

ESTUDIO DE MEDIADORES PATOGENICOS DEL EDEMA MACULAR DIABÉTICO MEDIANTE ANÁLISIS DEL HUMOR VÍTREO. PAPEL DE LA ERITROPOYETINA Y LA SOMATOSTATINA

STUDY OF PATHOGENIC MEDIATORS IN DIABETIC MACULAR EDEMA BY ANALYSIS OF THE VITREOUS HUMOUR. ROLE OF ERYTHROPOIETIN AND SOMATOSTATIN

FONOLLOSA A¹, GARCÍA-ARUMÍ J²

El edema macular diabético (EMD) es la causa más frecuente de pérdida de agudeza visual (AV) en pacientes con diabetes mellitus. Esta afirmación encabezaba la mayoría de publicaciones y capítulos de libros sobre retinopatía diabética (RD) de los últimos 20 años y aún hoy lo sigue haciendo. Es decir, el EMD es todavía un problema no resuelto. El *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* demostró que la fotocoagulación focal en casos de edema macular clínicamente significativo disminuía el riesgo de pérdida de AV moderada a la mitad a los 3 años de seguimiento. Sin embargo, en términos de mejoría de AV los resultados fueron peores: de los ojos con una AV de <20/40 al inicio del estudio sólo un 40% de los que recibieron tratamiento inmediato ganaron 1 línea a los 2 años (1). La eficacia de la triamcinolona intravítrea, a menudo espectacular, nos hizo creer que el objetivo de ganar AV en estos pacientes era asumible. Sin embargo, una publicación reciente en la que se comparó este tratamiento con la fotocoagulación focal no ha demostrado diferencias en términos de AV con un seguimiento de 3 años (2).

La patogenia del EMD es compleja y no del todo conocida. Las diferentes vías patogénicas implicadas convergen en un hecho fundamental: la disrupción de la barrera hematorretiniana (BHR). Ésta tiene dos componentes: la BHR interna, formada por el endotelio retiniano y una red de células gliales (astrocitos y células de Müller), y la BHR externa,

formada por el epitelio pigmentario de la retina (EPR). Aunque hay estudios clínicos que sugieren que es la alteración de la BHR interna la que contribuye más al aumento de permeabilidad responsable del edema macular, estudios experimentales sugieren que la externa también desempeñaría un papel importante. El proceso inicial en la patogenia de la retinopatía diabética (RD) es la hiperglucemia crónica y los cambios metabólicos asociados, como son la formación de productos finales de glicación avanzada, el aumento del diacilglicerol (DAG) y del estrés oxidativo. Este ambiente metabólico anómalo altera la estructura y la función de los vasos retinianos (se forman microaneurismas, aumenta la leucostasis, se produce vasoconstricción e isquemia) y estimula o inhibe la síntesis y secreción de mediadores por parte de las células retinianas, endotelio y EPR. Estos mediadores actúan de forma directa sobre la BHR y el vítreo. Un desequilibrio entre mediadores proedema y antiedema, a favor de los primeros, incrementa la permeabilidad de la BHR. Sin duda, el más conocido, y probablemente el más importante de estos mediadores, es el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF, *Vascular Endothelial Growth Factor*). Este péptido tiene 6 isoformas: 121, 145, 165, 183, 189 y 206. La más importante en la patogenia del EMD es la 165. El VEGF es producido por el EPR, células ganglionares, células de Müller, pericitos y células endoteliales. La hiperglucemia, el estrés oxidativo, el DAG a través de la pro-

¹ Doctor en Medicina. Adjunto del servicio de Oftalmología del Hospital de Cruces. Vizcaya. España.
E-mail: 36427afc@comb.es

² Doctor en Medicina. Catedrático de Oftalmología. Facultad de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. Jefe de Servicio de Oftalmología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

teinquinasa C, la hipoxia y otros mediadores como la Interleuquina-6 y la Interleuquina-8 inducen su expresión. El VEGF induce cambios conformacionales en las *tight junctions* interendoteliales mediante la fosforilación de ocludina y ZO-1 y produce el desarrollo de fenestraciones en las células endoteliales. Ambos hechos provocan un aumento de la permeabilidad capilar y edema. Así, el VEGF constituye una diana terapéutica clave en el edema macular. Recientemente se han publicado los resultados con 6 meses de seguimiento de un estudio prospectivo, aleatorizado y multicéntrico en que se comparaba la inyección intravítrea de 0,5 mg de Ranibizumab, fármaco anti-VEGF, con la fotocoagulación focal y con la combinación de ambos tratamientos en pacientes con edema macular clínicamente significativo. El tratamiento con Ranibizumab fue mejor que el láser en términos de agudeza visual y disminución de grosor macular (3).

El VEGF y otros mediadores están presentes en el humor vítreo, y son cuantificables mediante diversas técnicas como el radioinmunoanálisis o los tests de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). El análisis del vítreo permite, pues, hallar nuevos mediadores patogénicos y, por tanto, potenciales dianas terapéuticas. Hay que señalar que es fundamental tener en cuenta una serie de aspectos metodológicos cuando se analizan muestras vítreas con el objeto de determinar y cuantificar péptidos. En relación a la técnica quirúrgica, para no diluir la muestra es necesario obtenerla con la infusión cerrada o bien bajo aire siendo este último el modo más seguro pues se mantiene el tono del globo ocular. El volumen que debemos obtener depende de la cantidad de factores a determinar, de si analizamos otros parámetros, como por ejemplo proteínas y del test a aplicar. En la actualidad disponemos de un tipo de ELISA, el llamado ELISA-*multiplex* que permite determinar muchísimos mediadores con volúmenes muy pequeños de muestra. Con relación al diseño del estudio debemos establecer la concentración del factor estudiado también en controles. Por razones obvias no pueden obtenerse muestras vítreas de pacientes con ojos absolutamente sanos. Habitualmente como controles empleamos muestras de pacientes en los que se realiza vitrectomía, como tratamiento de enfermedades retinianas patológicamente alejadas de la que es objeto de estudio. En el caso del EMD usamos como controles pacientes con agujero macular o membrana epirretiniana idiopáticos. Es importante rechazar casos que pre-

senten hemorragia vítreo o se detecte hemoglobina en la muestra. El hecho de que haya sangre en el vítreo significa que el contenido intravascular ha accedido a la cavidad vítreo. Así, podríamos encontrar concentraciones elevadas de un factor simplemente por este motivo. La concentración vítreo de un factor puede estar influida por la concentración plasmática del mismo. Es necesario hacer estudios casos-control en los que ambos grupos estén apareados por las concentraciones plasmáticas del factor a estudiar para evitar este sesgo. Otra opción es calcular el cociente concentración vítreo/concentración plasmática del factor. Finalmente, la disrupción de la BHR que ocurre en la RD produce un incremento de proteínas en el vítreo. Por tanto, hallar concentraciones elevadas de un factor en el vítreo puede reflejar un aumento no específico de proteínas por difusión. Así, debemos corregir la concentración vítreo del factor por la de proteínas totales. Al tener en cuenta estos aspectos podremos valorar adecuadamente los resultados de nuestros estudios. Llegados a este punto también es muy importante entender qué significado patogénico tiene hallar elevada o disminuida la concentración de un factor en muestras vítreas de pacientes con una determinada enfermedad. Aplicando esta metodología hemos valorado el papel que pueden desempeñar dos mediadores, la Eritropoyetina (EPO) y la Somatostatina (SST), en la patogenia del EMD (4,5). La EPO es una glicoproteína relacionada con la eritropoyesis sintetizada por el hígado fetal y el riñón adulto. También se ha demostrado su expresión en el cerebro y la retina fetal y adulta. Investigaciones recientes sugieren que desempeñaría un papel neuroprotector en estos tejidos. La hipoxia es un potente estimulante de la síntesis sistémica e intraocular de EPO. De hecho se han hallado concentraciones elevadas de EPO en pacientes con RD proliferativa y algunos estudios demuestran que tiene una actividad proangiogénica similar al VEGF. En dicho estudio hallamos concentraciones elevadas en pacientes con EMD y pacientes con RD proliferativa en comparación con un grupo control sin existir diferencias entre los grupos diabéticos. El incremento de EPO en el caso de RD proliferativa contribuiría a la neovascularización retiniana. Sin embargo, la relación entre el aumento de EPO y el edema macular no está clara. De hecho, existe evidencia de que esta hormona contrarresta el incremento de permeabilidad de la barrera hematoencefálica (análoga a la BHR) inducido por el VEGF y

restituye las *tight junctions* en un modelo *in vitro* de dicha estructura y se han publicado casos de mejora del EMD en pacientes tratados con EPO sistémica por insuficiencia renal. Es decir, es posible que el aumento de EPO intravítrea en pacientes con EMD forme parte de un mecanismo autorregulador protector frente a la hiperpermeabilidad vascular. La SST es conocida por su acción inhibitoria de la hormona del crecimiento, pero hay que señalar que es ubicua y se ha demostrado su expresión retiniana. En nuestro estudio hallamos concentraciones menores de SST en pacientes con EMD en comparación con pacientes control. En el mismo estudio hallamos concentraciones menores de SST en pacientes con RD proliferativa en comparación con controles, sin existir diferencias con los pacientes con edema macular. Existen datos que apuntan a que el déficit de SST podría contribuir al aumento de permeabilidad vascular. Esta hormona tiene actividad antisecretora en el tubo digestivo. En la parte apical del EPR se ha demostrado expresión de receptores de SST donde se ubican varios sistemas de transporte de fluido e iones. Así pues, la SST podría regular este transporte. Además, se han publicado casos de pacientes con edema macular de etiología inflamatoria tratados con éxito con análogos de la somatostatina sistémicos. Es decir, el déficit de SST sí podría tener relación directa con la patogenia del EMD.

Todavía quedan muchos aspectos por investigar en la patogenia del EMD. El análisis del vítreo permite inferir qué está sucediendo en la retina de los pacientes diabéticos, pero hay que tener en cuenta algunas consideraciones metodológicas para valorar adecuadamente los resultados de los estudios: rechazar las muestras con sangre o las que se detec-

te hemoglobina, realizar estudios caso-control con grupos apareados por concentración plasmática del péptido en cuestión y corregir la concentración vítrea del factor por la concentración de proteínas totales. Además, la interpretación de los resultados debe ser biológicamente plausible y ser coherente con los conocimientos que se tienen sobre el tema en ese momento. La EPO y la SST podrían estar relacionadas con la patogenia del EMD. La primera, como factor protector frente a la enfermedad y el déficit de la segunda, como factor favorecedor del aumento de permeabilidad vascular.

BIBLIOGRAFÍA

1. *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Photocoagulation for diabetic macular edema: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Arch Ophthalmol 1985; 103: 1796-1806.*
2. *Diabetic Retinopathy Clinical Research Network (DRCR.net), Beck RW, Edwards AR, Aiello LP, Bressler NM, Ferris F, et al. Three-year follow-up of a randomized trial comparing focal/grid photocoagulation and intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. Arch Ophthalmol 2009; 127: 245-251.*
3. *Nguyen QD, Shah SM, Heier JS, Do DV, Lim J, Boyer D, et al. Primary End Point (Six Months) Results of the Ranibizumab for Edema of the macula in Diabetes (READ-2) Study. Ophthalmology 2009; 116: 2175-2181.*
4. *Hernández C, Fonollosa A, García-Ramírez M, Higuera M, Catalan R, Miralles A, et al. Erythropoietin is expressed in the human retina and its highly elevated in the vitreous fluid of patients with diabetic macular edema. Diabetes Care 2006; 29: 2028-2033.*
5. *Simo R, Carrasco E, Fonollosa A, Garcia-Arumi J, Casamitjana R, Hernandez C. Deficit of Somatostatin in the vitreous fluid of patients with diabetic macular. Diabetes Care 2007; 30: 725-727.*