

Caracterització dels Factors Clínics i Biològics Associats a l'Edema Macular Diabètic en la Diabetis Mellitus Tipus II

TESI DOCTORAL

Marc Figueras Roca

dirigida per:
Alfredo Adán Civera



UNIVERSITAT^{DE}
BARCELONA

Universitat de Barcelona
Facultat de Medicina

2018

AGRAÏMENTS

Cap investigació clínica de qualitat es pot dur a terme sense tres pilars fonamentals en equilibri. En primer lloc, els pacients, que són font i alhora destí dels nostres estudis. En segon terme, el factor humà de l'entorn laboral que acull el treball de camp. En tercer lloc, i potser el més important tot i sovint passar desapercebut, el nucli personal de suport: la família i els amics. Sense aquest necessari triumvirat la present Tesi Doctoral no hauria estat possible.

Les preguntes clíniques del dia a dia, i els estudis que se'n deriven, neixen de la pràctica habitual de la Medicina, perquè els nostres pacients sempre esperen un millor diagnòstic i un optimitzat tractament. A ells, que són origen i fi de la investigació clínica, agraiïm la seva predisposició altruista, bona voluntat i comprensió envers les dificultats de l'Oftalmologia en el nostre àmbit.

Per altra banda, la investigació no és mai un acte individual sinó col·lectiu, i és per això que l'estructura laboral i, especialment, els companys de feina, són claus per al seu èxit. Vull agrair a tots els col·legues de l'Institut Clínic d'Oftalmologia (ICOF) el seu desinteressat suport. En primer lloc, aquest projecte no hauria vist la llum sense la iniciativa i empena d'Alfredo Adán, Director de la present Tesi i guia de la innovació clínica a l'ICOF. En segon lloc, agrair a Blanca Molins la seva paciència i ajuda imprescindible en el treball de laboratori, així com el seu esforç a fer-lo comprensible i fàcil. També reconèixer als companys de camí en els estudis iniciats en Edema Macular Diabètic, l'Anna Sala, en Javier Zarranz i la Irene Vinagre, per la seva dedicació i entrega. Tot seguit, agrair a la resta d'amics de l'ICOF, adjunts, residents, optometristes, infermeria i administratius, que han col·laborat desinteressadament, en major o menor mesura, en la consecució d'aquesta iniciativa. En darrer terme, reconèixer especialment a en Manuel Navarro per haver-me iniciat en el camp de la Retina, a en José Ríos per il·luminar el costat fosc de l'estadística, a la Núria, Olga i Rosa per gestionar estoicament els meus maldecaps logístics, i, per descomptat, a tot el grup del motor perquè, al cap i la fi, molts companys de feina no són només per treballar.

Finalment, vull agrair a la meva esfera personal el seu recolzament transparent i sincer, sense esperar res a canvi. Els grans projectes no són possibles sense grans suports, i també seu és el mèrit d'aquesta Tesi Doctoral. Dono les gràcies especialment als meus amics, els de sempre i els de fa poc, a Barcelona i a El Vendrell, per compartir vetllades, viatges i tot d'experiències. Per últim, agrair a tota la meva família, sobretot als meus pares Antònia i Eloi, la seva estima incondicional, comprensió sense límits i ajuda en tot i per a tot.

A tots i cada un d'ells, moltes gràcies per haver compartit amb mi aquest inoblidable viatge.

“Mit dem Augenspiegel bei ad maximum erweiterter Pupille... die peripherischen Theile des Augengrundes lassen keinerlei Veränderungen wahrnehmen, dagegen ist die Stelle und Umgebung des Sehnervenquerschnittes lichtschwächer...

...Augengrundes erscheint hiebei in gleicher Ebene mit den Retinagefäßen (nicht wie sonst unterhalb derselben)...wie mit einem zarten durchsichtigen, graulichen Nebel bedeckt...

...blutrother Flecke von der verschiedensten Grösse wahr, welche in der Ebene der Retinagefäße, daher innerhalb der Retina zu liegen scheinen...

...zwischen den Flecken, in einigem Abstände vom Sehnervenquerschnitte, treten ausserdem mehrere unregelmässig rundliche, lichtgelbe Stellen durch ihre bedeutende Lichtintensität sehr deutlich hervor.”

“Mitjançant l'oftalmoscopi amb la màxima dilatació pupil·lar... les parts perifèriques dels fons d'ull no presenten cap canvi mentre que el sector transversal al nervi òptic i els seus voltants són més clars...

... el fons d'ull apareix aquí en el mateix pla dels vasos retinals (no per sota, com és habitual)... com si restés cobert per una boirina delicada, translúcida i grisosa...

... taques d'un vermell sanguinolent de les més variades mides semblen disposar-se en el pla dels vasos retinals, per tant, dins la retina...

... entre aquests punts, a certa distància de l'àrea tangencial al nervi òptic, apareixen també diferents taques irregularment rodones i groguenques, brillant significativament de forma clara.”

Beiträge zur Pathologie des Auges. Wien; p, 33.

Edoardo Jäger, 1855-56

Primera descripció històrica de l'edema macular diabètic

ÍNDEX

12	LLISTAT DE FIGURES
13	LLISTAT DE TAULES
14	GLOSSARI
17	INTRODUCCIÓ
20	I. Epidemiologia
21	II. Factors de risc
22	III. Etiopatogènia
23	<i>Mecanismes fisiopatològics generals</i>
24	<i>Inflamació i estrès oxidatiu en l'edema macular diabètic</i>
25	<i>Activació glial i edema macular diabètic</i>
25	<i>Evidència in vivo de mediadors</i>
29	IV. Presentació clínica i diagnòstic
29	<i>Biomicroscòpia indirecta</i>
31	<i>Retinografia</i>
32	<i>Angiografia fluoresceínica retinal</i>
33	<i>Tomografia de coherència òptica</i>
35	<i>Angiografia retinal per tomografia de coherència òptica</i>
40	V. Tractament
47	JUSTIFICACIÓ
53	HIPÒTESI
57	OBJECTIUS

61	MATERIALS I MÈTODE
63	I. Marc ètic i clínic de l'estudi
63	II. Característiques generals de la investigació: grups d'estudi
63	<i>Tipus i duració de l'estudi</i>
63	<i>Grups d'estudi: criteris d'inclusió i exclusió</i>
65	<i>Criteris de selecció</i>
66	III. Procediments d'estudi
67	IV. Variables d'estudi
67	<i>Variables demogràfiques</i>
67	<i>Variables clíniques</i>
67	<i>Variables sistèmiques metabòliques</i>
67	<i>Variables sistèmiques inflamatores</i>
67	<i>Variables oftalmològiques</i>
68	<i>Exploracions complementàries anatòmiques oculars</i>
69	V. Anàlisi estadístic
73	RESULTATS
75	I. Descriptius epidemiològics i clínics
78	II. Resultats analítics sèrics
81	III. Resultats anatòmics intraoculars: grup EMD
86	IV. Associació entre resultats intraoculars i paràmetres sèrics: grup EMD

99	DISCUSSIÓ
102	I. Descripció epidemiològica i clínica dels grups d'estudi
104	II. Resultats analítics sèrics
106	III. Resultats de variables oftalmològiques en el grup EMD
106	<i>Resultats anatòmics intraoculars en EMD</i>
108	<i>Associacions entre resultats anatòmics i agudesia visual</i>
110	IV. Associacions entre resultats intraoculars i paràmetres sèrics: grup EMD
110	<i>Variables quantitatives per OCT</i>
111	<i>Variables qualitatives per OCT</i>
113	<i>Variables qualitatives per AFCA</i>
114	V. Limitacions de la investigació
117	CONCLUSIONS
121	REFERÈNCIES
139	ANNEX

LLISTAT DE FIGURES

38	Figura 1. Elements diagnòstics en edema macular diabètic
39	Figura 2. Angiografia per tomografia de coherència òptica
44	Figura 3. Elements terapèutics en edema macular diabètic
70	Figura 4. Variables qualitatives d'EMD per OCT
71	Figura 5. Variables qualitatives d'EMD per AFCA
75	Figura 6. Diagrama de selecció de la mostra en els grups estudiats
84	Figura 7. Representació gràfica de la correlació entre resultats quantitatius per OCT i agudesia visual en el grup EMD
94	Figura 8. Representació gràfica de la correlació entre resultats quantitatius per OCT i HbA _{1c} en el grup EMD
95	Figura 9. Representació gràfica de la correlació entre volum macular per OCT i IL-6 en el grup EMD
97	Figura 10. Representació gràfica mitjançant diagrama de caixes de les associacions entre resultats qualitius per OCT i AFCA i marcadors inflamatoris sèrics

LLISTAT DE TAULES

76	Taula 1. Descripció epidemiològica dels grups estudiats
77	Taula 2. Característiques oftalmològiques dels grups estudiats
79	Taula 3. Resultats en marcadors metabòlics dels grups estudiats
80	Taula 4. Resultats en marcadors inflamatoris dels grups estudiats
82	Taula 5. Resultats quantitatius per OCT en el grup EMD
82	Taula 6. Resultats qualitius per OCT i AFCA en el grup EMD
83	Taula 7. Relació entre resultats quantitatius per OCT i agudesia visual en el grup EMD
85	Taula 8. Relació entre resultats qualitius per OCT i AFCA i agudesia visual en el grup EMD
88	Taula 9. Mediadors inflamatoris i HbA _{1c} associats a les variables d'EMD per OCT
90	Taula 10. Mediadors inflamatoris i HbA _{1c} associats a les variables d'EMD per AFCA
92	Taula 11. Mediadors inflamatoris i HbA _{1c} associats al grau de RD acompanyant de l'EMD
96	Taula 12. Associacions entre resultats qualitius per OCT i AFCA i marcadors inflamatoris sèrics

GLOSSARI

(Sigles i abreviacions més emprades)

AFCA: angiografia fluoresceínica retinal de camp ampli

AGF: angiografia fluoresceínica retinal

Angio-OCT: angiografia retinal per tomografia de coherència òptica

AV: agudeses visual

BHR: barrera hemato-retinal

DM: Diabetis Mellitus

DM2: Diabetis Mellitus tipus 2

DSR: desprendiment serós retinal

EMD: edema macular diabètic

EDR: engruiximent difús retinal

EMQ: edema macular quístic

EPR: epíteli pigmentari de la retina

GCS: gruix central subfoveal

HbA_{1c}: hemoglobina glicada A_{1c}

HTA: hipertensió arterial

IL: interleucina

IQR: rang interquartílic

IRMA: anomalia vascular intraretinal

IRP: isquèmia retinal perifèrica

MAVC: millor agudeses visual corregida

MEM: membrana epirretinal macular

NV: neovasos retinals

OCT: tomografia de coherència òptica

RD: retinopatia diabètica

RDNP: retinopatia diabètica no proliferativa

RDP: retinopatia diabètica proliferativa

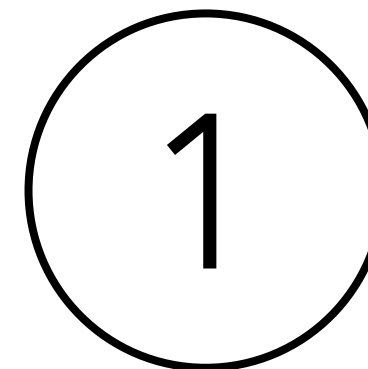
RNS: retina neurosensorial

ROS: radical lliure d'oxigen

VEGF: factor de creixement vascular endotelial

VM: volum macular

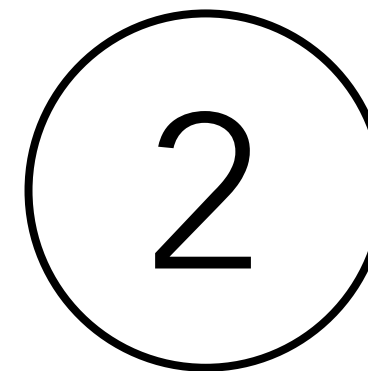
ZAF: zona avascular foveal



INTRODUCCIÓ

INTRODUCCIÓ

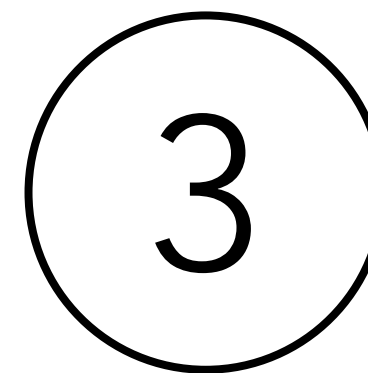
La Retinopatia Diabètica (RD) és l'entitat clínica que engloba el conjunt d'alteracions microangiopàtiques de la retina que es produeixen en aquest òrgan diana, en pacients afectes de Diabetis Mellitus (DM) i pels mecanismes fisiopatològics que en són propis. Així doncs, es produeix una alteració dels petits vasos retinals (arterioles, capil·lars i vènules) que es caracteritza per un augment de la permeabilitat d'aquests, exsudació lipídica resultant, hemorràgies en diferents substrats anatòmics, tancament vascular amb isquèmia parenquimatososa i, fins i tot, creixement vascular anòmal.[1] Quan aquests fenòmens es localitzen a la part central de la retina, la màcula, donen lloc a una presentació oftalmològica diferenciada, l'edema macular diabètic (EMD), una de les complicacions més importants de la Retinopatia Diabètica (RD) en tant que ocasiona de forma directa disminució d'agudeses visual i, fins i tot, a llarg termini, pot ser causa de ceguesa. L'epidemiologia i fisiopatologia de l'EMD mantenen per tant una estreta relació amb els propis de la RD aïllada, tot i que no de forma completa, ja que alguns punts resten marcadament diferenciats entre ambdues entitats. Tot seguit analitzarem els principals aspectes de l'EMD en relació amb la seva epidemiologia, etiopatogènia, clínica, diagnòstic i tractament.



JUSTIFICACIÓ

afectació ocular i que, per tant, podrien explicar les seves alteracions per la RD a més a més de l'EMD. Per altra banda, en la descripció del grup amb EMD, els paràmetres sistèmics analitzats també es poden relacionar per si mateixos als diferents tipus d'EMD i les seves troballes anatòmiques acompanyants.

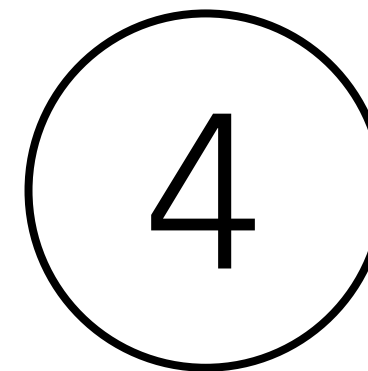
En resum, les noves tècniques diagnòstiques d'imatge en el camp de l'EMD ofereixen una informació actual i de gran valor. En relació amb paràmetres moleculars de sang perifèrica podrien, en conjunt, guanyar valor clínic com a detectors de malaltia així com establir les bases del valor pronòstic d'aquestes quantificacions com a biomarcadors de l'EMD.



HIPÒTESI

HIPÒTESI

- Els pacients amb RD i EMD presenten de forma característica una sèrie de determinants sistèmics que els diferencien dels pacients amb RD sense EMD: factors epidemiològics, metabòlics i de perfil inflamatori sèric.
- A més a més, en els pacients amb EMD, alguns d'aquests factors sistèmics com ara citocines, quimiocines i factors de creixement s'associen diferencialment a trets anatòmics intraoculars característics.



OBJECTIUS

OBJECTIUS

- Descriure i comparar les característiques epidemiològiques i clíniques oftalmològiques dels pacients amb RD i EMD i dels pacients amb RD sense EMD sobreafegit.
- Determinar i comparar entre pacients amb RD i amb EMD o sense EMD el perfil metabòlic sistèmic: glicèmia basal en dejú, hemoglobina glicada, colesterol total, LDL, HDL, triglicèrids i creatinina.
- Determinar i comparar en pacients amb RD i amb EMD o sense EMD el perfil inflamatori sèric: IFN- γ , IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, IP-10, MCP-1, TNF- α i VEGF.
- Descriure les característiques anatòmiques oftalmològiques dels pacients amb RD i EMD mitjançant OCT i AFCA.
- Avaluar l'associació dels esmentats factors sistèmics de perfil metabòlic i inflamatori a les característiques anatòmiques oculars dels pacients amb EMD.



MATERIALS I MÈTODE

I. Marc ètic i clínic de l'estudi

El present estudi s'ha portat a terme en l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Servei d'Oftalmologia (Institut Clínic d'Oftalmologia, ICOF) en col·laboració amb la Unitat de Diabetis del mateix centre i el suport estadístic de l'Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer (IDIBAPS) en el *Medical Statistics Core Facility*. El Comitè d'Ètica en Investigacions Clíniques (CEIC) de l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona aprovà aquest estudi d'acord amb les guies locals i nacionals. Tots els pacients inclosos han proveït consentiment informat escrit i la investigació ha seguit les directrius de la Declaració d'Helsinki.

II. Característiques generals de la investigació: grups d'estudi

Tipus i duració de l'estudi

Estudi observacional de tall transversal. La duració del projecte ha estat de 12 mesos durant els quals s'ha realitzat el reclutament, visita d'estudi i exploracions complementàries en tots els subjectes participants.

Grups d'estudi: criteris d'inclusió i exclusió

Pacients amb DM2 i RD amb EMD (grup 1) i sense EMD (grup 2). Els subjectes han estat atesos en Primera Visita a l'ICOF després de ser derivats des de l'oftalmòleg del Centre d'Atenció Primària en tant que presentaven RD amb sospita clínica d'EMD.

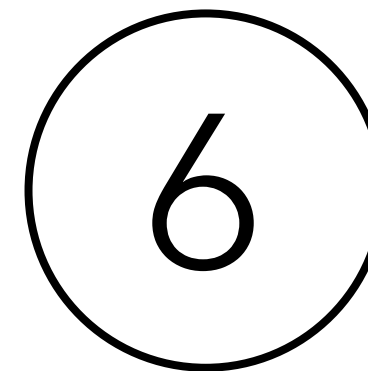
Degut a l'escassetat d'estudis similars previs es va definir el caràcter pilot i exploratori d'aquesta investigació. D'acord amb les troballes descrites en els estudis existents i en l'assessorament estadístic del *Medical Statistics Core Facility* de l>IDIBAPS, es proposà una mida mostral objectiu de 30 subjectes per grup. El reclutament s'ha basat en els següents criteris d'inclusió i exclusió fixats així com a criteris de selecció per ambdós grups d'estudi.

Exploracions complementàries anatòmiques oculars:

- OCT: detecció d'EMD com a *gold-standard* mitjançant Spectral-Domain OCT (Cirrus, Carl-Zeiss Meditec, Inc, Dublin, CA) en protocol de Cub Macular 518x128 μm . Determinació quantitativa de gruix central subfoveal (GCS) i volum macular del cub analitzat (VM). Determinació qualitativa dicotòmica d'EMD lleu (GCS $<450 \mu\text{m}$) o greu (GCS $\geq 450 \mu\text{m}$), presència d'engruiximent difús retinal (EDR), edema macular quístic (EMQ), desprendiment serós retinal (DSR) i membrana epirretinal macular (Figura 3). Es confirma EMD en presentar GCS $>250 \mu\text{m}$, EDR, EMQ i/o DSR d'acord a criteris habituals.[123]
- AFCA (grup 1, pacients amb EMD): mitjançant l'aparell de retinografia i AFCA (Optomap, Optos PLC, Dunfermline, Scotland, UK), determinació de patró difús o focal d'EMD d'acord a criteris de pràctica clínica habitual [72] i estudis previs [76]; augment de zona avascular foveal (ZAF) tal com ha estat definida en estudis anteriors ($>0.32 \text{ mm}^2$) [76]; presència d'isquèmia retinal perifèrica (IRP) establerta com àrees de no-perfusió capil·lar més enllà de les arcades vasculars retinals (Figura 4).

V. Anàlisi estadístic

Estadística descriptiva a partir de la caracterització de les variables per mitjana aritmètica, mediana, rang interquartílic (IQR: percentil 25 i 75) i rang absolut per les variables quantitatives. Freqüència absoluta i percentatge emprats per la descripció de les variables qualitatives. Anàlisi estadístic inferencial mitjançant T-test, test U de Mann-Whitney, test de Chi-quadrat o test de Kruskal-Wallis en funció de la comprovació de la normalitat o no normalitat de la distribució mostral. En aquesta línia, les correlacions entre variables quantitatives es realitzaran amb els coeficients de Pearson i/o Spearman en funció de la normalitat o no, respectivament, de les mostres analitzades. S'estableix un error tipus 1 bilateral del 5%. Primerament es realitzaran les anàlisis comparant el grup EMD amb el grup no EMD. Per altra banda, s'analitzarà el grup EMD segons les diferents característiques, per exemple, comparant pacients EMD amb característiques EMQ amb pacients EMD sense característiques EMQ. Degut al caràcter observacional del present estudi no es planteja una estratègia d'ajust per multiplicitat i, per tant, els resultats estadísticament significatius del mateix haurien de ser validats en estudis independents posteriors. Totes les anàlisis estadístiques es realitzaran en SPSS v.20.0 (SPSS IBM Corporation, New York, NY, USA).



RESULTATS

Taula 5. Resultats quantitatius per OCT en el grup EMD

Resultats quantitatius d'OCT	grup EMD (n=58)
Gruix central subfoveal (μm)	412 [318.5; 520.5]
	245 a 663
Volum macular (mm^3)	11.45 [10.43; 13.2]
	8.5 a 17.4

Variables descrites mitjançant mediana i rang interquartílic (IQR: percentils 25-75) en cel·la superior i rang absolut en cel·la inferior.

Abreviacions: EMD, edema macular diabètic; OCT, tomografia de coherència òptica.

Taula 6. Resultats qualitius per OCT i ACFA en el grup EMD

Resultats qualitius d'OCT i ACFA	n (%)
OCT:	
EMD lleu (GCS $<450 \mu\text{m}$)	33 (57)
EMD greu (GCS $\geq 450 \mu\text{m}$)	25 (43)
Enguiximent difús retinal	22 (38)
Edema macular quístic	38 (65)
Despreniment serós retinal	7 (12)
Membrana epirretinal macular	4 (7)
AFCA:	
EMD de patró difús	14 (33)
EMD de patró focal	28 (66)
Augment zona avascular foveal	6 (14)
Isquèmia retinal perifèrica	11 (26)

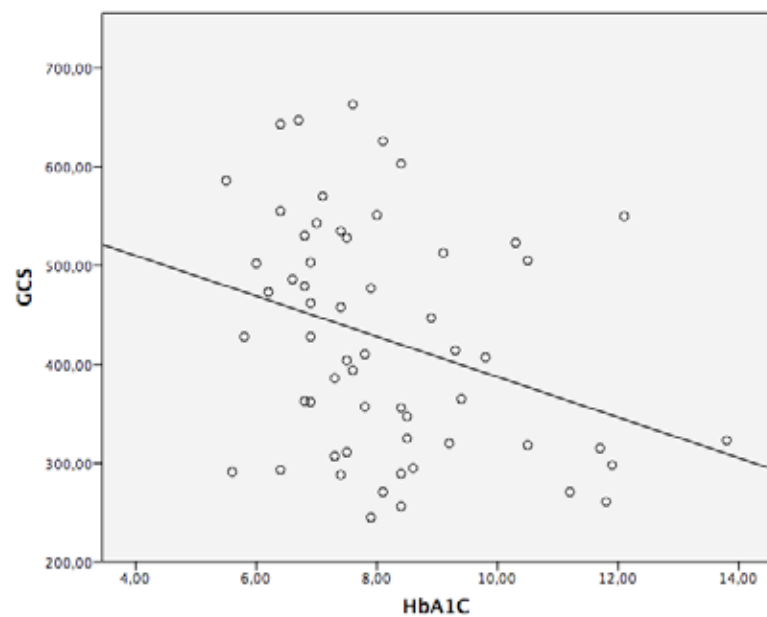
Variables descrites mitjançant nombre de casos i percentatge sobre el total.

Abreviacions: EMD, edema macular diabètic; GCS, gruix central subfoveal; OCT, tomografia de coherència òptica; AFCA, angiografia fluoresceïna de camp ampli.

Taula 7. Relació entre resultats quantitatius per OCT i agudesa visual en el grup EMD

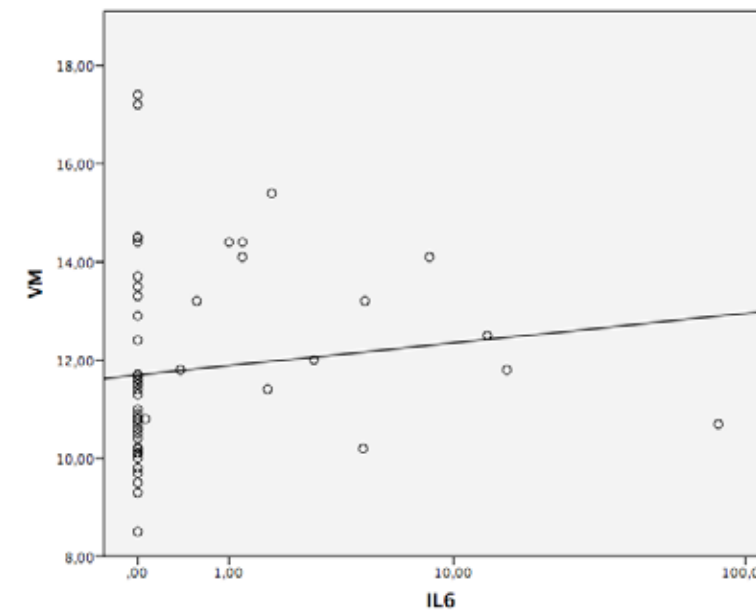
Correlació de resultats quantitatius d'OCT i MAVC		
	correlació ^a	valor p ^a
Gruix Central Subfoveal (μm) i MAVC (logMAR)	0.593	<0.001
Volum Macular (mm^3		

Figura 8. Representació gràfica de la correlació entre el gruix central subfoveal per OCT i HbA_{1c} en el grup EMD

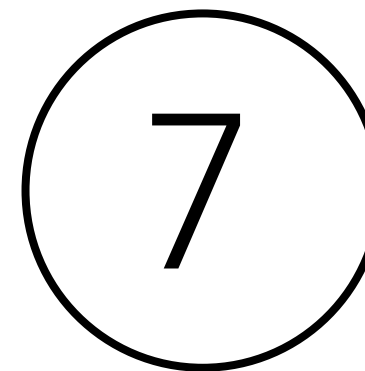


Abreviacions: GCS, gruix central subfoveal (μm); HbA_{1c} , hemoglobina- A_{1c} glicada.

Figura 9. Representació gràfica de la correlació entre volum macular per OCT i IL-6 en el grup EMD



Abreviacions: VM, volum macular (mm^3); IL6, interleucina-6 (pg/ml).
Eix abscesses en representació logarítmica.

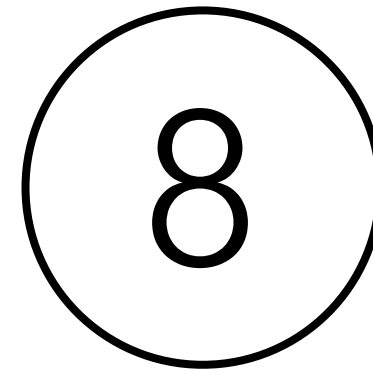


DISCUSSIÓ

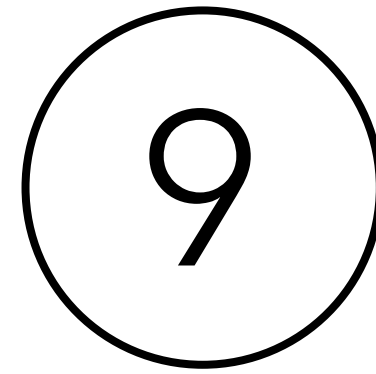
DISCUSSIÓ

La present investigació ha treballat la hipòtesi de l'existència de marcadors diferencials a nivell sistèmic entre pacients amb EMD i sense EMD. Així doncs, es pretenia, mitjançant l'anàlisi d'una mostra sèrica obtinguda a partir de venipunció sanguínia perifèrica, estudiar un conjunt de mediadors, tant metabòlics com inflamatoris, amb relació a aquesta patologia. D'aquesta manera es van definir com a objectius la descripció de les característiques epidemiològiques, clíniques i anatòmiques oculars d'aquests pacients, en primer lloc, i, seguidament, analitzar-ne l'associació als esmentats marcadors sistèmics. A més a més, la caracterització oftalmològica dels casos a estudi s'ha realitzat amb les últimes tecnologies diagnòstiques com l'OCT i l'AFCA, permetent així un alt grau de detall en la tipificació de cada cas. Al mateix temps, aquesta caracterització pot ser homologable a les troballes diagnòstiques en el dia a dia del maneig actual d'aquesta patologia.

Els resultats que han derivat d'aquesta investigació han solidificat en diferents conclusions que analitzarem de forma diferenciada en els següents apartats: descripció epidemiològica i clínica de la mostra estudiada, diferenciació entre els marcadors sistèmics dels grups d'estudi, caracterització anatòmica ocular dels casos d'EMD i, finalment, associació entre mediadors sistèmics i elements estructurals intraoculars.



CONCLUSIONS



REFERÈNCIES

