inducida por fotocoagulación en el mono y en el minicerdo.¹²¹ En este caso, la oclusión venosa resulta en isquemia retiniana extensa, lo que comporta el desarrollo de neovasos iridianos, del ángulo iridocorneal y el aumento de la presión intraocular (glaucoma neovascular).

Estos modelos son similares a las enfermedades vasculares retinianas humanas, como la retinopatía del prematuro y la OVCR. Sin embargo, no hay ningún modelo satisfactorio para la RDP. Perros galactosémicos, alimentados con una alta dieta en galactosa, desarrollan retinopatía proliferativa 8 años después de la diabetes.¹²²

Podemos obtener tejido neovascular y fluidos intraoculares de los modelos animales y de pacientes, a los que se realiza cirugía vitreo-retiniana, realizando pruebas de inmunohistoquímica e hibridación “in situ”, para localizar los factores de crecimiento, sus receptores y el mRNA en los tejidos patológicos. Recientemente, se administran a los animales antagonistas específicos de los factores de crecimiento (anticuerpos, receptores solubles, oligonucleótidos,...) para evaluar el papel de factores individuales en el proceso de la angiogénesis.

IV.3.2. FACTORES ANGIOGÉNICOS

IV.3.2.1. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)

El VEGF, también llamado vasculotropina o factor de permeabilidad vascular, es un factor de crecimiento afín a la heparina, que se sintetiza en cuatro moléculas homodiméricas; cada monómero tiene respectivamente 121, 165, 189 o 206 aminoácidos.¹²³ “in vitro”, VEGF induce proliferación de células endoteliales y quimiotaxis, su síntesis está muy aumentada en condiciones de hipoxia.¹⁰

El VEGF está presente en la retina normal y se encuentra sobreexpresado en enfermedades vasculares, tales como la retinopatía del prematuro, la oclusión venosa retiniana y la retinopatía diabética. En un modelo con ratones con retinopatía de la prematuridad, la expresión de VEGF estaba enormemente aumentada en la retina, en el estadio neovascular y regresaba cuando los neovasos se atrofiaban. En el modelo de primate de trombosis venosa retiniana, los niveles intravítreos de VEGF aumentaban en

el ojo isquémico, justo antes de la neovascularización iridiana.¹¹ En humanos, los niveles intravítreos de VEGF están elevados en la RDP,⁶ y los niveles de VEGF en humor acuoso disminuyen después de la fotocoagulación retiniana.¹² Así, en el análisis de la proliferación fibrovascular en RDP humana, el único factor de crecimiento que se encontraba en todas ellas era el VEGF.¹²⁴ No hay duda que el VEGF es crítico en la patogénesis de la RDP y en el edema macular. La concentración de VEGF se ha encontrado mucho más aumentada en el vítreo de pacientes con RDP que en los controles no diabéticos y ha sido correlacionada con la actividad de la retinopatía. Es importante destacar que los niveles intravítreos de VEGF, detectados en pacientes con RDP, son del mismo rango que aquellos niveles que inducen neovascularización “in vitro” y, en consecuencia, la acumulación intravítrea de VEGF, producida por la retina isquémica, contribuye significativamente a la neovascularización intraocular.¹²⁵⁻¹²⁷

El VEGF induce hiperpermeabilidad vascular, permitiendo el paso de moléculas pequeñas al espacio extravascular. Este efecto es reversible, indicando que no es debido a toxicidad celular.¹³ Es también un potente mitógeno de las células endoteliales de la micro y macrovasculatura, ya sea de arterias, venas y vasos linfáticos, y no produce efecto mitogénico para los otros tipos celulares.¹²⁸ En modelos “in vitro” tridimensionales, el VEGF promueve la angiogénesis, induciendo a las células endoteliales a invadir de forma confluyente el gel de colágeno y formar estructuras capilares; este efecto está amplificado por el bFGF.^{10, 129} Aiello et al ¹² en 1994 fueron los primeros en demostrar que el VEGF tenía una función en la neovascularización de los pacientes diabéticos. La concentración de VEGF era medida por radioinmunoensayo de las muestras oculares de pacientes sometidos a cirugía intraocular, y se evidenció que la concentración de VEGF era superior en los pacientes con RDP que en los pacientes con RDNP. En 1995, estudios con animales revelaron que la síntesis de VEGF se producía en la retina, ya que la expresión de mRNA de VEGF aumentaba durante la hipoxia retiniana y permanecía elevada durante el proceso de neovascularización. Estudios de hibridación “in situ” localizaron el mRNA del VEGF en la capa nuclear interna de la retina, concretamente en las células de Müller.¹³⁰ Posteriores estudios han descubierto que el VEGF se sintetiza también por las células del EPR, pericitos, células endoteliales, células gliales, fibroblastos coroideos i células ganglionares.¹³¹⁻¹³³ Estos hallazgos fueron verificados mediante microscopia confocal, que demostró una correlación en el tiempo, entre los niveles de proteína del VEGF con su mRNA.¹³⁰

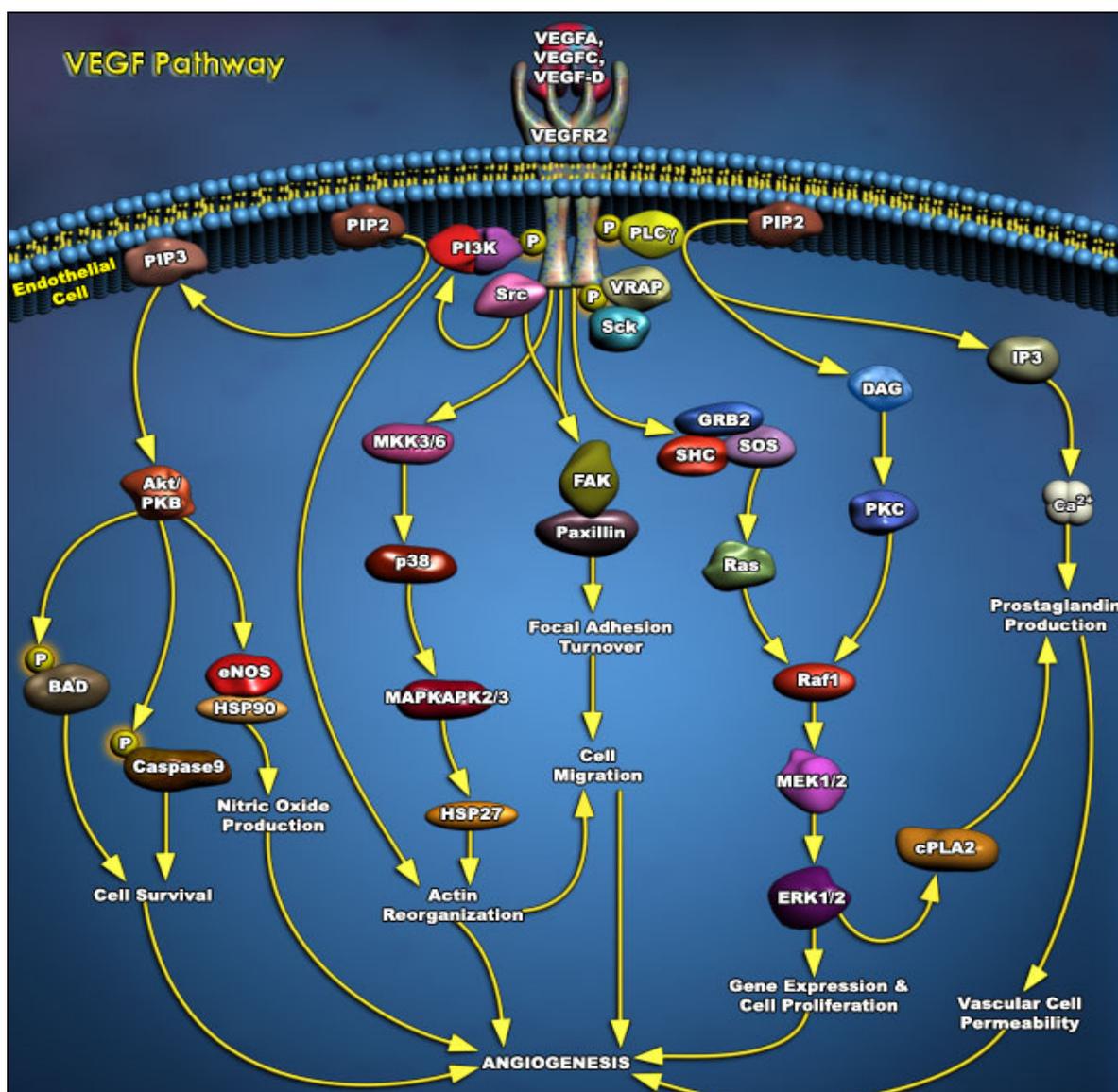


Fig 18: Cascada de transducción de señales del VEGF. (Adaptado de www.appliedbiosystems.com)

Múltiples mecanismos regulan la expresión del gen VEGF. El más importante de ellos es la hipoxia: en todas aquellas circunstancias fisiológicas y patológicas de exposición a bajas presiones de oxígeno, se expresa de forma rápida y reversible mRNA del VEGF. Esta vía está mediada por el factor 1 inducible por la hipoxia (HIF-1).¹³⁴ Otro factor implicado en la síntesis de VEGF son los cambios en la concentración de glucosa. Aumenta la expresión de VEGF, tanto la privación aguda de glucosa como la hiperglucemia mantenida en cultivo de células del EPR bovino.¹³⁵ La producción de AGEs (productos de glicosilación avanzada) sería uno de los mecanismos, por los cuales la hiperglucemia crónica estimularía la producción de mRNA de VEGF y podría explicar también la propiedad angiogénica de los AGEs.¹³⁶ Este aspecto ha sido investigado en ojos de ratas y conejos, en los que se les inyectaba AGEs intravítreos.

Éstos tenían un efecto dosis y tiempo dependiente de aumentar los niveles de mRNA de VEGF en las células ganglionares, células de la capa nuclear interna y células del EPR.¹³⁶ Este efecto era amplificado por condiciones de hipoxia y podía bloquearse mediante anticuerpos anti-VEGF.

Además de la hipoxia y los AGEs, hay multitud de factores de crecimiento que influyen en la síntesis de VEGF: Insulin-like growth factor (IGF-1), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), citoquinas inflamatorias (IL-1 alfa, IL-6), otras hormonas y oncogenes.¹³⁷ Lu et al¹³⁸ investigaron la acción de la insulina sobre la expresión de VEGF y encontraron que la expresión de mRNA del VEGF aumentaba en presencia de insulina. Así, en células del endotelio microvascular de piel humana, el VEGF es el principal factor responsable de la actividad angiogénica de la insulina.¹³⁹ Poulaki et al¹⁴⁰ demostraron que la terapia intensiva con insulina producía un aumento transitorio de la permeabilidad de la barrera hemato-retiniana vía HIF-1 α , que aumentaba la expresión del VEGF. Todos estos hallazgos pueden ayudar a entender el empeoramiento transitorio de la RD que sigue al inicio de la terapia intensiva con insulina.

Está claro que la síntesis del VEGF es posible en diversos tipos celulares de la retina, pero la función normal de esta molécula no está clara. Puede ser que su principal función sea en la vida fetal donde actúa en el desarrollo del sistema de vascularización normal. Sintetizado a muy bajos niveles puede tener una función de mantenimiento de la viabilidad y diferenciación celular. El VEGF parece ser crítico en el desarrollo vascular normal, ya que una disrupción en el gen del VEGF del ratón es letal, y los fetos no viables carecen de vascularización.⁴⁰

El VEGF ejerce su acción a través de 2 receptores tirosin-quinasa de alta afinidad: VEGFR-1 (FLT-1) y VEGFR-2 (KDR, FLK-1). Son expresados principalmente en la superficie celular del endotelio vascular. VEGFR-1 parece que influye en la permeabilidad vascular, mientras que el receptor VEGFR-2 participa en el proceso angiogénico.

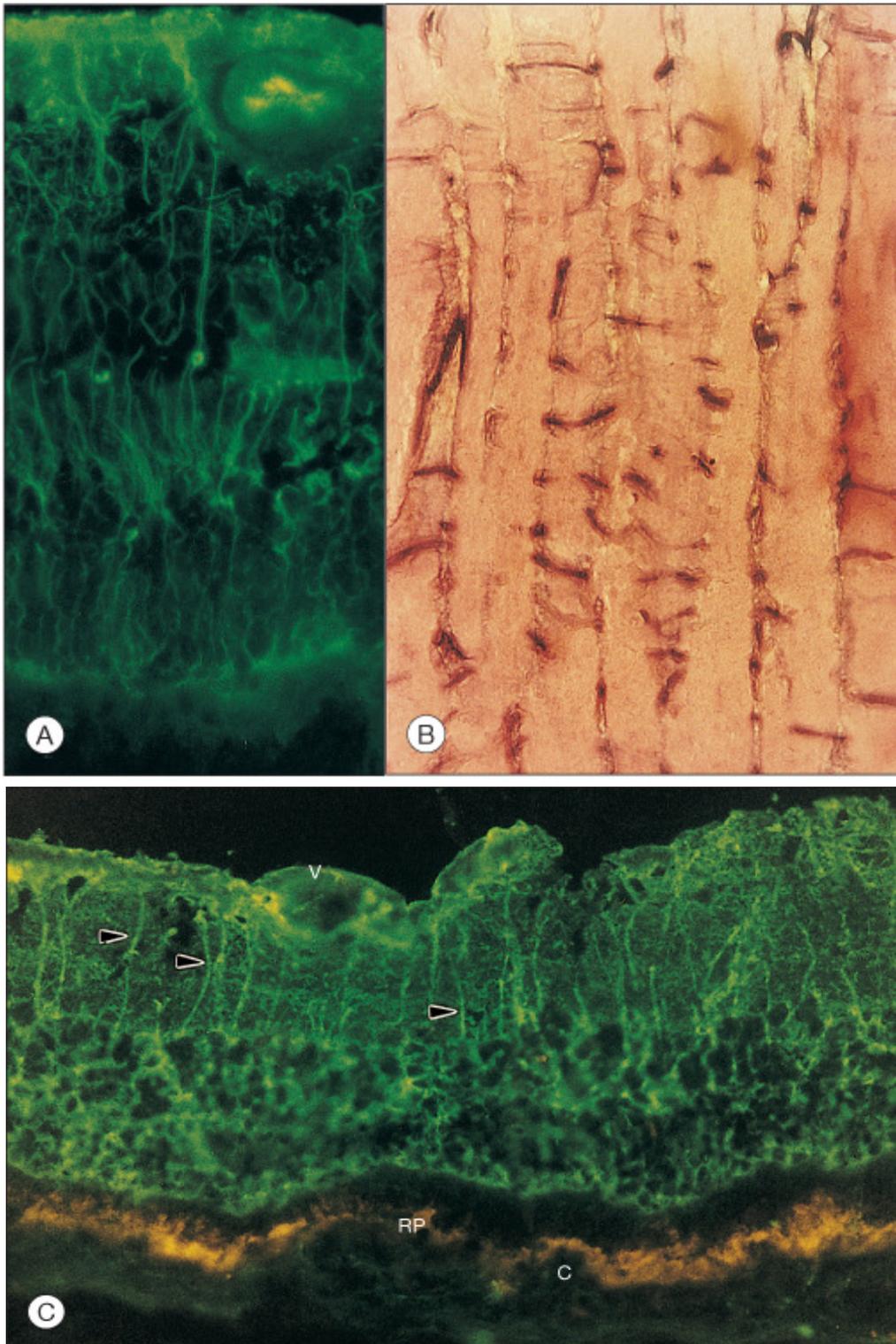


Fig 19: A: Tinción inmunohistoquímica para VEGF usando un segundo anticuerpo marcado con FITC (isocianato fluoresceínico) de una sección retiniana de una mujer de 60 años con diabetes. Se aprecia la tinción en todas las capas retinianas excepto la capa de fotorreceptores. Hay también tinción inmunohistoquímica de la capa endotelial de una arteriola retiniana (x200) .B: Tinción inmunohistoquímica para el VEGF de una porción del nervio óptico de un hombre de 70 años con diabetes. Se tiñen las células gliales. (x250). C:Tinción inmunohistoquímica para VEGF en una retina de una rata que recibió una dieta que contenía un 50% de galactosa durante 24 mses. RP: epitelio pigmentario de la retina. C:coriocapilar. V: vaso retiniano. Las flechas indican las células de Müller teñidas

IV.3.2.2. INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 (IGF-1).

IGF-1 es un polipéptido de 70 aminoácidos, con un peso molecular de 7,6 kDa. Su función es estimular el crecimiento, diferenciación y metabolismo, en gran cantidad de tipos celulares y juega un importante papel durante la vida embrionaria y postnatal. El IGF-1 es el mediador de los efectos de la hormona de crecimiento (GH) y, a la vez regula sus niveles sistémicos a través de un “feed-back” negativo, disminuyendo la concentración de GH.^{141, 142} Además de mediador de las acciones de la GH, tiene también efectos paracrinos y autocrinos, no relacionados con la concentración plasmática de GH¹²⁶. A la vez, también la GH tiene acciones mediadas por el receptor de GH, directamente, sin implicar a IGF-1. Estas observaciones sugieren que la GH tiene acciones directas e indirectas (vía IGF-1) en el crecimiento y amplifica también la acción autocrina/paracrina de la IGF-1.¹⁴³

La síntesis de IGF-1 es hepática principalmente y en menor cantidad en otros tejidos. Actúa a través de un receptor tirosin-quinasa: IGF-R1. La expresión de IGF-1 está aumentada por la GH y por la insulina y está disminuida por la malnutrición.¹³¹ La mayoría del IGF-1 circula ligado a las IGF “binding proteins” (IGFBPs) y menos del 1% circula como forma libre. La forma libre de IGF-1 representa la forma activa y es el factor principal responsable de inhibir la producción pituitaria de GH. Han sido identificadas 6 IGFBPs, variando la afinidad del IGF-1 con cada una de ellas. La mayoría de IGF-1 que circula en suero es en forma de un complejo de 150 kDa, que consiste de IGF-1 (subunidad γ) ligado a la IGFBP-3 (subunidad β) y la subunidad α .¹⁴² Las IGFBPs son sintetizadas también mayoritariamente en el hígado y parece que su función es esencial para coordinar y regular la actividad biológica del IGF-1. Sus funciones son: a) transportar proteínas plasmáticas y controlar el paso de IGF-1 al espacio vascular; b) alargar la vida media del IGF-1; c) facilitar la localización específica tisular y celular; y d) modular directamente la interacción de IGF-1 con su receptor y, indirectamente, controlar sus acciones biológicas.¹⁴²

En la DM, los niveles plasmáticos de IGF-1 normalmente disminuyen, mientras que los niveles de GH aumentan. Hay controversia sobre si los niveles de IGF-1 aumentan durante la RDP. Merimee et al⁵¹ en 1983 encontraron niveles altos de IGF-1 en pacientes con RDP, pero este hallazgo no fue confirmado por otros investigadores.^{144, 145} En un estudio clínico reciente, 25 pacientes diabéticos con RDP fueron tratados con

pegvisomant (antagonista del receptor de la GH), durante 12 semanas. Aunque se constató una reducción plasmática de IGF-1 del 55%, en 16 pacientes la retinopatía no varió y 9 pacientes mostraron progresión. Estos resultados van en contra de que el IGF-1 plasmático sea un factor primario en la patogenia de la RDP. A pesar de esto, antes de descartar los antagonistas del receptor de GH, como posible tratamiento para la retinopatía diabética se deben realizar estudios con un número mayor de pacientes, durante un seguimiento mayor de 12 semanas.¹⁴⁶

“In vitro” la expresión de IGF-1 se realiza en las células del endotelio microvascular, pericitos y células del EPR. Las IGFBPs son también sintetizadas por las células retinianas.¹⁴⁷ Estos hallazgos sugieren que el complejo IGF-1/IGF-1R/IGFBPs participa en los eventos fisiológicos que ocurren en la retina. La contribución de IGF-1 libre del total en el vítreo es del 42% en los controles no diabéticos. Este porcentaje supera considerablemente el obtenido en suero (<1%) y sugiere que una cantidad de IGF-1 es producido intraocularmente y tiene un papel importante en la homeostasis retiniana.¹⁴⁸

Entre pacientes diabéticos, Simó et al ¹⁴⁸ realizaron un estudio entre pacientes con RDP y controles, comparando la concentración de la forma libre y unida a IGFBPs plasmática e intravítrea, concluyendo que existe un déficit de IGF-1 libre en el vítreo de pacientes con RDP, en comparación con los pacientes no diabéticos. Esto sugiere que en los pacientes con RDP hay, en realidad, una menor producción de IGF-1 libre en su retina. No se encontró relación entre los niveles de IGF-1 libre y la actividad de la RDP o la concentración de VEGF intravítrea. Tampoco se encontró diferencias significativas entre los pacientes con RDP que habían recibido panfotocoagulación y aquellos pacientes que no la habían recibido.

IV.3.2.3. PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR (PDGF)

PDGF es una proteína de 35 kDa purificada originalmente de plaquetas humanas. Se sintetiza en muchos tipos celulares, incluyendo la retina.¹⁴⁹ La familia de factores de crecimiento PDGF está integrada por cuatro cadenas de polipéptidos diferentes codificadas por cuatro genes distintos. Todos los PDGFs son sintetizados en forma de pro-proteínas que requieren proteólisis para realizar su función biológica.

Junto con el VEGF, los PDGFs forman una familia de factores de crecimiento con dominios conservados, llamado PDGF/VEGF dominio homólogo.¹⁵⁰ Los receptores de las isoformas del PDGF son proteínas tirosin quinasa (α i β receptores).¹⁵¹

El PDGF induce mitosis, quimiotaxis y favorece la supervivencia a fibroblastos, células endoteliales y células musculares lisas de los vasos y es un importante factor para el desarrollo y la regeneración tisular.¹⁴⁹

Los factores que incrementan la producción de PDGF son la hipoxia¹⁵² y la hiperglicemia en células endoteliales humanas cultivadas.¹⁵³ Cuando inducimos diabetes en ratones transgénicos con un solo alelo funcional de PDGF, hay una pérdida de pericitos retinianos, en comparación con los controles no diabéticos. Ratones transgénicos que sobreexpresan PDGF, desarrollan una proliferación de las células endoteliales, pericitos y células gliales, conllevando un desprendimiento traccional de la retina, similar a los estadios finales de la RD. Se ha visto que el PDGF actúa como factor de crecimiento paracrino sobre las células del EPR en cultivos, favoreciendo su proliferación y quimiotaxis y provoca la contracción del tejido fibrovascular que produce el DR.^{154, 155} Además, el PDGF-B induce la expresión de VEGF y endotelina-1 en pericitos retinianos de bovino en cultivo.¹⁵⁶ Así mismo, se han encontrado niveles elevados de PDGF en el vítreo de pacientes con proliferación vitreo-retiniana y RDP.^{157, 158} En conclusión, PDGF es un factor de supervivencia para la vascularización normal de la retina, pero su sobreexpresión puede ser deletérea y, en consecuencia, desempeña un papel clave en la patogenia de la RDP.

IV.3.2.4. BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR (bFGF)

También llamado FGF-2 es miembro de la familia FGF, que contiene unas 20 proteínas relacionadas estructuralmente. El bFGF es uno de los factores angiogénicos más potentes, juntamente con el VEGF.¹⁵⁹ Existen 4 isoformas de diferente peso molecular, debido a “splicing” diferencial o comienzo en diferentes codones de inicio: las isoformas de menor peso molecular son de 18 kDa, mientras que aquellas con mayor peso molecular son de 22, 22,5 y 24 kDa. Cada una de las isoformas cumplen funciones diferentes: así, las de menor peso molecular son liberadas por las células, para estimular la migración celular y la disminución de receptores de FGF, cuando se unen a receptores de superficie; mientras que las isoformas de peso molecular elevado están

primariamente localizadas en el núcleo y modulan la proliferación celular.¹⁵⁹ Los efectos biológicos del bFGF son mediados a través de la unión a 4 receptores tirosin quinasa, de alta afinidad (FGFR1-FGFR4) que, para activarse completamente, necesitan de la unión a proteoglicanos heparán sulfato de baja afinidad.¹⁶⁰

En la retina, el bFGF se expresa en la capa de células ganglionares, en la capa nuclear externa, en la membrana basal de las células de Müller, en las células endoteliales y en las células del epitelio pigmentario de la retina.^{161, 162} Los receptores del FGF están ampliamente distribuidos en la neurorretina, siendo los fotorreceptores las células donde éstos son más abundantes.^{160, 163}

Los efectos neurotróficos del FGF-2 son esenciales ante el daño a las células fotorreceptoras y ante la degeneración retiniana. Rousseau et al ¹⁶⁴ sugieren que el bFGF participa en la vascularización fisiológica, ya que en ratones que sobreexpresan una variable anómala del FGFR1 la angiogénesis coroidea y la vascularización retiniana normal están inhibidas.

La información sobre el papel del FGF en pacientes con RD es escasa. Lowe et al ¹⁶⁵ hallaron niveles de mRNA del FGF en ojos de ratones diabéticos, tres veces superiores que en ratones controles. Muchos autores han encontrado niveles aumentados de bFGF en muestras vítreas de pacientes diabéticos con RDP, especialmente en aquellos casos con altos grados de neovascularización,^{166, 167} aunque éste hallazgo no ha sido confirmado por otros autores.^{158, 167}

Parece ser que el FGF por sí solo no juega un papel esencial en la neovascularización retiniana. Podría ser necesaria la coexpresión del FGF, junto con el VEGF, que tendrían un efecto sinérgico, para explicar la neovascularización retiniana. Asahara et al, ¹⁶⁸ en un modelo animal de isquemia, demostraron que la administración combinada de VEGF y bFGF estimulaba, significativamente, un mayor y más rápido aumento de la circulación colateral, comparado con la administración de VEGF o bFGF solos.

IV.3.2.5. HEPATOCYTE GROWTH FACTOR (HGF)

HGF es una citoquina multipotencial de 90 kDa, sintetizada mayoritariamente en el hígado, que regula el crecimiento celular, la motilidad celular y la morfogénesis de diversos tipos de células. Su nombre se debe a la capacidad de inducir mitogénesis en

los hepatocitos, pero tiene también una potente función antiangiogénica.^{169, 170} Los receptores del HGF están en las células epiteliales y endoteliales por vía paracrina a través de un receptor tirosin quinasa de alta afinidad: cMet. Es secretado por las células como una cadena simple inactiva que, mediante proteólisis se convierte en forma heterodímera, que ya puede unirse a su receptor.¹⁷¹ La síntesis de HGF se produce en las células del endotelio vascular, fibroblastos, células gliales y células del epitelio pigmentario de la retina.¹⁷⁰

Muchos autores han encontrado concentraciones elevadas de HGF en el vítreo de pacientes con RDP. Simó et al,¹⁷² en 2005, realizaron el primer estudio donde correlacionaron la concentración de HGF intravítreo con los niveles séricos, descartando aquellos pacientes con posibles factores de confusión, como puede ser la hemorragia vítrea. En este estudio se observó que la media de concentración intravítrea de HGF es 25 veces superior a la concentración plasmática y no se encuentra correlación, estadísticamente significativa, entre la concentración de HGF vítrea y plasmática. Estos resultados apoyan el concepto de que la producción intraocular de HGF es la más importante en el aumento intravítreo de HGF en estos pacientes con RDP. En este mismo estudio, los pacientes no diabéticos también presentaban una concentración 8,5 veces superior de HGF intravítreo, con respecto al plasma.

IV.3.2.6. ANGIOPOYETINA

Las angiopoyetinas y los receptores TIE-2 (tirosin quinasa que contiene dominios similares a las inmunoglobulinas y dominios similares al factor de crecimiento epidérmico) constituyen un crucial complejo recientemente descubierto, no sólo en el desarrollo de la vasculatura normal, sino también en la angiogénesis postnatal. Existen dos subtipos de angiopoyetinas: la angiopoyetina-1, que tiene una acción agonista al receptor; y la angiopoyetina-2, que representa un inhibidor de la acción de la angiopoyetina-1/TIE-2 y está altamente expresada donde se localiza la remodelación vascular en el adulto, en particular en el aparato reproductor de la mujer.^{173, 174} Hay evidencia también de que, aparte de la acción inhibidora del TIE-2, la angiopoyetina-2 tiene igualmente una función en la angiogénesis endotelial.¹⁷⁵ La angiopoyetina-2 desestabiliza los vasos, un paso necesario para el proceso de remodelación que ocurre en la angiogénesis, mientras que en presencia de angiopoyetina-1, la activación del TIE-2 estabiliza los vasos. A diferencia del VEGF que, puede iniciar la neovascularización

tanto “in vitro” como “in vivo”, ni la angiopoyetina-1 ni la 2 solas pueden promover” in vivo” la neovascularización.^{173, 174}

La angiopoyetina-1 promueve la supervivencia de las células endoteliales “in vitro”, sin causar proliferación de las células endoteliales y estabiliza las interacciones celulares, con las células de soporte que las rodean. Jousseaume et al ¹⁷⁴ estudiaron la acción de la angiopoyetina-1, administrada intravítrea a ratones diabéticos y hallaron que ésta normalizaba el VEGF, comportando una reducción de la adhesión leucocitaria, en el daño endotelial y en la permeabilidad de la barrera hemato-retiniana. El PDGF, factor de crecimiento epidérmico, TGF- β , y la hipoxia disminuyen los niveles de mRNA “in vitro”.

La acción de la angiopoyetina-2 es diferente ya sea en presencia o no del factor de crecimiento VEGF. En presencia de este factor, tiene una acción pro-angiogénica; por el contrario, en ausencia de VEGF la angiopoyetina-2 promueve la muerte de las células endoteliales y la regresión vascular.¹⁷⁶ El VEGF aumenta la expresión de la angiopoyetina-2.¹⁷⁷ La diabetes también aumenta la expresión de angiopoyetina-2 en la capa de células ganglionares de la retina de ratones diabéticos.¹⁷⁸ Hammes et al ¹⁷⁹ demostraron que el aumento de angiopoyetina-2 juega un papel crítico en la pérdida de pericitos de la retina diabética. La angiopoyetina-2 está aumentada más de 30 veces en la retina de ratas diabéticas, precediendo el inicio de la pérdida de pericitos. Además, el déficit de angiopoyetina-2 previene la pérdida de pericitos inducida por la diabetes y reduce el número de segmentos capilares acelulares. Así, la inyección de la angiopoyetina-2 en ojos de ratas normales no diabéticas induce una pérdida de pericitos dosis dependiente.

IV.3.2.7. ERITROPOYETINA (EPO)

Un adulto normal produce más de 2 millones de eritrocitos por segundo o 138 millones cada minuto, un proceso principalmente regulado por la eritropoyetina (EPO). La EPO es una glicoproteína de 165 aminoácidos, miembro de la superfamilia de las citoquinas. Circula en una concentración de, aproximadamente, una centésima de la mayoría de hormonas. La EPO tiene un contenido de carbohidratos del 40% y está ligada al ácido siálico. Aumentando el contenido glicídico, a través de la glicosilación disminuye el “clearance” hepático. Cuando los niveles de EPO están disminuidos, el nivel de

hemoglobina puede disminuir hasta 7 g/dl. Alteraciones en la regulación de la EPO pueden resultar tanto en aumento de la concentración de eritrocitos como en la policitemia vera. La EPO estimula la proliferación y diferenciación de las células eritroides y disminuye su apoptosis.¹⁸⁰ La EPO no es regulada por la concentración de hemoglobina, a diferencia de otras hormonas, sino que la isquemia tisular y la vasoconstricción regulan su síntesis.¹⁸¹ La señal más importante que regula la producción de EPO es la hipoxia.¹⁸

El receptor de la EPO (EPO-R) es una tirosin kinasa JaK2, que activa la quinasa intracelular Ras y factores de transcripción nucleares. Los receptores de la EPO han sido identificados en múltiples tejidos. Actúa tanto en células eritroides como no eritroides, aumentando la diferenciación y proliferación celular y suprimiendo la apoptosis. Cuando estimula la eritropoyesis, actúa como hormona, mientras que en los otros tejidos la EPO realiza una función paracrina y autocrina. Por ejemplo, la EPO producida en el cerebro tiene un tamaño molecular menor, debido a una sialización y actúa en los EPO-R, tanto de las células productoras como de las células vecinas, mejorando la supervivencia después de una agresión.¹⁸²

Tiene un importante papel en el feto y en el desarrollo neonatal, así como en la fertilización. Estimula la producción de testosterona en el sexo masculino, mientras que regula el crecimiento vascular en el ciclo menstrual femenino. La EPO y su receptor están ampliamente distribuidos en la vida fetal y juegan un papel importante en el desarrollo del corazón, cerebro y tracto gastrointestinal, entre otros. En adultos, la EPO y su receptor se encuentra en el sistema nervioso central, retina, intestino, riñón, útero, páncreas, pulmón, gónadas y en todos los tipos musculares. Primariamente, la EPO es producida por los fibroblastos peritubulares del riñón, en respuesta a la hipoxia y en menor cuantía a la vasoconstricción. En situación de insuficiencia renal, disminuye la producción de EPO y, en consecuencia, se produce anemia. La deficiencia de EPO contribuye a la anemia normocítica normocrómica, que ocurre en los estados iniciales de la nefropatía diabética, a menudo previamente a la disminución de la función renal. Esto se produce porque los fibroblastos peritubulares se fibrosan en los estados iniciales de la neuropatía diabética. La hiperglicemia, el aumento de presión capilar y la proteinuria dañan las células epiteliales del túbulo proximal renal. Este daño resulta en la producción de citoquinas, que aumentan las células inflamatorias, produciéndose la

activación de los miofibroblastos intersticiales, que son los principales mediadores del proceso fibrótico.¹⁸³

La EPO muestra actividad angiogénica en las células vasculares endoteliales, estimulando su proliferación, migración y la angiogénesis “in vitro”, probablemente a través del receptor de EPO expresado en estas células.¹⁸⁴ Esta actividad angiogénica involucra varias cascadas de transducción de señales, como la Jav2 y la cascada del activador de transcripción 5 (STAT5). Además, se ha demostrado que “in vivo” la inhibición de la función de la EPO, mediante su receptor soluble, inhibe la angiogénesis.¹⁸⁴ Watanabe et al.¹⁸ examinaron “in vitro” la expresión y función de la EPO en el gel vítreo de pacientes con RDP y evaluaron el papel de la EPO en un modelo experimental de angiogénesis retiniana, aportando evidencia de que la EPO es un factor angiogénico potente, independiente del VEGF y es capaz de estimular la angiogénesis retiniana inducida por la hipoxia en la RDP. Se midieron los niveles de EPO y VEGF en el gel vítreo de 144 pacientes mediante radioinmunoensayo. Se midió también el potencial proliferativo del gel vítreo en cuanto al crecimiento de células endoteliales retinianas “in vitro”. Además, se usó un modelo murino de neovascularización retiniana, inducida por la isquemia y se usó para evaluar la expresión y regulación de la EPO “in vivo”. La concentración de EPO intravítrea fue significativamente mayor en los pacientes con RDP que en los pacientes controles no diabéticos. También fueron significativamente mayores los niveles de VEGF en pacientes con RDP que en los controles. El análisis de regresión multivariante indicó que los niveles de EPO estaban asociados a la RDP, independientemente de los niveles de VEGF e incluso que la EPO estaba más fuertemente asociada a la RDP que el VEGF. La expresión génica de EPO y VEGF está aumentada en la retina isquémica en el modelo murino y el bloqueo de EPO inhibe la neovascularización retiniana “in vivo” y también la proliferación celular endotelial en el vítreo de pacientes con retinopatía diabética “in vitro”.¹⁸ Jaquet et al.¹⁸⁵ estudiaron el potencial angiogénico de la EPO recombinante en las células endoteliales derivadas del tejido miocárdico humano adulto. Compararon, así mismo, el potencial angiogénico de la EPO con el del VEGF. Concluyeron que la EPO tiene el mismo potencial angiogénico que el VEGF, en las células endoteliales del tejido miocárdico adulto y que la EPO actuaba, además de promoviendo la angiogénesis, como factor de supervivencia de las células endoteliales.

Hernández et al ²⁰ analizaron los niveles de EPO en pacientes con EMD sin isquemia significativa y compararon la expresión de mRNA de EPO entre retinas humanas de pacientes no diabéticos y donantes diabéticos sin retinopatía. Hallaron niveles elevados en la concentración de EPO intravítrea, tanto en pacientes con RDP como en pacientes con EMD, en comparación con los pacientes controles no diabéticos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con EMD y RDP. La expresión de mRNA de EPO en la retina humana fue mayor entre los donantes diabéticos sin retinopatía, que entre los no diabéticos. Este estudio sugiere que hay otros factores, aparte de la isquemia retiniana, implicados en la sobreexpresión de EPO en la retinopatía diabética.

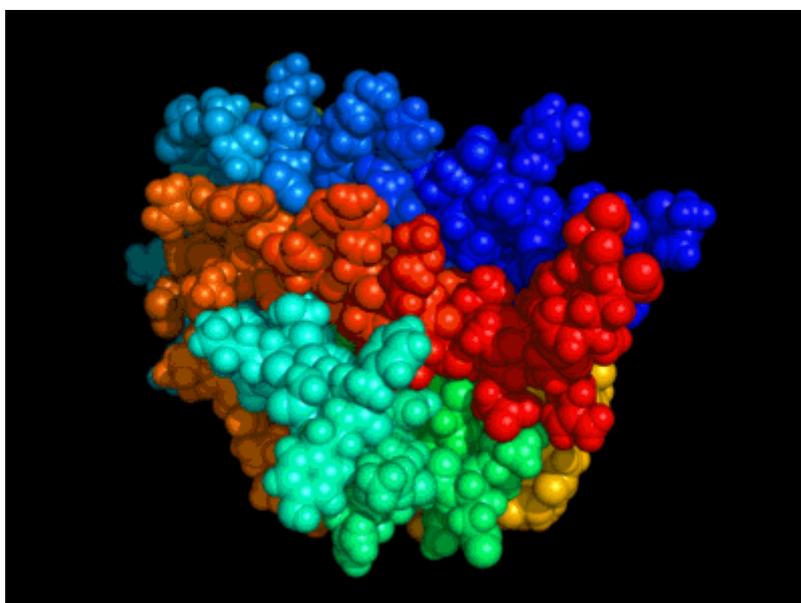


Fig 20: Molécula de Eritropoyetina (EPO) (Adaptado de www.eritropoyetina.com)

IV.3.3. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN IMPLICADOS EN LA PATOGENIA DE LA RDP

IV.3.3.1. HYPOXIA INDUCIBLE FACTORS (HIF)

HIF es un factor de transcripción heterodimérico, compuesto por una subunidad α lábil (120 kDa) y una subunidad β estable (92 kDa). La proteína HIF-1 α es producida en condiciones de normoxia e hipoxia. Cuando la tensión tisular de oxígeno es normal, HIF-1 α es rápidamente oxidada por los enzimas hidrolasas; pero cuando las células sufren hipoxia, la molécula HIF-1 α escapa a la degradación y empieza a acumularse,

produciendo la activación de un gran número de genes, como el del VEGF y la EPO. A través de este factor de transcripción, la función retiniana es sensible a la tensión de oxígeno y cualquier cambio en la presión de perfusión ocular afecta a las células retinianas, pudiendo autorregular su hemodinámica. La hipoxemia sistémica (enfermedad cardíaca o pulmonar) o cualquier enfermedad vascular en la retina pueden causar hipoxia retiniana, y todos estos eventos celulares comparten un denominador común: el factor de transcripción inducible por la hipoxia. La subunidad regulada es la HIF- α , ya que la subunidad β es sintetizada constitutivamente.

Se ha demostrado en múltiples estudios clínicos y experimentales que el factor de transcripción HIF-1 α tiene un rol en múltiples enfermedades retinianas, como la enfermedad de von Hippel-Lindau, RDP, retinopatía de la prematuridad y glaucoma. En la retinitis pigmentosa y en la retinopatía por altitud, la contribución es indirecta.

La disminución del flujo sanguíneo es el primer signo fisiológico observado después del inicio de la diabetes. La retina hipóxica produce factores de crecimiento que regulan el flujo vascular en la retina y la cavidad vítrea, causando angiogénesis y formación de tejido fibrovascular. La primera publicación que asociaba el HIF-1 α con la diabetes fue publicada por Chavez et al ¹⁸⁶ en el 2005 y mostraba que la expresión del HIF-1 α estaba aumentada en los nervios de ratones diabéticos.

HIF es un factor de transcripción que tiene un papel remarcable en todas aquellas enfermedades retinianas oxígeno-dependientes. Hasta la fecha se están desarrollando múltiples moléculas inhibitorias del HIF y se están iniciando múltiples ensayos clínicos.¹⁸⁷

IV.3.4. FACTORES ANTIANGIOGÉNICOS

IV.3.4.1. PIGMENT EPITHELIUM-DERIVED FACTOR (PEDF)

PEDF es una glicoproteína de 418 aminoácidos, con un peso molecular de 50 kDa. Comparte homología con la proteína Serpin (serine proteinase inhibitor), pero, a diferencia de ésta, no tiene actividad proteínasa. Entre las Serpinas no es la única molécula sin actividad antiproteasa, ya que la proteína “heat shock 47” (HSP47) tampoco tiene esta propiedad.¹⁸⁸ El PEDF fue identificado originalmente como componente extracelular de la matriz de los fotorreceptores retinianos. Las primeras

células de las que fue purificado fueron las del EPR humano. También es secretado por otros tipos celulares: como las células de Müller y por otros tejidos corporales. Se han registrado niveles sistémicos de PEDF en el rango de inhibición de la angiogénesis.¹⁸⁹

La primera propiedad atribuida al PEDF fue la neuroprotectora.^{188, 190} Imai et al ¹⁹¹ demostraron que la transferencia del gen del PEDF intraocular incrementaba significativamente la supervivencia celular, después de la exposición a luz excesiva. Además de la función neurotrófica y neuroprotectora, el PEDF tiene una importante función antiangiogénica y se encuentra en elevada cantidad en la cavidad vítrea. Es el responsable de la avascularidad de la córnea y del vítreo y en condiciones de hipoxia disminuye su secreción. El aumento de glucosa también disminuye la secreción de PEDF, por las células del EPR.

Las funciones biológicas del VEGF y el PEDF son similares en algunos casos, pero antagonistas en otros. Ambos son activos en la angiogénesis y en promover la supervivencia de las motoneuronas. En el sistema vascular endotelial, el VEGF y el PEDF tienen actividades opuestas proangiogénicas y antiangiogénicas, respectivamente. En las motoneuronas, ambas moléculas tienen una función neurotrófica y neuroprotectora.

IV.3.4.2. TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF- β)

TGF- β es un péptido multifuncional de 230 kDA, que controla la proliferación y diferenciación en muchos tipos celulares. TGF- β -1 es un péptido de 112 aminoácidos, que deriva de la proteólisis del segmento C-terminal de la proteína precursora. Los factores- β transformantes del crecimiento (TGF- β de Transforming Growth factors- β) constituyen una familia de mediadores locales, que regulan la proliferación y otras funciones de la mayoría de tipos celulares de los vertebrados. Los cinco miembros de la familia (TGF- β 1 al β 5) son proteínas de estructuras y funciones similares. Sus efectos sobre las células son variados. Dependiendo del tipo celular, pueden suprimir la proliferación, estimular la síntesis de matriz extracelular, estimular la formación del hueso y atraer células por quimiotaxis. Los TGF- β son sintetizados como largos precursores y secretados como complejos inactivos que, más tarde, son activados por procesamiento proteolítico.

Algunas otras proteínas de señal extracelulares están estructuralmente relacionadas con los TGF- β . Entre ellas, encontramos las activinas, que juegan un papel importante en la inducción del mesodermo en el desarrollo de los vertebrados, y las proteínas de morfogénesis del hueso, que estimulan la formación del hueso. En conjunto, estas proteínas constituyen la superfamilia TGF- β . Recientemente, se han clonado y secuenciado los cDNA que codifican algunos receptores de miembros de esta superfamilia. Estos receptores son proteínas que atraviesan una vez la membrana y con dominios serin/treonina quinasa sobre la cara citosólica de la membrana plasmática. Se trata de los primeros receptores serina/treonina quinasa que se han identificado, y todavía conocemos poca cosa acerca de los procesos de señalización que ellos activan.

En la retina, el TGF- β es producido por las células del EPR y los pericitos. En ella hay tres isoformas del TGF- β , la forma predominante en el mono es el subtipo II. La retina neural contiene 10 veces menos cantidad de TGF- β que el complejo EPR-membrana de Bruch-coroides. El aumento de TGF- β disminuye su propia producción. En cultivos de células de Müller de cerdos guineanos, la hipoxia disminuye la producción de TGF- β 2

IV.3.4.3. TROMBOSPONDINA

La trombospondina (TSP)-1 es una glicoproteína de la matriz extracelular, compuesta por 3 subunidades de unos 145 kDa, que se unen formando un homotrímero. Descrito inicialmente como componente de los α -gránulos plaquetarios. Existen 5 subtipos TSP, pero el más común es el TSP-1, que forma parte del coágulo sanguíneo. Es producido también por las células del epitelio pigmentario de la retina, las células de Müller y las células del endotelio corneal del ojo humano.

A nivel retiniano, la TSP-1 tiene una actividad predominantemente antiangiogénica. TSP-2 inhibe el crecimiento de las células endoteliales de la microvasculatura humana, mediante el FGF-2, el IGF-1, el factor de crecimiento epidérmico y el VEGF.¹⁹² Además, la TSP-1 inhibe la angiogénesis retiniana en el modelo de retinopatía de la prematuridad en ratas.¹⁹³ Sheibani et al¹⁹⁴ analizaron los niveles de TSP-1 en vítreo y humor acuoso de ratas normales y diabéticas. Encontraron una reducción estadísticamente significativa de los niveles de este factor antiangiogénico en las ratas diabéticas.

Los mecanismos por los cuales la TSP ejerce sus acciones antiangiogénicas son complejos. En cultivo de células endoteliales de la microvasculatura la expresión de TSP-1 es inhibida por la glucosa.¹⁹⁴ En condiciones de isquemia, el VEGF induce una respuesta bifásica de TSP-1: en la fase inicial el VEGF disminuye la expresión de TSP-1 y, por el contrario, en una segunda fase aumenta su expresión. La supresión inicial de la TSP-1 puede facilitar el inicio de la neovascularización, mientras que la inducción de TSP-1 en una segunda fase; probablemente, inhibe la excesiva neovascularización, como un mecanismo de retroalimentación, que previene la excesiva respuesta al VEGF.¹⁹⁵

El potencial terapéutico de la TSP está limitado por su tamaño y por sus múltiples acciones biológicas. Pero pequeños péptidos derivados de ella podrían ser una alternativa razonable, para prevenir el crecimiento patológico de vasos sanguíneos.

IV.3.4.4. ANGIOSTATINA

La angiostatina es una proteína de 38 kDa que proviene de la fragmentación del plasminógeno. Así, puede ser generada de la proteólisis del plasminógeno por metaloproteasas provenientes de los macrófagos o bien por la reducción de la plasmina.¹⁹⁶

Tiene una acción inhibidora de la angiogénesis potente.¹⁹⁷ Sus propiedades antiangiogénicas son, en parte, debidas a la inducción de la apoptosis de las células endoteliales.¹⁹⁶

La angiostatina puede ser detectada en el vítreo de pacientes con RDP, ligada a la panfotocoagulación retiniana previa.¹⁹⁸ Junto al PEDF y el TGF- β , la angiostatina podría mediar los efectos terapéuticos de la fotocoagulación retiniana en la RDP.

Hay evidencia experimental que sugiere las posibilidades terapéuticas de la angiostatina. Sima et al ¹⁹⁷ han mostrado que la inyección intravítrea de angiostatina en ratas con retinopatía inducida por oxígeno (que simularía la retinopatía del prematuro) disminuye significativamente la permeabilidad vascular, pero esto no ocurre en ratas normales. Este efecto es parcialmente mediado por el bloqueo de la sobreexpresión del VEGF. También se ha observado que la terapia génica mediada por virus de

angiostatina intraocular en modelos murinos, con retinopatía proliferativa, ha sido efectiva en inhibir la neovascularización retiniana.^{199, 200}

IV.3.4.5. SOMATOSTATINA (SST)

La somatostatina (SST) fue aislada en el 1973 como un tetradecapéptido, sintetizado por el hipotálamo bovino. Existen al menos seis grupos de hormonas o factores que se originan en el hipotálamo y que regulan la secreción de las hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis: el factor liberador de la hormona de crecimiento, la SST, la hormona liberadora de tirotrópina (protirelina), el factor liberador de corticotropina y el factor liberador de gonadotropinas. Los factores liberadores hipotalámicos se sintetizan por neuronas, situadas a lo largo del tercer ventrículo, cuyas fibras se proyectan para terminar en la eminencia media, cerca de los capilares portales. La comunicación entre hipotálamo e hipófisis anterior se establece a través de la circulación portal hipotálamo-hipofisaria; los factores liberadores producidos por las neuronas hipotalámicas, acceden a los capilares en la eminencia media y son transportados hacia el lóbulo anterior hipofisario. Las venas del sistema porta hipofisario aportan el flujo principal de sangre a la hipófisis anterior, y aportan tanto nutrientes como información desde el hipotálamo. La SST inhibe la liberación de GH y de tirotrópina de la hipófisis anterior, inhibiendo la liberación de secreciones de otras glándulas endocrinas: insulina, glucagón y de la mayoría de las hormonas gastrointestinales. Parece que también reduce la secreción gástrica ácida y la secreción pancreática.

La hormona de crecimiento (GH) se secreta por las células somatotróficas, que representan aproximadamente el 50% de las células de la hipófisis. La GH comparte una identidad estructural del 85% con el lactógeno placentario humano. Existen múltiples formas de GH en circulación. La forma predominante es la GH monomérica (22 kDa), pero las hay también oligoméricas (GH grande de 44 kDa) y más pequeñas (20 kDa). Todas estas variantes contribuyen a la concentración total de GH circulante. La GH muestra una liberación pulsátil característica. Los niveles circulantes son prácticamente indetectables durante gran parte del día y se producen de 4 a 8 picos de liberación después de las comidas, el ejercicio, durante el sueño de ondas lentas o sin causa evidente. La GH es necesaria para el crecimiento lineal normal. No es, sin embargo, el principal estimulador directo del crecimiento, ya que actúa indirectamente, induciendo la formación de las somatomedinas o factores de crecimiento, similares a la insulina

(IGF). La IGF-1 es la más importante del crecimiento postnatal y se produce fundamentalmente en el hígado. Estas somatomedinas van unidas a proteínas de transporte específicas (IGF-BP), que aumentan su vida media y hacen que las concentraciones se mantengan relativamente constantes a lo largo del día, a diferencia de la GH. La elevación de los niveles de IGF-1 ocurre durante el brote de crecimiento puberal y es responsable de la aceleración del crecimiento en esa etapa de la vida.

La GH posee varios efectos metabólicos: estimula la incorporación de los aminoácidos a las proteínas y aumenta la liberación de los ácidos grasos libres por los adipocitos. Tiene, además, un efecto antagonista de la insulina e inhibe la captación de glucosa por los tejidos. Los pacientes con déficit de GH son más susceptibles a la hipoglucemia inducida por la insulina y aquellos con exceso de GH desarrollan resistencia insulínica. La secreción de GH está controlada por una regulación hipotalámica dual: su secreción se estimula por la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH) y se inhibe por la somatostatina. La GH es la primera hormona que se altera cuando existe una lesión estructural del hipotálamo, o bien cuando aparece un panhipopituitarismo secundario a radioterapia o cirugía, dando un déficit de GH.¹⁸¹

Además de sus funciones hormonales, la SST tiene otras funciones biológicas, que incluyen la neurotransmisión y actividades antisecretoras y antiproliferativas. Encontramos SST distribuida ampliamente en el cuerpo humano, no sólo en numerosas regiones del sistema nervioso central, sino en otros tejidos como el tracto digestivo: estómago, intestino y páncreas

Hay dos formas predominantes biológicamente activas de la SST: SST-14 (1,6 kDa) y SST-28 (3,1 kDa). Ambas formas proceden de la proteína pro-SST, de su extremo carboxiterminal. Son las 2 principales formas que encontramos en la circulación sanguínea. Las aminopeptidasas titulares son capaces de convertir la SST-14 en SST-13, que también está presente en el plasma. La pro-SST es producida en la retina de todas las especies estudiadas hasta ahora, observándose diferente expresión de la SST-14 y de la SST-28.²⁰¹⁻²⁰³

Simó et al ¹⁵ observaron un déficit de SST vítrea en pacientes con RDP, comparado con los pacientes controles. El significativo aumento de la concentración de SST en el gel vítreo de los pacientes controles no diabéticos, en comparación con los niveles

plasmáticos sugiere que la SST tiene un papel relevante en la homeostasis retiniana. Además, los niveles disminuidos de SST en los pacientes diabéticos con RDP sugieren que pueden contribuir en el proceso de neovascularización retiniana. Hernandez et al ²⁰⁴ estudiaron la distribución de las diferentes variantes moleculares de la SST, en pacientes con RDP y pacientes controles no diabéticos. Pretendían evaluar la variante molecular de SST predominante en el gel vítreo y la variante molecular de SST, responsable del descenso de ésta en el gel vítreo de pacientes con RDP. Hallaron que la SST-28 es la variante predominante en el gel vítreo (5 veces superior que la SST-14 en los pacientes controles y 3 veces superior en los pacientes con RDP). La concentración de SST-14 intravítrea es similar en pacientes con RDP que en los pacientes controles. Al contrario, la concentración de SST-28 es menor en pacientes con RDP que en pacientes control. Pudieron concluir que el déficit de SST intravítrea detectada en los pacientes con RDP es debido a la SST-28.²⁰⁴

En las células que segregan la hormona SST, el AMP cíclico activa los genes que codifican esta hormona. La región reguladora del gen de la SST contiene una corta secuencia de DNA, denominada elemento respuesta al AMP cíclico, que también se encuentra en las regiones reguladoras de otros genes activados por el AMP cíclico. Esta secuencia es reconocida por una proteína específica reguladora de genes denominada proteína de unión a CRE (CREB, de CRE-Binding). Cuando CREB es fosforilada por la quinasa A sobre un residuo de serina, adquiere la capacidad de activar la transcripción de estos genes; la fosforilación estimula la actividad transcripcional de CREB sin afectar sus propiedades de unión al DNA. Si este residuo de serina se modifica por mutación, CREB resulta inactiva y ya no puede estimular la transcripción de ningún gen en respuesta a un incremento de los niveles de AMP cíclico.²⁰⁵

Los receptores de SST son receptores de alta afinidad, que ejercen su función en la superficie celular y pertenecen a la familia de receptores unidos a las proteínas G. Los receptores asociados a proteínas G constituyen la mayor familia de receptores de la superficie celular. En mamíferos se han descrito más de 100 miembros de esa familia. Los receptores asociados a proteínas G median las respuestas celulares de una enorme diversidad de moléculas señal, incluyendo hormonas, neurotransmisores y mediadores locales, de estructura tan variada como lo es su función. La lista incluye: proteínas y pequeños péptidos, aminoácidos y derivados de ácidos grasos. Un mismo ligando puede activar muchos miembros diferentes de la familia. A pesar de la diversidad

química y funcional de las moléculas señal que se unen a ellos, todos los receptores asociados a proteína G, de los que se conoce su secuencia de aminoácidos, a partir de estudios de secuenciación de DNA, tienen una estructura similar y están, casi con toda seguridad, relacionados evolutivamente. Están formados por una sola cadena polipeptídica, que atraviesa siete veces, arriba y abajo, la bicapa lipídica. Esta superfamilia de proteínas receptoras transmembrana incluye la rodopsina, proteína localizada en los ojos de los vertebrados y que es activada por la luz.²⁰⁵

Existen 5 receptores de la SST (SSTR1-5), que han sido identificados en tejidos oculares de varias especies mamíferas a través de estudios de hibridación “in situ”, inmunohistoquímico y “ligand binding”. El subtipo más ampliamente expresado es el subtipo SSTR2. SSTR2 actúa como señal de inhibición en multitud de cascadas intracelulares y resulta en la disminución de secreción de factores de crecimiento, inhibiendo la proliferación celular y la diferenciación en múltiples células de mamíferos. La clonación de los 5 subtipos de SSTR ha llevado al desarrollo de agonistas selectivos de los subtipos como, por ejemplo, el octreótido y lanreótido que son agonistas específicos del SSTR2. .

En los tejidos oculares humanos normales, los genes más expresados son el SSTR1-ir y el SSTR2-ir, seguidos del SSTR4. Los tres receptores más frecuentemente expresados se encuentran ampliamente representados en los tejidos oculares, en retina, coroides, cuerpo ciliar e iris. Los genes SSTR3 y SSTR5 solamente se detectan en la retina. Hay correlación entre la expresión génica de SSTR1 y SSTR2 y la localización inmunohistoquímica. Klisovic et al detectó cantidades de STR1-ir y SSTR2-ir en el EPR, en los segmentos internos y externos de los fotorreceptores y en células individuales de la capa nuclear interna y externa, así como en la capa de células ganglionares.²⁰⁶ Lambooj et al ²⁰⁷ detectaron SSTR2 en la capa plexiforme externa y en la capa de epitelio pigmentario de la retina, en retinas humanas no patológicas y en los vasos coroides de gran calibre.

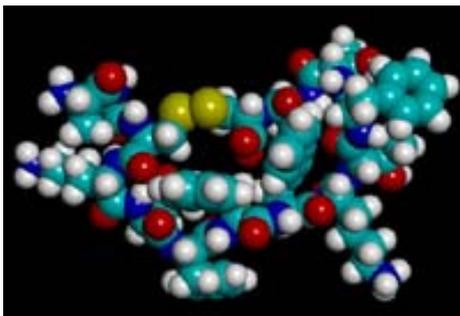


Fig 21: Molécula de SST. (Adaptado de www.javeriana.edu)

NH₂-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Try-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH
Somatostatina 14

NH₂-Ser-Ala-Asn-Ser-Asn-Pro-Ala-Met-Ala-Pro-Arg-Glu-Arg-Lys-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Tryp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH
Somatostatina 28

Fig 22: Molécula de SST-14 y SST-28. (Adaptado de www.javeriana.edu)

IV.3.5. USOS TERAPÉUTICOS

Las terapias aceptadas hasta ahora para el tratamiento de la RDP consisten en la destrucción retiniana, mediante la fotocoagulación panretiniana o crioterapia. Estos tratamientos no están exentos de riesgos y efectos secundarios para los pacientes como son: la disminución de visión nocturna, la disminución de la visión periférica, dolor y en algunos casos disminución de la agudeza visual. Algunos pacientes con RDP progresan a pesar del tratamiento con fotocoagulación láser. Por esto, el tratamiento farmacológico de la RDP es un tema de mucho interés científico.

IV.3.5.1. ANTI-VEGF EN EL TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

El papel esencial del VEGF en la neovascularización retiniana ha conllevado el desarrollo de inhibidores del VEGF en estudios experimentales. Para evitar efectos secundarios sistémicos, se han inyectado de forma intravítrea.

Muchos estudios clínicos están evaluando el papel de los fármacos anti-VEGF, para el tratamiento de las enfermedades oculares asociadas a la neovascularización retiniana y procesos exudativos. Uno de estos agentes es el pegaptanib (Macugen; Eyetech Pharmaceuticals; New York, NY), es un aptámero anti-VEGF, aprobado en diciembre

del 2004, para inyección intravítrea en el tratamiento de la degeneración neovascular asociada a la edad, ha demostrado también resultados esperanzadores en el tratamiento del edema macular y la neovascularización retiniana en los pacientes diabéticos. Bevacizumab (Avastin: Genentech, Inc.; South San Francisco, CA) es un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado, que actúa directamente contra el VEGF aprobado por la FDA (Food and Drug Administration), para el tratamiento del cáncer colorectal metastático. Las propiedades antiangiogénicas del bevacizumab, administrado por vía intravítrea, han sido estudiados en pacientes con neovascularización subretiniana,^{208, 209} edema macular,^{70, 210} hemorragia vítrea²¹¹ y neovascularización iridiana.²¹²⁻²¹⁵ Ranibizumab (Lucentis, Genentech) es un anticuerpo derivado del bevacizumab, con el sitio de unión al VEGF modificado. Es de menor tamaño que el bevacizumab y se ha desarrollado para difundir más eficientemente a través de la retina, después de la inyección intraocular, para el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad.²¹⁶

Con la evidencia de que el VEGF estaba relacionado con la fisiopatología de la retinopatía diabética proliferativa, se ofreció en estudios experimentales el bevacizumab intravítreo a pacientes con RDP severa. Avery et al²¹¹ publicaron en el 2006 un estudio en pacientes con neovascularización retiniana e iridiana secundaria a RDP, que no habían respondido al tratamiento convencional con panfotocoagulación retiniana, a los que se administró bevacizumab intravítreo (un alícuota de 0,12 ml de bevacizumab a una concentración de 2,25 mg/ml). Se administró a 45 ojos de 32 pacientes y la variable dependiente estudiada fueron los cambios en la fuga de la fluorescencia y la AV. No se describieron efectos adversos oculares ni sistémicos. Todos los pacientes mostraron disminución en la fuga de la fluorescencia completa o parcial en 1 semana después de la inyección; incluso en algunos ojos se demostró disminución de la neovascularización a las 24 horas de la inyección. En algunos pacientes, se evidenció una disminución de la neovascularización en el ojo adelfo, por lo cual se piensa que el bevacizumab puede llegar a la circulación general y surge la duda sobre la posible toxicidad sistémica protrombótica de la inyección intravítrea. En un paciente recurrió la neovascularización a las 2 semanas, mientras que ninguno de los otros pacientes presentó recurrencia a lo largo de 11 semanas, después de la inyección intravítrea. Se desconoce la periodicidad de inyecciones intravítreas de bevacizumab necesarias para asegurar la regresión de la neovascularización, ya que el papel del bevacizumab en el tratamiento de la RDP está

probablemente limitado por la duración del efecto. La panfotocoagulación retiniana, a pesar de sus efectos secundarios, es definitiva en la mayoría de los pacientes. Parece claramente preferible la panfotocoagulación al tratamiento con inyecciones intravítreas de antiVEGF de forma crónica. Pero hay multitud de situaciones clínicas, donde el efecto del bevacizumab resulta beneficioso, como son la opacidad de medios que impide la panfotocoagulación o en casos de RDP severa con edema macular, debido al glaucoma neovascular, o en aquellos casos en que existe edema macular que podría exacerbarse por la panfotocoagulación.²¹⁷ Finalmente, el bevacizumab puede ayudar en el tratamiento de la RDP con DR traccional, su administración preoperatoria puede disminuir el sangrado intraoperatorio al disecar el tejido fibrovascular. Al disminuir la hemorragia intraquirúrgica, se facilita la cirugía y la hace más segura, ya que disminuye la necesidad de elevar la PIO para la hemostasia en estos pacientes que suelen tener disminuida la perfusión retinováscular.

IV.3.5.2. POTENCIAL USO DEL OCTREOTIDO EN EL TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

A mediados del siglo pasado, Poulsen²¹⁸ describió una paciente con síndrome de Seehan posparto (infarto espontáneo de la hipófisis) que presentó regresión de la retinopatía diabética. Posteriores ensayos clínicos controlados, mostraron que la ablación pituitaria podía mejorar la RD. También se asociaba la magnitud de disminución de hormona del crecimiento (GH) con el éxito terapéutico.²¹⁹ La hipótesis de acción de la GH sobre la RD se basa en : 1) la observación que la RD se acelera durante la pubertad, que es cuando aumenta la sensibilidad tisular a la GH, 2) los pacientes diabéticos con hemocromatosis y destrucción infiltrativa de la hipófisis, tienen menos enfermedad ocular por la RD, 3) los pacientes con enanismo debido a déficit de GH, no tienen enfermedad macro o microvascular por la diabetes, 4) incluso pacientes con control adecuado de la glucosa, muestran exceso de secreción de GH, 5) el grado de RD se correlaciona con la hipersecreción de GH.

Al administrar somatostatina por vía parenteral tiene una vida media menor de 4 minutos. El octreótido es un análogo de la somatostatina, de larga duración. Este análogo es un octapéptido que contiene los cuatro aminoácidos (phe-trp-lys-ths), que se reconocen como esenciales para la actividad de la somatostatina. Se administra por vía subcutánea; su acción máxima se produce a las 2 horas de su administración, siendo su

tiempo de actuación de 12 horas y su vida media, aproximadamente, de 100 minutos. Se ha publicado que el octreótido es especialmente útil en el tratamiento de tumores que secretan péptido intestinal vasoactivo, en el síndrome carcinoide y en los glucagonomas. También puede utilizarse en la terapia de gastrinomas, tirotropinomas, tumores secretores de GHRF, tumores pancreáticos endocrinos y en casos de acromegalia. Otras aplicaciones de este compuesto pueden ser el tratamiento de la pancreatitis y la hemorragia gástrica debida a una úlcera o a una gastritis por estrés. Un efecto secundario que aparece con cierta frecuencia es dolor en el lugar de la inyección; otros efectos descritos son los trastornos gastrointestinales y la hiperglucemia posprandial.²²⁰

La demostración de los efectos inhibitorios y antiproliferativos de la GH fueron el origen de muchos ensayos clínicos en pacientes con RDP. Los resultados de los estudios iniciales no mostraron eficacia significativa, probablemente porque la dosificación fue muy corta y no suficiente para suprimir adecuadamente los niveles de GH o IGF-1. Los resultados fueron más prometedores cuando se administró el análogo de la somatostatina, en bomba de infusión continua durante 4 semanas. Hyer et al ²²¹ examinaron 9 pacientes con DM tipo I y 6 pacientes sanos controles que recibieron o bien 50 µg de octreótido subcutáneo, 3 veces al día, o una infusión continua subcutánea a una dosis de 500 µg/día, durante 20 semanas. Los pacientes diabéticos con retinopatía parecían más resistentes a los efectos supresores del octreótido. En todos los pacientes tratados se redujeron los niveles de IGF-1 en el rango del hipopituitarismo y se redujo también el grado de retinopatía.

Kirkegaard et al ²²² trataron pacientes con diabetes tipo I, con retinopatía diabética de base, con una infusión continua de octreótido subcutánea, a una dosis de 400 µg/día durante un año. Se administró el fármaco a 11 pacientes, juntamente con 9 individuos controles. Finalizaron el estudio 7 pacientes en cada grupo, entre éstos no se observaron cambios en la retinopatía entre los tratados y los controles. Los pacientes fueron evaluados al inicio del tratamiento, después de iniciar el tratamiento a los 2, 6 y 12 meses y 2 meses después de acabar el tratamiento. Los cambios se analizaron mediante AGF, pérdida de la permeabilidad de la barrera hemato-retiniana y retinografías. En Los pacientes tratados con octreótido, disminuyeron los niveles diurnos de GH y IGF-1. Tres pacientes salieron del estudio por diarrea intensa, efecto secundario del octreótido,

como resultado de los efectos somatoninérgicos en las hormonas gástricas. La posible razón por la que no se evidenció efecto del octreótido, es que los pacientes tratados presentaban estadios precoces de retinopatía. En estos estadios, el IGF-1 no juega un papel significativo; por lo tanto, reducir sus niveles no disminuiría favorablemente el impacto de la enfermedad.

En un pequeño pero significativo estudio, Mallet et al ²²³ describieron la infusión continua de 400 µg/d de octreótido, durante 20 meses, en pacientes con RDP que ésta había progresado a pesar de la panfotocoagulación retiniana. En dos de los cuatro pacientes estudiados, se detuvo la progresión de la RD y en dos de ellos regresó. Todos los pacientes presentaron una mejoría significativa de la agudeza visual.

Clemens et al ²²⁴ examinaron los efectos del octreótido en las complicaciones vasculares. Administraron el octreótido a dosis de 200 µg/d a 27 pacientes, durante 6 meses. Midieron la trombomodulina plasmática, como marcador del daño endotelial, y encontraron un 25% de disminución en la trombomodulina en un grupo tratado con octreótido, comparado con el grupo control.

Grant et al ²²⁵ realizaron un estudio en el que se administraba octreótido sistémico a 23 pacientes con RD no proliferativa severa o RDP precoz, no de alto riesgo y se randomizaban o bien al tratamiento convencional con fotocoagulación retiniana o al tratamiento con las máximas dosis toleradas de octreótido subcutáneo (200-5000 microg/d). Los exámenes oculares se realizaban cada 3 meses durante un mínimo de 15. Los pacientes recibían tratamiento sustitutivo de las hormonas tiroideas, para minimizar el riesgo de desarrollar hipotiroidismo, como resultado de la supresión de la hormona hipofisaria estimulante del tiroides. Los resultados mostraron que la progresión de la retinopatía fue significativamente menor en los pacientes tratados con octreótido. De los 23 pacientes tratados tan solo uno requirió panfotocoagulación, durante los 15 meses de seguimiento (en el noveno mes). De los 24 pacientes controles, 9 requirieron PFC entre el mes 1 y 8 del estudio. El octreótido suprimía significativamente los niveles séricos de IGF-1, en una media de 270 +/- 93ng/ml. Los niveles no cambiaron en los pacientes tratados convencionalmente. No había diferencias significativas en el IGF-1, previamente al tratamiento entre los pacientes tratados con octreótido y los controles. Este estudio concluyó que el octreótido, juntamente con un estado eutiroideo, podía

retardar la progresión de la RD no proliferativa severa o la RDP precoz y podía retrasar la aplicación de panfotocoagulación retiniana.

CAPÍTULO V

MATERIAL Y MÉTODOS

V. MATERIAL Y MÉTODOS

V.1. MATERIAL

V.1.1. PACIENTES

Nuestra serie se compone de aquellos pacientes diagnosticados de retinopatía diabética o edema macular diabético, de pacientes con oclusión venosa y de pacientes controles provenientes del hospital Vall d'Hebrón y del Instituto de Microcirugía Ocular.

Desde enero del 2004 a febrero del 2007 se llevo a cabo el estudio prospectivo de un grupo de 80 pacientes a los que se extrajeron muestras vítreas y sanguíneas. Dividimos éstos en 58 casos y 22 controles.

Entre los casos encontramos:

- 25 pacientes con retinopatía diabética proliferativa
- 11 pacientes con edema macular diabético
- 22 pacientes con enfermedad vascular retiniana

22 pacientes, que requirieron vitrectomía por otras enfermedades retinianas, se tomaron como grupo control:

- 13 pacientes con membrana epirretiniana macular
- 6 pacientes con agujero macular
- 3 pacientes con desprendimiento de retina

V.1.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes diabéticos a los que se realizaba cirugía vitreo-retiniana por retinopatía diabética proliferativa o edema macular diabético.

- Pacientes con enfermedad oclusiva venosa a los que se realizaba vitrectomía por OVCR con edema macular a los que se realizaba una neurotomía óptica radial, o ORVR con edema macular a los que se realizaba disección de adventicia +/- triamcinolona intravítrea.
- Muestras vítreas, previas a la inyección de triamcinolona, en los casos en que fuera ésta la opción terapéutica del edema macular secundario a OVR, o edema macular diabético.
- Pacientes controles, a los que se realizaba cirugía vitreo-retiniana por otro motivo.

V.1.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Fotocoagulación en los 3 meses previos a la cirugía vitreo-retiniana.
- Cirugía vitreo-retiniana previa.
- Hemorragia vítrea en los 3 meses previos a la cirugía vitreo-retiniana.
- Concentración intravítrea de Hemoglobina > 5 mg/ml
- Insuficiencia renal: creatinina > 120 μ mol/l.
- Presencia de anemia: hemoglobina < 12 g/dl.
- Pacientes pediátricos.
- Pacientes que, por sus características físicas o psíquicas, no puedan ser estudiados ni controlados.

V.1.1.3. CAPTACIÓN DE PACIENTES Y VISITA PREOPERATORIA

Los pacientes proceden de dos centros:

1) Hospital Vall d'Hebrón:

- Servicio de urgencias oftalmológicas. Ofrece servicio las 24 horas, abarcando un área de unos 2 millones de habitantes.
- Consultas externas de oftalmología. Provenientes de ambulatorios u otras subespecialidades. Con cobertura a una población aproximada de medio millón de habitantes.
- Provenientes de interconsulta del servicio de endocrinología de nuestro hospital.

2) Instituto de Microcirugía Ocular.

A los pacientes atendidos en urgencias se les realizó una primera visita, en la que se diagnosticó la patología retiniana y fueron enviados a consultas externas para completar el estudio preoperatorio y decidir el día de la intervención quirúrgica.

V.1.1.4. ANAMNESIS

Se realizó una anamnesis detallada a todos los pacientes, la cual incluía las siguientes variables:

- Datos de Filiación: edad, sexo, antecedentes patológicos (diabetes mellitus, hipertensión arterial y otros), antecedentes familiares y medicación sistémica y/o tópica habitual.
- Intervenciones quirúrgicas oculares previas.
- Fotocoagulación con láser argón previa.

V.1.2. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

V.1.2.1. EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

Exploración Oftalmológica preoperatoria

- Exploración del segmento anterior mediante biomicroscopía con lámpara de hendidura:

- Reacción en cámara anterior y en vítreo anterior.
- Descripción de la pseudofaquia (tipo de lente intraocular, estado de la cápsula posterior, capsulotomía Nd: YAG).
- Presión intraocular.

- Exploración del segmento posterior, mediante oftalmoscopia indirecta y biomicroscopía del fondo de ojo, con lente de Goldmann (lente de contacto de tres espejos, HAAG-STREIT AG 903L Berne.SI).

Al finalizar la visita, se propuso a los pacientes la intervención quirúrgica. Se les informó de la técnica quirúrgica a realizar, la anestesia, los riesgos y las posibles complicaciones derivadas de la intervención. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. Después de la primera visita se asignó a cada paciente una fecha de intervención. Todas las cirugías se realizaron de manera ambulatoria, controlando al paciente el día después de la intervención.

Exploración Oftalmológica Postoperatoria

- Segmento anterior mediante biomicroscopía:

- Reacción en cámara anterior y en vítreo anterior.
- Estado de la conjuntiva, córnea y LIO.
- Presión intraocular.

- Segmento posterior:

- Aplicación retiniana.
 - Estado y alteraciones de la mácula.
 - Complicaciones.
- Exploración del ojo contralateral.

V.1.2.2 ANGIOGRAFÍA FLUORESCÉINICA

En determinados casos se realizó angiografía fluoresceínica, en el período preoperatorio y postoperatorio, para documentar el grado de isquemia retiniana, definido como la falta de perfusión de los capilares retinianos. Para este propósito, usamos el método desarrollado en el Central Retinal Vein Occlusion Study Group.^{20, 226} Se instilaron colirios midriáticos, Tropicamida (Tropicamida colircusí, ALCON CUSÍ, S. A.) y Fenilefrina (Fenilefrina clorhidrato colircusí, ALCON CUSÍ, S.A) como parte del protocolo de la realización de retinografías y angiografía fluoresceínica. El retinógrafo IMAGENET 2000 (TOPCON TRC-50 IX. FREO. 50/60 HZ) fue el utilizado en todos los casos. El protocolo fotográfico incluye planos angiográficos del polo posterior y la periferia media. El número de áreas de disco fueron contadas por el mismo oftalmólogo, en cada caso. Según este protocolo, los ojos con más de 10 áreas de disco de no perfusión capilar fueron clasificados como isquémicos.

V.2. MÉTODO

V.2.1 TÉCNICA QUIRÚRGICA

La cirugía se realizó bajo anestesia retrobulbar con Svedocain 0.75% (Hidrocloreuro de Bupivacaína sin adrenalina, INIBSA) mezclada a partes iguales con Mepivacaína al 2% (B BRAUN) inyectando 4 a 5 ml en el cono muscular. También se administró medicación sistémica, para proporcionar anestesia, sedación y analgesia en los casos considerados como necesarios por el anestesista que controla al paciente durante la intervención.

Previo a colocar el campo operatorio estéril se instila solución de povidona yodada al 5% (Almirall Prodesfarma) en los fondos de saco y superficie conjuntival y al 10% en los párpados y las zonas adyacentes de la cara.

Vamos a describir por separado las cirugías realizadas: la orientada a extraer la muestra vítrea y después inyectar triamcinolona intravítrea y la vitrectomía pars plana convencional.

En los pacientes en que la cirugía indicada es la inyección de triamcinolona intravítrea para el tratamiento del edema macular, ya sea de causa diabética o posterior a trombosis venosa retiniana, procedemos primero a entrar a la cavidad vítrea por pars plana bajo infusión de aire con el vitreotomo portátil (ten Thousand Outcome; Alcon, Irving, CA). Se obtiene una muestra vítrea no diluida de 0,5 a 1 ml, mediante aspiración a una jeringa de 5 ml unida al vitreotomo. Posteriormente, en la misma aguja, se instila la solución de triamcinolona 4mg en cavidad vítrea. No es necesaria la sutura, ya que el vitreotomo portátil tiene un calibre de 25 G.

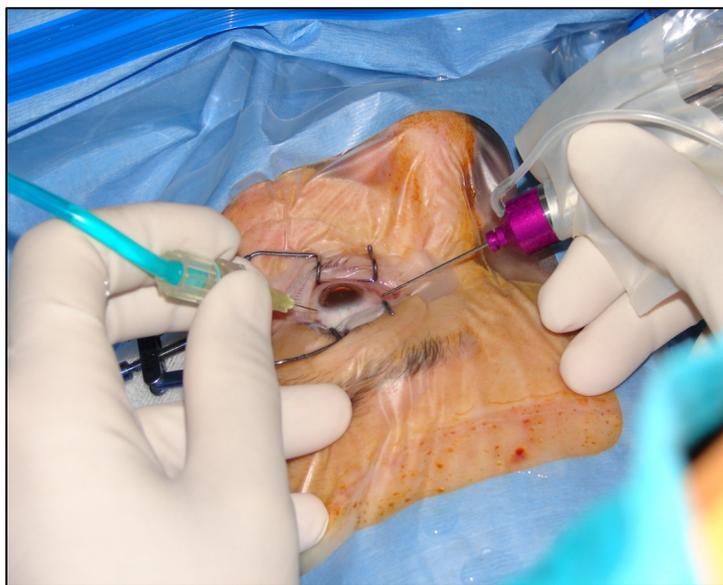


Fig 23: Realización de muestra vítrea bajo aire con el vitreotomo portátil (ten Thousand Outcome; Alcon, Irving, CA).



Fig 24: Vitrectomo en punta de lanceta para toma de muestra vítrea.



Fig 25: Aspiración con llave de 3 pasos y jeringa de contenido vítreo durante la vitrectomía bajo aire.

En los pacientes en que realizamos vitrectomía pars plana, con la técnica quirúrgica indicada en cada caso (neurotomía óptica radial, disección de la adventicia, disección de la proliferación vitreo-retiniana y panfotocoagulación,...), la cirugía se inicia con la apertura y disección de la conjuntiva, en el sitio donde realizaremos las esclerotomías. Los vasos sangrantes son cauterizados con diatermia bipolar en campo húmedo. Las esclerotomías son de 20 G.

Se coloca la vía de infusión. Se utilizaron 2 tipos: sin iluminación (SYNERGETICS, INC. Cat#REF:30.21) y con iluminación (Alcon®/Infinitech REF 8065030540), dependiendo del criterio del cirujano.

En la VPP con tres puertas de entrada, se utilizó un sistema de visualización de campo amplio (Ocular Instruments Inc, Bellevue, WA) con lentes de contacto de 130°. La muestra vítrea se realiza al inicio de la cirugía bajo aire, se extraen de 0,5 a 1 ml de

vítreo no diluido en una jeringa de 5 ml. Posteriormente, se inicia la infusión intravítrea de BSS (Balanced Salt Solution).

Al finalizar la cirugía vitreo-retiniana las esclerotomías fueron revisadas cuidadosamente, mediante indentación escleral.

Finalmente, realizamos el cierre de las esclerotomías con Vycril 7-0 (Poliglactin 910, V546.Ethicon).

Previo a la oclusión del ojo, instilamos povidona yodada al 5% en los fondos de saco y en la superficie conjuntival.

Al final del procedimiento quirúrgico se redactó, en todos los casos, la descripción del mismo, anotando incidencias, observaciones y complicaciones intraoperatorias.

Durante el postoperatorio, se prescribió una pauta de antibióticos y corticoides tópicos durante una semana: Tobradex® colirio (dexametasona 1 mg y tobramicina 3mg, Alcon Cusi, S.A) 1 gota cada 4 horas, De Icol pomada® (cloranfenicol 10 mg y dexametasona 0,5 mg en 1 g de pomada, Alcon Cusi, S.A.), antes de ir a dormir, y Ciclopléjico® (Ciclopentolato, ALCON CUSÍ, S.A) 1 gota cada 8 horas.

Durante la vitrectomía se extrajeron muestras de sangre venosa en tubos estériles que contienen EDTA (0,054 ml, 0,34 mol/l) y aprotinina (500 KIU/ml).

V.2.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras vítreas fueron inmediatamente guardadas en hielo y centrifugadas a 16000 g durante 5 minutos a 4 deg C. Los sobrenadantes fueron congelados a -80 deg C hasta la determinación de laboratorio.

Las muestras de sangre venosa fueron centrifugadas inmediatamente a 3000 g durante 10 minutos a 4 deg C. Del plasma obtenido, se extrajo el alícuota y fue congelado a -80 deg C hasta el análisis.

Las muestras provenientes de los pacientes del Instituto de Microcirugía Ocular eran extraídas en la sala quirúrgica de este hospital y, posteriormente, en medio frío,

trasladadas y procesadas en el laboratorio del Hospital Vall d'Hebrón, guardándose a -80°C hasta su análisis.

V.2.3. DETERMINACIÓN DE LABORATORIO

En la patogenia de la enfermedad vascular retiniana son más importantes las concentraciones de factores de crecimiento y citoquinas de la cavidad vítrea que los niveles sistémicos de estas moléculas. En este estudio usamos el vítreo de pacientes sometidos a cirugía vitreo-retiniana, para explorar indirectamente la síntesis de estos factores angiogénicos y antiangiogénicos por la retina. Para esto es importante tener en cuenta que los estudios que evalúan la concentración de estos factores de crecimiento se encuentran con varios problemas:

1. La hemorragia vítrea, frecuente en la RDP y en las Trombosis venosas con neovascularización, puede producir un flujo masivo de proteínas séricas en el vítreo. Así, anulando la utilidad de la medición de los factores de crecimiento para estudiar la producción intraocular de estos, este problema puede ser resuelto excluyendo las muestras vítreas en las que detectamos hemoglobina.
2. En segundo lugar, los niveles séricos de una proteína específica pueden influir su concentración vítrea y, en consecuencia, esto debe ser considerado, tanto en el diseño del estudio como en el análisis de los resultados. Por esta razón, se realiza una determinación plasmática de los niveles de la proteína, tanto en los pacientes casos como controles. Otra opción es calcular el ratio de la concentración vítreo/plasma para cada paciente, que es la opción que realizamos en nuestro caso. Así, la elevación de los niveles de una proteína particular en la cámara vítrea, no necesariamente significa su producción intraocular y puede, simplemente reflejar el incremento no específico de las proteínas vítreas totales, debido a la difusión sérica. En consecuencia, hemos corregido la concentración intravítrea del péptido bajo estudio por la concentración de proteínas vítreas totales. El desarrollo de esta simple metodología, ha permitido racionalizar el uso del vítreo como muestra para conocer aquellos eventos que tienen sitio en la retina.

V.2.3.1. DETERMINACIÓN DE SOMATOSTATINA

La determinación de Somatostatina-28 se realizó mediante radioinmunoensayo (RIA) (Euro-Diagnostica and Phoenix Pharmaceutical, Belmont, CA). Los límites inferiores de detección fueron de 20 pg/ml.

Para evitar interferencias no específicas de las globulinas que podrían unirse a los anticuerpos contra la somatostatina, se extrajo la somatostatina, previamente a su determinación tanto de la muestra plasmática como de la vítrea. Con este objetivo, 1 ml del alícuota de plasma se acidificó (0,1 ml 1 M HCl por ml) y fue filtrado a través de cartuchos que contenían octadecylsilyl silica (Sep Pak; Waters, Miljord, MA) y después lavados con 20 ml de ácido acético al 4% en H₂O. Los péptidos retenidos fueron diluidos en 2,0 ml de metanol y fueron evaporados hasta secarse y disueltos en 200 µl de dilución.

V.2.3.2. DETERMINACIÓN DE ERITROPOYETINA

La Eritropoyetina fue determinada mediante RIA (Incstar-Diasorin). El coeficiente de variación intra e interdeterminación fue de 4,8% y 10,6% respectivamente. El límite de detección inferior fue de 4,4 mU/ml.

V.2.3.3. DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA INTRAVÍTREA

La determinación de los niveles de hemoglobina vítrea se realizó mediante espectrofotometría (Uvikon 860, Kontron Instruments, Zurich), que permite la medida de la concentración de hemoglobina micromolar. El límite mínimo de detección es de 0,03 mg/ml.

V.2.3.4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS VÍTREAS

Las proteínas vítreas son medidas con un método micro-turbidimétrico, con un autoanalizador (Hitachi 917; Boehringer, Mannheim) previamente validado. Este método, basado en la reacción del benzetonium choride, es un método altamente específico para la detección de proteínas y tiene una mayor sensibilidad y reproducibilidad que el método clásico de Lowry. El nivel inferior de proteínas detectado es de 0,02 mg/ml. El coeficiente de variación intra e interdeterminación está entre 2,9% y 3,7%, respectivamente.

V.2.4. MÉTODO ESTADÍSTICO

El trabajo estadístico fue realizado mediante el paquete de análisis estadístico SPSS® versión 12.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago: SPSS Inc.; 2001).

La descripción de las variables categóricas se llevó a cabo mediante el cálculo de frecuencias, número de casos y porcentajes. Las variables continuas incluidas en el análisis han sido resumidas a través de estadísticos descriptivos: media, mediana, moda, desviación estándar, máximo, mínimo, rango, skewness y varianza. Para las variables categóricas, como por ejemplo el sexo o el tipo de oclusión venosa, el gráfico escogido en el programa SPSS ha sido el de sectores. En cambio, variables continuas, como la edad, han sido representadas con un histograma.

Dado que el número de pacientes de cada subgrupo de estudio no supera los 15, los test de hipótesis para la estadística inferencial han sido no paramétricos. El test de hipótesis, usado para comparar la concentración intravítrea de proteínas entre 2 grupos a estudio, ha sido la U de Mann Whitney. El test empleado para comparar las concentraciones de proteínas intravítreas y de SST28 y EPO en sangre, entre los 4 grupos a estudio, ha sido el test estadístico de Kruskal Wallis. En caso que hayan existido diferencias entre los 4 grupos, se han comparado entre sí los grupos con el test U de Mann Whitney. El nivel de significación estadística se ha establecido en una $p < 0,05$.

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

VI. RESULTADOS

VI.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Nuestra serie se compone de 80 pacientes, a los que se ha realizado muestra vítrea y de sangre. La mayoría de los pacientes, 81,3% de ellos, son procedentes del Hospital Universitario Vall d'Hebrón (65 pacientes). 15 pacientes, 18,8% de ellos, proceden del Instituto de Microcirugía ocular.

Todos los pacientes cumplían los criterios de inclusión descritos en el apartado de material y métodos.

En 53 pacientes se analizaron las concentraciones de somatostatina y eritropoyetina en las muestras vítreas y sanguíneas. En 17 pacientes tan solo se analizó la concentración de somatostatina y en 10 se analizó la eritropoyetina únicamente.

El número de muestras de cada grupo es el siguiente: 11 de EMD (13,8%), 25 de RDP (31,3%), 22 de OVR (27,5%) y 22 control (27,5%).

GRUPOS

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos EMD	11	13,8	13,8	13,8
RDP	25	31,3	31,3	45,0
OVR	22	27,5	27,5	72,5
CONTROL	22	27,5	27,5	100,0
Total	80	100,0	100,0	

VI.1.1. SOMATOSTATINA: DESCRIPCIÓN DE LOS CASOS

Las concentraciones de somatostatina se analizaron en 70 de los 80 pacientes totales (87,5%), ya que en 10 de los pacientes tan solo se analizó la concentración de eritropoyetina.

GRUPOS SST-28

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	EMD	8	11,4	11,4	11,4
	RDP	25	35,7	35,7	47,1
	OVR	15	21,4	21,4	68,6
	CONTROL	22	31,4	31,4	100,0
	Total	70	100,0	100,0	

De los pacientes en los que se analizó la somatostatina, 8 presentaban edema macular diabético, 25 Retinopatía Diabética Proliferativa, 15 Oclusión venosa retiniana y había 22 controles (13 membrana epirretiniana macular, 6 con agujero macular y 3 con desprendimiento de retina).

Las distribuciones y los gráficos dentro de este grupo van a ser sobre el total de 70 pacientes, en los que se analizó la somatostatina, excluyendo dentro de estos resultados aquellos pacientes en los que tan solo se analizó la eritropoyetina los cuales se incluirán en el siguiente apartado (eritropoyetina: descripción de los casos).

VI.1.1.1. DISTRIBUCIÓN POR SEXO

La serie incluye 36 hombres (51,4%) y 34 mujeres (48,6%).

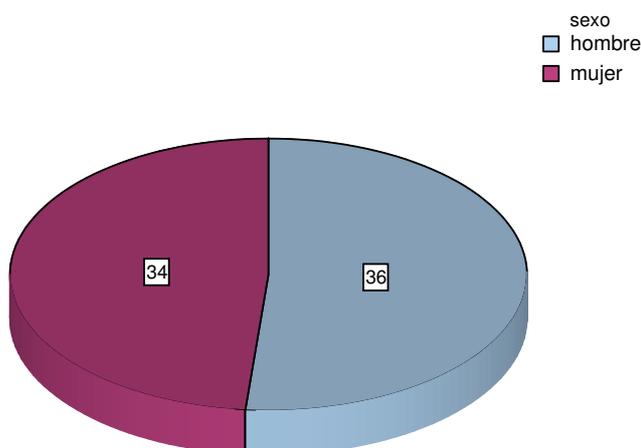


Fig 26: Distribución según el sexo

Un 50% de pacientes con EMD son hombres y un 50% mujeres. Entre los pacientes con RDP son 14 hombres (56%) y 11 mujeres (44%). En la serie de pacientes con ORV son 12 hombres (80%) y 3 mujeres (20%). Entre los pacientes controles encontramos 6 hombres (27,3%) y 16 mujeres (72,7).

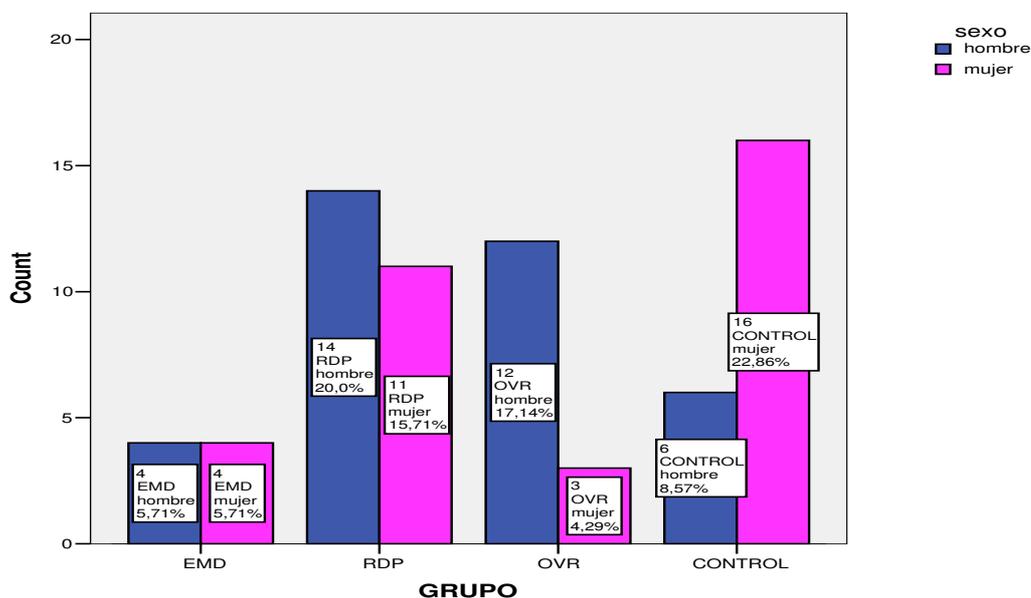


Fig 27: Distribución según el sexo en cada grupo a estudio en un diagrama de barras

VI.1.1.2. DISTRIBUCIÓN POR EDAD

En nuestra serie la edad se distribuye en un rango de 31 a 89 años, con una media de 65,21 años y una mediana de 66 años. Existen 2 modas de 65 y 81 años. La desviación estándar es de 14,53 años. El rango es de 58 años, habiendo casos en todas las décadas que engloba el rango global. La distribución es poco uniforme. Así, los pacientes de edad comprendida entre la sexta y la octava década representan el 43,7% del total y, en contrapartida, hay décadas extremas, como la que representan los mayores de 85 años, con tres casos o los menores de 40 años con un 7% de los casos. Si observamos la distribución por percentiles existe una tendencia a mayor número de casos en la edad adulta. Así, el percentil 25 se sitúa en 58 años, el 50% de los pacientes tienen una edad mayor de 65 años; y la edad no supera los 77 años en el 75% de los pacientes. La distribución de pacientes tiende a la normalidad, presentando una asimetría a la izquierda como muestra el valor negativo del “skewness” -0,680.

Análisis por edad

N	Válidos	70
	Faltan	0
Media		65,21
Mediana		66,00
Moda		65(a)
Desviación estándar		14,536
Varianza		211,301
“Skewness”		-,680
Desviación estándar del “Skewness”		,287
Rango		58
Mínimo		31
Máximo		89

a Existen múltiples modas. Se muestra el valor más pequeño.

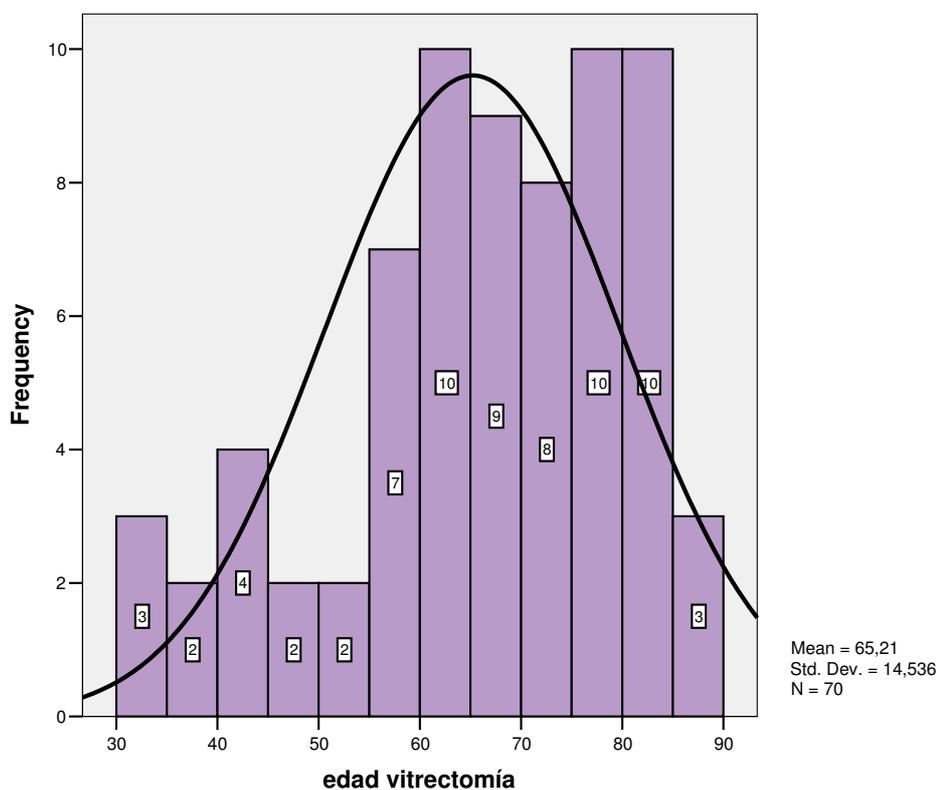


Fig 28: Histograma de la edad en la que se realizó la vitrectomía

No hay diferencias en cuanto a la edad entre los 4 grupos a estudio. Los pacientes con EMD tienen una edad media de 63,38 +/- 14,1 años; aquellos con RDP de 64,36 +/- 15,39, 63,53 +/- 15,1 es la media de edad en los pacientes con OVR y 68 +/- 13,8 en los

RESULTADOS

pacientes control. La desviación estándar es muy parecida en los 4 grupos a estudio, siendo la menor la de los pacientes control 13,8 y la mayor la de los pacientes con RDP de 15,39 años. El rango mayor lo encontramos en los pacientes control que es de 58 años.

Estadística descriptiva pacientes con EMD

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad vitrectomía	8	37	81	63,38	14,172
N válida	8				

a GRUPO = EMD

Estadística descriptiva pacientes con RDP

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad vitrectomía	25	31	83	64,36	15,397
N válida	25				

a GRUPO = RDP

Estadística descriptiva pacientes con OVR

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad vitrectomía	15	40	82	63,53	15,104
N válida	15				

a GRUPO = OVR

Estadística descriptiva pacientes controles

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad vitrectomía	22	31	89	68,00	13,856
N válida	22				

a GRUPO = CONTROL

VI.1.1.3. OJO AFECTO

El 47,1% de las muestras pertenecían a ojos derechos y el 52,9% a ojos izquierdos.

No había diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos a estudio. Entre los pacientes con EMD había 4 muestras de ojo derecho y 4 de ojo izquierdo (50%). Las

recogidas en pacientes con RDP eran 12 (48%) del ojo derecho y 13 (52%) del ojo izquierdo. Las muestras de pacientes con ORV 7 (46,7%) eran del ojo derecho y 8 (53,3%) del ojo izquierdo. Entre los pacientes control en 10 (45,5%) se analizó el ojo derecho y en 12 (54,5%) el ojo izquierdo.

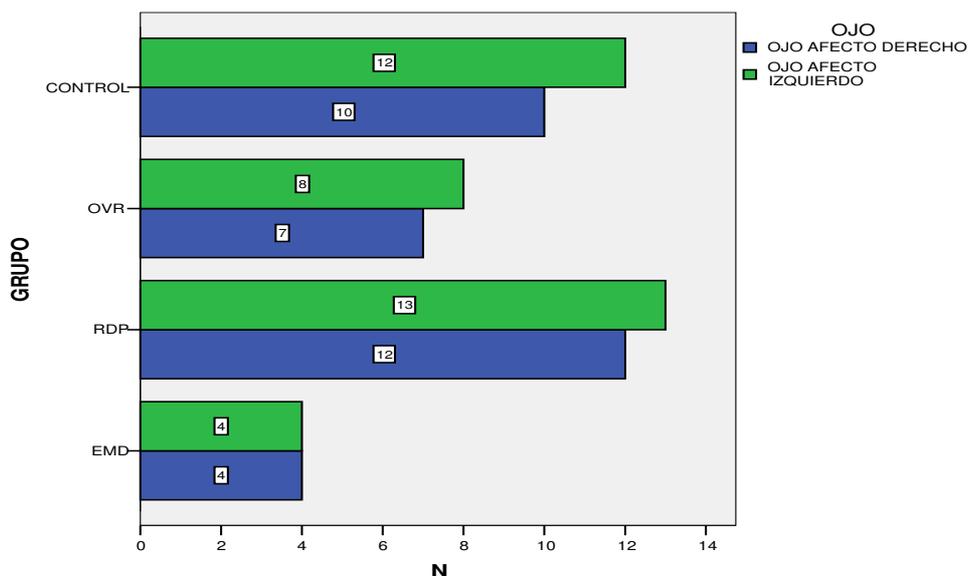


Fig 29: Distribución según el ojo del que se extrajo la muestra vítrea

VI.1.1.4. FACTORES DE RIESGO

Entre los pacientes diabéticos, 5 (13,5%) están diagnosticados de DM tipo I y 32 (86,5%) de DM tipo II. Entre aquellos diabéticos de tipo I es más frecuente la RDP que el EMD, ya que 4 (16%) de los pacientes con DM tipo I presentan RDP y solo 1 (9%) presenta EMD. Destaca la edad de los pacientes con DM tipo I, más joven que la de los pacientes con DM tipo II.

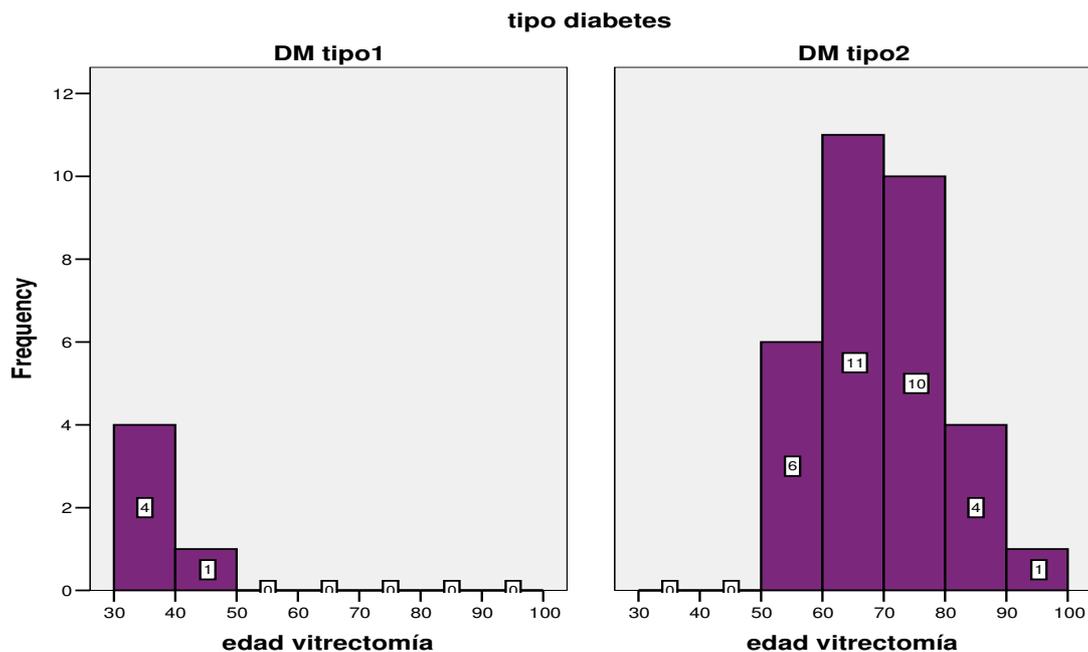


Fig 30: 2 histogramas que muestran la edad según la DM sea de tipo I (histograma de la izquierda) o de tipo II (histograma de la derecha)

En cuanto al tratamiento de la DM ningún paciente incluido en el estudio seguía tratamiento únicamente con dieta. El 42,4% era tratado con hipoglicemiantes orales y el 57,6% precisaba insulino terapia. De los pacientes con EMD la mayoría (87,5%) seguía tratamiento con hipoglicemiantes orales. En cambio, de los pacientes con RDP el 72% estaba tratado con insulina. Todos los pacientes con DM tipo I eran tratados con insulina. El 53,6 % de los pacientes con DM tipo II también.

El 38,6% de la serie eran hipertensos. El 25% de los pacientes con EMD también lo eran. El 44% de los pacientes con RDP tenían HTA. La mayoría de los pacientes con OVR,11, estaban diagnosticados de HTA: 73,3%. Dentro del grupo control 3 pacientes presentaban HTA (13,6%).

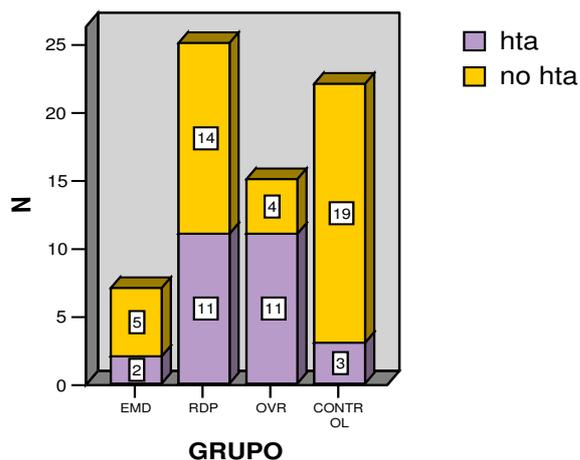


Fig 31: Diagrama de barras que muestra el porcentaje de pacientes hipertensos en cada uno de los grupos a estudio

En el 26,7% de los pacientes con OVR la oclusión era de rama venosa y en el 73,3% restante la oclusión era de vena central de la retina.

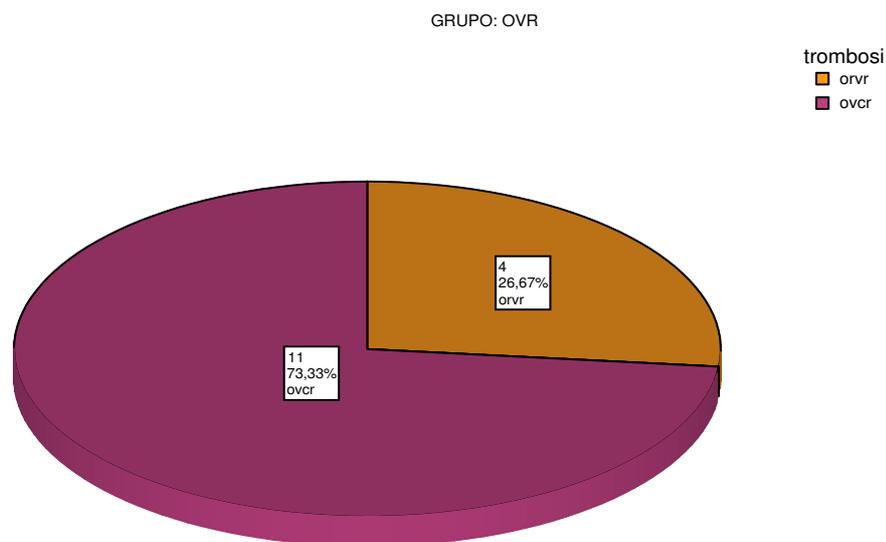


Fig 32: Dentro del grupo de OVR este diagrama en pastel muestra la distribución según la oclusión sea de rama venosa o de vena central de la retina.

VI.1.2. ERITROPOYETINA: DESCRIPCIÓN DE LOS CASOS

Las concentraciones de eritropoyetina se analizaron en 63 pacientes. De éstos, 11 presentaban EMD (17,5%), 12 RDP (19%), 18 OVR (28,6%) y 22 eran del grupo

RESULTADOS

control (34,9%); entre ellos, 13 con membrana epirretiniana macular, 6 con agujero macular y 3 con desprendimiento de retina .

GRUPO EPO

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Valido	EMD	11	17,5	17,5	17,5
	RDP	12	19,0	19,0	36,5
	OVR	18	28,6	28,6	65,1
	CONTROL	22	34,9	34,9	100,0
	Total	63	100,0	100,0	

Las distribuciones y los gráficos, dentro de este grupo, van a ser sobre el total de 63 pacientes, en los que se analizó la eritropoyetina, excluyendo dentro de estos resultados aquellos pacientes en los que tan solo se analizó la somatostatina.

VI.1.2.1. DISTRIBUCIÓN POR SEXO

La serie incluye 36 mujeres (57,1%) y 27 hombres (42,86%)

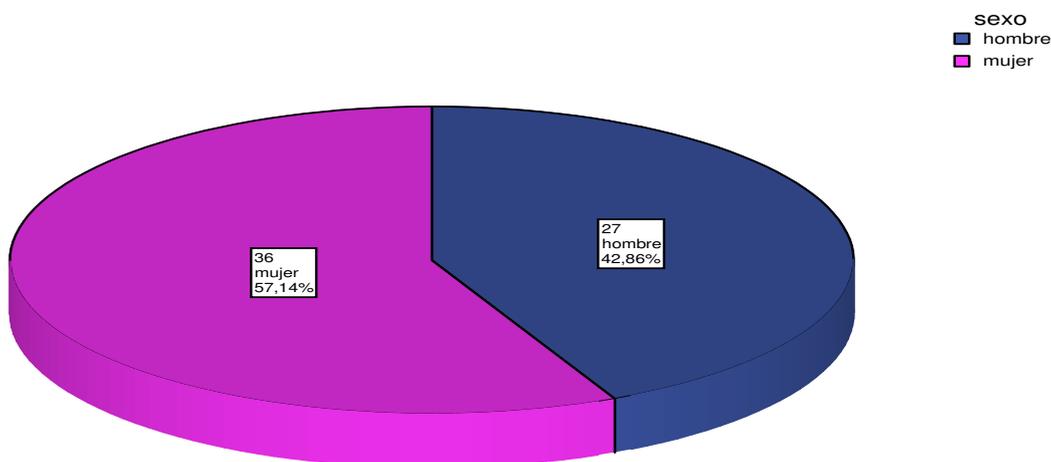


Fig 33: Distribución según el sexo.

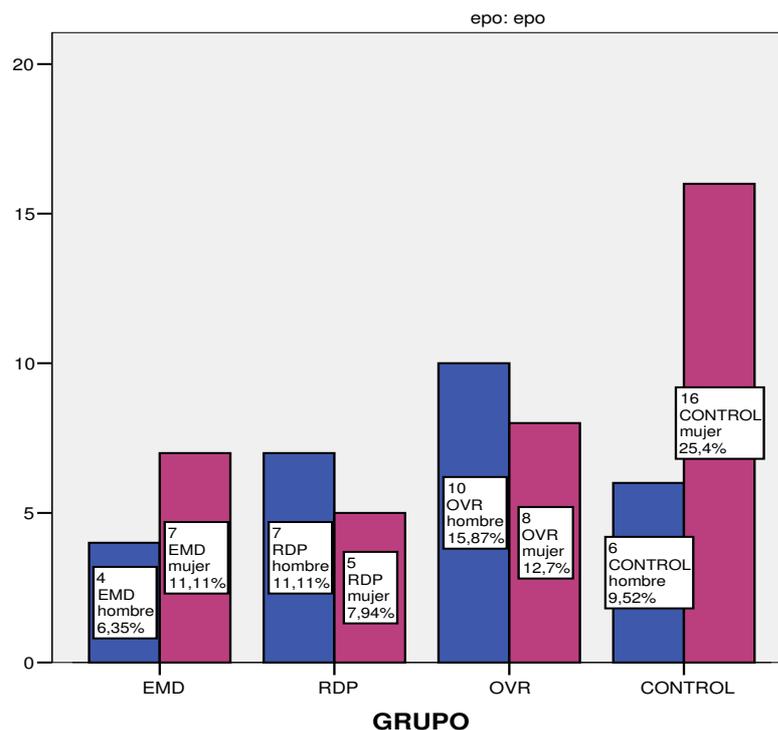


Fig 34: Distribución según el sexo en los 4 grupos a estudio mostrado mediante diagrama de barras.

Entre los pacientes con EMD la serie incluye 7 mujeres (63,6%) y 4 hombres (36,4%). En el grupo de RDP hay 7 hombres (58,3%) y 5 mujeres (41,7%). En el grupo de OVR encontramos 10 hombres (55,6%) y 8 mujeres (44,4%). El grupo control tiene 6 hombres (27,3%) y 16 mujeres (72,7%).

VI.1.2.2. DISTRIBUCIÓN POR EDAD

En la serie de pacientes, en los que se ha analizado la eritropoyetina, la edad media es de 66,62 años, con una desviación estándar de 13,15. El rango es de 58 años, con una edad mínima de 31 y una edad máxima de 89. Existen 3 modas de 76, 77 y 81 años. El skewness de -0,887 significa que presenta una distribución asimétrica a la izquierda, pero el valor menor a la desviación estándar muestra que se asemeja a la distribución normal. El percentil 25 se sitúa a una edad de 59 años y el percentil 75 a los 76 años.

Análisis por edad

N	Válidos	63
	No válidos	0
Media		66,62
Mediana		67,00
Moda		76(a)
Desviación Estándar		13,150
Varianza		172,917
“Skewness”		-,887
Desviación estándar del “Skewness”		,302
Rango		58
Mínimo		31
Máximo		89

a Existen múltiples modas. Se muestra el valor menor.

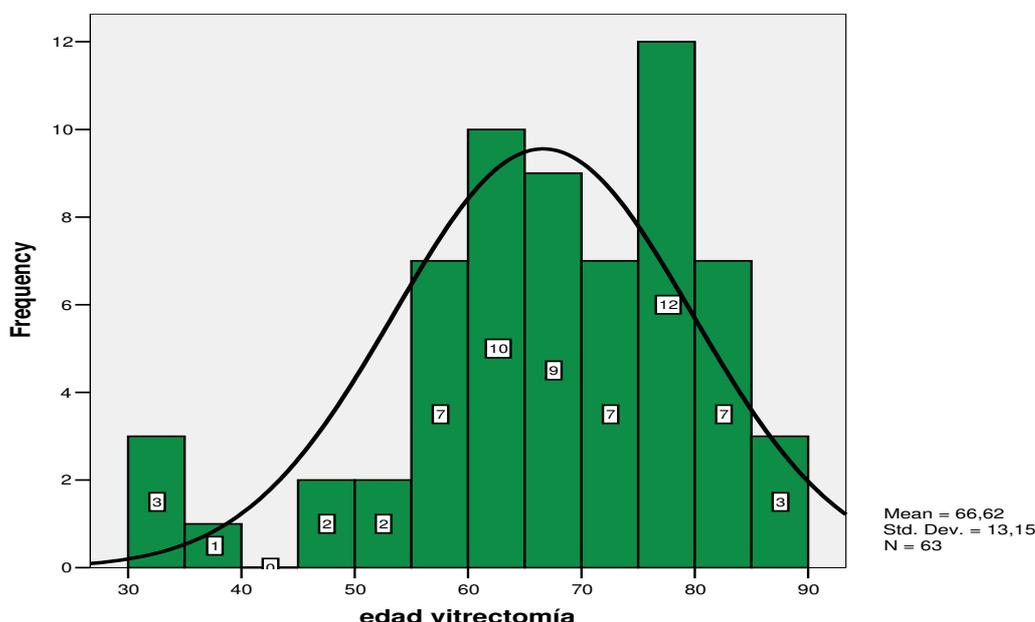


Fig 35: Histograma que muestra la edad de realización de la vitrectomía.

La edad de realización de la vitrectomía es muy similar entre los 4 grupos a estudio y no hay diferencias estadísticamente significativas. Los pacientes con EMD tienen una edad media de 65,55 +/- 12,6 años, aquellos con RDP 63,33 +/- 17,9, 67,78 +/- 8,8 es la media de edad en los pacientes con OVR y 68 +/- 13,8 en los pacientes control. La desviación estándar es diferente en los diferentes grupos a estudio. Así, los pacientes con OVR presentan una desviación estándar menor de 8,85 y los pacientes con RDP son

RESULTADOS

los que la presentan mayor de 17,97 años. Los otros dos grupos a estudio EMD y controles presentan una desviación estándar similar de 12,62 y 13,85, respectivamente.

Estadística descriptiva pacientes con EMD

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
edad vitrectomía	11	37	81	65,55	12,620
N válido	11				

a GRUPO = EMD

Estadística descriptiva pacientes con RDP

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
edad vitrectomía	12	31	81	63,33	17,976
N válido	12				

a GRUPO = RDP

Estadística descriptiva pacientes con OVR

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
edad vitrectomía	18	54	82	67,78	8,855
N válido	18				

a GRUPO = OVR

Estadística descriptiva pacientes controles

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
edad vitrectomía	22	31	89	68,00	13,856
N válido	22				

a GRUPO = CONTROL

VI.1.2.3. OJO AFECTO

En 30 casos (47,6%) el ojo afecto fue el derecho y en 33 (52,4%) el izquierdo.

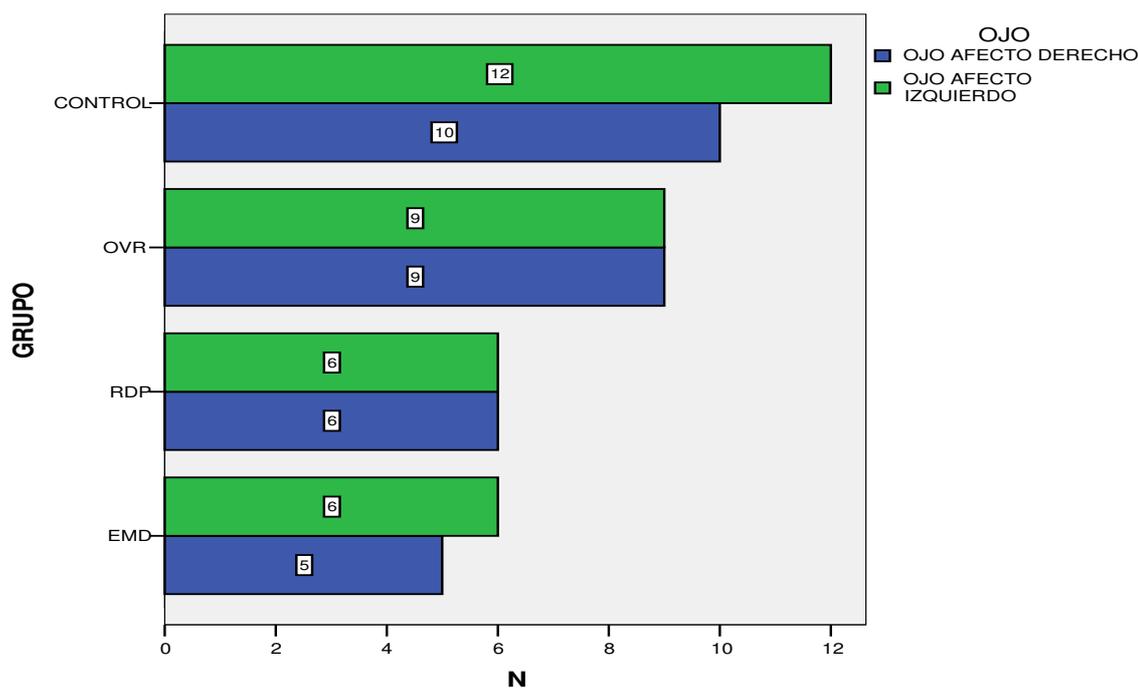


Fig 36: Distribución según el ojo al que se extrajo la muestra vítrea en los 4 grupos a estudio

Por grupos, los pacientes con RDP y con OVR presentaban igual número de ojos izquierdos afectados que derechos (6 pacientes en cada grupo en RDP y 9 en OVR). En los pacientes con EMD, 5 muestras eran del ojo derecho (45,5%) y 6 del ojo izquierdo (54,5%). Entre los controles, 10 muestras pertenecían al ojo izquierdo (45,5%) y 12 al ojo derecho (54,5%).

VI.1.2.4. FACTORES DE RIESGO

El tipo de DM más frecuente fue el de tipo II, con un 83,3% de los casos (20 pacientes). Entre los pacientes con EMD este porcentaje se elevaban al 90,9% (10 pacientes) y entre aquellos con RDP, un 75% presentaba DM tipo2 (9 pacientes). Por edades, todos los pacientes en que la vitrectomía se realizó a una edad inferior a 50 años habían sido diagnosticados anteriormente de DM tipo I y aquellos pacientes con una edad superior a los 50 años eran diabéticos tipo II.

En la serie de pacientes, 22 presentaban HTA (34,9%). El porcentaje mayor de hipertensos se encontró en el grupo de OVR con 12 hipertensos (66,7%). El siguiente grupo con mayor número de pacientes diagnosticados de hipertensión fue el de RDP

con 5 hipertensos (41,7%). Entre los pacientes EMD tan solo 2 presentaban HTA (18,2%) y entre los controles 3 (13,6%).

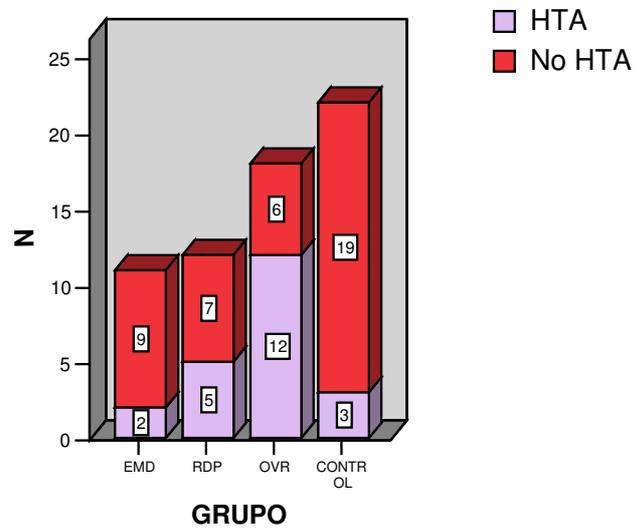


Fig 37: Diagrama de barras que muestra el porcentaje de pacientes con HTA en cada uno de los grupos

Entre los pacientes con OVR, 5 presentaban únicamente oclusión de rama (27,8%) y 13 oclusión de vena central de la retina (72,2%).

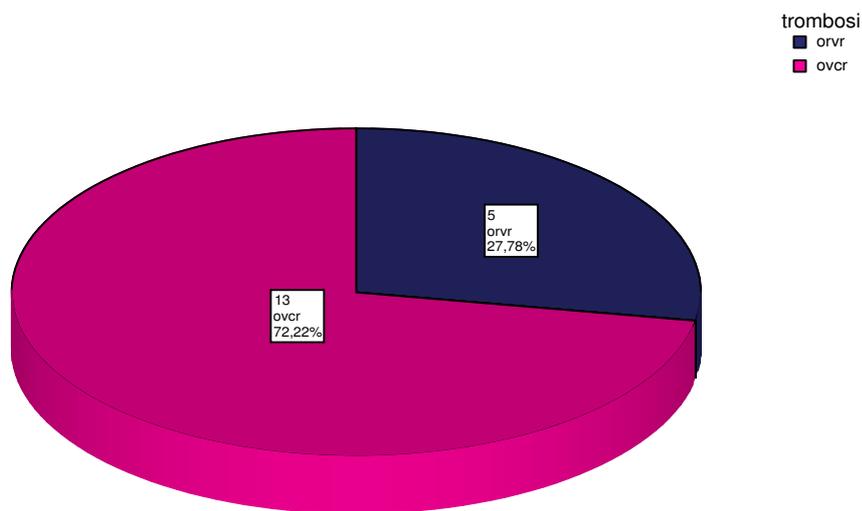


Fig 38: Entre el grupo de pacientes con OVR este diagrama en pastel muestra la distribución según la oclusión sea de rama venosa o sea de vena central de la retina..

VI.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL. TEST DE HIPÓTESIS

VI.2.1. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: COMPARABILIDAD ENTRE LOS GRUPOS

VI.2.1.1. COMPARABILIDAD ENTRE LOS GRUPOS SEGÚN LA EDAD

No existen diferencias estadísticamente significativas, respecto a la edad, entre los 4 grupos a estudio ($p=0,719$).

Ranks

GRUPO		N	Media de rangos
Edad vitrectomía	EMD	11	41,32
	RDP	25	40,44
	OVR	22	36,30
	CONTROL	22	44,36
Total		80	

Test Estadístico de Kruskal Wallis(a,b)

	Edad vitrectomía
Chi-Square	1,343
Df	3
Significación estadística	,719

a Kruskal Wallis Test
b Grouping Variable: GRUPO

VI.2.1.2. COMPARABILIDAD ENTRE LOS GRUPOS SEGÚN EL SEXO

No existen diferencias, en cuanto al sexo, entre los 4 grupos a estudio ($p=0,655$).

sexo

	N Obsevada	N Esperada	Residual
Hombre	38	40,0	-2,0
Mujer	42	40,0	2,0
Total	80		

Test estadístico(a)

	Sexo
Chi-Cuadrado(a)	,200
Df	1
Significación estadística	,655

VI.2.1.3. COMPARABILIDAD ENTRE LOS GRUPOS SEGÚN EL OJO AFECTO

No existen diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos a estudio, respecto al ojo afectado ($p=0,502$).

OJO

	N Observada	N Esperada	Residual
OJO AFECTO DERECHO	37	40,0	-3,0
OJO AFECTO IZQUIERDO	43	40,0	3,0
Total	80		

Test estadístico(a)

	OJO
Chi-Cuadrado(a)	,450
Df	1
Significación estadística	,502

VI.2.1.4. COMPARABILIDAD ENTRE LOS GRUPOS SEGÚN EL TIPO DE DIABETES

Entre los pacientes diabéticos no existen diferencias estadísticamente significativas, en cuanto al tipo de diabetes en la concentración de EPO ($p=0,092$) ni en la de SST28 ($p=0,877$).

		N	Rango Medio
sst_vit	DM tipo1	3	7,17
	DM tipo2	26	15,90
	Total	29	
epo_vit	DM tipo1	4	13,00
	DM tipo2	20	12,40
	Total	24	

a diabetes = si

Test Estadístico(a,b,c)

	sst_vit	epo_vit
Chi-Square	2,833	,024
Df	1	1
Significación estadística	,092	,877

a Kruskal Wallis Test

b Variable de agrupamiento: tipo diabetes

c diabetes = si

VI.2.1.5. COMPARABILIDAD ENTRE LOS GRUPOS SEGÚN EL TIPO DE TROMBOSIS

No existen diferencias estadísticamente significativas, en cuanto al tipo de trombosis venosa, en la concentración intravítrea de SST28 ($p=0,695$) ni en la concentración de EPO ($p=0,104$).

		N	Rango Medio
sst_vit	Orvr	4	7,25
	Ovcr	11	8,27
	Total	15	
epo_vit	Orvr	5	12,80
	Ovcr	13	8,23
	Total	18	

a GRUPO = OVR

Test Estadístico(a)

	sst_vit	epo_vit
Chi-Square	,154	2,645
Df	1	1
Significación Estadística.	,695	,104

a Kruskal Wallis Test

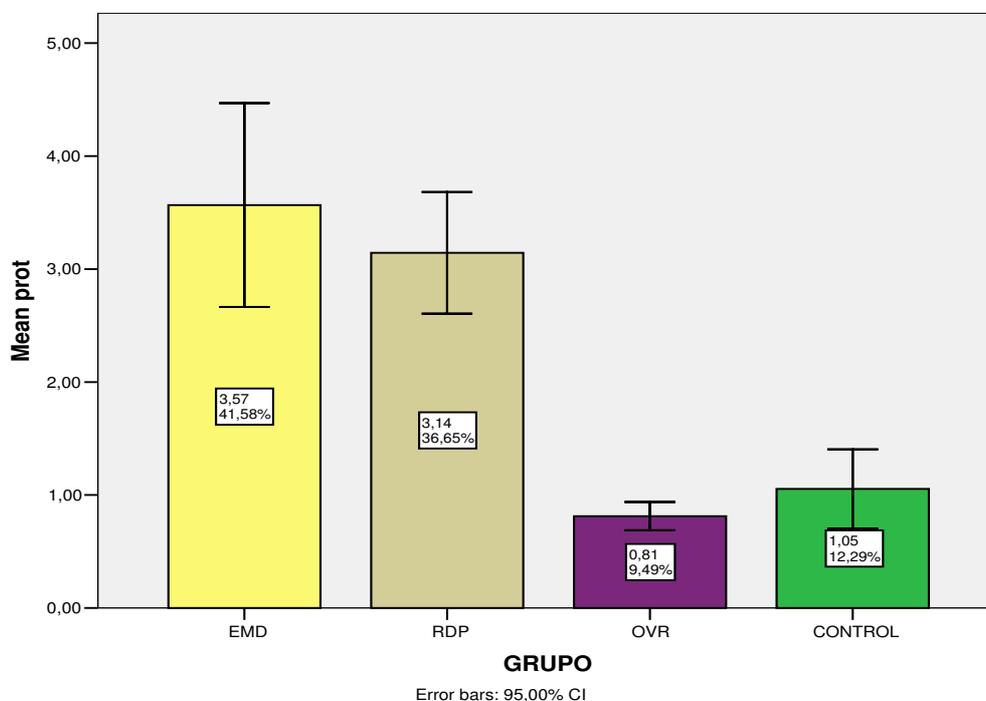
VI.2.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: PROTEÍNAS INTRAVÍTREAS

Entre los 4 grupos, existen diferencias estadísticamente significativas en el nivel de proteínas intravítreas ($p=0,000$). La concentración de proteínas intravítreas es muy similar entre los pacientes con EMD de 3,56 mg/mL y los pacientes con RDP de 3,14mg/mL, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p=0,566$).

La concentración de proteínas intravítreas es significativamente mayor en pacientes con EMD de 3,56 mg/mL que en pacientes con OVR de 0,8136 mg/mL ($p=0,000$) y que en pacientes control, con una concentración de 1,05 mg/mL ($p=0,000$).

Existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración mayor de proteínas intravítreas en pacientes con RDP (3,14mg/mL) que en pacientes con OVR: 0,813mg/mL y control:1,05mg/mL (p de ambas= $0,000$).

Es ligeramente mayor la concentración de proteínas vítreas de los pacientes control: 1,05mg/mL que la de los pacientes con OVR: 0,813 mg/mL, pero no existen diferencias estadísticamente significativas ($p=0,493$).



Fi 39.: Concentraciones intravítreas proteínas en pacientes con EMD, RDP, OVR y controles.

VI.2.3. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: SOMATOSTATINA PLASMÁTICA

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos de pacientes ($p=0,77$). Las concentraciones medias halladas fueron: pacientes con EMD 185,3 +/- 58 pg/mL; pacientes con RDP 198,24 +/-100 pg/mL y controles 160,5 +/- 106,4 pg/mL. En tan solo un paciente se analizó la concentración de SST-28 plasmática del grupo con OVR, siendo ésta de 151,6 pg/mL.

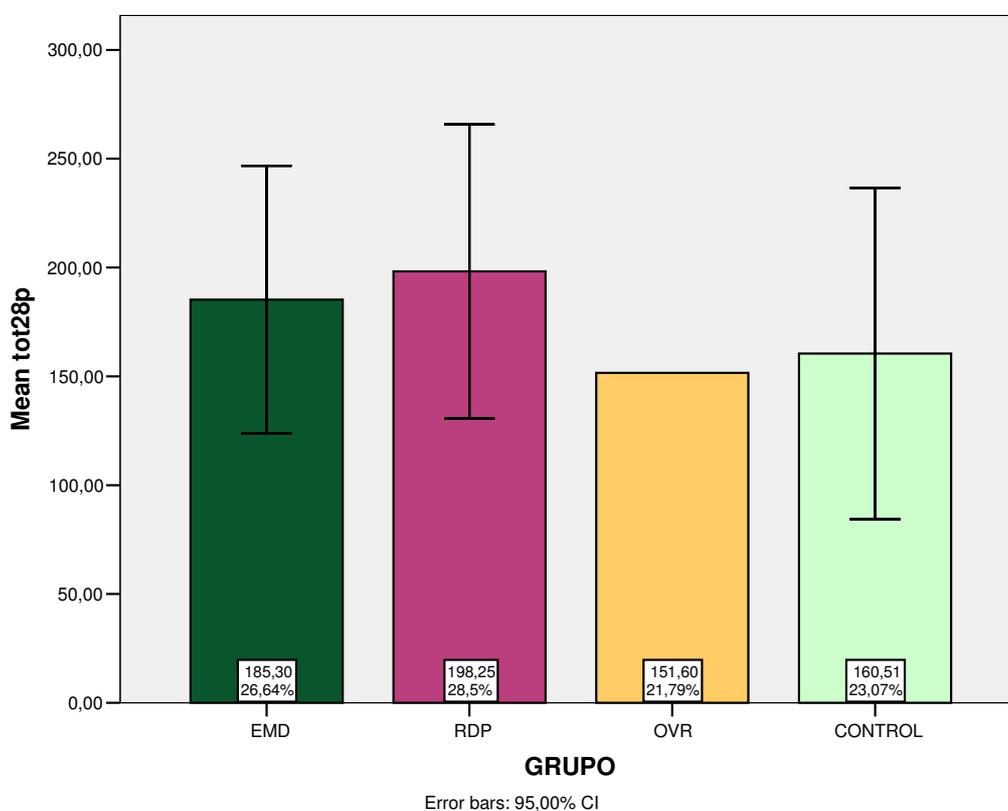


Fig 40: Concentraciones de SST-28 plasmática en pacientes con EMD, RDP, OVR y controles.

VI.2.4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: ERITROPOYETINA SÉRICA

La concentración de EPO sérica en los 4 grupos a estudio es la siguiente: pacientes con EMD: 18,47 mU/mL; pacientes con RDP: 9,33 mU/mL; pacientes con OVR: 11,19 mU/mL; y pacientes controles 8,6 mU/mL.

Existen diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos a estudio (**p=0,018**).

No existen diferencias en la concentración de EPO sérica entre los pacientes con EMD y RDP (p=0,091).

La concentración de EPO sérica es significativamente mayor en pacientes con EMD que en pacientes con OVR (**p=0,002**) y que en pacientes control (**p=0,002**).

No hay diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de EPO sérica de los pacientes con RDP y los pacientes con OVR (p=0,573). Tampoco entre los pacientes con RDP y los pacientes control (p=0,488) ni entre los pacientes con OVR y los controles (p=0,075).

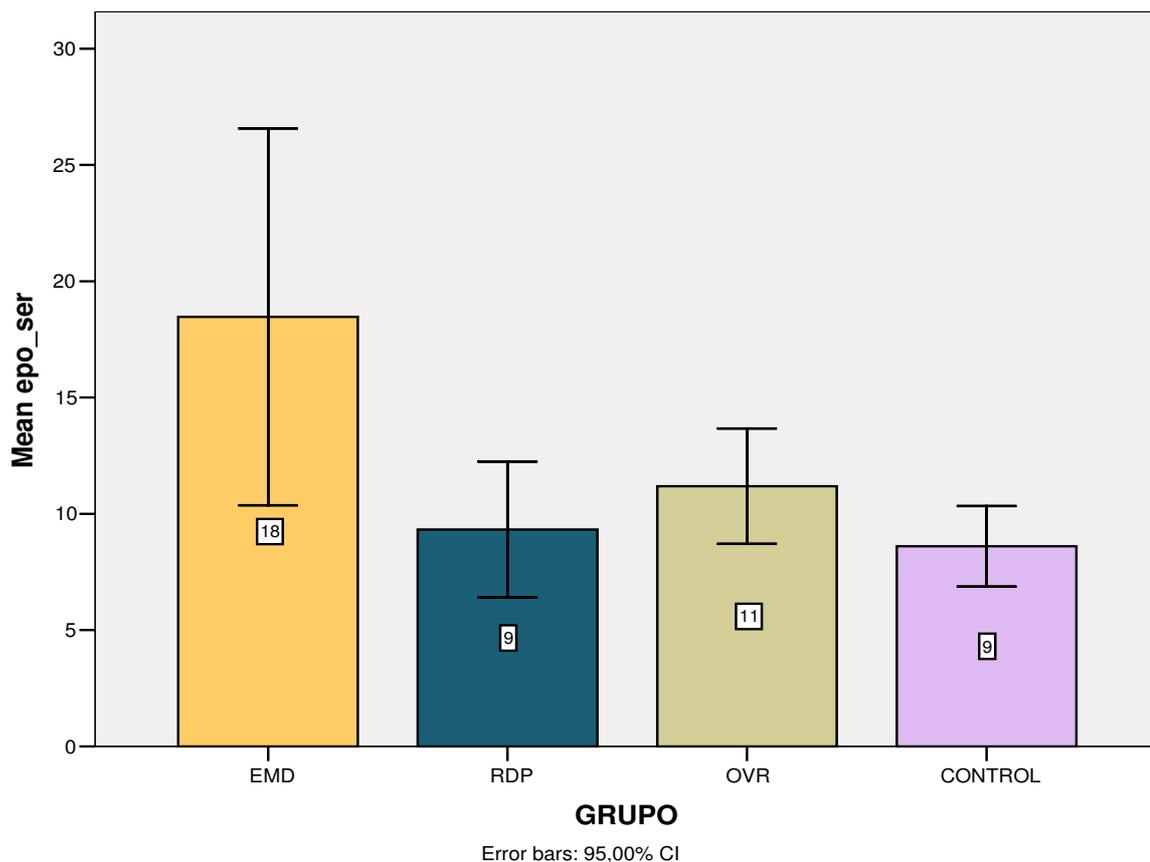


Fig 41: Concentraciones de EPO sérica en pacientes con EMD, RDP, OVR y controles

VI.2.5. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: SOMATOSTATINA INTRAVÍTEA

VI.2.5.1. SOMATOSTATINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON EMD Y RDP

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos de pacientes ($p=0,601$). Las concentraciones ajustadas de SST-28 intravítrea halladas fueron: pacientes con EMD 88,97 pg/mL (rango 21-232); pacientes con RDP 119,59 pg/mL (rango 14-377).

GRUPO		N	Media de rangos	Suma de rangos
Ss28	EMD	8	12,38	99,00
	RDP	20	15,35	307,00
	Total	28		
ssajust	EMD	8	13,19	105,50
	RDP	20	15,03	300,50
	Total	28		
Prot	EMD	8	15,94	127,50
	RDP	20	13,93	278,50
	Total	28		
tot28p	EMD	6	9,17	55,00
	RDP	11	8,91	98,00
	Total	17		

Test estadístico

	ss28	ssajust	prot	tot28p
Mann-Whitney U	63,000	69,500	68,500	32,000
Wilcoxon W	99,000	105,500	278,500	98,000
Z	-,865	-,534	-,585	-,101
Asymp. Sig. (2-tailed)	,387	,593	,559	,920
Significación estadística Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,409(a)	,601(a)	,566(a)	,961(a)

SST-28 EN PACIENTES CON EMD Y RDP

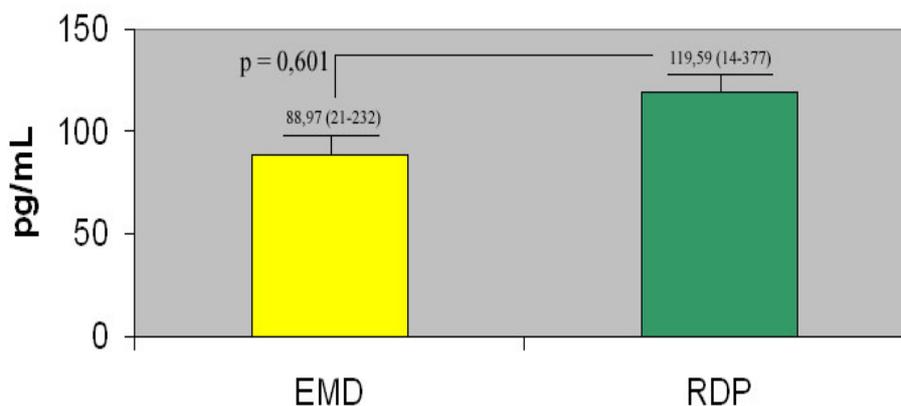


Fig 42: Concentraciones intravítreas de SST-28 en pacientes con EMD y RDP (tras ajustar por proteínas intravítreas)

VI.2.5.2. SOMATOSTATINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON EMD Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

La concentración intravítrea ajustada de somatostatina es mucho menor en el grupo de pacientes con EMD: 88,97 pg/mL (rango 21-232) que en el grupo de pacientes con OVR: 715,8,25 pg/mL (rango 49-1367). Las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0,000$).

GRUPO	N	Media de rangos	Suma de rangos
ss28 EMD	8	8,00	64,00
OVR	15	14,13	212,00
Total	23		
ssajust EMD	8	5,25	42,00
OVR	15	15,60	234,00
Total	23		
Prot EMD	8	19,50	156,00
OVR	15	8,00	120,00
Total	23		
tot28p EMD	6	4,17	25,00
OVR	1	3,00	3,00
Total	7		

Test estadístico

	ss28	ssajust	prot	tot28p
Mann-Whitney U	28,000	6,000	,000	2,000
Wilcoxon W	64,000	42,000	120,000	3,000
Z	-2,066	-3,487	-3,873	-,500
Asymp. Sig. (2-tailed)	,039	,000	,000	,617
Significación estadística Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,040(a)	,000(a)	,000(a)	,857(a)

SST-28 EN PACIENTES CON EMD Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

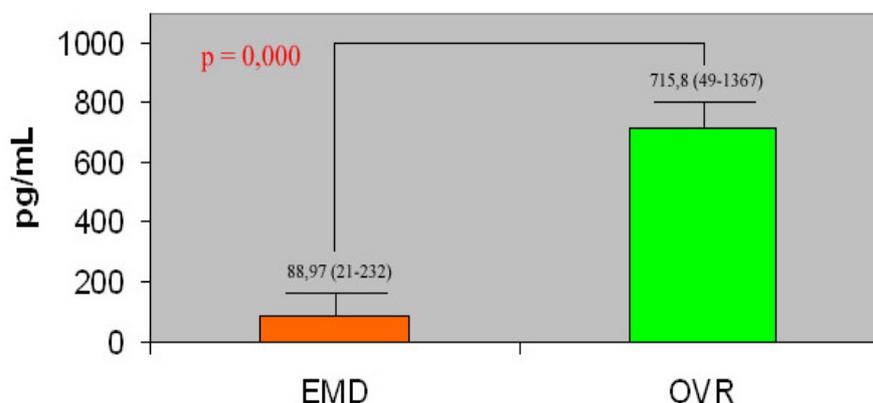


Fig 43: Concentraciones intravítreas de SST-28 en pacientes con EMD y OVR (tras ajustar por proteínas intravítreas)

V.2.5.3. SOMATOSTATINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON EMD Y CONTROL

La media de las concentraciones de somatostatina intravítrea ajustada es mucho menor en el grupo de pacientes con EMD: 81,97 pg/mL (rango 21-232) que en el grupo control: 735,26 pg/mL (rango 102-2024). Las diferencias son estadísticamente significativas (**p=0,000**).

GRUPO	N	Media de rangos	Suma de rangos
ss28 EMD	8	9,13	73,00
ss28 CONTROL	19	16,05	305,00
ss28 Total	27		
ssajust EMD	8	5,13	41,00
ssajust CONTROL	19	17,74	337,00
ssajust Total	27		
Prot EMD	8	22,88	183,00
Prot CONTROL	19	10,26	195,00
Prot Total	27		
tot28p EMD	6	9,67	58,00
tot28p CONTROL	10	7,80	78,00
tot28p Total	16		

Test estadístico

	ss28	ssajust	prot	tot28p
Mann-Whitney U	37,000	5,000	5,000	23,000
Wilcoxon W	73,000	41,000	195,000	78,000
Z	-2,071	-3,770	-3,770	-,759
Asymp. Sig. (2-tailed)	,038	,000	,000	,448
Significación estadística				
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,039(a)	,000(a)	,000(a)	,492(a)

SST-28 EN PACIENTES CON EMD Y CONTROL

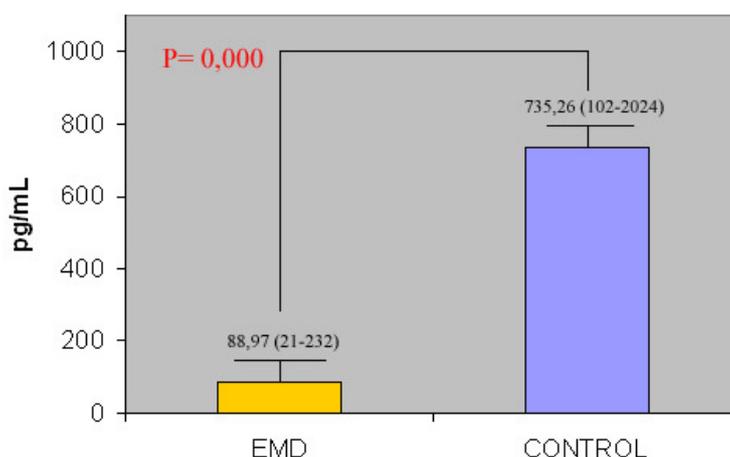


Fig 44: Concentraciones intravítreas de SST-28 en pacientes con EMD y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas)

V.2.5.4. SOMATOSTATINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON RDP Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

La media de concentración de somatostatina-28 intravítrea ajustada en pacientes con OVR: 715,8 pg/mL (rango 49-1367) es mucho mayor que en pacientes con RDP: 119,59 pg/mL (rango 14-377). Las diferencias son estadísticamente significativas (**p=0,000**).

GRUPO		N	Media de rangos	Suma de rangos
ss28	RDP	20	14,15	283,00
	OVR	15	23,13	347,00
	Total	35		
ssajust	RDP	20	11,60	232,00
	OVR	15	26,53	398,00
	Total	35		
Prot	RDP	20	25,23	504,50
	OVR	15	8,37	125,50
	Total	35		
tot28p	RDP	11	6,64	73,00
	OVR	1	5,00	5,00
	Total	12		

Test estadístico

	ss28	ss_ajust	prot	tot28p
Mann-Whitney U	73,000	22,000	5,500	4,000
Wilcoxon W	283,000	232,000	125,500	5,000
Z	-2,567	-4,267	-4,817	-,435
Asymp. Sig. (2-tailed)	,010	,000	,000	,664
Significación estadística				
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,009(a)	,000(a)	,000(a)	,833(a)

SST-28 EN PACIENTES CON RDP Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

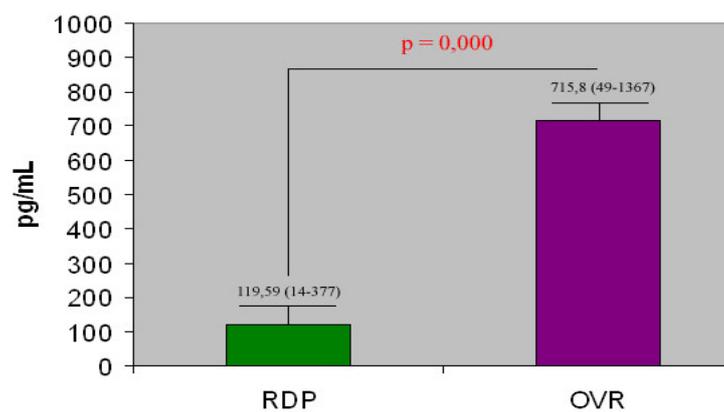


Fig 45: Concentraciones intravítreas de SST-28 en pacientes con RDP y RDP (tras ajustar por proteínas intravítreas)

RESULTADOS

V.2.5.5. SOMATOSTATINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON RDP Y CONTROL

Las concentraciones de somatostatina intravítrea ajustada son mucho menores en pacientes con RDP: 119,59 pg/mL (rango 14-377) que en pacientes control: 735,26 pg/mL (rango 102-2024). Las diferencias son estadísticamente significativas (**p=0,000**).

GRUPO	N	Media rangos de	Suma rangos de
ss28 RDP	20	14,45	289,00
CONTROL	19	25,84	491,00
Total	39		
ssAjust RDP	20	11,30	226,00
CONTROL	19	29,16	554,00
Total	39		
Prot RDP	20	28,30	566,00
CONTROL	19	11,26	214,00
Total	39		
Tot28p RDP	11	12,18	134,00
CONTROL	10	9,70	97,00
Total	21		

Test estadístico

	ss28	ssajust	Prot	tot28p
Mann-Whitney U	79,000	16,000	24,000	42,000
Wilcoxon W	289,000	226,000	214,000	97,000
Z	-3,120	-4,889	-4,664	-,915
Asymp. Sig. (2-tailed)	,002	,000	,000	,360
Significación estadística				
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,001(a)	,000(a)	,000(a)	,387(a)

SST-28 EN PACIENTES CON RDP Y CONTROL

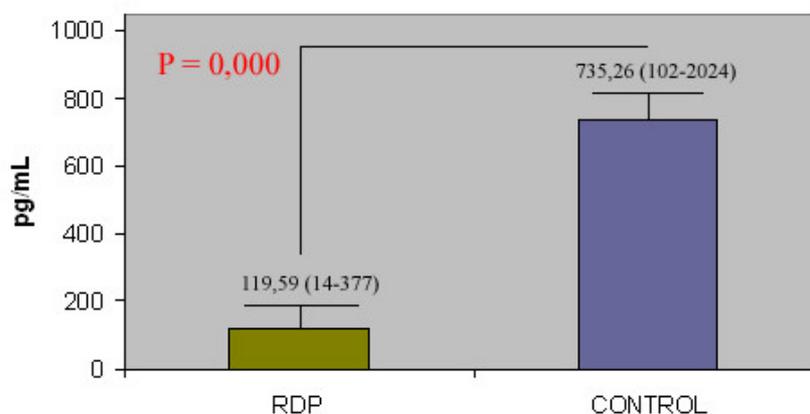


Fig 46: Concentraciones intravítreas de SST-28 en pacientes con RDP y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas)

V.2.5.6. SOMATOSTATINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA Y CONTROL

La media de concentración de somatostatina intravítrea ajustada es ligeramente mayor en pacientes control: 735,26 pg/mL (rango 102-2024) que en pacientes con OVR: 715,8 pg/mL (rango 49-1367). Las diferencias no son estadísticamente significativas (p=0,973).

GRUPO	N	Media de rangos	Suma de rangos
Ss28 OVR	15	18,60	279,00
Ss28 CONTROL	19	16,63	316,00
Ss28 Total	34		
ssajust OVR	15	17,57	263,50
ssajust CONTROL	19	17,45	331,50
ssajust Total	34		
Prot OVR	15	16,13	242,00
Prot CONTROL	19	18,58	353,00
Prot Total	34		
tot28p OVR	1	6,00	6,00
tot28p CONTROL	10	6,00	60,00
tot28p Total	11		

Test estadístico

	ss28	ssajust	Prot	tot28p
Mann-Whitney U	126,000	141,500	122,000	5,000
Wilcoxon W	316,000	331,500	242,000	60,000
Z	-,572	-,035	-,711	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,567	,972	,477	1,000
Significación estadística				
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,584(a)	,973(a)	,493(a)	1,000(a)

SST-28 EN PACIENTES CON OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA Y CONTROL

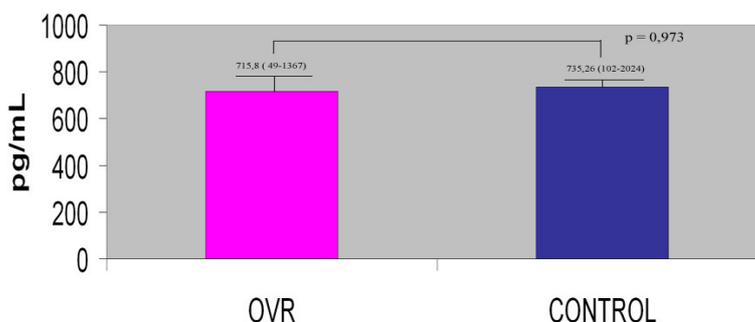


Fig 47: Concentraciones intravítreas de SST-28 en pacientes con OVR y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas)

CONCENTRACIONES DE SST-28 INTRAVÍTREA (tras ajustar por proteínas intravítreas)

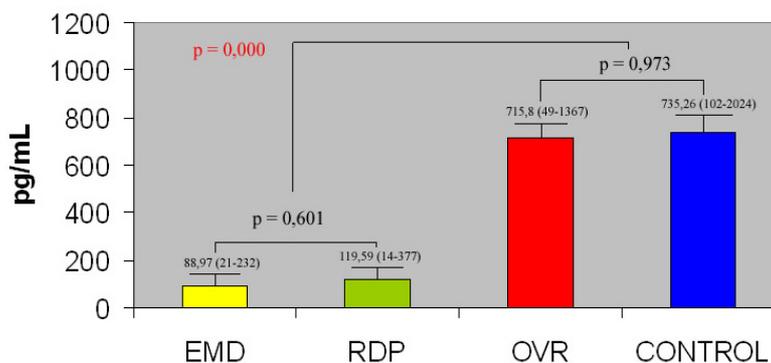


Fig 48: Concentraciones intravítreas de SST-28 en pacientes con EMD, RDP, OVR y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas)

VI.2.6. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS: ERITROPOYETINA

VI.2.6.1. ERITROPOYETINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON EMD Y RDP

No existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de eritropoyetina intravítrea ajustada entre los pacientes diabéticos con EMD: 578,63 mU/mL (rango 41-2780) y los pacientes diabéticos con RDP: 528,74 mU/mL (rango 156-1859) ($p=0,833$).

GRUPO	N	Media de rangos	Suma de rangos
epo_vit	EMD	11	11,64
	RDP	12	12,33
	Total	23	
epo_ser	EMD	11	14,55
	RDP	12	9,67
	Total	23	

Test estadístico

	epo_vit	epo_ser
Mann-Whitney U	62,000	38,000
Wilcoxon W	128,000	116,000
Z	-,246	-1,723
Asymp. Sig. (2-tailed)	,806	,085
Significación estadística		
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,833(a)	,091(a)

EPO EN PACIENTES CON EMD Y RDP

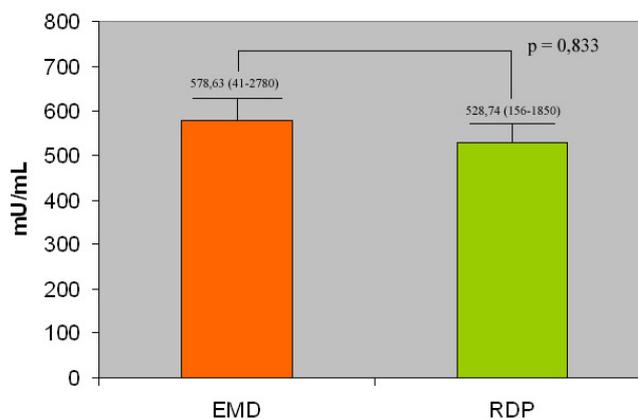


Fig 49: Concentraciones intravítreas de EPO en pacientes con EMD y RDP (tras ajustar por proteínas intravítreas)

VI.2.6.2. ERITROPOIETINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON EMD Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

La concentración de eritropoyetina intravítrea es mayor en pacientes con EMD: 578,63 mU/mL (rango 41-2780) que en pacientes con OVR: 128,05 mU/mL (rango 30-806). Las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0,002$).

GRUPO	N	Media rangos	de	Suma rangos	de
epo_vit	EMD	11	21,18	233,00	
	OVR	18	11,22	202,00	
	Total	29			
epo_ser	EMD	11	19,14	210,50	
	OVR	18	12,47	224,50	
	Total	29			

Test estadístico

	epo_vit	epo_ser
Mann-Whitney U	31,000	53,500
Wilcoxon W	202,000	224,500
Z	-3,056	-2,046
Asymp. Sig. (2-tailed)	,002	,041
Significación estadística		
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,002(a)	,039(a)

EPO EN PACIENTES CON EMD Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

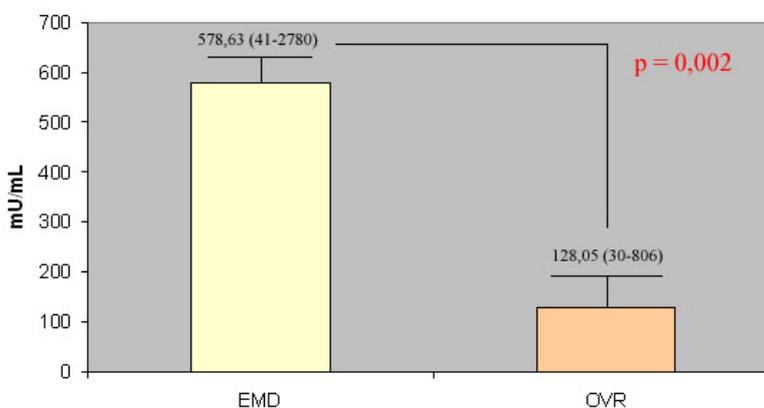


Fig 50: Concentraciones intravítreas de EPO en pacientes con EMD y OVR (tras ajustar por proteínas intravítreas)

RESULTADOS

V.2.6.3. ERITROPOYETINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON EMD Y CONTROL

La concentración de eritropoyetina intravítrea es mucho mayor en pacientes con EMD: 578,63 mU/mL (rango 41-2780) que en pacientes control: 59,56 mU/mL (rango 10-120). Las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0,000$).

GRUPO	N	Media de rangos	Suma de rangos
epo_vit EMD	11	26,09	287,00
epo_vit CONTROL	22	12,45	274,00
epo_vit Total	33		
epo_ser EMD	11	24,23	266,50
epo_ser CONTROL	22	13,39	294,50
epo_ser Total	33		

Test estadístico

	epo_vit	epo_ser
Mann-Whitney U	21,000	41,500
Wilcoxon W	274,000	294,500
Z	-3,819	-3,038
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,002
Significación estadística		
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,000(a)	,002(a)

EPO EN PACIENTES CON EMD Y CONTROL

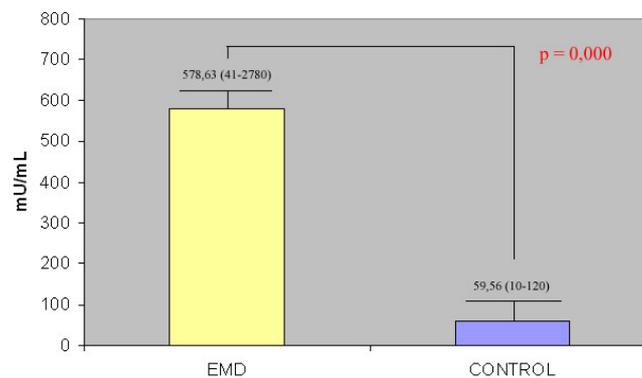


Fig 51: Concentraciones intravítreas de EPO en pacientes con EMD y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas)

V.2.6.4. ERITROPOYETINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON RDP Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

La media de concentración de eritropoyetina intravítrea es mucho mayor en pacientes con RDP: 528,75 mU/mL (156-1859) que en pacientes con OVR: 128,05 mU/mL (30-806). Las diferencias son estadísticamente significativas (**p=0,000**).

GRUPO	N	Media rangos	de	Suma rangos	de
epo_vit	RDP	12	23,08	277,00	
	OVR	18	10,44	188,00	
	Total	30			
epo_ser	RDP	12	14,33	172,00	
	OVR	18	16,28	293,00	
	Total	30			

Test estadístico

	epo_vit	epo_ser
Mann-Whitney U	17,000	94,000
Wilcoxon W	188,000	172,000
Z	-3,852	-,593
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,553
Significación estadística		
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,000(a)	,573(a)

EPO EN PACIENTES CON RDP Y OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA

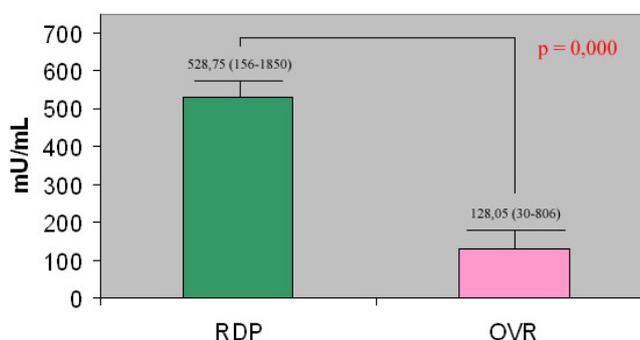


Fig 52: Concentraciones intravítreas de EPO en pacientes con RDP y OVR (tras ajustar por proteínas intravítreas)

V.2.6.5. ERITROPOYETINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON RDP Y CONTROL

La concentración de eritropoyetina es mucho mayor en pacientes con RDP: 528,75 mU/mL (156-1859) que en pacientes control: 59,56 mU/mL (10-120). Las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0,000$).

GRUPO	N	Media de rangos	Suma de rangos
epo_vit RDP	12	28,50	342,00
epo_vit CONTROL	22	11,50	253,00
epo_vit Total	34		
epo_ser RDP	12	19,17	230,00
epo_ser CONTROL	22	16,59	365,00
epo_ser Total	34		

Test Estadístico

	epo_vit	epo_ser
Mann-Whitney U	,000	112,000
Wilcoxon W	253,000	365,000
Z	-4,757	-,721
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,471
Significación estadística		
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,000(a)	,488(a)

EPO EN PACIENTES CON RDP Y CONTROL

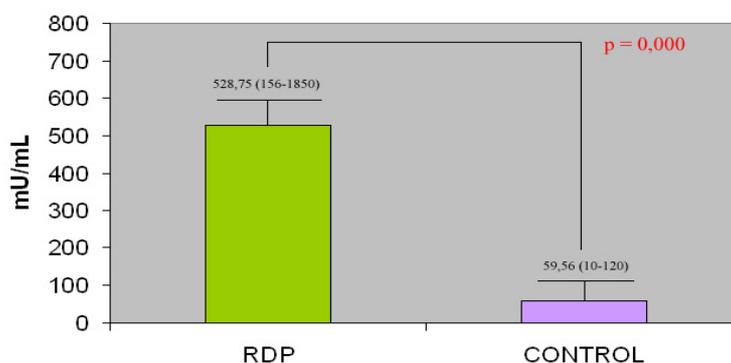


Fig 53: Concentraciones intravítreas de EPO en pacientes con RDP y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas)

RESULTADOS

V.2.6.6. ERITROPOYETINA: COMPARACIÓN ENTRE PACIENTES CON OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA Y CONTROL

La concentración de eritropoyetina es mayor en pacientes con OVR: 128,05 mU/mL (30-806) que en pacientes control: 59,56 mU/mL (10-120). Esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0,095$).

GRUPO	N	Mediade rangos	Suma de rangos
epo_vit	OVR	18	430,50
	CONTROL	22	389,50
	Total	40	
epo_ser	OVR	18	434,50
	CONTROL	22	385,50
	Total	40	

Test Estadístico

	epo_vit	epo_ser
Mann-Whitney U	136,500	132,500
Wilcoxon W	389,500	385,500
Z	-1,673	-1,782
Asymp. Sig. (2-tailed)	,094	,075
Significación estadística		
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	,095(a)	,075(a)

EPO EN PACIENTES CON OCLUSIÓN VENOSA RETINIANA Y CONTROL

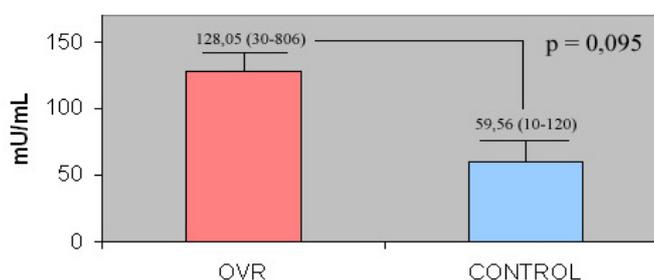


Fig 54: Concentraciones intravítreas de EPO en pacientes con OVR y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas).

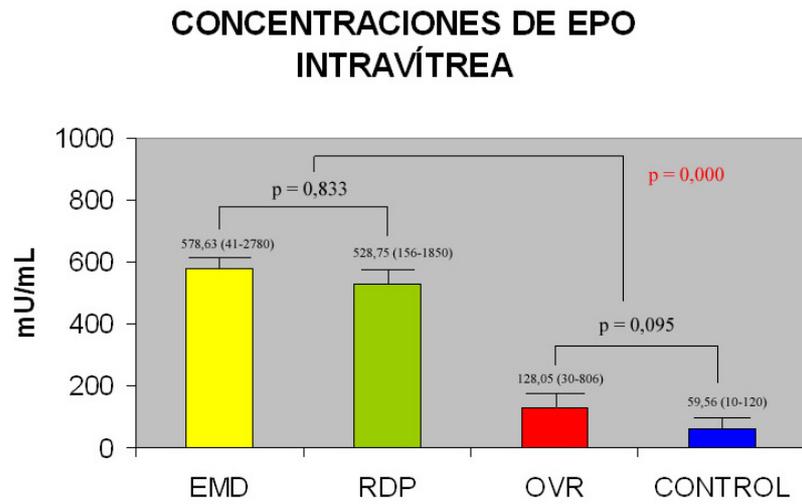


Fig 55: Concentraciones intravítreas de EPO en pacientes con EMD, RDP, OVR y controles (tras ajustar por proteínas intravítreas).

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN

VII. DISCUSIÓN

El edema macular es responsable de la pérdida de visión en muchos pacientes con oclusión venosa retiniana y retinopatía diabética. Hay muchos factores involucrados en la fisiopatología de estas enfermedades.²⁰⁴ En pacientes con OVCR alteraciones hemodinámicas pueden producir un estancamiento del flujo sanguíneo y, como consecuencia, la formación de un trombo intraluminal en la vena central de la retina.⁴ La ORV ocurre en el cruce arteriovenoso, donde la arteria y la vena retiniana comparten la misma adventicia. El engrosamiento de ésta produce la obstrucción del lumen de la vena. Se ha postulado que el flujo sanguíneo turbulento en el cruce arteriovenoso puede causar un edema focal del endotelio, que favorecería la oclusión venosa.²²⁷ Por todos estos mecanismos histopatológicos se produce un incremento de la presión capilar distal intraluminal, que induce un daño hipóxico endotelial y, en consecuencia, un aumento de la permeabilidad vascular.⁷

Los efectos de la hiperglucemia sobre el tejido microvascular en el EMD incluyen: el aumento de la vía de los polioles, la generación de productos finales de la glicación avanzada, la producción de radicales libres y la activación de la vía de la proteinquinasa C (PKC).^{228, 229} En la sangre se produce un estado de hipercoagulabilidad, con aumento de la viscosidad sanguínea y de la adhesividad y agregación plaquetaria. Estas anomalías pueden producir fenómenos de trombosis de los pequeños vasos retinianos.

Por el momento, no se conoce claramente el papel que podría tener la somatostatina y la eritropoyetina, factores que se han relacionado con la retinopatía diabética, en el desarrollo del edema macular de los trastornos oclusivos venosos retinianos.

VII.1. DISCUSIÓN SOBRE LA INCLUSIÓN Y LA EXCLUSIÓN DE CASOS

El volumen de pacientes procede del Hospital Vall d'Hebrón, que es centro de referencia de esta patología, de una población de unos 2 millones de personas y del Instituto de Microcirugía Ocular, centro de medicina y cirugía privado donde se reciben

pacientes nacionales e internacionales. Las intervenciones realizadas han sido llevadas a cabo por un equipo quirúrgico superespecializado en esta patología.

Los casos se incluyeron previamente a la intervención, en las consultas externas, después de explicar al paciente los posibles riesgos y de firmar el consentimiento informado.

Los criterios de inclusión para la realización de la biopsia vítrea han sido de tipo médico, ya que han sido seleccionados los pacientes, a los que se realizaría una cirugía oftalmológica, por la razón médica pertinente y, aprovechando la misma intervención, se ha extraído también la muestra de vítreo y sangre. Al igual que otros estudios,^{15, 18, 20, 125-127, 146, 148, 172, 204} se ha utilizado como grupo control aquellos pacientes con enfermedades maculares para las que estaba indicada una vitrectomía pars plana. Entre ellas encontramos membranas epirretinianas maculares, agujeros maculares y desprendimientos de retina. Para la inclusión de los pacientes no se han tenido en cuenta criterios funcionales, como la agudeza visual.

Se han excluido a los pacientes con cirugía vítreo-retiniana previa porque en un paciente vitrectomizado la concentración de proteínas estaría falseada en un medio líquido que no fuera el gel vítreo, aunque la síntesis retiniana de la proteína fuera la misma. También hemos excluido los pacientes con fotocoagulación retiniana en los 3 meses previos porque, como se ha demostrado en múltiples estudios, la fotocoagulación retiniana disminuye la isquemia retiniana y altera la concentración intravítrea de factores angiogénicos y antiangiogénicos.²³⁰ No se sabe tan bien el efecto que puede tener la fotocoagulación sobre la permeabilidad retiniana. La hemorragia vítrea, que ocurre frecuentemente en la RDP, produce un influjo masivo de proteínas séricas en el gel vítreo, limitando la utilidad de éste, como muestra para estudiar la producción intraocular de una proteína específica. Este problema puede solucionarse excluyendo los pacientes con hemovítreo documentado, durante los 3 meses previos a la cirugía y también a aquellos pacientes en que la concentración de hemoglobina en cavidad vítrea superaba los 5 mg/ml. La insuficiencia renal podría alterar el “clearance” de las proteínas somatostatina y eritropoyetina medidas en sangre y, por este motivo, se excluyen aquellos pacientes con creatinina superior a 120 $\mu\text{mol/l}$.

La anemia es más frecuente entre los pacientes diabéticos que sin esta enfermedad. Los pacientes diabéticos con anemia pueden tener un riesgo mayor de complicaciones micro y macrovasculares, a causa de la diabetes como pueden ser retinopatía diabética, neuropatía, nefropatía y enfermedades autoinmunes. La anemia asociada al déficit de EPO puede ser un factor pronóstico significativo, de mayor riesgo de neuropatía o infarto agudo de miocardio, en los pacientes diabéticos. En la neuropatía diabética temprana, la lesión de los fibroblastos peritubulares puede producir déficit de EPO y anemia, incluso antes de la pérdida del filtrado glomerular. La corrección de la anemia no solo produce menos astenia, mayor tolerancia al ejercicio y más calidad de vida, sino que también comporta una reducción en la mortalidad y de los ingresos hospitalarios. Hay datos que sugieren que el tratamiento de la anemia en pacientes diabéticos ralentizaría la progresión de las complicaciones micro y macrovasculares, incluyendo la hipotensión postural de la neuropatía autonómica, la retinopatía diabética y la pérdida de la función renal.^{181, 183} Debido a esta alta asociación entre diabetes y anemia debida al déficit de EPO, los pacientes diabéticos con anemia se han excluido, para no sesgar los resultados, ya que esta relación entre EPO, anemia y complicaciones micro y macrovasculares de la DM merecería otro estudio a parte. Se han excluido del estudio los pacientes con Hb menor de 5 mg/ml.

Los pacientes pediátricos y los pacientes a los que no se podría realizar el seguimiento correcto, también han sido excluidos. Estos criterios de exclusión son comunes a otros estudios, en los que se ha analizado los niveles vítreos comparados con los sanguíneos de éstas y otras proteínas.^{15, 20, 126, 148, 172, 204}

VII.2. DISCUSIÓN SOBRE EL MÉTODO

Los niveles sanguíneos de cualquier proteína pueden influenciar sus concentraciones intravítreas; por lo tanto, este hecho debe ser considerado, tanto en el diseño del estudio como en el análisis de los resultados. Por este motivo, se analizan los niveles plasmáticos de SST y séricos de EPO, tanto en pacientes diabéticos o con OVR como en los pacientes controles. En nuestro estudio no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de SST plasmática entre los 4 grupos, lo cual es un dato a favor de que las diferencias encontradas a nivel intravítreo

no sean por difusión a través de la barrera hemato-retiniana. Sí que encontramos diferencias en los niveles de EPO sérica entre los 4 grupos a estudio, así los pacientes con RDP tienen unos niveles superiores de esta hormona, con respecto a los pacientes con EMD, ORV y controles. Las diferencias son estadísticamente significativas. Como este resultado podría sesgar el resultado, ya que la mayor concentración de EPO intravítrea que encontramos en los pacientes con RDP podría deberse a la difusión a través de la barrera hemato-retiniana, hemos usado otro método de análisis: cuando hay aumento de la permeabilidad de la barrera hemato-retiniana, el paso de proteínas a la cavidad vítrea no es solo de EPO, sino que otras proteínas también aumentan. Por eso, hemos ajustado también la concentración de EPO y SST intravítrea a la concentración total de proteínas intravítreas, evitando así el sesgo que podría producirse. El desarrollo de esta simple metodología nos ha permitido racionalizar el uso del gel vítreo como muestra, para analizar los acontecimientos que ocurren en la retina “in vivo”.¹⁴⁶

La disrupción de la barrera hemato-retiniana que ocurre en la retinopatía diabética produce un aumento de proteínas en la cavidad vítrea de los pacientes diabéticos. Así, se ha detectado hasta 3-4 veces más concentración de proteínas intravítreas en los pacientes diabéticos que en los no diabéticos.^{125-127, 148, 231} Este hecho se hace patente en nuestro estudio, ya que la concentración de proteínas intravítreas en los pacientes con RDP y EMD es mayor que en los pacientes con OVR o control. Las diferencias son estadísticamente significativas. En nuestro grupo de pacientes, los niveles de proteínas plasmáticas son 3,6 veces superiores entre los pacientes diabéticos, respecto a los no diabéticos, comparando las medias de los 2 grupos.

Es importante destacar que, aunque no hay diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos en referencia a la SST plasmática, el número de pacientes a los que se ha determinado esta proteína es pequeño.

VII.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS

La RD y las OVR comparten muchas características epidemiológicas, clínicas y histopatológicas. En este estudio buscamos las analogías moleculares de estas 2 enfermedades.

A nivel histopatológico, ambas enfermedades pueden causar pérdida visual por dos mecanismos: la retinopatía proliferativa y el edema macular. La isquemia retiniana que encontramos en ambas enfermedades es la que induce la expresión de factores que estimulan las células endoteliales y que contribuyen al proceso de la angiogénesis. En el proceso de formación de neovasos, las células endoteliales migran desde las capas profundas de la retina, donde se encuentra la vénula matriz, hasta la cavidad vítrea. Deben atravesar la membrana basal capilar, la matriz retiniana y la membrana limitante interna de la retina. La migración de las células endoteliales es posible gracias a la acción de algunos factores de crecimiento que, además de estimular la quimiotaxis de dichas células, inducen la síntesis de colagenasas y otras enzimas responsables de la disolución de las membranas y del colágeno de la matriz retiniana.²³² Las causas de la isquemia retiniana en la oclusión venosa se piensa que son debidas a la elevación de la presión intraluminal venosa y capilar, que da lugar a una reducción del flujo sanguíneo distal a la oclusión. Esto provoca isquemia en el área afectada por la oclusión. En la retinopatía diabética la isquemia es debida a la oclusión microvascular. Entre los factores responsables de la misma están: los fenómenos intravasculares, como la leucostasis²³³ y la microtrombosis²³⁴ y los extravasculares, como la invasión de la luz vascular por células gliales;²³⁵ no obstante, no está claro si estas microclusiones son un hallazgo primario o bien son secundarias a un metabolismo de la retina alterado. El edema retiniano se produce por una alteración de la barrera hemato-retiniana y también es causa importante de pérdida visual en ambas enfermedades. La función de la BHR interna es separar de la circulación a los elementos neuronales de la retina, y protegerla de las células inflamatorias y de otros productos citotóxicos, que viajan a través de la misma. Se permite así, que la retina regule su composición química extracelular, especialmente la composición iónica, de gran importancia para la actividad neuronal.²³⁶

Desde hace más de 20 años se conoce que la BHR interna reside “funcionalmente” a nivel de las uniones estrechas (tight junctions) existentes entre células endoteliales adyacentes²³⁶ y estudios recientes han demostrado que existen unas proteínas de ensamblaje en estas uniones estrechas. Dos de estas proteínas se sitúan en la membrana plasmática (proteína ocludina y claudina) y limitan el paso de fluido entre las células endoteliales. Otras proteínas (zónula ocludens 1, 2 y 3) se sitúan en el citoplasma y organizan estas uniones estrechas.²³⁷ Se ha demostrado, recientemente, que en la diabetes experimental se reduce la cantidad de la proteína ocludina en las “tight

junctions” de las células endoteliales, lo que conduce a una desorganización de estas uniones, tanto en los capilares como en las arteriolas.^{62, 237} Antes de que se observen clínicamente signos de RD ya se encuentra a nivel histopatológico la alteración de la barrera hemato-retiniana interna. La oclusión venosa retiniana produce también una disrupción de la barrera hemato-retiniana interna, por una elevación de la presión intraluminal venosa y capilar, que conlleva una permeabilidad vascular aumentada. Este aumento de la permeabilidad de los vasos que se produce en la RD, así como también en la oclusión venosa retiniana, se traduce en la salida de plasma, proteínas y lípidos, ocasionando edema y exudados duros a nivel oftalmoscópico.

A nivel molecular, el VEGF se ha asociado con el desarrollo de neovasos en ambas enfermedades. El VEGF es capaz de incrementar la permeabilidad de la microvasculatura a las macromoléculas circulantes, estimula la proliferación de las células endoteliales y aumenta la coagulación.¹³ La OVR se asocia con niveles de VEGF intravítreos aumentados;¹² particularmente, en casos complicados por neovascularización.²³⁸ En ojos con OVCR hay evidencia de expresión de mRNA de VEGF intravítreo.²³⁸ La inhibición del VEGF por un oligodesoxinucleótido antisentido²³⁹ o por anticuerpos monoclonales anti-VEGF²⁴⁰ provoca una reducción o la prevención de neovascularización iridiana en modelos animales con OVCR. Los niveles intravítreos de VEGF están también elevados en la RDP,⁶ y los niveles de VEGF en humor acuoso disminuyen con la fotocoagulación retiniana.¹² Se han hallado niveles elevados de VEGF intravítreo en pacientes con edema macular diabético y se considera un factor fundamental en el desarrollo del mismo. Se sabe que puede actuar sobre las tight junctions disminuyendo su actividad.²⁴¹

VII.3.1. RESULTADOS SOMATOSTATINA

El papel de la somatostatina en las enfermedades oftalmológicas ha centrado el interés de algunos investigadores.^{15, 127, 146} Simó et al¹⁵ evaluaron los niveles vítreos de SST de pacientes diabéticos y los compararon con pacientes controles. La SST fue medida por radioinmunoensayo y fueron excluidos los pacientes con hemoglobina intravítrea detectable mediante espectrofotometría. Después de aplicar una corrección por los niveles plasmáticos de SST y los niveles de proteínas intravítreas, el estudio mostró unos niveles significativamente inferiores de somatostatina intravítrea en los pacientes con RDP, respecto a los pacientes controles no diabéticos. Este resultado sugiere que la

somatostatina podría disminuir en situaciones de hipoxia retiniana, pudiendo contribuir en el proceso de la neovascularización. El daño neuroretiniano que ocurre en la retinopatía diabética también puede explicar la disminución en los niveles de somatostatina en el vítreo de estos pacientes.²⁴² En el líquido cefalorraquídeo de pacientes con enfermedades neurodegenerativas, como por ejemplo la esclerosis múltiple²⁴³ o la enfermedad parkinsoniana²⁴⁴, se ha encontrado niveles disminuidos de somatostatina medida con radioinmunoensayo.²⁴³ El estudio de Simó et al¹⁵ evidenció también un nivel superior de somatostatina en la cavidad vítrea que a nivel plasmático, lo cual sugiere que la somatostatina puede tener un papel relevante en la homeostasis retiniana. No se mostró relación entre los niveles plasmáticos y vítreos de somatostatina, tanto en pacientes con RDP como en pacientes no diabéticos. Hernández et al²⁰⁴ mostraron que la variante disminuida en la cavidad vítrea de los pacientes diabéticos era la SST-28.

En el 2007 Carrasco et al²⁴⁵ estudiaron la producción de SST-28 en ojos postmortem de pacientes diabéticos sin RD y controles. Analizaron también la degeneración neuronal a través de la cuantificación por inmunofluorescencia y Western blot de la proteína ácida fibrilar glial y cuantificaron las células neuronales apoptóticas. Midió la expresión diferencial de la somatostatina en neuroretina y EPR. El estudio mostró un aumento de expresión de SST en el EPR, respecto a la neuroretina en los dos grupos a estudio. Los niveles de mRNA de SST y la inmunoreactividad a la SST-28 fue significativamente menor, tanto en el EPR como en la neuroretina de los pacientes donantes diabéticos, comparados con los no diabéticos. Estos estudios son congruentes con el de Hernández et al²⁰⁴ donde se medían los niveles vítreos de esta proteína. Las retinas diabéticas mostraban un grado mayor de células apoptóticas y unos niveles más altos de proteína ácida fibrilar glial, comparadas con las no diabéticas. Estos cambios fueron más evidentes en los pacientes con un mayor déficit de SST. Este estudio concluye que la disminución de producción de SST es un acontecimiento temprano en ojos de pacientes diabéticos y que está asociado a activación glial y muerte neuronal precoz. El EPR es una fuente importante de SST en el ojo humano.

Aunque la eficacia de los análogos de la somatostatina en el tratamiento de la RDP avanzada han sido durante largo tiempo atribuidos a la disminución que éstos provocan de la IGF-1 en suero, los análogos de la somatostatina tienen por ellos mismos un importante efecto directo antiproliferativo de las células endoteliales retinianas

humanas.^{246, 247} Además, la somatostatina es producida por las células neuroretinianas de varias especies, incluyendo la humana.²⁴⁸ La producción simultánea de la somatostatina y sus receptores en la retina humana sugiere una acción autocrina.²⁰⁷ La estimulación del receptor de la somatostatina bloquea la angiogénesis en muchos modelos y puede también tener un efecto antiproliferativo directo en las células endoteliales retinianas humanas.²⁴⁷ Además, se ha demostrado que los análogos de la somatostatina reducen la neovascularización en la retinopatía diabética.²⁴⁹ Así, aunque el papel funcional de la somatostatina en la síntesis y liberación de los factores angiogénicos retinianos aún está por aclarar, se puede especular que la somatostatina podría desempeñar un papel fisiológico para prevenir la neovascularización.

Al igual que ocurría en los estudios de Simó et al,^{15, 204} también hemos encontrado niveles disminuidos de somatostatina intravítrea en pacientes con RDP, comparando con los pacientes controles. Las concentraciones plasmáticas de SST-28 de pacientes diabéticos y no diabéticos han sido similares, con lo que se deduce que las diferencias en las concentraciones vítreas no pueden ser atribuidas a la difusión sérica. A pesar de haber obtenido muestras algo reducidas, las diferencias son estadísticamente significativas, por lo que pensamos se pueden extraer conclusiones válidas.

En nuestro estudio, no encontramos diferencias en las concentraciones de SST-28 intravítrea ajustada por proteínas intravítreas, entre los pacientes con EMD y los pacientes con RDP. Tampoco hay diferencias en las concentraciones séricas de esta proteína entre los 2 grupos de pacientes, que puedan enmascarar los resultados. Así, nuestros resultados sugieren un papel de la SST-28 en el aumento de la permeabilidad vascular, que acontece en la RD. Kruijpers et al²⁵⁰ en 1998 ya apuntaron la posible relación de la SST con el edema macular. Trataron con éxito un paciente que sufría edema macular idiopático con octreótido, un análogo de la SST.

Desconocemos el mecanismo preciso por el que la SST ejercería una función anti edema. Análogamente al VEGF, péptido que destruye las “tight junctions”, alterando así la BHR, la SST podría ser un factor estabilizador de dicho complejo, estimulando la síntesis de las proteínas que lo componen.²⁰⁴ En el tubo digestivo, la SST ejerce una función antsecretora, regulando el intercambio iónico. En la retina, en concreto en la parte apical del EPR, existen varios sistemas de transporte de iones y agua y, precisamente en este lugar, se ha detectado una expresión elevada de SST.²⁴⁵

Por tanto, la SST podría participar en el balance de fluido y transporte de iones a este nivel. Al margen de esto, sabemos que la SST es un factor inhibitorio de la señalización postreceptor del VEGF, con lo que su déficit potenciaría el efecto de este factor sobre el endotelio.²⁰⁴

Para demostrar la posible relación entre la SST y la integridad de la BHR interna y externa, se deberían realizar estudios inmunohistoquímicos de las uniones interendoteliales y la parte apical del EPR en cultivos celulares.

Una posible causa de la disminución de SST sería la neurodegeneración retiniana, hecho precoz y crucial en la patogenia de la RD, que se ha implicado en el déficit funcional que ocurre en pacientes diabéticos, incluso antes de que se desarrollen los cambios microvasculares; también podría ser la causa de la disminución de la síntesis de SST.^{245,}
251

En pacientes con OVR no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en los niveles de somatostatina intravítrea ajustada según los niveles de somatostatina sérica, respecto a los pacientes control a diferencia de lo que ocurría con los pacientes diabéticos. La concentración de SST intravítrea está disminuída en pacientes diabéticos, ya sea con RDP o EMD, respecto a los pacientes con OVR, y las diferencias son estadísticamente significativas. Así, estos resultados sugieren que la SST no estaría implicada en el aumento de permeabilidad y edema macular como ocurre en la OVR. La razón de estas diferencias moleculares pueden ser varias y tendrían que ser aclaradas en estudios posteriores. La principal diferencia entre ambas enfermedades vasculares es que, aunque las dos pueden dar el mismo daño a nivel de la microvasculatura, ya sea a nivel de neoproliferación capilar o a nivel del aumento de la permeabilidad vascular, la etiología de las dos enfermedades es diferente. La diabetes mellitus se produce por la hiperglicemia crónica y las oclusiones venosas por daños vasculares, ocasionados principalmente por la hipertensión arterial. Debido a esta diferente etiología, múltiples cascadas de señales y citoquinas diferentes estarían implicadas en cada enfermedad, resultando en la modificación de la respuesta histopatológica. Así, serían necesarios más estudios con diferentes factores moleculares para analizar los diversos mecanismos moleculares que existen en la DM y la OVR. Los resultados nos permitirían también especular que, a diferencia de la RD, donde se han diseñado múltiples estudios para analizar el papel beneficioso de la inyección de análogos de somatostatina en el

tratamiento de la RD,^{222, 224, 225, 250, 252} el tratamiento con análogos de la somatostatina, en principio, no sería efectivo para el tratamiento de la retinopatía proliferativa, asociada a la OVR.

VII.3.2. RESULTADOS ERITROPOYETINA

Hasta la década pasada, se consideraba la eritropoyetina endógena, únicamente, como citoquina hematopoyética, producida en el hígado y el riñón. Recientemente, se ha demostrado que la eritropoyetina tiene también influencia en el funcionamiento de las células endoteliales, incluyendo la angiogénesis, función similar a la que realiza el VEGF.²⁵³ Kai Jaquet et al.¹⁸⁵ demostraron en 2002 que la EPO tiene el mismo potencial angiogénico que el VEGF en células endoteliales de tejido miocárdico adulto tanto promoviendo la angiogénesis, como actuando como factor de supervivencia. Evidenciaron, también, la capacidad de las células endoteliales de expresar el receptor de la eritropoyetina, respondiendo a ésta con proliferación celular. La eritropoyetina es producida localmente en el cerebro y la retina, participando en el neurodesarrollo, la neuroprotección y la reparación del tejido neuronal.²⁵⁴ El papel neuroprotector de la eritropoyetina incluye la inhibición de la apoptosis, la modulación de la producción de radicales libres y la estimulación de la angiogénesis.²⁵³ El descubrimiento de la capacidad de la EPO sistémica de atravesar la barrera hematoencefalica^{255, 256} y de la expresión de la EPO y su receptor en el tejido cerebral, promovió investigaciones sobre su acción neuroprotectora. Así, se ha estudiado esta acción de la EPO en modelos de daño hipóxico/isquémico, mostrando, por ejemplo, una disminución del tamaño del infarto en un estudio clínico de isquemia cerebral.²⁵⁷ Además, la EPO puede proteger las neuronas de la inflamación del sistema nervioso central de causa autoinmune.²⁵⁷ Reduce también el daño traumático cerebral²⁵⁶ y previene la apoptosis neuronal en modelos de excitotoxicidad,²⁵⁷ estrés oxidativo²⁵⁸ y neurotoxicidad química²⁵⁹. En la retina, a diferencia del sistema nervioso central, donde la EPO basal se localiza en los astrocitos, la EPO también se produce en las neuronas y el EPO-R se expresa en las células ganglionares.²⁶⁰ En un modelo de isquemia retiniana moderada y transitoria, la EPO previno la degeneración celular por apoptosis, incluso cuando se aplicaba durante el periodo de reperfusión mejorando la recuperación funcional.²⁶⁰ Así, se disminuyó la degeneración de los fotorreceptores inducida por la luz con EPO sistémica

recombinante, pre o postratamiento.²⁶¹ Los efectos neurotróficos de la EPO se han atribuido a mecanismos pleiotrópicos, incluyendo la interacción con JAK2, Akt/PKB,²⁵⁵ ERK1/2, y a el gen de la Bcl-XL,²⁶² el aumento del influjo de calcio intracelular,²⁶³ la reducción de la producción de óxido nítrico,²⁵⁸ a la actividad de la enzima glutathion peroxidasa²⁵⁹ y a la supresión de la IL-6.²⁶⁴ Kretz et al²⁵⁵ investigaron los efectos de la EPO en la restitución axonal, en un modelo de células neuronales retinianas adultas, después de una lesión del nervio óptico. La administración de EPO después de la lesión aumentaba significativamente el número de neuritas y su longitud de forma dependiente a la concentración de EPO. Así, la EPO reduciría la pérdida neuronal y promovería la regeneración axonal intrínseca, después de una lesión axonal traumática. También promueve la regeneración axonal en la neuritis óptica autoinmune.²⁵⁵ Tsai et al²⁶⁵ demostraron que la administración intravítrea de EPO tiene un efecto protector en la viabilidad de las células ganglionares retinianas, en un modelo en ratas de glaucoma. Layton et al²⁶⁶ demostraron en cultivos retinianos primarios que la función neurotrófica de la EPO está atenuada a una concentración de glucosa, similar a los niveles que ocurren en la diabetes.

Watanabe et al¹⁸ fueron los primeros en asociar la EPO con la RDP. Así, su estudio sugirió que la EPO es un potente factor angiogénico, inducido por la isquemia, que actúa independientemente del VEGF, durante la angiogénesis retiniana en la RDP. El bloqueo de la síntesis de EPO inhibe la neovascularización retiniana “in vivo” y la proliferación de las células endoteliales en el vítreo de pacientes con retinopatía diabética “in vitro”. Al igual que en el estudio de Watanabe et al,¹⁸ los pacientes con RDP de nuestro estudio también tienen unos niveles significativamente aumentados de EPO, con respecto a los pacientes control. Los niveles de EPO ajustada en cavidad vítrea están también aumentados en los pacientes con EMD, sin encontrar en nuestro estudio diferencias estadísticamente significativas, en comparación con los pacientes con RDP. Sin embargo, se desconoce si el aumento de EPO que ocurre en el EMD tiene una acción patogénica, relacionada con la permeabilidad vascular o, por el contrario, puede formar parte de un mecanismo de protección fisiológico autorregulado, para prevenir el daño retiniano.²⁰ Con los datos recogidos hasta la fecha, la segunda hipótesis parece la más probable. Martínez-Estrada et al,²⁶⁷ usando un modelo “in vitro” de barrera hematocerebral bovina, aportaron evidencia de que la EPO protege del aumento de permeabilidad de la barrera hematocerebral, inducida por el VEGF, y restaura la

función de las “tight junctions”. El tratamiento con EPO también previene el aumento de permeabilidad de la barrera hematocerebral, en un modelo en ratones en los que se indujo crisis epilépticas.²⁶⁸ Dado que la barrera hemato-retiniana, estructuralmente y funcionalmente, es similar a la barrera hematocerebral,¹⁸¹ es posible que la EPO pueda actuar en la retina también como un factor anti-permeabilidad.

Además de su acción antipermeabilidad y su acción neuroprotectora, la EPO tiene también un efecto antiinflamatorio en el cerebro, y esta acción puede que así mismo pueda ser extrapolable en la retina diabética. Este efecto antiinflamatorio lo mostraron Villa et al ²⁶⁹ en un estudio en ratas, a las que se produjo una oclusión de la arteria cerebral media. La EPO humana recombinante redujo marcadamente la activación de astrocitos y el reclutamiento de leucocitos y células de la microglia. Además, se redujo la producción de citoquinas proinflamatorias, inducidas por la isquemia, como son el factor de necrosis tumoral y la interleukina 6. Finalmente, se ha demostrado que la EPO protege de la apoptosis, inducida por altos niveles de glucemia, así como del efecto deletéreo de los radicales libres.²⁷⁰ Por todos estos motivos, parece que la función de la EPO es crucial para la homeostasis retiniana y que su aumento en el EMD podría ser una consecuencia fisiológica, más que contribuir en su patogénesis.²⁰

En nuestro estudio los niveles de EPO están elevados, tanto en los pacientes con EMD como en aquellos con RDP, sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos y sí respecto a los pacientes control o con oclusión venosa. Llama la atención porque los pacientes con EMD no desarrollan neovascularización, como ocurre en los pacientes con RDP, si los niveles de EPO están igualmente elevados. Actualmente, no tenemos una explicación razonable para esto. Sin embargo, el desarrollo de neovasos, en lugar de depender de un solo factor angiogénico, sería la consecuencia del balance entre factores angiogénicos y antiangiogénicos. Los pacientes con EMD tienen otros factores que contrarrestan el efecto angiogénico de la EPO y favorecen el aumento de permeabilidad de la barrera hemato-retiniana.²⁰

Los niveles de EPO ajustada por proteínas intravítreas fueron mayores en pacientes con OVR que en pacientes controles, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Respecto a pacientes con retinopatía diabética, ya sea EMD o RDP los niveles de EPO intravítrea fueron menores en pacientes con OVR y controles. Las concentraciones séricas de EPO también fueron determinadas, siendo mucho menores

que las determinadas en el vítreo, tanto en los pacientes con DM, como en pacientes controles o con OVR (31 veces menor en suero en los pacientes con RDP, 56 veces en los pacientes con EMD, 11 veces en los pacientes con OVR y 7 veces en los pacientes controles). Esto sugiere firmemente que la EPO analizada en la cavidad vítrea es sintetizada en la retina. Llama la atención que aunque ambas enfermedades vasculares retinianas comparten manifestaciones histológicas, como son la neovascularización y el edema macular, a nivel molecular no encontramos un aumento de EPO en las OVR. La explicación a este hecho podría ser que el mecanismo fisiopatológico de las OVR es distinto; así la falta de la hiperglucemia crónica y la presencia de hipertensión venosa luminal podrían influir en la diferencia en la transcripción de proteínas, como respuesta al mecanismo lesivo. La presencia de otras vías moleculares y de otros múltiples factores angiogénicos y antiangiogénicos, también podría ocasionar respuestas titulares equivalentes en ambas enfermedades vasculares retinianas. El hecho que la hiperglucemia pueda ser un factor que induciría la producción de EPO hace comprender el porqué en las OVR no encontramos el aumento de esta proteína en la cavidad vítrea. Aunque no hay estudios que evalúen el efecto directo de la glucosa en la expresión de EPO por las células retinianas, en un estudio con línea celular de ovario de hámster chino se encontró una correlación directa entre la glucosa y la concentración de EPO.²⁷¹ Además, Hernández et al ²⁰⁴ hallaron aumento de expresión de mRNA de EPO en retinas de donantes diabéticos sin retinopatía diabética en comparación con retinas de donantes no diabéticos. Esto parece indicar que la sobreexpresión de EPO es un evento temprano en la retina de los pacientes diabéticos y que no tiene relación con la isquemia capilar. Este hallazgo da consistencia al concepto de que la isquemia no es necesaria para inducir la expresión del gen de la EPO en el ojo diabético.²⁰ Por tanto, dado que en las OVR no existe la hiperglicemia capilar, no hallaríamos niveles elevados de EPO, a diferencia de lo que pasa en los pacientes diabéticos.

El hecho de que la EPO esté aumentada en el EMD y no en otras enfermedades con edema macular, como la OVR, sugiere que la EPO no está relacionada con la permeabilidad vascular, o al menos que estaría sólo relacionada con la permeabilidad vascular en el contexto de la RD. Estudios inmunohistoquímicos de las uniones interendoteliales y la parte apical del EPR en cultivos celulares, podrían revelar la posible relación entre la EPO y la integridad de la BHR, interna y externa.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIONES

VIII. CONCLUSIONES

1. La concentración intravítrea de SST-28 está disminuida en pacientes con EMD en comparación con pacientes control. Esta concentración es similar a la de los pacientes con RDP.
2. La concentración intravítrea de EPO está elevada en pacientes con EMD en comparación con pacientes control. Esta concentración es similar a la de los pacientes con RDP.
3. La concentración intravítrea de SST-28 no está disminuida en los pacientes con edema macular secundario a oclusión venosa retiniana y es comparable a la de los pacientes control.
4. La concentración intravítrea de EPO no está elevada en pacientes con edema macular secundario a oclusión venosa retiniana y es comparable a la de los pacientes control.
5. La SST y la EPO han demostrado tener una implicación patogénica en el EMD y en la RDP cosa que no ocurre en el EM secundario a OVR.

CAPÍTULO IX

BIBLIOGRAFÍA

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol* 1984;102(4):527-32.
2. Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophthalmol* 1984;102(4):520-6.
3. Palmberg P, Smith M, Waltman S, et al. The natural history of retinopathy in insulin-dependent juvenile-onset diabetes. *Ophthalmology* 1981;88(7):613-8.
4. Hayreh SS, Zimmerman MB, Podhajsky P. Incidence of various types of retinal vein occlusion and their recurrence and demographic characteristics. *Am J Ophthalmol* 1994;117(4):429-41.
5. Deramo VA, Cox TA, Syed AB, et al. Vision-related quality of life in people with central retinal vein occlusion using the 25-item National Eye Institute Visual Function Questionnaire. *Arch Ophthalmol* 2003;121(9):1297-302.
6. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1994;118(4):445-50.
7. Hayreh SS. Prevalent misconceptions about acute retinal vascular occlusive disorders. *Prog Retin Eye Res* 2005;24(4):493-519.
8. Hayreh SS, Hayreh MS. Hemi-central retinal vein occlusion. Pathogenesis, clinical features, and natural history. *Arch Ophthalmol* 1980;98(9):1600-9.
9. Evaluation of grid pattern photocoagulation for macular edema in central vein occlusion. The Central Vein Occlusion Study Group M report. *Ophthalmology* 1995;102(10):1425-33.
10. Hata Y, Nakagawa K, Ishibashi T, et al. Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal glial cells promotes in vitro angiogenesis. *Virchows Arch* 1995;426(5):479-86.
11. Miller JW, Adamis AP, Shima DT, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is temporally and spatially correlated with ocular angiogenesis in a primate model. *Am J Pathol* 1994;145(3):574-84.
12. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994;331(22):1480-7.
13. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146(5):1029-39.
14. Pe'er J, Folberg R, Itin A, et al. Vascular endothelial growth factor upregulation in human central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 1998;105(3):412-6.
15. Simo R, Lecube A, Sararols L, et al. Deficit of somatostatin-like immunoreactivity in the vitreous fluid of diabetic patients: possible role in the development of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2002;25(12):2282-6.
16. Simo R, Carrasco E, Fonollosa A, et al. Deficit of somatostatin in the vitreous fluid of patients with diabetic macular edema. *Diabetes Care* 2007;30(3):725-7.
17. Katsura Y, Okano T, Matsuno K, et al. Erythropoietin is highly elevated in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2005;28(9):2252-4.

18. Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, et al. Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2005;353(8):782-92.
19. Inomata Y, Hirata A, Takahashi E, et al. Elevated erythropoietin in vitreous with ischemic retinal diseases. *Neuroreport* 2004;15(5):877-9.
20. Hernandez C, Fonollosa A, Garcia-Ramirez M, et al. Erythropoietin is expressed in the human retina and it is highly elevated in the vitreous fluid of patients with diabetic macular edema. *Diabetes Care* 2006;29(9):2028-33.
21. Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, et al. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *Jama* 2001;286(10):1195-200.
22. Farreras-Rozman. *Medicina interna*, 15a edición ed. Vol. 1. Barcelona, 2004; 3160.
23. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *Ophthalmology* 1998;105(10):1801-15.
24. Palmberg PF. Diabetic retinopathy. *Diabetes* 1977;26(7):703-9.
25. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414(6865):813-20.
26. Miyamoto K, Ogura Y. Pathogenetic potential of leukocytes in diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol* 1999;14(4):233-9.
27. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, et al. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest* 1998;102(4):783-91.
28. Giardino I BM. The biochemical basis of microvascular disease. *Textbook of diabetes*. Science 1997;42.1-1.6.
29. Forrester Jv KR. The pathogenesis of diabetic retinopathy and cataract. Vol. 45. Oxford: Blackwell Science, 1997; 1-9.
30. Antonelli-Orlidge A, Saunders KB, Smith SR, D'Amore PA. An activated form of transforming growth factor beta is produced by cocultures of endothelial cells and pericytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86(12):4544-8.
31. Liesegang TJ DT, Gilgert FM, et al. Basic and Clinical Science Course: Retina and Vitreous. *American academy of Ophthalmology*. Vol. 12, 2002-2003; 86-144.
32. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991;98(5 Suppl):823-33.
33. ETDRS. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*;98:823-33.
34. Flynn HW, Jr., ed. Basic and clinical science course. Retina and Vitreous. United states of america, 2002.
35. Klein R KB, Moss SE et al. Is blood pressure a predictor of the incidence or progression of diabetic retinopathy? *Arch Intern Med* 1989;149:2427-31.
36. Shimizu K, Kobayashi Y, Muraoka K. Midperipheral fundus involvement in diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1981;88(7):601-12.
37. Muraoka K, Shimizu K. Intraretinal neovascularization in diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1984;91(12):1440-6.
38. Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group. *Arch Ophthalmol* 1985;103(12):1796-806.

39. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991;98(5 Suppl):766-85.
40. Ryan SJ, ed. *Retina*, Fourth edition ed. Vol. 2. Medical Retina. California, 2006.
41. Krolewski AS, Warram JH, Rand LI, et al. Risk of proliferative diabetic retinopathy in juvenile-onset type I diabetes: a 40-yr follow-up study. *Diabetes Care* 1986;9(5):443-52.
42. Moss SE, Klein R, Klein BE. The 14-year incidence of visual loss in a diabetic population. *Ophthalmology* 1998;105(6):998-1003.
43. Ozaki H, Hayashi H, Viores SA, et al. Intravitreal sustained release of VEGF causes retinal neovascularization in rabbits and breakdown of the blood-retinal barrier in rabbits and primates. *Exp Eye Res* 1997;64(4):505-17.
44. Nguyen QD, Shah SM, Van Anden E, et al. Supplemental oxygen improves diabetic macular edema: a pilot study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(2):617-24.
45. Lewis H. The role of vitrectomy in the treatment of diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2001;131(1):123-5.
46. Yang CS, Cheng CY, Lee FL, et al. Quantitative assessment of retinal thickness in diabetic patients with and without clinically significant macular edema using optical coherence tomography. *Acta Ophthalmol Scand* 2001;79(3):266-70.
47. Klein BE, Moss SE, Klein R. Effect of pregnancy on progression of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1990;13(1):34-40.
48. Knowler WC, Bennett PH, Ballentine EJ. Increased incidence of retinopathy in diabetics with elevated blood pressure. A six-year follow-up study in Pima Indians. *N Engl J Med* 1980;302(12):645-50.
49. Group UPDS. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes. UKPDS 38. *Br Med J* 1998;317:703-13.
50. Daneman D, Drash AL, Lobes LA, et al. Progressive retinopathy with improved control in diabetic dwarfism (Mauriac's syndrome). *Diabetes Care* 1981;4(3):360-5.
51. Merimee TJ, Zapf J, Froesch ER. Insulin-like growth factors. Studies in diabetics with and without retinopathy. *N Engl J Med* 1983;309(9):527-30.
52. Meyer-Schwickerath R, Pfeiffer A, Blum WF, et al. Vitreous levels of the insulin-like growth factors I and II, and the insulin-like growth factor binding proteins 2 and 3, increase in neovascular eye disease. Studies in nondiabetic and diabetic subjects. *J Clin Invest* 1993;92(6):2620-5.
53. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993;329(14):977-86.
54. Dahl-Jorgensen K, Brinchmann-Hansen O, Hanssen KF, et al. Rapid tightening of blood glucose control leads to transient deterioration of retinopathy in insulin dependent diabetes mellitus: the Oslo study. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;290(6471):811-5.
55. Lauritzen T, Frost-Larsen K, Larsen HW, Deckert T. Two-year experience with continuous subcutaneous insulin infusion in relation to retinopathy and neuropathy. *Diabetes* 1985;34 Suppl 3:74-9.
56. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998;352(9131):837-53.
57. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *Bmj* 1998;317(7160):703-13.

58. Chew EY, Klein ML, Ferris FL, 3rd, et al. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) Report 22. *Arch Ophthalmol* 1996;114(9):1079-84.
59. Gordon B, Chang S, Kavanagh M, et al. The effects of lipid lowering on diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1991;112(4):385-91.
60. Photocoagulation treatment of proliferative diabetic retinopathy: the second report of diabetic retinopathy study findings. *Ophthalmology* 1978;85(1):82-106.
61. Photocoagulation treatment of proliferative diabetic retinopathy. Clinical application of Diabetic Retinopathy Study (DRS) findings, DRS Report Number 8. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1981;88(7):583-600.
62. Barber AJ, Antonetti DA, Gardner TW. Altered expression of retinal occludin and glial fibrillary acidic protein in experimental diabetes. The Penn State Retina Research Group. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(11):3561-8.
63. Maeshima K, Utsugi-Sutoh N, Otani T, Kishi S. Progressive enlargement of scattered photocoagulation scars in diabetic retinopathy. *Retina* 2004;24(4):507-11.
64. Indications for photocoagulation treatment of diabetic retinopathy: Diabetic Retinopathy Study Report no. 14. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Int Ophthalmol Clin* 1987;27(4):239-53.
65. Focal photocoagulation treatment of diabetic macular edema. Relationship of treatment effect to fluorescein angiographic and other retinal characteristics at baseline: ETDRS report no. 19. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Arch Ophthalmol* 1995;113(9):1144-55.
66. Treatment techniques and clinical guidelines for photocoagulation of diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report Number 2. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1987;94(7):761-74.
67. Early vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy in eyes with useful vision. Results of a randomized trial--Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Report 3. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. *Ophthalmology* 1988;95(10):1307-20.
68. Early vitrectomy for severe vitreous hemorrhage in diabetic retinopathy. Two-year results of a randomized trial. Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study report 2. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. *Arch Ophthalmol* 1985;103(11):1644-52.
69. Martidis A, Duker JS, Greenberg PB, et al. Intravitreal triamcinolone for refractory diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2002;109(5):920-7.
70. Emerson MV, Lauer AK. Emerging therapies for the treatment of neovascular age-related macular degeneration and diabetic macular edema. *BioDrugs* 2007;21(4):245-57.
71. Nguyen QD, Tatlipinar S, Shah SM, et al. Vascular endothelial growth factor is a critical stimulus for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2006;142(6):961-9.
72. Chun DW, Heier JS, Topping TM, et al. A pilot study of multiple intravitreal injections of ranibizumab in patients with center-involving clinically significant diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2006;113(10):1706-12.
73. Chew EY, Benson WE, Remaley NA, et al. Results after lens extraction in patients with diabetic retinopathy: early treatment diabetic retinopathy study report number 25. *Arch Ophthalmol* 1999;117(12):1600-6.
74. Wilson CA, Berkowitz BA, Sato Y, et al. Treatment with intravitreal steroid reduces blood-retinal barrier breakdown due to retinal photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 1992;110(8):1155-9.

75. McCuen BW, 2nd, Bessler M, Tano Y, et al. The lack of toxicity of intravitreally administered triamcinolone acetonide. *Am J Ophthalmol* 1981;91(6):785-8.
76. Schindler RH, Chandler D, Thresher R, Machemer R. The clearance of intravitreal triamcinolone acetonide. *Am J Ophthalmol* 1982;93(4):415-7.
77. Hida T, Chandler D, Arena JE, Machemer R. Experimental and clinical observations of the intraocular toxicity of commercial corticosteroid preparations. *Am J Ophthalmol* 1986;101(2):190-5.
78. Beer PM, Bakri SJ, Singh RJ, et al. Intraocular concentration and pharmacokinetics of triamcinolone acetonide after a single intravitreal injection. *Ophthalmology* 2003;110(4):681-6.
79. Argon laser scatter photocoagulation for prevention of neovascularization and vitreous hemorrhage in branch vein occlusion. A randomized clinical trial. Branch Vein Occlusion Study Group. *Arch Ophthalmol* 1986;104(1):34-41.
80. Klein R KB, Moss SE, Meuer SM. The epidemiology of retinal vein occlusion: The Beaver Dam Eye Study. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2000;98:133-41.
81. Lahey JM, Kearney JJ, Tunc M. Hypercoagulable states and central retinal vein occlusion. *Curr Opin Pulm Med* 2003;9(5):385-92.
82. Ariturk N, Oge Y, Erkan D, et al. Relation between retinal vein occlusions and axial length. *Br J Ophthalmol* 1996;80(7):633-6.
83. Fong AC, Schatz H. Central retinal vein occlusion in young adults. *Surv Ophthalmol* 1993;37(6):393-417.
84. Risk factors for central retinal vein occlusion. The Eye Disease Case-Control Study Group. *Arch Ophthalmol* 1996;114(5):545-54.
85. Frangieh GT, Green WR, Barraquer-Somers E, Finkelstein D. Histopathologic study of nine branch retinal vein occlusions. *Arch Ophthalmol* 1982;100(7):1132-40.
86. Argon laser photocoagulation for macular edema in branch vein occlusion. The Branch Vein Occlusion Study Group. *Am J Ophthalmol* 1984;98(3):271-82.
87. Wilson DJ, Finkelstein D, Quigley HA, Green WR. Macular grid photocoagulation. An experimental study on the primate retina. *Arch Ophthalmol* 1988;106(1):100-5.
88. Kumar B, Yu DY, Morgan WH, et al. The distribution of angioarchitectural changes within the vicinity of the arteriovenous crossing in branch retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 1998;105(3):424-7.
89. Osterloh MD, Charles S. Surgical decompression of branch retinal vein occlusions. *Arch Ophthalmol* 1988;106(10):1469-71.
90. Opremcak EM, Bruce RA. Surgical decompression of branch retinal vein occlusion via arteriovenous crossing sheathotomy: a prospective review of 15 cases. *Retina* 1999;19(1):1-5.
91. Garcia-Arumi J, Martinez-Castillo V, Boixadera A, et al. Management of macular edema in branch retinal vein occlusion with sheathotomy and recombinant tissue plasminogen activator. *Retina* 2004;24(4):530-40.
92. Kurimoto M TH, Suzuma K et al. Vitrectomy for macular edema secondary to retinal vein occlusion: evaluation by retinal thickness analyzer. *Jpn J Clin Ophthalmol* 1999;53:717-20.
93. Saika S, Tanaka T, Miyamoto T, Ohnishi Y. Surgical posterior vitreous detachment combined with gas/air tamponade for treating macular edema associated with branch retinal vein occlusion: retinal tomography and visual outcome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239(10):729-32.
94. TCVOS G. Baseline and early natural history report: the Central Vein Occlusion Study. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1087-95.

95. Gutman FA. Evaluation of a patient with central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 1983;90(5):481-3.
96. TCVOS G. Natural history and clinical management of central retinal vein occlusion. The Central Vein Occlusion Study Group. *Arch Ophthalmol* 1997;115:486-91.
97. Brown GC, Duker JS, Lehman R, Eagle RC, Jr. Combined central retinal artery-central vein obstruction. *Int Ophthalmol* 1993;17(1):9-17.
98. Browning DJ. Patchy ischemic retinal whitening in acute central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 2002;109(11):2154-9.
99. Green W CC, Hutchins G et al. Central retinal vein occlusions: a prospective histopathologic study of 29 eyes in 28 cases. *Retina* 1981;1:27-55.
100. JG C. Central Vein Occlusion Study: photographic protocol and early natural history. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1994;92():203-14.
101. Hayreh SS, Klugman MR, Beri M et al. Differentiation of ischemic from non-ischemic central retinal vein occlusion during the early acute phase. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1990;228():201-17.
102. Browning DF GC. Retinal vein occlusions in patients taking warfarin. *Ophthalmology* 2004;111:1196-200.
103. De Sanctis MT CM, Belcaro G et al. Treatment of retinal vein thrombosis with pentoxifylline: a controlled, randomized trial. *Angiology* 2002;53(1):35-8.
104. Wolf S AO, Bertram B et al. Hemodilution therapy in central retinal vein occlusion. One-year results of a prospective randomized study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994;232:33-9.
105. TCVOS. A Randomized Clinical Trial of Early Panretinal Photocoagulation for Ischemic Central Vein Occlusion. *Ophthalmology* 1995;102:1434-44.
106. TCVOS. Evaluation of Grid Pattern Photocoagulation for Macular Edema in Central Vein Occlusion. *Ophthalmology* 1994;102:1425-33.
107. Fekrat S, Goldberg MF, Finkelstein D. Laser-induced chorioretinal venous anastomosis for nonischemic central or branch retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 1998;116(1):43-52.
108. McAllister IL, Constable IJ. Laser-induced chorioretinal venous anastomosis for treatment of nonischemic central retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 1995;113(4):456-62.
109. McAllister IL, Douglas JP, Constable IJ, Yu DY. Laser-induced chorioretinal venous anastomosis for nonischemic central retinal vein occlusion: evaluation of the complications and their risk factors. *Am J Ophthalmol* 1998;126(2):219-29.
110. Opremcak EM, Bruce RA, Lomeo MD, et al. Radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion: a retrospective pilot study of 11 consecutive cases. *Retina* 2001;21(5):408-15.
111. Garcia-Arumii J, Boixadera A, Martinez-Castillo V, et al. Chorioretinal anastomosis after radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 2003;121(10):1385-91.
112. Opremcak EM, Rehmar AJ, Ridenour CD, Kurz DE. Radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion: 117 consecutive cases. *Retina* 2006;26(3):297-305.
113. Lahey JM, Fong DS, Kearney J. Intravitreal tissue plasminogen activator for acute central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg Lasers* 1999;30(6):427-34.
114. Hattenbach LO, Steinkamp G, Scharrer I, Ohrloff C. Fibrinolytic therapy with low-dose recombinant tissue plasminogen activator in retinal vein occlusion. *Ophthalmologica* 1998;212(6):394-8.

115. Weiss JN. Treatment of central retinal vein occlusion by injection of tissue plasminogen activator into a retinal vein. *Am J Ophthalmol* 1998;126(1):142-4.
116. Jonas JB, Kreissig I, Degenring RF. Intravitreal triamcinolone acetonide as treatment of macular edema in central retinal vein occlusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002;240(9):782-3.
117. Park CH, Jaffe GJ, Fekrat S. Intravitreal triamcinolone acetonide in eyes with cystoid macular edema associated with central retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol* 2003;136(3):419-25.
118. Michaelson. The mode of development of the vascular system of the retina, with some observations on its significance for certain retinal diseases. *Trans ophthalmol Soc UK* 1948;68:137-80.
119. Paques M MP, Gaudric A. Growth factors and diabetic retinopathy. Review. *Diabetes and Metabolism (Paris)* 1997;23:125-30.
120. Pierce EA, Avery RL, Foley ED, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in a mouse model of retinal neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(3):905-9.
121. Danis RP, Yang Y, Massicotte SJ, Boldt HC. Preretinal and optic nerve head neovascularization induced by photodynamic venous thrombosis in domestic pigs. *Arch Ophthalmol* 1993;111(4):539-43.
122. Kador PF, Takahashi Y, Wyman M, Ferris F, 3rd. Diabeteslike proliferative retinal changes in galactose-fed dogs. *Arch Ophthalmol* 1995;113(3):352-4.
123. Favard C, Moukadiri H, Dorey C, et al. Purification and biological properties of vasculotropin, a new angiogenic cytokine. *Biol Cell* 1991;73(1):1-6.
124. Malecaze F, Clamens S, Simorre-Pinatel V, et al. Detection of vascular endothelial growth factor messenger RNA and vascular endothelial growth factor-like activity in proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1994;112(11):1476-82.
125. Burgos R, Simo R, Audi L, et al. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentrations in diabetic retinopathy. *Diabetologia* 1997;40(9):1107-9.
126. Hernandez C, Burgos R, Canton A, et al. Vitreous levels of vascular cell adhesion molecule and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study. *Diabetes Care* 2001;24(3):516-21.
127. Simo R, Lecube A, Segura RM, et al. Free insulin growth factor-I and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2002;134(3):376-82.
128. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997;18(1):4-25.
129. Pepper MS FN. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189:824-31.
130. Pierce EA ARea. Vascular endothelial growth factor (vascular permeability factor) expression in mouse model of retinal neovascularization. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1995;92:905-9.
131. Adamis AP, Shima DT, Yeo KT, et al. Synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;193(2):631-8.
132. Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, et al. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol* 1995;113(12):1538-44.
133. Kvanta A. Expression and regulation of vascular endothelial growth factor in choroidal fibroblasts. *Curr Eye Res* 1995;14(11):1015-20.

134. Grimm C, Hermann DM, Bogdanova A, et al. Neuroprotection by hypoxic preconditioning: HIF-1 and erythropoietin protect from retinal degeneration. *Semin Cell Dev Biol* 2005;16(4-5):531-8.
135. Sone H KY, Okuda Y et al. Vascular endothelial growth factor is induced by long-term high glucose concentration and up-regulated by acute glucose deprivation in cultured bovine retinal pigmented epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;221:193-8.
136. Lu M, Kuroki M, Amano S, et al. Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest* 1998;101(6):1219-24.
137. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004;25(4):581-611.
138. Lu M, Amano S, Miyamoto K, et al. Insulin-induced vascular endothelial growth factor expression in retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(13):3281-6.
139. Yamagishi S, Kawakami T, Fujimori H, et al. Insulin stimulates the growth and tube formation of human microvascular endothelial cells through autocrine vascular endothelial growth factor. *Microvasc Res* 1999;57(3):329-39.
140. Poulaki V, Qin W, Jousen AM, et al. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1 α and VEGF. *J Clin Invest* 2002;109(6):805-15.
141. Le Roith K BC, Yakar S, et al. The somatomedin hypothesis. *Endocr Rev* 2001;22:35-74.
142. Jones JI CD. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995;16:3-34.
143. Gerhardinger C, McClure KD, Romeo G, et al. IGF-I mRNA and signaling in the diabetic retina. *Diabetes* 2001;50(1):175-83.
144. Arner P, Sjöberg S, Gjøtterberg M, Skottner A. Circulating insulin-like growth factor I in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with retinopathy. *Diabetologia* 1989;32(10):753-8.
145. Dills DG, Moss SE, Klein R, et al. Is insulinlike growth factor I associated with diabetic retinopathy? *Diabetes* 1990;39(2):191-5.
146. Simó R CE, García Ramírez M y Hernández C. Angiogenic and antiangiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reviews* 2006;2:1-28.
147. Ocran I. Insulin-like growth factor binding proteins in the nervous system. *Adv Exp Med Biol* 1991;293:471-82.
148. Simó R HC, Segura R, et al. Free IGF-1 in the vitreous fluid of diabetic patients with proliferative diabetic retinopathy. A case control study. *Clin Sci* 2003;104:223-30.
149. Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev* 1999;79(4):1283-316.
150. Fredriksson L, Li H, Eriksson U. The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15(4):197-204.
151. Matsui T, Heidaran M, Miki T, et al. Isolation of a novel receptor cDNA establishes the existence of two PDGF receptor genes. *Science* 1989;243(4892):800-4.
152. Kourembanas S, Hannan RL, Faller DV. Oxygen tension regulates the expression of the platelet-derived growth factor-B chain gene in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1990;86(2):670-4.
153. Mizutani M, Okuda Y, Suzuki S, et al. High glucose increases platelet-derived growth factor production in cultured human vascular endothelial cells and preventive effects of eicosapentaenoic acids. *Life Sci* 1995;57(2):PL31-5.

154. Mori K, Gehlbach P, Ando A, et al. Retina-specific expression of PDGF-B versus PDGF-A: vascular versus nonvascular proliferative retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(6):2001-6.
155. Vinores SA, Seo MS, Derevjanić NL, Campochiaro PA. Photoreceptor-specific overexpression of platelet-derived growth factor induces proliferation of endothelial cells, pericytes, and glial cells and aberrant vascular development: an ultrastructural and immunocytochemical study. *Brain Res Dev Brain Res* 2003;140(2):169-83.
156. Yokota T, Ma RC, Park JY, et al. Role of protein kinase C on the expression of platelet-derived growth factor and endothelin-1 in the retina of diabetic rats and cultured retinal capillary pericytes. *Diabetes* 2003;52(3):838-45.
157. Robbins SG MR, Wilson DJ, et al. Platelet-derived growth factor and fibroblast growth factor basic levels in the vitreous of patients with vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 1998;82:181-5.
158. Cassidy L BP, Shaw C, et al. Platelet derived growth factor in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000;108:106-9.
159. Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB. Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocr Rev* 1997;18(1):26-45.
160. Kinkl N, Hageman GS, Sahel JA, Hicks D. Fibroblast growth factor receptor (FGFR) and candidate signaling molecule distribution within rat and human retina. *Mol Vis* 2002;8:149-60.
161. Kostyk SK, D'Amore PA, Herman IM, Wagner JA. Optic nerve injury alters basic fibroblast growth factor localization in the retina and optic tract. *J Neurosci* 1994;14(3 Pt 2):1441-9.
162. Ohsato M, Hayashi H, Oshima K, et al. In situ localization of basic fibroblast growth factor protein and mRNA in the retina. *Ophthalmic Res* 1997;29(1):24-30.
163. Cornish EE, Natoli RC, Hendrickson A, Provis JM. Differential distribution of fibroblast growth factor receptors (FGFRs) on foveal cones: FGFR-4 is an early marker of cone photoreceptors. *Mol Vis* 2004;10:1-14.
164. Rousseau B, Larrieu-Lahargue F, Bikfalvi A, Javerzat S. Involvement of fibroblast growth factors in choroidal angiogenesis and retinal vascularization. *Exp Eye Res* 2003;77(2):147-56.
165. Lowe WL, Jr., Florkiewicz RZ, Yorek MA, et al. Regulation of growth factor mRNA levels in the eyes of diabetic rats. *Metabolism* 1995;44(8):1038.
166. Boulton M, Gregor Z, McLeod D, et al. Intravitreal growth factors in proliferative diabetic retinopathy: correlation with neovascular activity and glycaemic management. *Br J Ophthalmol* 1997;81(3):228-33.
167. Sivalingam A, Kenney J, Brown GC, et al. Basic fibroblast growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1990;108(6):869-72.
168. Asahara T, Bauters C, Zheng LP, et al. Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo. *Circulation* 1995;92(9 Suppl):II365-71.
169. Bhargava M, Joseph A, Knesel J, et al. Scatter factor and hepatocyte growth factor: activities, properties, and mechanism. *Cell Growth Differ* 1992;3(1):11-20.
170. Grierson I, Heathcote L, Hiscott P, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor in the eye. *Prog Retin Eye Res* 2000;19(6):779-802.
171. Naka D, Ishii T, Yoshiyama Y, et al. Activation of hepatocyte growth factor by proteolytic conversion of a single chain form to a heterodimer. *J Biol Chem* 1992;267(28):20114-9.

172. Simó R VM, García-Arumí J, et al. Intravitreal hepatocyte growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy. A case control study. *Diabetes Research and clinical practice* 2005;1-9.
173. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 1997;277(5322):55-60.
174. Jousseaume AM. Vascular plasticity--the role of the angiopoietins in modulating ocular angiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239(12):972-5.
175. Kim I, Kim JH, Moon SO, et al. Angiopoietin-2 at high concentration can enhance endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. *Oncogene* 2000;19(39):4549-52.
176. Lobov IB, Brooks PC, Lang RA. Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(17):11205-10.
177. Oh H, Takagi H, Suzuma K, et al. Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively up-regulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1999;274(22):15732-9.
178. Ohashi H, Takagi H, Koyama S, et al. Alterations in expression of angiopoietins and the Tie-2 receptor in the retina of streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Vis* 2004;10:608-17.
179. Hammes HP, Lin J, Wagner P, et al. Angiopoietin-2 causes pericyte dropout in the normal retina: evidence for involvement in diabetic retinopathy. *Diabetes* 2004;53(4):1104-10.
180. Lappin T. The cellular biology of erythropoietin receptors. *Oncologist* 2003;8 Suppl 1:15-8.
181. Guyton H. *Tratado de Fisiología médica*, 9ª edición ed. Madrid, 1996.
182. Masuda S, Nagao M, Takahata K, et al. Functional erythropoietin receptor of the cells with neural characteristics. Comparison with receptor properties of erythroid cells. *J Biol Chem* 1993;268(15):11208-16.
183. McGill JB, Bell DS. Anemia and the role of erythropoietin in diabetes. *J Diabetes Complications* 2006;20(4):262-72.
184. Yamaji R, Okada T, Moriya M, et al. Brain capillary endothelial cells express two forms of erythropoietin receptor mRNA. *Eur J Biochem* 1996;239(2):494-500.
185. Jaquet K, Krause K, Tawakol-Khodai M, et al. Erythropoietin and VEGF exhibit equal angiogenic potential. *Microvasc Res* 2002;64(2):326-33.
186. Chavez JC AK, et al. Transient expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and target genes in peripheral nerves from diabetic rats. *Neurosci. Lett*;374:179-82.
187. Arjamaa NM. Oxygen-dependent diseases in the retina: Role of hypoxia-inducible factors. *Experimental eye research* 2006;83:473-83.
188. Steele FR, Chader GJ, Johnson LV, Tombran-Tink J. Pigment epithelium-derived factor: neurotrophic activity and identification as a member of the serine protease inhibitor gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(4):1526-30.
189. Petersen SV, Valnickova Z, Enghild JJ. Pigment-epithelium-derived factor (PEDF) occurs at a physiologically relevant concentration in human blood: purification and characterization. *Biochem J* 2003;374(Pt 1):199-206.
190. Becerra SP, Sagasti A, Spinella P, Notario V. Pigment epithelium-derived factor behaves like a noninhibitory serpin. Neurotrophic activity does not require the serpin reactive loop. *J Biol Chem* 1995;270(43):25992-9.
191. Imai D, Yoneya S, Gehlbach PL, et al. Intraocular gene transfer of pigment epithelium-derived factor rescues photoreceptors from light-induced cell death. *J Cell Physiol* 2005;202(2):570-8.

192. Armstrong LC, Bjorkblom B, Hankenson KD, et al. Thrombospondin 2 inhibits microvascular endothelial cell proliferation by a caspase-independent mechanism. *Mol Biol Cell* 2002;13(6):1893-905.
193. Shafiee A, Penn JS, Krutzsch HC, et al. Inhibition of retinal angiogenesis by peptides derived from thrombospondin-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(8):2378-88.
194. Sheibani N, Sorenson CM, Cornelius LA, Frazier WA. Thrombospondin-1, a natural inhibitor of angiogenesis, is present in vitreous and aqueous humor and is modulated by hyperglycemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;267(1):257-61.
195. Suzuma K, Takagi H, Otani A, et al. Expression of thrombospondin-1 in ischemia-induced retinal neovascularization. *Am J Pathol* 1999;154(2):343-54.
196. Chavakis E, Dimmeler S. Regulation of endothelial cell survival and apoptosis during angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(6):887-93.
197. Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, et al. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(8):4736-41.
198. Spranger J, Hammes HP, Preissner KT, et al. Release of the angiogenesis inhibitor angiostatin in patients with proliferative diabetic retinopathy: association with retinal photocoagulation. *Diabetologia* 2000;43(11):1404-7.
199. Raisler BJ, Berns KI, Grant MB, et al. Adeno-associated virus type-2 expression of pigmented epithelium-derived factor or Kringles 1-3 of angiostatin reduce retinal neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(13):8909-14.
200. Igarashi T, Miyake K, Kato K, et al. Lentivirus-mediated expression of angiostatin efficiently inhibits neovascularization in a murine proliferative retinopathy model. *Gene Ther* 2003;10(3):219-26.
201. Yamada T, Marshak D, Basinger S, et al. Somatostatin-like immunoreactivity in the retina. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77(3):1691-5.
202. Yamada T, Basinger S. Biosynthesis of somatostatin-like immunoreactivity by frog retinas in vitro. *J Neurochem* 1982;39(6):1539-46.
203. Patel YC, Wheatley T, Ning C. Multiple forms of immunoreactive somatostatin: comparison of distribution in neural and nonneural tissues and portal plasma of the rat. *Endocrinology* 1981;109(6):1943-9.
204. Hernandez C, Carrasco E, Casamitjana R, et al. Somatostatin molecular variants in the vitreous fluid: a comparative study between diabetic patients with proliferative diabetic retinopathy and nondiabetic control subjects. *Diabetes Care* 2005;28(8):1941-7.
205. Alberts B BD, Lewis J. *Biología molecular de La Célula*, Tercera edición ed. Barcelona, 1996.
206. Klisovic DD, O'Dorisio MS, Katz SE, et al. Somatostatin receptor gene expression in human ocular tissues: RT-PCR and immunohistochemical study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(10):2193-201.
207. Lambooy AC, Kuijpers RW, van Lichtenauer-Kaligis EG, et al. Somatostatin receptor 2A expression in choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(8):2329-35.
208. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36(4):331-5.
209. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006;113(3):363-72 e5.

210. Rosenfeld PJ, Fung AE, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for macular edema from central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36(4):336-9.
211. Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 2006;113(10):1695 e1-15.
212. Chilov MN, Grigg JR, Playfair TJ. Bevacizumab (Avastin) for the treatment of neovascular glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35(5):494-6.
213. Vataavuk Z, Bencic G, Mandic Z. Intravitreal bevacizumab for neovascular glaucoma following central retinal artery occlusion. *Eur J Ophthalmol* 2007;17(2):269-71.
214. Iliev ME, Domig D, Wolf-Schnurrbursch U, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of neovascular glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2006;142(6):1054-6.
215. Yazdani S, Hendi K, Pakravan M. Intravitreal bevacizumab (Avastin) injection for neovascular glaucoma. *J Glaucoma* 2007;16(5):437-9.
216. Mordenti J, Cuthbertson RA, Ferrara N, et al. Comparisons of the intraocular tissue distribution, pharmacokinetics, and safety of 125I-labeled full-length and Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. *Toxicol Pathol* 1999;27(5):536-44.
217. Shimura M, Yasuda K, Nakazawa T, et al. Quantifying alterations of macular thickness before and after panretinal photocoagulation in patients with severe diabetic retinopathy and good vision. *Ophthalmology* 2003;110(12):2386-94.
218. Poulsen J. The Houssay phenomenon in man: recovery from retinopathy in a case of diabetes with Simmond's disease. *Diabetes* 1953;2:7-12.
219. Lundbaek D MR, Anderson HC. Hypophysectomy for diabetic angiopathy: a controlled clinical trial. In symposium on the treatment of diabetic retinopathy. MF, Fine SL. Eds Washington, DC, U.S. 1989;1890.
220. Rang H. P. DMM. *Farmacología*, Harcourt Brace ed. España: Churchill Livingstone, 1997.
221. Hyer SL, Kohner EM. Aspects of growth hormone control in diabetes. *Aust N Z J Ophthalmol* 1990;18(1):33-9.
222. Kirkegaard C, Norgaard K, Snorgaard O, et al. Effect of one year continuous subcutaneous infusion of a somatostatin analogue, octreotide, on early retinopathy, metabolic control and thyroid function in Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1990;122(6):766-72.
223. Mallet R. [Treatment of diabetes in children.]. *Rev Prat* 1959;9:3025-34.
224. Clemens A, Klevesath MS, Hofmann M, et al. Octreotide (somatostatin analog) treatment reduces endothelial cell dysfunction in patients with diabetes mellitus. *Metabolism* 1999;48(10):1236-40.
225. Grant MB, Caballero S, Jr. The potential role of octreotide in the treatment of diabetic retinopathy. *Treat Endocrinol* 2005;4(4):199-203.
226. to FawpiapwDio, capillaries. atdoridbnotr, For this purpose wutmdbtCRVO, et al. Central Vein Occlusion Study: Photographic protocol and early natural history. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1994;XCII:203-15 Fluorescein angiography was performed in all patients with DME in order to assess the degree of retinal ischemia denoted by nonperfusion of the retinal capillaries. For this purpose, we used the method developed by the Central Retinal Vein Occlusion Study Group (20). The photographic protocol included fluorescein angiographic views of posterior pole and midperiphery. Capillary nonperfusion was measured using a

transparent disc area template placed over the angiogram. The number of disc areas were counted by the same ophthalmologist in every case. According to this protocol eyes with less than 10 disc areas of nonperfusion were classified as having little or no evidence of ischemia.

The protocol for sample collection was approved by the hospital ethics committee, and informed consent was obtained from patients

227. Clemett RS. Retinal branch vein occlusion. Changes at the site of obstruction. *Br J Ophthalmol* 1974;58(5):548-54.
228. Friedman EA. Advanced glycosylated end products and hyperglycemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1999;22 Suppl 2:B65-71.
229. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996;19(3):257-67.
230. Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, et al. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(23):10457-61.
231. Burgos R, Mateo C, Canton A, et al. Vitreous levels of IGF-I, IGF binding protein 1, and IGF binding protein 3 in proliferative diabetic retinopathy: a case-control study. *Diabetes Care* 2000;23(1):80-3.
232. Grant M, Russell B, Fitzgerald C, Merimee TJ. Insulin-like growth factors in vitreous. Studies in control and diabetic subjects with neovascularization. *Diabetes* 1986;35(4):416-20.
233. Barouch FC, Miyamoto K, Allport JR, et al. Integrin-mediated neutrophil adhesion and retinal leukostasis in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(5):1153-8.
234. Boeri D, Maiello M, Lorenzi M. Increased prevalence of microthromboses in retinal capillaries of diabetic individuals. *Diabetes* 2001;50(6):1432-9.
235. Bek T. Glial cell involvement in vascular occlusion of diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;75(3):239-43.
236. Gardner TW, Antonetti DA, Barber AJ, et al. Diabetic retinopathy: more than meets the eye. *Surv Ophthalmol* 2002;47 Suppl 2:S253-62.
237. Antonetti DA, Barber AJ, Hollinger LA, et al. Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occludin and zonula occluden 1. A potential mechanism for vascular permeability in diabetic retinopathy and tumors. *J Biol Chem* 1999;274(33):23463-7.
238. Pe'er J, Shweiki D, Itin A, et al. Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal cells is a common factor in neovascularizing ocular diseases. *Lab Invest* 1995;72(6):638-45.
239. Bhisitkul RB, Robinson GS, Moulton RS, et al. An antisense oligodeoxynucleotide against vascular endothelial growth factor in a nonhuman primate model of iris neovascularization. *Arch Ophthalmol* 2005;123(2):214-9.
240. Adamis AP, Shima DT, Tolentino MJ, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor prevents retinal ischemia-associated iris neovascularization in a nonhuman primate. *Arch Ophthalmol* 1996;114(1):66-71.
241. Funatsu H, Yamashita H, Sakata K, et al. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor and intercellular adhesion molecule 1 are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2005;112(5):806-16.
242. Lake N, Patel YC. Neurotoxic agents reduce retinal somatostatin. *Brain Res* 1980;181(1):234-6.

243. Roca CA, Su TP, Elpern S, et al. Cerebrospinal fluid somatostatin, mood, and cognition in multiple sclerosis. *Biol Psychiatry* 1999;46(4):551-6.
244. Dupont E, Christensen SE, Hansen AP, et al. Low cerebrospinal fluid somatostatin in Parkinson disease: an irreversible abnormality. *Neurology* 1982;32(3):312-4.
245. Carrasco E, Hernandez C, Miralles A, et al. Lower somatostatin expression is an early event in diabetic retinopathy and is associated with retinal neurodegeneration. *Diabetes Care* 2007;30(11):2902-8.
246. Davis MI, Wilson SH, Grant MB. The therapeutic problem of proliferative diabetic retinopathy: targeting somatostatin receptors. *Horm Metab Res* 2001;33(5):295-9.
247. Wilson SH, Davis MI, Caballero S, Grant MB. Modulation of retinal endothelial cell behaviour by insulin-like growth factor I and somatostatin analogues: implications for diabetic retinopathy. *Growth Horm IGF Res* 2001;11 Suppl A:S53-9.
248. Yamaguchi K, Gaur VP, Spira AW, Turner JE. Cellular localization of somatostatin mRNA in rat retina. *Neuropeptides* 1990;17(1):13-6.
249. Mallet B, Vialettes B, Haroche S, et al. Stabilization of severe proliferative diabetic retinopathy by long-term treatment with SMS 201-995. *Diabete Metab* 1992;18(6):438-44.
250. Kuijpers RW, Baarsma S, van Hagen PM. Treatment of cystoid macular edema with octreotide. *N Engl J Med* 1998;338(9):624-6.
251. Catalani E, Cervia D, Martini D, et al. Changes in neuronal response to ischemia in retinas with genetic alterations of somatostatin receptor expression. *Eur J Neurosci* 2007;25(5):1447-59.
252. Grant MB, Mames RN, Fitzgerald C, et al. The efficacy of octreotide in the therapy of severe nonproliferative and early proliferative diabetic retinopathy: a randomized controlled study. *Diabetes Care* 2000;23(4):504-9.
253. Ribatti D, Presta M, Vacca A, et al. Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Blood* 1999;93(8):2627-36.
254. Juul SE, Joyce AE, Zhao Y, Ledbetter DJ. Why is erythropoietin present in human milk? Studies of erythropoietin receptors on enterocytes of human and rat neonates. *Pediatr Res* 1999;46(3):263-8.
255. Kretz A, Happold CJ, Marticke JK, Isenmann S. Erythropoietin promotes regeneration of adult CNS neurons via Jak2/Stat3 and PI3K/AKT pathway activation. *Mol Cell Neurosci* 2005;29(4):569-79.
256. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(19):10526-31.
257. Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowski C, et al. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol Med* 2002;8(8):495-505.
258. Calapai G, Marciano MC, Corica F, et al. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation. *Eur J Pharmacol* 2000;401(3):349-56.
259. Genc S, Kuralay F, Genc K, et al. Erythropoietin exerts neuroprotection in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated C57/BL mice via increasing nitric oxide production. *Neurosci Lett* 2001;298(2):139-41.
260. Junk AK, Mammis A, Savitz SI, et al. Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(16):10659-64.

261. Grimm C, Wenzel A, Groszer M, et al. HIF-1-induced erythropoietin in the hypoxic retina protects against light-induced retinal degeneration. *Nat Med* 2002;8(7):718-24.
262. Digicaylioglu M, Lipton SA. Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF-kappaB signalling cascades. *Nature* 2001;412(6847):641-7.
263. Koshimura K, Murakami Y, Sohmiya M, et al. Effects of erythropoietin on neuronal activity. *J Neurochem* 1999;72(6):2565-72.
264. Agnello D, Bigini P, Villa P, et al. Erythropoietin exerts an anti-inflammatory effect on the CNS in a model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res* 2002;952(1):128-34.
265. Tsai JC, Wu L, Worgul B, et al. Intravitreal administration of erythropoietin and preservation of retinal ganglion cells in an experimental rat model of glaucoma. *Curr Eye Res* 2005;30(11):1025-31.
266. Layton CJ, Wood JP, Chidlow G, Osborne NN. Neuronal death in primary retinal cultures is related to nitric oxide production, and is inhibited by erythropoietin in a glucose-sensitive manner. *J Neurochem* 2005;92(3):487-93.
267. Martinez-Estrada OM, Rodriguez-Millan E, Gonzalez-De Vicente E, et al. Erythropoietin protects the in vitro blood-brain barrier against VEGF-induced permeability. *Eur J Neurosci* 2003;18(9):2538-44.
268. Uzum G, Sarper Diler A, Bahcekapili N, Ziya Ziylan Y. Erythropoietin prevents the increase in blood-brain barrier permeability during pentylentetrazol induced seizures. *Life Sci* 2006;78(22):2571-6.
269. Villa P, Bigini P, Mennini T, et al. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med* 2003;198(6):971-5.
270. Sekiguchi N, Inoguchi T, Kobayashi K, et al. Erythropoietin attenuated high glucose-induced apoptosis in cultured human aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334(1):218-22.
271. Sun XM, Zhang YX. [Effects of glucose on growth, metabolism and EPO expression in recombinant CHO cell cultures]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao* 2001;17(6):698-702.