

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS



**“IMPLICACIONES DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN LA
RETINOPATIA DIABÉTICA Y CUANTIFICACIÓN DE LOS MEDIADORES DE
LA REPUESTA INFLAMATORIA IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10,
IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-22, IFN- γ y TNF- α , EN SUERO Y EN PACIENTES
VITRECTOMIZADOS”**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

Por

Francisco Javier Montañez Campos
Médico Adjunto de Oftalmología. Hospital Son Espases.

Directores.

Dr. Melchor Álvarez de Mon Soto.
Catedrático de Medicina. Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá.

Dr. Manuel Miguel Rodríguez Zapata.
Profesor Titular de Medicina. Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá.

Dr. Lorenzo Socias Crespí
Médico Adjunto de Medicina Intensiva, Crítica y Unidad de Coronarias del H Son Llatzer.
Asociado a Universidad de Alcalá

Dr. Jorge Monserrat Sanz
Profesor Titular de Medicina de la Universidad de Alcalá.

ALCALÁ DE HENARES

2014

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación clínica que se presenta para optar al grado de Doctor ha sido posible llevarlo a cabo gracias a la valiosa ayuda y desinteresada colaboración de determinadas personas. A todas ellas quiero manifestar mi más profundo y sincero agradecimiento, especialmente:

Ante todo a mis directores de tesis: tanto al Profesor Melchor Álvarez de Mon Soto como al Dr. Manuel M. Rodríguez Zapata por haber confiado en mí y darme esta oportunidad; al Dr. Lorenzo Socias por ser mi amigo y guía, ya que fue él quien removi6 en mi mente mi espíritu investigador, me hizo pensar en el esfuerzo que suponía pero a la vez lo que esto me llenaría, y sobre todo por todo su apoyo; y muy especialmente al Dr. Jorge Monserrat por su amistad, por su tiempo, su esfuerzo y paciencia conmigo, y por todos esos ratos de charla a distancia o en su despacho que han dado como fruto este trabajo.

Al Dr. Eduardo Reyes por su apoyo incondicional durante un duro periodo de su vida y en el que no ha faltado, mientras ha estado en su mano, el ánimo constante y sincero.

A los compañeros de la sección de polo posterior Dra. Mulet, Dr. Aragón, Dr. Mateos, y muy especialmente al Dr. Jose Luis Olea por su eterna ayuda desinteresada.

A las compañeras enfermeras de gabinete en Son Dureta Cati Pons y Xisca Tur, y a las compañeras enfermeras de quir6fano Isabel Domenech y Marga Corbacho, por facilitarme mí trabajo y ayudarme en todo el proceso del estudio.

Al compañero del Instituto de Investigación Javier Pi6rola, por sus explicaciones, por su ayuda y sobre todo por facilitarme la "vida" en el laboratorio, algo ajeno a mí que hacer diario.

Y por último, y no quiero olvidarme a nadie, a mi familia, a todos los amigos y compañeros que me han dado ánimos para que en este largo tiempo "no tirara la toalla" y llegara a mi fin.

MUCHAS GRACIAS.

Dedico esta tesis muy especialmente a mi madre por todo el esfuerzo que realizó en su vida para llevar adelante a sus 4 hijos y por darme la oportunidad de ser médico. A mi hija por ser mi alegría de cada día. A mi mujer por su fidelidad, aguante y apoyo. A mi padre por su ignorancia de una vida familiar y por sus ratos de ausencia que me han llevado a valorar más si cabe lo importante de la familia y de la vida. Y a todos aquellos que a lo largo de la mi vida me han ayudado en circunstancias personales o laborales y han conseguido que yo sea la persona que soy hoy.

ÍNDICE

0. Abreviaturas.....	Pag. 15
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>.....	Pag. 19
1.1. EPIDEMIOLOGÍA	Pág. 21
1.2. CONCEPTOS.....	Pág. 23
1.2.1 DM.....	Pág. 23
1.2.2 TIPOS.....	Pág. 23
1.2.3 Retinopatía Diabética.....	Pág. 24
1.2.4 Edema Macular	Pág. 26
1.2.4.1 Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS).....	Pág. 26
1.2.4.2 Escala Internacional de Severidad.....	Pág. 27
1.2.4.3 Clasificación angiográfica del edema macular.....	Pág. 28
1.2.4.4 Clasificación topográfica del Edema Macular.....	Pág. 28
1.3. FUNCIÓN VISUAL.....	Pág. 29
1.3.1 Ceguera por maculopatía diabética	Pág. 31
1.3.2 Ceguera por complicación de RDP.....	Pág. 32
1.4. FACTORES DE RIESGO.....	Pág. 34
1.4.1 Factores demográficos, raciales de ceguera.....	Pág. 34
1.4.2 Factores sistémicos.....	Pág. 34
1.4.2.1 El tiempo de evolución y el tipo de diabetes.....	Pág. 34
1.4.2.2 Control metabólico.....	Pág. 37
1.4.2.3 La pubertad.....	Pág. 37
1.4.2.4 HTA.....	Pág. 38
1.4.2.5 Embarazo.....	Pág. 39
1.4.2.6 Lípidos.....	Pág. 40
1.4.2.7 Factores Genéticos.....	Pág. 41
1.4.2.8 Otros.....	Pág. 41
1.4.3 Factores Oculares.....	Pág. 42
1.4.3.1 Glaucoma.....	Pág. 42
1.4.3.2 Miopía.....	Pág. 43
1.4.3.3 Cicatrices Coriorretinianas.....	Pág. 43
1.5 PATOGENIA:.....	Pág. 43

1.5.1	MICROANGIOPATÍA.....	Pág. 44
1.5.1.1	Cambios Bioquímicos.....	Pág. 45
1.5.1.1.1	Vía de los Polioles.....	Pág. 45
1.5.1.1.2	Productos finales de la Glicación.....	Pág. 48
1.5.1.1.3	Activación de la PCK.....	Pág. 49
1.5.1.2	Cambios hematológicos.....	Pág. 51
1.5.1.3	Cambios Anatómicos.....	Pág. 53
1.5.1.3.1	Alteraciones de la Membrana Basal.....	Pág. 53
1.5.1.3.2	Pérdida de Pericitos.....	Pág. 53
1.5.1.3.3	Las células endoteliales.....	Pág. 54
1.5.1.4	Cambios Fisiológicos.....	Pág. 55
1.5.1.4.1	Pérdida del mecanismo autorregulador del flujo sanguíneo.....	Pág. 55
1.5.1.4.2	Disminución de la velocidad sanguínea.....	Pág. 56
1.5.1.4.3	Vasodilatación Compensatoria.....	Pág. 56
1.5.1.4.4	Interacción con la pared vascular.....	Pág. 57
1.5.1.5	Fisiopatología de la Angiogénesis.....	Pág. 58
1.5.1.6	Factores Reguladores.....	Pág. 59
1.5.1.6.1	Factores Reguladores Estimulantes.....	Pág. 59
1.5.1.6.2	Factores Reguladores Inhibidores.....	Pág. 78
1.5.2	NEURODEGENERACIÓN RETINIANA.....	Pág. 80
1.6	EL SISTEMA INMUNE.....	Pág. 81
1.6.1	Las Citoquinas.....	Pág. 82
1.6.1.1	Tipos de citoquinas.....	Pág. 82
1.	Citoquinas que median y regulan la inmunidad innata.....	Pág. 82
2.	Citoquinas que median y regulan la inmunidad específica.....	Pág. 86
3.	Citoquinas como estimuladores de la proliferación y diferenciación de los leucocitos inmaduros.....	Pág. 89
1.7	EL HUMOR VÍTREO.....	Pág. 91
1.7.1	Definición y características.....	Pág. 91

2. <u>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</u>	Pág. 93
3. <u>MATERÍAL Y MÉTODOS</u>	Pág. 99
3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	Pág. 101
3.2 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	Pág. 101
3.3 METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS	Pág. 104
3.3.1- Metodología de la muestra sérica.....	Pág. 104
3.3.2- Metodología de la muestra vítrea.....	Pág. 104
3.4 METODOLOGÍA DE ESTUDIO DE LAS MUESTRAS	Pág. 105
3.5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS VARIABLES	Pág. 106
3.5.1- Demográficas.....	Pág. 106
3.5.2- Sistémicas.....	Pág. 107
3.5.3- Oftalmológicas.....	Pág. 109
3.5.4- END-POINTS.....	Pág. 110
3.5.5- Seroteca.....	Pág. 111
3.6 SEGUIMIENTO Y CALENDARIO DE VISITAS	Pág. 113
3.7 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA	Pág. 114
3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	Pág. 115
4. <u>RESULTADOS</u>	Pág. 119
4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN	Pág. 121
4.1.1 Características demográficas.....	Pág. 122
4.1.2 Características clínicas y analíticas de la población.	Pág. 123
4.2 ANÁLISIS DE LAS CITOQUINAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	Pág. 139
4.2.1 Mediadores inmunológicos producidos por células pertenecientes al sistema inmune innato.....	Pág. 140
4.2.2 Mediadores inmunológicos producidos por el sistema inmune adaptativo dependiente de las células T colaboradoras.	Pág. 153
4.2.3 Estudio de la distribución de las principales citoquinas pro inflamatorias y antiinflamatorias en función de los tipos de respuestas asociadas a los linfocitos T colaboradores.....	Pág. 173

4.3 SIGNIFICACIÓN DE LOS PATRONES INMUNOLÓGICOS EN LA CLÍNICA.....	Pág. 175
4.3.1 Criterios de estudio clínico.	Pág. 175
4.3.2 Agudeza visual.	Pág. 176
4.3.3 Edema Macular Difuso.....	Pág. 178
4.3.4 Ceguera.....	Pág. 178
4.4 SIGNIFICACIÓN DE LOS PATRONES INMUNOLÓGICOS EN EL ESTUDIO ANALÍTICO.....	Pág. 179
4.4.1 Criterios de estudio analítico.	Pág. 179
4.4.2 Significación en el Grupo de Diabéticos con RDP.....	Pág. 180
4.4.3 Significación en el Grupo de Diabéticos sin RD.....	Pág. 181
4.4.4 Significación en el Grupo de Controles sanos.....	Pág. 185
4.4.5 Significación en los niveles de normalidad de las diferentes variables analíticas.....	Pág. 186
4.5 CORRELACIONES DE LOS PATRONES INMUNOLÓGICOS EN EL ESTUDIO.....	Pág. 227
4.5.1. Correlaciones entre citoquinas diferentes.....	Pág. 227
4.5.2 Correlaciones de la misma citoquina entre medios biológicos diferentes.....	Pág. 233
4.5.3 Citoquina IL-10.....	Pág. 235
5. <u>DISCUSIÓN</u>.....	Pág. 239
5.1 CARÁCTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y ANALÍTICAS DE LAS COHORTES INCLUIDAS EN ESTE ESTUDIO.....	Pág. 241
5.2 ESTUDIO DE LOS MEDIADORES INMUNOLÓGICOS.....	Pág. 245
5.2.1 Citoquinas estudiadas propias del sistema inmune innato.	Pág. 246
5.2.2 Citoquinas estudiadas secretadas por el sistema inmune adaptativo.....	Pág. 253
5.3 SIGNIFICACIÓN EN LA CLÍNICA.....	Pág. 258
5.4 SIGNIFICACIÓN DE LA ANALÍTICA.....	Pág. 262
5.5 CORRELACIONES ENTRE LAS PRINCIPALES CITOQUINAS PRO-INFLAMATORIAS Y ANTI-INFLAMATORIAS.....	Pág. 268

6.	<u>CONCLUSIONES</u>	Pág. 273
7.	<u>ANEXOS</u>	Pág. 279
7.1	Hoja de recogida de datos.....	Pág. 281
7.2	Consentimiento Informado.....	Pág. 287
7.3	Descripción del procedimiento quirúrgico: VITRECTOMIA.....	Pág. 289
7.4	Hoja de Consentimiento Informado para vitrectomía.....	Pág. 291
8.	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	Pag. 293

o. Abreviaturas:

a.C.	antes de Cristo
Ac's	anticuerpos
ADP	Adenosin DiPhosfato
ADO	Antidiabéticos orales
AFG	Angiofluorescingrafía
All	Angiotensina II
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
AMIR	Anormalidades microvasculares intrarretinianas
AP	Activador del Plasminógeno
ArV	Arrosamiento venoso
AV	Agudeza Visual
AY	Angiopoyetina-1
bFGF	Factor de crecimiento básico fibroblástico
BHR	Barrera Hemato-Retiniana
BHA	Barrera Hemato-Acuosa
CAR	Características de Alto Riesgo
céls.	células
DCCT	Diabetes Control and Complication Trial
DE	Desviación estándar
DM	Diabetes Mellitus
DMG	Diabetes Mellitus gestacional
DMID	Diabetes Mellitus Insulino Dependiente
DMNID	Diabetes Mellitus no Insulino Dependiente
DR	Desprendimiento de retina
DVP	Desprendimiento de vítreo posterior
EB	Exudados blandos
ECA	Enzima Convertidor de la Angiotensina
ED	Exudados duros
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EM	Edema macular
EMC	Edema macular cistoide
EMCS	Edema Macular clínicamente significativo
EMD	Edema macular diabético difuso
EMF	Edema macular focal
EP	Eritropoyetina
EPR	Epitelio Pigmentario de la retina
ERG	Electrorretinograma
ET-1	Endotelina-1
ETDRS	Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
f	factor
FN	Fibronectina
FGF	Factor de crecimiento de fibroblasto

FT	Factor Tisular
H	Hemorragias
Hb glicosilada o HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HGF	Factor de crecimiento hepatocítico
HP	Hemorragia Papilar
HTA	Hipertensión Arterial
HV	Hemorragia Vitrea
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular-I
IECA	Inhibidor del enzima convertidor de la Angiotensina
IMC	Índice de Masa Corporal
INF	Interferón
INF α 2a	Interferón alfa 2a
IGF-I	Factor de crecimiento similar a la insulina
IGFBP	Insulin Like Grow Fators Binding Proteins
IL	Interleuquina
IPA	Inhibidor del activador del plasminógeno
IP-10	Proteína inductora de interferon-10
IQ	Intervención quirúrgica
linf.	linfocito/s
LDL	colesterol de baja densidad
LPS	lipopolisacaridos
Ma	Microaneurismas
MCP-1	Proteína tipo 1 quemotáctica de monocitos
M-CSF	Factor estimulador de colonias M
MIP	Proteína inflamatoria del macrófago
MIF	Factor inhibidor de la migración de macrófagos
MLI	Membrana limitante interna
MMPs	Metaloproteinasas
NADPH	Nicotinamida Adenosina Dinucleotido Phosfato
NDDG	National Diabetes Data Group
NK	Natural Killers
NO	Óxido nítrico
NPL	No percibe luz
NVE	Neovascularización extrapapilar
NVP	Neovascularización papilar
OCT	Tomografía de Coherencia Óptica
OI	Ojo Izquierdo
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAS	Presión Arterial Diastólica
PAD	Presión Arterial Sistólica
PCKIDRS	PCK Inhibitor Diabetic Retinopathy Study
PDGF	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
PDGF-AB	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas

PEDF	Factor derivado del Epitelio Pigmentario
PIGF	Factor de crecimiento placentario
PIO	Presión Intraocular
PKC	Proteínquinasa C
PRFC	Panretinofotocoagulación
RD	Retinopatía diabética
RDNP	Retinopatía diabética No proliferante
RDP	Retinopatía diabética proliferante
RIA	Radio Inmuno Ensayo
RR	Riesgo Relativo
SDF-1	Factor derivado del estroma vítreo
SRS	Sorbinil Retinopathy Study
Th	T helper
TGF α y β	Factor transformador de crecimiento
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
Tx	Tromboxano
uPA	Activador de la urokinasa del plasminógeno
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VCAM-1	Molécula de adhesión celular vascular-I
VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular
VEGF-	Factor de crecimiento endotelial vascular-subtipo A, B,...
VEGFR	Receptor de Factor de crecimiento del endotelio vascular
WESDR	Wingsconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy
ZAF	Zona avascular foveal

1.INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN:

El término “Diabetes” data del siglo II a.C., pero los síntomas de esta enfermedad habían sido descritos mucho antes, ya que se dispone de información encontrada en el año 1.862 en Egipto que data de 3.500 años de antigüedad (1-3). De ahí en adelante han sido múltiples pero insuficientes los avances en el conocimiento de la enfermedad y en su tratamiento, hasta que en 1.921 Banting y Best lograron aislar la insulina e identificarla como la sustancia cuya carencia era responsable la diabetes.

La diabetes es una enfermedad crónica de base genética, caracterizada por un **síndrome metabólico con hiperglucemia y alteraciones en el metabolismo de los lípidos y de las proteínas** (2-3). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la Diabetes Mellitus (DM) como un **desorden metabólico caracterizado por hiperglucemia crónica con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas derivado de defectos en la secreción de insulina, en su acción, o en ambas** (1).

1.1- EPIDEMIOLOGÍA:

La Diabetes Mellitus (DM) es la enfermedad metabólica más extendida en todo el mundo. Antes del descubrimiento de la insulina (1.921) los diabéticos no vivían lo suficiente para desarrollar complicaciones graves. Con la utilización de la insulina ha mejorado la esperanza de vida, y esto ha dado lugar a que nos enfrentemos a más complicaciones que previamente no se veían, como es el caso de la retinopatía. La retinopatía diabética (RD) es una complicación de la diabetes. Con el paso de los años casi todos los diabéticos desarrollarán algún tipo de retinopatía (1). Aproximadamente el 98% de personas con diabetes mellitus tipo 1, el 80% de DM tipo 2 insulino dependientes y el 50% de los tipo 2 no insulino dependientes desarrollaran una retinopatía en los veinte años después del diagnóstico de diabetes mellitus (2-3).

La RD se ha convertido en la causa principal de deficiencia visual y ceguera en adultos entre los 18 y 74 años en países industrializados. Es conocido desde hace tiempo (1.977) que el riesgo de ceguera en los diabéticos

es 25 veces superior al resto de la población. Constituye, por tanto, un problema de salud pública importante, y para cualquier médico oftalmólogo un problema al que se debe enfrentar de manera frecuente.

La prevalencia de DM en la población oscila entre 6% y 10%. Se calcula que sobre un 85-90 % son DM tipo 2 y alrededor de un 10-15 % son DM tipo 1. La Organización Mundial de la Salud estimó en 2013 que existían más de 347 millones de personas con DM y esta cifra crece con rapidez. Se espera un aumento del 40% en naciones industrializadas y un 170% en subdesarrollados en el 2025. El problema ha ido incrementándose con la mayor esperanza de vida, a pesar de los avances en diabetología y a pesar de que el mejor control metabólico mejore el pronóstico visual. Los programas de prevención más ambiciosos que se han desarrollado han estado auspiciados por la Academia Americana de Oftalmología (AAO) y conjuntamente con la Federación Internacional de Diabetes y la Oficina Regional para Europa de la OMS. Es el programa dirigido por la AAO, el llamado “Eliminación de la ceguera prevenible para diabéticos para el año 2000” o “Diabetes 2000”, que actualmente ya ha sido continuado con otros nuevos planes.

El DCCT (Diabetes Control and Complication Trial) demostró que el control de la hiperglucemia disminuye las complicaciones microvasculares. Se ha demostrado también que el tratamiento de la diabetes y la retinopatía proporciona una buena relación coste-efectividad en comparación con el gasto originado por la atención de complicaciones prevenibles de la diabetes.

En los últimos años, se han desarrollado métodos para determinar de manera más fiable la glucemia y para administrar la insulina de manera más sencilla, lo que ha facilitado su manejo y prevenir, si cabe, la progresión. Debido a que la RD constituye una patología de patogenia aún desconocida, han surgido muchos estudios en la búsqueda de factores o mediadores que pudieran condicionar, iniciar, participar, ayudar o incluso promocionar el desarrollo de la patología ya que ha sido considerada como un cuadro inflamatorio-angiogénico. Cuan influyen cada uno de las diferentes moléculas estudiadas será mostrado a posteriori. Cada estudio ha llevado a conclusiones múltiples y en algunos casos dispares, pero lo que sí parece cierto es que la hiperglucemia crónica es la noxa principal del daño endotelial y que la hipoxia tisular secundaria por isquemia condicionaría la progresión proliferante a que

evoluciona esta patología. Se han realizado estudios sobre la relación entre la semiología y el pronóstico visual de la diabetes estableciéndose el riesgo de pérdida de agudeza visual en función del estadio. En estos se ha hecho hincapié en los cuadros que condicionan la agudeza visual (RDP y EMD), pero no se han realizado estudios comparativos entre la semiología y las alteraciones inmunológico-inflamatorias (cambios humorales). Si se han correlacionado algunas moléculas o mediadores con la progresión de la RDP, pero sin tener en cuenta la agudeza visual.

Antes de iniciar el estudio, primero se deben conocer algunos conceptos y desarrollar el tema que va a ser tratado.

1.2- CONCEPTOS:

1.2.1 Diabetes Mellitus:

Enfermedad plurimetabólica o grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por cursar con hiperglucemia como consecuencia de anomalías de la secreción de insulina, de su acción o ambas (2).

1.2.2 Tipos (1-2, 4-5):

Aunque se habían formulado varias propuestas, las recomendaciones fundamentales del NDDG (National Diabetes Data Group, 1.979) recibieron en el 1.980 el respaldo del Comité de Expertos en Diabetes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), y posteriormente del grupo de estudio de la OMS sobre diabetes mellitus (Organización Mundial de la Salud 1.995). Ambos grupos aceptaron las dos formas principales de diabetes que denominaron: DM tipo 1 y DM tipo 2. Pero sus sistemas de clasificación además incluían las pruebas de que el término diabetes mellitus “designa un grupo de trastornos heterogéneos que tienen en común la hiperglucemia”. La clasificación del NDDG y la OMS puso en relieve la heterogeneidad del síndrome diabético que ha tenido importantes repercusiones no sólo en el tratamiento de los diabéticos, sino también en la investigación biomédica. Esta clasificación indicaba que los trastornos agrupados bajo la denominación de “diabetes” difieren considerablemente en la patogenia, la evolución natural, la respuesta al

tratamiento y la prevención. Además diversos factores genéticos y ambientales pueden dar origen a formas de diabetes fenotípicamente similares, pero etiológicamente distintos.

El actual Comité de Expertos de la OMS ha propuesto modificaciones en la clasificación, por lo que esta queda como se expone seguidamente:

1. **DM tipo 1:** Se debe a la deficiencia absoluta de secreción de insulina por destrucción autoinmune o idiopática de las células β pancreáticas.
 - a. **Diabetes por autoinmunidad.** Antiguamente denominada tipo 1, diabetes juvenil o DMID.
 - b. **Diabetes idiopática.**
2. **DM tipo 2:** Diabetes del adulto, No insulino dependiente o DMNID: Es la más prevalente. Se debe a la resistencia a la acción de la insulina por la célula para captar glucosa. Generalmente se asocia a la obesidad y a una inadecuada respuesta secretora de insulina.
3. **Otros tipos específicos de diabetes:**
 - a. **Anomalías genéticas de las células β .**
 - b. **Defectos genéticos que afectan a la acción de la insulina.**
 - c. **Enfermedad del páncreas exocrino.**
 - d. **Endocrinopatías.**
 - e. **Diabetes inducida por fármacos o sustancias químicas.**
 - f. **Infecciones.**
 - g. **Formas infrecuentes de diabetes por autoinmunidad.**
 - h. **Otros síndromes genéticos asociados en ocasiones a diabetes.**
4. **Diabetes Mellitus gestacional (DMG)**

1.2.3. Retinopatía diabética (RD):

Dentro de las complicaciones vasculares derivadas de la diabetes, existen macroangiopatías (complicaciones de vaso grande) y microangiopatías. La RD constituye una de las complicaciones crónicas microangiopáticas.

La clasificación de la severidad de esta complicación se ha presentado de muy diversas maneras por disparidad de criterios, pero la más conservadora

es la que se presenta en la ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) que presenta tres niveles de severidad (4). Es la clasificación más utilizada por los investigadores clínicos y es la recomendada por la Sociedad Española de Retina y Vítreo. De manera práctica se podría resumir en el siguiente cuadro, **Figura 1**.

<p>A: No Retinopatía Diabética</p> <p>B: Retinopatía Diabética No proliferativa (RDNP)</p> <ol style="list-style-type: none">1. <u>Leve</u>2. <u>Moderada</u>3. <u>Severa</u>4. <u>Muy severa</u> <p>C: Retinopatía diabética proliferativa (RDP)</p> <ol style="list-style-type: none">1. <u>Sin</u> características de <u>alto riesgo</u> (RDP temprana o inicial)2. <u>Con</u> características de <u>alto riesgo</u>3. <u>Avanzada</u> o <u>RDP severa</u> (estadios finales)
--

Fig 1: Resumen de clasificación de la Retinopatía Diabética.

La clasificación de severidad se expone de manera completa a continuación:

A: No Retinopatía Diabética

Diabetes mellitus sin lesiones oftalmoscópicas.

B: Retinopatía Diabética No proliferativa (RDNP)

1. Leve: presencia de Microaneurismas (Ma) y/o Hemorragias (H) retinianas leves sólo o asociado a Exudados duros (ED) y/o Exudados blandos (EB) en un cuadrante.
2. Moderada: Lesiones más avanzadas que en la leve, pero menos de la regla del 4, 2, 1.
3. Severa: Un criterio de la regla del 4, 2, 1:
 - Ma/H severas en 4 cuadrantes

- ArV (arrosamiento venoso) en al menos 2 cuadrantes
 - AMIR (anormalidades microvasculares intrarretinianas) moderado o extenso en al menos 1 cuadrante.
4. Muy severa: Al menos dos criterios de la regla 4, 2, 1.

C: Retinopatía diabética proliferativa (RDP)

1. Sin características de alto riesgo (RDP temprana o inicial):

- * NVE (neovascularización extrapapilar) en cualquier extensión sin HV/HP (Hemorragia vítrea o prerretiniana).
- * NVP (neovascular papilar) de extensión inferior a la cuarta parte del área papilar.

2. Con características de alto riesgo:

- * NVP de extensión igual o mayor a la cuarta parte del área papilar.
- * HP/HV con NVP de cualquier extensión o con NVE igual o superior a media área papilar.

3. Avanzada o RDP severa (estadios finales):

- * Hemorragia de vítrea muy intensa (no permiten valorar neovasos)
- * DR (Desprendimiento de retina) Traccional macular
- * Glaucoma neovascular
- * Ptisis bulbi.

Esta última entidad de la RDP, junto con el Edema Macular son las dos entidades que marcan el pronóstico visual ya que pueden conducir a más pérdida de visión significativa.

1.2.4. Edema Macular

1.2.4.1. El Edema Macular puede estar presente o ausente a cualquier nivel de R.D. Se clasifica según el **Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)** en base al aspecto biomicroscópico (o oftalmoscópico) en:

- **EM. Ausente:**
- **E.M. presente:**
 - **E. Macular clínicamente no significativo**

- **E. Macular clínicamente significativo**, EMCS, si cumple uno de estos criterios:
 - Engrosamiento de la retina localizado a < 500 µm del centro de la mácula
 - Exudados duros (con engrosamiento de la rotura adyacente) localizado a < 500 µm del centro de la mácula
 - Una zona de engrosamiento de la retina igual o mayor de su área de disco, localizada a menos de diámetro de disco del centro de la mácula.

1.2.4.2. Aunque las últimas tendencias, según la **Escala Internacional de Severidad** del Edema Macular, es hablar del concepto de **Edema Macular diabético aparentemente (5)**:

- Ausente
- Presente:

Grados: leve, moderado y severo

NIVEL DE SEVERIDAD PROPUESTO	HALLAZGOS OBSERVABLES EN FO CON OFTALMOSCOPIA *
EMD presente	EMD LEVE: Existe algún engrosamiento de la retina o exudados duros en polo posterior pero distantes del centro de la mácula.
	EMD MODERADO: engrosamiento de la retina o exudados duros cerca del centro de la mácula, pero sin involucrar el centro de la misma.
	EMD SEVERO: engrosamiento de la retina o exudados duros en el centro de la mácula.

Tabla 1: Tipos de Edema Macular según la Escala Internacional de Severidad.

Como se ha comentado antes, el diagnóstico de un EMCS es oftalmoscópico y no angiográfico. La AFG nos ayuda como guía terapéutica a identificar las áreas vasculares que pierden colorante, así como para el diagnóstico de las áreas de no perfusión macular que pudieran ser responsables de la pérdida de visión. Por tanto, la AFG estaría indicada sólo en edemas maculares que persisten 3 o 4 meses después del tratamiento con

láser. El EMCS es biomicroscópicamente visible en la mayoría de casos. Sin embargo, como el engrosamiento es mínimo (entre 50 y 100 micras) respecto a los parámetros de normalidad, el diagnóstico oftalmoscópico puede pasar inadvertido, mientras que se hace evidente con la tomografía de coherencia óptica (OCT). Además, al comparar la OCT en pacientes diabéticos con y sin EMCS, se puede observar un edema de tipo esponjiforme en el 58% de los ojos sin EMCS. Por ello, hoy en día se tiene en cuenta las clasificaciones que se explican a continuación.

1.2.4.3. Clasificación angiográfica del edema macular:

- EM focal
- EM multifocal
- EM difuso
- Edema macular cistoide
- Maculopatía isquémica

1.2.4.4. Clasificación topográfica del Edema Macular

Numerosos estudios han demostrado una relación directa entre el engrosamiento macular diabético medido por OCT y la agudeza visual: cada 100 micras de incremento del espesor retiniano conlleva una pérdida de agudeza visual de 0,16 logMAR (pérdida desde 20/20 a 20/30).

Otani describe 3 tipos morfológicos de edema macular diabético mediante OCT:

- a) Engrosamiento tipo esponjiforme
- b) Edema quístico
- c) Desprendimiento seroso del neuroepitelio

La clasificación de la EM más utilizada se basa en un estudio oftalmoscópico y no tiene en cuenta la agudeza visual ni los hallazgos angiográficos. Los niveles de severidad de RD no proliferativa indican un riesgo aumentado de evolución a fases graves de la enfermedad. Los niveles de severidad de RDP indican un riesgo creciente de pérdida visual severa.

1.3- FUNCIÓN VISUAL:

La Diabetes es la enfermedad sistémica que causa más problemas visuales. Un 19% de las cegueras son de origen diabético. El riesgo de ceguera de los diabéticos respecto a los no diabéticos es unas 11 veces mayor, y mucho más (29 veces) si tienen retinopatía. Los pacientes ciegos de un ojo por retinopatía tienen una fuerte tendencia a desarrollar una retinopatía similar en el segundo ojo (2).

La RD a nivel general, en sus estadios iniciales e incluso en estadios más avanzados es anodina desde el punto de vista sintomatológico. La disminución de agudeza visual es rara en RDNP a menos que esté afectada la mácula (por edema focal o difuso y/o por isquemia macular). La RDP también puede pasar inadvertida y ser asintomática hasta que se produce una hemorragia vítrea o se afecta la mácula. Pero, aunque esto es así, existen alteraciones en otras funciones visuales tales como: **visión del color, adaptación a la oscuridad, sensibilidad al contraste y cambios electrofisiológicos**. Las anomalías funcionales comentadas pueden preceder a las anomalías estructurales detectables (2).

Las disfunciones visuales y electrofisiológicas en diabetes pueden ser el resultado de una combinación de las anomalías metabólicas sistémicas propias de la enfermedad donde la retina y también otros tejidos se ven afectados, y de las anomalías vasculares secundarias a la diabetes mellitus de larga duración.

Uno de los síntomas más precoces en la RD es la alteración de la visión nocturna (adaptación a la oscuridad) y de la recuperación frente a luces brillantes o el aumento del deslumbramiento (foto-estrés). Estos síntomas de visión nocturna alterada pueden aparecer por primera vez después de un tratamiento con panfotocoagulación o exacerbarse con este tratamiento, información que debe darse al paciente (2).

Los pacientes diabéticos, incluso aquellos que no tienen signos de RD, tienen más anomalías en la visión del color (discromatopsia) que los no diabéticos de la misma edad. La severidad del edema macular, la edad y la presencia de neovasos son los factores que se asocian de forma más estrecha a la alteración en la discriminación del color (6).

La sensibilidad al contraste también se altera en pacientes diabéticos, tanto si presentan RD o si no la presentan (6).

Desde el punto de vista electrofisiológico, una de las anomalías más precoces observadas en los pacientes diabéticos, aún sin signos oftalmoscópicos de retinopatía, es la disminución de la amplitud de los potenciales oscilatorios, cuando las ondas a y b son todavía normales. Estas anomalías probablemente serán un reflejo de la isquemia en la capa nuclear interna de la retina y son buenos predictores de la progresión de la retinopatía (7). Así, la amplitud de los potenciales oscilatorios va disminuyendo conforme la RD aumenta en severidad. En cuanto a los componentes mayores del ERG, la onda a y la onda b, no suelen estar alterados en estadios iniciales de la RD. En estadios más avanzados disminuye la amplitud de la onda b y en estadios todavía más avanzados lo que disminuye es la amplitud de la onda a (esto último cuando hay cambios isquémicos severos o DR). También se han observado en pacientes diabéticos sin RD o con RD temprana anomalías en los potenciales visuales evocados, potenciales evocados corticales y en el Electrooculograma (6).

De las múltiples manifestaciones de la diabetes a nivel ocular, las que pueden conducir a ceguera son 4: la retinopatía, la catarata, el glaucoma y la neurooftalmopatía (8). La retinopatía es sin duda la causa más frecuente de ceguera. La cifra habitual manejada con respecto a su porcentaje es del 70-80%. Sin embargo, en edades avanzadas, la retinopatía diabética junto con la catarata, la DMAE (Degeneración Macular Asociada a la Edad) y el glaucoma, el porcentaje se reparte.

Dos son las grandes formas de **ceguera secundaria a retinopatía diabética**:

1.3.1 Ceguera por maculopatía diabética.

1.3.2 Ceguera secundaria a complicaciones de la Retinopatía Diabética.

1.3.1 Ceguera por maculopatía diabética.

Existen varias formas, ya anteriormente mencionadas, pero la causa más frecuente es el Edema Macular. Es una forma de ceguera no invalidante pero muy frecuente, y se caracteriza por pérdida de visión central. La pérdida de visión por afectación macular puede ser de origen retiniano o por afectación de estructuras adyacentes. La afectación macular intrarretiniana puede ser por aumento de la permeabilidad que cursa con exudación focalizada → **EM Focal (EMF)**, o un aumento de exudación generalizado de los vasos del área macular → **EM Difuso (EMD)**. En algunos casos la Isquemia Macular de capilares perifoveales es la responsable de la ceguera. La Hemorragia Macular puede ser otra causa de ceguera.

El Edema Macular se debe a un acúmulo de fluido plasmático producido por alteración de la permeabilidad secundaria a una rotura en la Barrera Hemato-Retiniana (BHR) (9). La primera alteración de la BHR se produce a nivel de los capilares debido sobre todo al engrosamiento de la membrana basal. Por otro lado, los microaneurismas contribuyen a producir el edema, unido a la tracción excesiva del vítreo sobre los vasos retinianos a través del córtex vítreo o en otros casos a través de una membrana epirretiniana. El acúmulo de líquido dentro de un vaso de EMF como en EMD se forma en la capa plexiforme externa (capa de fibras de Henle) y puede degenerar a retinosquiasis macular o en un agujero lamelar (10).

El edema macular diabético es la causa principal de pérdida visual moderada en los pacientes con diabetes (11). La prevalencia aumenta con la duración de la diabetes y con la gravedad de la RD. Según las diferentes publicaciones oscila entre el 7,5 % y el 15,2%. Con DM tipo 1 durante menos de 5 años, ningún paciente presenta edema macular, mientras que la anomalía existe en el 3% de los sujetos con DM tipo 2 durante el mismo tiempo. Cuando la duración de la diabetes supera los 20 años, presenta edema macular alrededor del 29% de los pacientes con cualquiera de los dos tipos de diabetes.

Entre los sujetos con RDNP leve, el 12% desarrolla edema macular a lo largo de los siguientes 4 años. Cuando la RDNP es moderada, el riesgo aumenta el 23% a los 4 años. Los pacientes con enfermedad proliferativa sufren una incidencia de edema macular entre el 20 y el 63 %.

1.3.2 Ceguera secundaria a complicaciones de la Retinopatía Diabética.

Es una forma muy severa e invalidante que puede llevar a la ceguera absoluta. Su tratamiento preventivo es la PRFC (Panretinofotocoagulación) con láser argón. Una vez desarrolladas las complicaciones hemorragia vítrea y DR por tracción, el tratamiento es quirúrgico. La causa de ceguera más frecuente en este caso es la hemorragia intravítrea prerretiniana.

La retinopatía diabética proliferante es un cuadro clínico caracterizado por la aparición de neoformación vascular o fibrosa en cualquier localización del fondo del ojo (12-13). Dentro del término retinopatía proliferativa se enmarcan cuadros que van desde formas muy incipientes a formas muy avanzadas de la proliferación. Por ello se ha definido otro cuadro, la retinopatía diabética proliferante de alto riesgo, es decir, la retinopatía proliferante con las características de alto riesgo del Diabetic Retinopathy Study. Por el contrario existe un cuadro previo que suele preceder a la retinopatía diabética proliferante, la retinopatía isquémica, en la que se debe tener una consideración similar a la proliferante, ya que puede dar una grave disminución de agudeza visual.

La retinopatía proliferante está considerada como un cuadro severo que da lugar a las grandes complicaciones de la retinopatía diabética y cuya prevalencia es de 5-10% de la población diabética. Ésta es más frecuente en diabéticos tipo 1, y en los tipo 2 tratados con insulina. Su prevalencia aumenta con el tiempo de evolución y asociada a HTA. En el Winsconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR), la retinopatía proliferante apareció en 22,7% de los jóvenes tratados con insulina, en el 13,9% de adultos tratados con insulina y en el 2,8% de los adultos no tratados con insulina (14). La proliferante no aparece en los 5 primeros años, pero al cabo de 20 años de evolución puede alcanzar el 56 %. Otros estudios demostraron que en DMID la retinopatía diabética proliferante es rara antes de los 10 años de evolución de la diabetes. Después aumenta bruscamente (30/1000-año) y queda estable durante 25 años. Se acepta, en general, que a lo largo de la vida el 70% de DM tipo 1 desarrollan RDP. Por tanto, sabemos que los pacientes con DMID necesitaran más tiempo para desarrollar retinopatía, pero la desarrollaran más

frecuentemente. Mientras las DMNID lo hacen más temprano pero con menor frecuencia.

La evolución es muy variable de unas personas a otras y en algunos casos la aparición se acelera y aparece antes. Incluso controlados de forma similar, es difícil precisar la patogénesis exacta de la RD en humanos.

La extensión de las áreas de no perfusión es más pronunciada en orden ascendente en ojos con neovasos retinianos papilares y en el ángulo. Estas áreas de oclusión capilar, además de correlacionarse con la severidad también se les atribuye cierta capacidad de pronóstico. Cuando las áreas de no perfusión aparecen de forma generalizada en el fondo del ojo, el proceso suele evolucionar rápidamente. Cuando la localización preferente es central se consideran de menor gravedad, y sucesivamente cuando aparecen en la media periferia de la retina y en la periferia extrema. Además, permiten definir otros indicadores como la localización más frecuente (área medio periférica). Por edades, la medio-periférica y la periferia extrema son más frecuentes > 40 años, mientras que el tipo generalizado es > frecuente en jóvenes (12).

La neovascularización se produce como respuesta a la isquemia y aparece en cualquier lugar del fondo del ojo, pero muy especialmente a nivel de la papila del nervio óptico y en relación con las arcadas vasculares. Los neovasos que crecen inicialmente en la retina, atraviesan la membrana limitante interna (MLI) hasta contactar con el córtex vítreo posterior. En general, lo primero que se produce es un adelgazamiento de la membrana limitante interna con rotura de la misma, y después aparece la yema vascular que atraviesa. Sea cual sea la localización, estos neovasos tienen una intensa adherencia al córtex vítreo. Si el vítreo no se desprende, la proliferación será plana y paralela a la retina. Pero, en esta progresión se puede afectar la región macular y provocar una severa pérdida de visión o una retracción del tejido que acabará afectando a la mácula. Si el vítreo se desprende, traccionará provocando una hemorragia en el vítreo o bien un desprendimiento de retina traccional.

El papel del vítreo es fundamental en la progresión de la RDP. En los ojos con RDP incipiente, si hay cambios en el vítreo el pronóstico es malo, mientras que si no hay cambios tienen mejor pronóstico. En pacientes sin neovascularización se desarrolló ésta en el 22% de los ojos sin

desprendimiento de vítreo posterior y sólo 3% de los que tenían desprendimiento de vítreo completo.

Hay casos de evolución lenta de RDP, sin embargo lo más frecuente es que sea rápida, dependiendo de muchos factores.

1.4- FACTORES DE RIESGO (1-2):

La aparición y el agravamiento de las complicaciones oculares diabéticas están determinados por una serie de factores de riesgo. Su conocimiento facilitará la prevención y tratamiento, y mejorará las expectativas del paciente. Valoraremos aquellos factores que pueden influir en la aparición y progresión de RD:

1.4.1 Factores demográficos y raciales

Existen factores como el f. demográfico y el f. racial en los que no se han encontrado evidencias significativas de poder influir ni sobre el desarrollo ni sobre la progresión de RD. Además, existen factores de riesgo como la edad y el sexo que no son modificables. La influencia del **sexo**, aunque se ve mayor progresión en varones, los estudios realizados indican que no existen diferencias significativas en cuanto al sexo en DM del adulto a diferencia de los juveniles, donde se ve la tendencia mayor en varones.

1.4.2 Factores sistémicos

Son los más importantes. Los fundamentales son:

1.4.2.1 Tiempo de evolución y tipo de diabetes

El tiempo de evolución de la enfermedad y el tipo de diabetes son los factores más claramente relacionados con la prevalencia y severidad de la RD en todos los estudios.

La RD en DM tipo 1 es excepcional antes de los 3-5 años de instaurarse la enfermedad. Resultados similares se obtienen para DM tipo 2, aunque en éstos es más difícil precisar el inicio y por tanto su duración.

El 90% de los DM con más de 20 años de evolución de enfermedad sufren la RD en algunos de sus grados y si la evolución es mayor de 30 años, casi el 40% de los casos presentan RDP.

En los diabéticos juveniles (tipo 1) la prevalencia es menor pero, las complicaciones son más frecuentes y más severas. La prevalencia de la RD es de un 2% en aquellos con menos de 2 años de evolución de la diabetes y del 98% en aquellos con igual o más de 15 años de evolución (13).

En diabéticos adultos (tipo 2) el riesgo de retinopatía diabética es inversamente proporcional a la edad del diagnóstico. La prevalencia de RD es del 20-23% en aquellos de menos de 2 años de evolución, es similar tanto se traten o no con insulina pero mucho más alta que los diabéticos juveniles. Estos índices mayores pudieran reflejar la dificultad de establecer de forma exacta el comienzo de la enfermedad. A los 15 años o más la prevalencia de la RD es mucho mayor. En diabéticos adultos insulino dependientes pasa de 23% a 85% y en no insulino dependientes de 20% a 58%, pero es mucho menor que en diabéticos juveniles.

En cuanto a la prevalencia de las 2 entidades responsables del pronóstico visual de los pacientes con RD, la RDP (Retinopatía Diabética Proliferante) y el EM (Edema Macular), decir que la prevalencia de RDP es de un 50% en diabéticos tipo 1 de 20 años de evolución. Esta prevalencia es mucho menor en diabéticos tipo 2 (10-15%) en tratamiento con insulina y (5%) sin insulina. La prevalencia de EM es sin embargo mayor en DM tipo 2, sobre todo en aquellos que requieren insulina para su control. El edema macular en DM tipo 1 es raro que aparezca antes de los 8 años de evolución de la diabetes. Sin embargo, en diabéticos tipo 2, el 5% de los adultos en tratamiento con insulina pueden presentar ya EM al diagnóstico de la enfermedad.

Dado que el tiempo de evolución de la DM es el factor de riesgo más importante es necesario establecer unas pautas de estudio y seguimiento.

EDAD DE INSTAURACIÓN DE LA DIABETES TIPO DE DM	EXAMEN INICIAL	SEGUIMIENTO MÍNIMO
DM tipo 1 ≤ 30 años	A los 3- 5 años de la instauración en > de 10 años	Anuales
DM tipo 2 ≥ 30 años	Al establecer el diagnóstico	Anuales*
Embarazo en diabética (no en diabetes gestacional)	Antes del mismo o al empezar el 1º trimestre	3 meses (dependerá del examen del primer trimestre)

Tabla 2: Protocolo de exámenes recomendados en los pacientes diabéticos.

Algunas evidencias indican que la duración de la diabetes, ya en fase prepuberal, puede ser importante en el desarrollo de las complicaciones microvasculares, lo que deberá ser tenido en cuenta (14).

Ante anomalías en el fondo de ojo es evidente que los exámenes deberán realizarse de manera más frecuente según el grado de RD.

NORMAS GENERALES PARA EL DIAGNOSTICO Y SEGUIMIENTO DEL PACIENTE CON DIABETES				
NIVEL DE RD	EMCS	AFG	RETINOGRAFIAS	SEGUIMIENTO
NO/ Mínima RPNP	NO SI	NO POSIBLE	NO SI	1 AÑO 3-4 MESES
LEVE- MODERADA RDNP	NO SI	NO PROBABLE	POSIBLE SI	6-12 MESES 3-4 MESES
SEVERA MUY SEVERA RDNP	NO SI	NO SI	SI SI	3-4 MESES 3-4 MESES
RDP SIN CAR	NO SI	NO SI	SI SI	2-3 MESES 2-3 MESES
RD CON CAR	NO SI	NO SI	SI SI	2-3 MESES 2-3 MESE

Tabla 3: Tabla general de seguimiento en función del grado de Retinopatía Diabética. CAR: Características de Alto Riesgo.

Además de estos dos factores generales fundamentales existen otros factores de riesgo.

1.4.2.2 Control metabólico:

La RD se produce como consecuencia de la hiperglucemia prolongada, por eso la incidencia y severidad de dicha enfermedad ocular aumenta con el mal control de la glucemia, y se reduce con el control estricto de la misma, aunque esto último es en general, y en casos particulares puede no darse así.

Valores elevados de glucemia se asocian a un aumento significativo de complicaciones microvasculares, incluida la retinopatía diabética proliferante.

Las conclusiones del DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) para DM tipo 1 y del UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) para DM tipo 2 han mostrado una clara asociación entre la hiperglucemia crónica y la presencia y progresión de la RD en ambos tipos de DM (15-18,19-20). En diabéticos juveniles el tratamiento optimizado con insulina retrasa la aparición y la progresión de la retinopatía, nefropatía y neuropatía (15). El riesgo de progresión de la RD a formas severas aumenta de manera exponencial a las concentraciones de la Hb glicosilada (HbA1c; determina el control glucémico de los pacientes diabéticos, y es adecuado si su valor es menor de 7%) (15).

Algunas de las 2 entidades señaladas antes (RDP y EM) que amenazan la visión de los pacientes con RD, tanto de DM tipo 1 como 2, se desarrollan en un porcentaje significativo con la evolución de la enfermedad, aún incluso manteniendo un excelente control de la glucemia (15). Si bien la incidencia de éstas es menor en DM que sigue tratamiento intensivo con insulina (con control glucémico: HbA1c < 7%) tanto en tipo 1 como en 2. Los datos epidemiológicos del estudio UKPDS mostraron que por cada 1% de disminución de la cifra de HbA1c, hubo un 35% de reducción en el riesgo de complicaciones microvasculares (15).

1.4.2.3 La pubertad (edad):

El riesgo de presentar RD antes de la pubertad es muy bajo. Con independencia de la duración de la diabetes pero después de los 13 años,

aumenta la frecuencia y severidad de la enfermedad. El RR (Riesgo Relativo) de tener retinopatía (3,2-4,8) es mayor en la etapa postpuberal. Los marcados cambios hormonales que ocurren pudieran ser importantes y responsables de este hecho. No sabemos por qué la pubertad acelera el desarrollo de la RD pero existen estudios relacionados con el crecimiento y la patogenia de la RDP en gente joven. Así, Merimee y cols. en 1983 vieron que individuos con DM tipo 1 y RDP tenían niveles séricos muy elevados de IGF-I (factor de crecimiento similar a la insulina o somatomedina C), polipéptido similar a la cadena A de la insulina que se produce en el hígado bajo la influencia de la hormona de crecimiento (somatotropina) secretada en la glándula pituitaria (21). El IGF-I, que tiene diferentes efectos, uno de los más importantes parece ser el aumentar la capacidad proliferativa de algunos tipos de células, incluidas las del endotelio vascular. También se ha visto en otros estudios estar aumentado en pacientes sometidos a vitrectomía por hemorragia secundaria a una RDP. Por tanto, parece que los niveles elevados de IGF-I pueden contribuir al desarrollo de una RDP y particularmente a la RD rápidamente progresiva o “florida” que se ve en algunos casos de gente joven al final de la adolescencia o al inicio de la vida adulta. Se han realizado estudios con antagonista del receptor de la hormona de crecimiento (Octreótido) en un intento de aminorar la progresión de la RDP “florida” de estos pacientes. Si bien los resultados no son concluyentes, lo que se observó fue que aunque en los ojos de los DM tratados parecía disminuir la necesidad de FC (fotocoagulación), las diferencias al comparar con el control no eran significativas (22,23).

1.4.2.4 La HTA:

Es uno de los factores sistémicos más investigado. La mayoría de los estudios epidemiológicos, aunque no todos, indica que la progresión de RDNP y la RDP están directamente relacionadas con la presión arterial sistólica y la diastólica (18, 24). Lo que no está claro es si la HTA ocurre primero, y es por tanto factor causal de la progresión, o es secundario a una nefropatía diabética y, por tanto, ambas serán el resultado del efecto de la diabetes en el sistema microvascular.

La prevalencia de la HTA es mayor en las poblaciones diabéticas, tipo 1 y 2, que en el resto de la población general. Un estudio epidemiológico de la RD realizado en Wisconsin observó que en los DM tipo 1 la prevalencia de la HTA era del 17% con incidencia del 25% después de 10 años. La HTA se correlaciona con la duración de la diabetes, los niveles elevados de HbA1c, la presencia de proteinuria y con el sexo masculino. Entre los pacientes de tipo 2 otros estudios estiman sobre 38-68% de prevalencia de HTA. Entre los mecanismos fisiopatológicos implicados para explicar la elevada frecuencia de HTA en DM cabe citar: la activación del sistema renina-angiotensina (prorenina elevada en los diabéticos), la expansión del volumen plasmático (secundaria a hiperglucemia y al incremento de reabsorción tubular del sodio por hiperinsulinemia) y el aumento del tono simpático que facilita la vasoconstricción.

El aumento de la presión arterial tiene un efecto letal sobre las complicaciones diabéticas. En el UKPDS, único estudio prospectivo que examina el efecto del tratamiento de la hipertensión en la RD, se demostró que el mantenimiento de la presión arterial diastólica < 85 mmHg y de la PAS por debajo de 150 mmHg proporciona una reducción del 34% en el riesgo de progresión de la RD (19). También se apreció una reducción del 47% del deterioro de la agudeza visual en 3 líneas, lo que podría estar relacionado con una mejoría del EM, aunque este efecto en el beneficio del EM no se estudió de forma específica. En el WESDR (The Wisconsin Epidemiology Study of Diabetic Retinopathy) se observa que en DM tipo 1 las cifras de PAS y PAD podrían predecir la incidencia a los 4 años y la progresión a una RDP, y el tratamiento con lisinopril, un IECA, también ha demostrado disminuir la progresión de RDNP a RDP en pacientes diabéticos normotensos (25). Esto indicaría que es recomendable mantener las cifras de PA dentro de unos valores adecuados.

1.4.2.5 Embarazo:

La RD aparece o progresa durante el embarazo en un 8% de las mujeres con diabetes juvenil sin retinopatía o con retinopatía incipientes al empezar la gestación (26). Esta progresión es transitoria y el riesgo a largo

plazo para la progresión de la RD no se ve incrementado por la gestación (18). La progresión de la RD en mujeres diabéticas gestantes puede relacionarse con los cambios metabólicos, hormonales y hemodinámicos que ocurren en el embarazo. Así se ha demostrado en estudios “in vitro” que la progesterona puede inducir la producción intraocular del VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular) y se ha observado una circulación capilar retiniana hiperdinámica en estas pacientes durante la gestación y después del parto que podría contribuir a la progresión. Se consideran factores de riesgo para la progresión de RD durante el embarazo, la severidad de la RD al inicio del mismo, el control glucémico, la duración de la DM y la HTA concomitante (18). La mujer diabética embarazada debe ser vigilada cada 3 meses y de forma frecuente si presenta complicaciones como toxemia.

1.4.2.6 Lípidos:

La relación entre los niveles elevados de lípidos en suero y la retinopatía es diferente según los estudios. Algunos han encontrado una relación positiva entre los lípidos (triglicéridos y colesterol) y el desarrollo de exudados duros y progresión de la RD. Tanto el ETDRS como el WESDR encuentran que niveles elevados de colesterol en suero se asocian con aumento de la severidad de los exudados duros. En base a estos hallazgos el ETDRS sugieren que la disminución de los niveles de lípidos en pacientes diabéticos en los que están elevados podría ayudar a preservar la visión. Si bien ningún estudio prospectivo se ha realizado para estudiar este efecto, distintos trabajos de investigación han observado que la reducción de los niveles de los lípidos en suero se acompaña de una regresión de los exudados duros en pacientes con maculopatía diabética, y en 2004 se ha visto que el tratamiento oral con atorvastatina, produce una regresión del EM y una estabilización de la AV en pacientes diabéticos tratados con esta estatina (27). Lyons y cols. han observado que en los diabéticos tipo 1 la severidad de la retinopatía se asocia de forma positiva con los niveles de triglicéridos y de forma negativa al HDL.

1.4.2.7 Factores genéticos:

A pesar de que los diferentes estudios multicéntricos han demostrado que la hiperglucemia crónica y la duración de la diabetes son los factores más importantes relacionados con la RD y que el control glucémico es la mayor forma de aminorar la progresión, el hecho de que haya pacientes que progresan a pesar del buen control glucémico o incluso que la retinopatía resiste al tratamiento con PRFC podría hacernos pensar que los factores genéticos influyen aquí.

Muchos estudios han investigado esta posible influencia genética. Las conclusiones que muestran son algunas dispares de otras, ya que hay desde la sugerencia de que la retinopatía es hereditaria a incluso otros que dicen lo contrario, por tanto que no hallan influencia genética significativa.

Los antígenos HLA, expresados en la superficie de las células parecen jugar un papel en el desarrollo y la progresión de la RD.

1.4.2.8 Otros factores sistémicos que podrían influir en la progresión de la RD son:

- **Nefropatía:** En el WESDR se observó una asociación significativa entre la existencia de microalbuminuria y la presencia de RD tanto en diabetes tipo 1 como tipo 2. Los diabéticos juveniles con microalbuminuria tenían 3 veces más riesgo de presentar RD que aquellos sin microalbuminuria. También observaron que el EM era más frecuente en pacientes que presentaban proteinuria (42% frente a 24%) que en los que no tenían. La RD severa puede ser un indicador de enfermedad renal, mientras que la nefropatía y el tratamiento de la misma pueden afectar a la progresión de la RD (28). La proteinuria es un indicador de riesgo aumentado para el desarrollo de RDP en diabéticos juveniles y de forma menos significativa en diabéticos adultos insulín dependientes.

- **Anemia:** En el ETDRS se encontró una asociación entre anemia severa (hematocrito < 40%) y el riesgo elevado de RD severa. El efecto de la anemia en el EM no se ha estudiado específicamente pero se ha observado que el tratamiento de la anemia severa con eritropoyetina en diabéticos con EM y

exudados duros conduce a un aumento de reabsorción de estos exudados y un aumento de la AV visual.

- Tabaco: En diferentes estudios (Nielsen de 1978, Dornan de 1982, Moss de 1994,...) no se encontró relación alguna entre retinopatía y tabaquismo. Pero, si parece que empeora las condiciones de base de los tejidos, por lo que la investigación encuentra un claro efecto adverso del tabaco en la RD. El tabaco reduce el flujo retinal y la capacidad de autorregulación de los vasos retinales, posiblemente por el efecto vasoconstrictor de la nicotina a través del sistema simpático. El tabaco no inicia la RD pero sí puede influir de manera devastadora una vez se inicia ésta.

- Síndrome de apneas del sueño: En pacientes diabéticos afectados de este síndrome se puede agravar la RD y el Edema Macular.

Se han asociado otros posibles factores como: la dieta, la disminución de magnesio sérico, el consumo de alcohol, el nivel educacional y la actividad física, pero requieren de estudios serios y de adecuada metodología para su valoración clara y concluyente.

1.4.3 FACTORES OCULARES:

1.4.3.1 Glaucoma:

Parece que este factor podría ser protector de la RD, y que a su vez la presencia de diabetes sería factor de riesgo para el glaucoma, por lo que esta asociación es controvertida (1, 9).

El glaucoma como protector de la RD, a pesar de que no existen estudios epidemiológicos, la observación clínica parece indicar que esto es así. Se desconoce el porqué. Esta protección se observa en el glaucoma “verdadero” y no en los que sólo sufren hipertensión ocular sin afectación del campo visual ni de las células ganglionares de la retina.

La diabetes es un factor de riesgo para el glaucoma. La frecuencia del glaucoma es mayor en diabéticos y aumenta con la duración de la diabetes. No se conoce la causa.

1.4.3.2 Miopía:

La miopía (superior a -2 dioptrías) podría, según parece, ser factor protector de la retina en pacientes diabéticos. Algunos estudios han demostrado que la miopía tiene un efecto protector para la RD, especialmente para la RDP. No se conoce el mecanismo.

1.4.3.3 Cicatrices coriorretinianas:

Parece que los ojos con cicatrices coriorretinianas experimenta cierta protección.

Hay otros factores locales que agravan la RD como: la inflamación o la cirugía de catarata. Esta inflamación conlleva la alteración de la Barrera Hemato-Retiniana, ya deteriorada en diabéticos, por lo que su control es interesante en la RD. La cirugía de cataratas se ha asociado a la aceleración de la RD, pero parece con asociación débil que podría ser debido a la inflamación ocular, el efecto fototóxico de la cirugía, la retracción del vítreo o una combinación de todos (9).

1.5 PATOGENIA:

La retinopatía es una microangiopatía que afecta a los pequeños vasos retinianos (arteriolas, capilares y vénulas postcapilares), aunque también los vasos grandes de la retina pueden verse afectados. La lesión vascular constituye la base de las complicaciones que se observan a nivel retiniano y el daño endotelial parece que tiene un papel principal en el desarrollo de la microangiopatía. Si bien esto es cierto, no puede considerarse a la lesión anatómica microvascular como única responsable de las complicaciones observadas en la RD, ya que estudios experimentales recientes ponen de manifiesto que los principales tipos celulares de la retina también están alterados en esta enfermedad y que pueden contribuir a la pérdida de visión observada en estos pacientes. En la patogenia de la RD se debería incluir por lo tanto la neurodegeneración retiniana y las complicaciones microvasculares.

Se van a exponer las diferentes teorías que han ido surgiendo en los estudios que se han realizado en relación a la patogenia o fisiopatología de ésta, la Retinopatía Diabética.

1.5.1 MICROANGIOPATIA:

La noxa principal responsable del daño endotelial de los pequeños vasos retinianos es sin duda la hiperglucemia crónica. El daño comienza con una “disfunción endotelial” que se caracteriza por la incapacidad del endotelio de ejercer sus competencias vasomotoras y conforme la enfermedad progresa, en algún momento de la evolución, se produce un aumento de la permeabilidad vascular, y en sus formas más avanzadas se presentan fenómenos oclusivos que determinan la aparición de fenómenos proliferativos.

Por tanto, los signos clínicos que vamos a encontrar en la retinopatía diabética van a ser secundarios a este aumento de permeabilidad de los pequeños vasos que conduce a una extravasación de sustancias que en condiciones normales se encontrarían dentro de la circulación, y por otro lado, encontramos signos que son secundarios a la oclusión microvascular.

No se conoce exactamente el papel de la hiperglucemia en el desarrollo y evolución de las lesiones retinianas, pero parece actuar por distintos mecanismos en diferentes tejidos. Parece que la hiperglucemia mantenida, unida a otros factores ya comentados, produce una serie de cambios bioquímicos, anatómicos, hematológicos, fisiológicos y endocrinológicos, que interaccionando conducen al desarrollo de la RD. Probablemente los factores bioquímicos y fisiológicos, parecen ser más importantes en fases precoces, y los endocrinológicos en fases tardías antes del desarrollo de la RDP. Por tanto, es un enigma precisar la exacta patogenia de la retinopatía diabética en humanos, pero de lo que sabemos el factor fundamental sería la hiperglucemia mantenida.

La hiperglucemia crónica causa las complicaciones tardías de la DM pero sus efectos difieren de unas especies a otras, de unos individuos a otros en la misma especie, de unos tejidos a otros en el mismo individuo y de unos momentos a otros dentro del mismo tejido.

1.5.1.1 CAMBIOS BIOQUÍMICOS:

Los efectos de la hiperglucemia sobre el tejido microvascular en la RD influyen en el aumento del flujo a través de la vía de los polioles, la generación de productos finales de la glicación, la producción de radicales libres y la activación de la vía de la proteinquinasa C (PKC) (29, 30).

1.5.1.1.1 Vía de los Polioles :

En personas diabéticas con aumento de glucosa, ésta se acumula en las células que no requieren insulina para captarla. Cuando se sobrepasa la capacidad de la vía glucolítica anaeróbica (vía de Embden-Meyerhof) y de las pentosas (vías normales en no diabéticos), el exceso de glucosa se metaboliza por vías alternativas. La más estudiada es la vía de los polioles.

En la vía de los polioles (vía del sorbitol; está reducida en normoglucemia) actúan 2 enzimas: la aldosa reductasa y la sorbitol deshidrogenasa. El sorbitol se produce por reducción de la glucosa, intracelularmente. La aldosa reductasa que se encuentra entre otras células en las células endoteliales de la retina (además de células epiteliales del cristalino, pericitos y células de Schwam), cataliza la reducción de glucosa a sorbitol y requiere de NADPH (Nicotinamida Adenosina Dinucleotido Fosfato) como cofactor. El sorbitol se oxida muy lentamente en fructosa por medio de la sorbitol-deshidrogenasa (31).

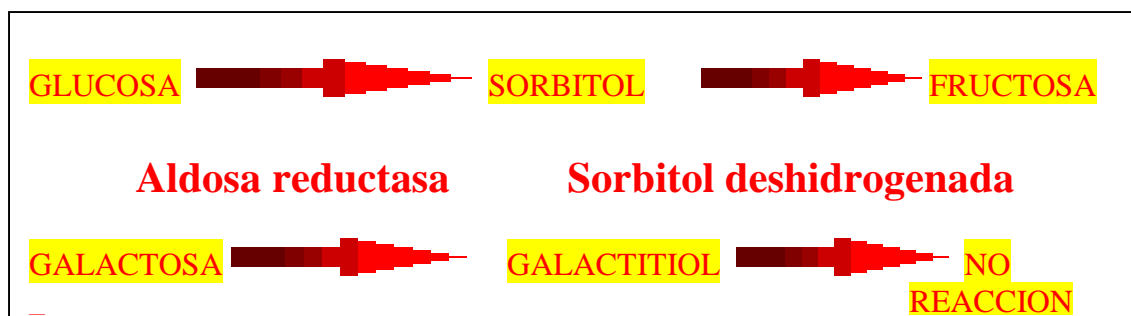


Figura 2: Esquema de la vía de los polioles.

Esto trae como consecuencia que al estimularse la vía de los polioles se depleciona el endotelio de NADPH y de glutation (antioxidante protector del endotelio contra radicales libres que están reducidos en la diabetes), y también lleva a que el sorbitol formado por esta vía que atraviesa mal las membranas celulares (se ve aumentado intracelularmente). Este aumento del sorbitol produce un aumento de la presión osmótica y favorece, por tanto, la difusión de agua en la célula (edema intracelular). Además, el aumento de sorbitol intracelularmente disminuye el funcionamiento de la bomba ATPasa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ de la membrana plasmática con un aumento de sodio intracelular adicional (32).

El estrés osmótico inducido por esa vía, hace que las células endoteliales microvasculares lesionadas presenten alterada la permeabilidad y el balance electrolítico (salida de K^+ y Na^+) con aumento de la hipoxia tisular, y por tanto de la función de fotorreceptores retinianos.

Dada la importancia de la producción de sorbitol, mediada por aldosa reductasa, y la importancia de la aldosa reductasa en la patogenia de la RD, se han realizado estudios clínicos en humanos con inhibidores de la aldosa reductasa. La prevalencia y severidad de las lesiones galactosémicas se previenen o reducen con la adición a la dieta de alguno de los inhibidores de la aldosa reductasa: Sorbinil (M79175) y con el Tolrestat.

Según un estudio realizado por Robinson y cols. en 1.993 dichos inhibidores no son capaces de prevenir las lesiones retinianas si se emplean después de haber alimentado a animales más de 6 meses con galactosa. Probablemente sólo son efectivos en fases muy precoces de la enfermedad. Parece ser que incluso cuando hay solamente engrosada de la membrana basal, y pérdida de pericitos ya es demasiado tarde (33). Por lo que estos inhibidores deberían emplearse muy pronto para ser eficaces. En otro trabajo se estudió la expresión de la VEGF por inmunocitoquimia en modelo animal (ratas con dieta rica en galactosa) (34). A largo plazo se expresará VEGF y se investigó el efecto de un inhibidor de la aldosa reductasa (IAR-509) vs Aminoguanidina. Se estudiaron 72 ratas en 6 grupos: control sin galactosa, galactosa, galactosa + IAR, galactosa + Aminoguanidina y galactosa + IAR (al año) o + Aminoguanidina (al año). Se pudo observar que en los tratados con IAR-509 presentaban disminución de la severidad, pero no la eliminaba

completamente. Los datos extraídos de las conclusiones fueron difícilmente extrapolables por la alta mortalidad de los animales estudiados ya que el número que evolucionó fue bajo. Los valores de galactitol fueron menores en el grupo de IAR-509, pero mayores a los obtenidos por Kern y cols. De todas maneras, este modelo animal ha sido cuestionado (diferencias entre la RD humana y de rata: la RD de rata resulta de un estado de inanición y es una lesión específica producida por aldosa reductasa). Aunque el estudio inmunohistoquímico presentó los datos como presencia o ausencia, no se diferencia si la primera expresión del VEGF es en retina o coroides. Además, la expresión de este factor no sólo se da en células de endotelio vascular de retina y coroides, sino también en células de Müller y células del epitelio pigmentario. Otra limitación que hubo es no poder evaluar la progresión, ya que el estudio sólo fue de 22 meses.

El Sorbinil Retinopathy Study (SRS) de 1.990 es un estudio clínico multicéntrico (11 centros), prospectivo, controlado y randomizado, donde se estudiaron a 497 pacientes DMID con de 1-15 años de evolución. Se investigó durante 41 meses comparando el efecto placebo vs Sorbinil oral. Se obtuvieron fotografías del fondo de ojo (FO) que clasificaron de acuerdo a la severidad del ETDRS. No encontraron diferencias significativas en el progreso. Lo único positivo encontrado fue una leve disminución de la progresión de los microaneurismas. Fue un estudio de poco tiempo, 3 años, a dosis bajas (posiblemente insuficientes), pero así dadas para evitar toxicidad. Lo que hace pensar que sería necesario más número de pacientes estudiados y mayor seguimiento adecuando la dosis.

Otro estudio es el Tolrestat Retinopathy Study: multicéntrico, prospectivo y randomizado de 2.500 pacientes DM tipo I de 63 centros cuya diabetes tenía una duración de 2 a 30 años de evolución al empezar el estudio. Se asignaron al azar placebo, 100 mgr/día y 200 mgr/día de Tolrestat seguidos de 4 a 10 años. Las conclusiones definitivas todavía no se conocen.

Hecho importante a remarcar de nuevo es que en estudios experimentales los animales diabéticos inducidos no presentan complicaciones tan rápidas como los animales galactosémicos, y se pueden estudiar las complicaciones de DM por aparecer antes (en animales de corta vida, que por sí mismo no desarrollarían la enfermedad y que con dieta rica en galactosa se

puede presentar retinopatía precozmente). Los diferentes estudios realizados tanto en animales como en el hombre han dado resultados muy variables.

1.5.1.1.2 Productos finales de la glicación:

Maillard demostró hace aproximadamente 100 años que la incubación de carne con glucosa a temperatura elevada hacía que la carne adquiriese una tonalidad parduzca. Las aminos libres presentes en la carne interaccionan con la forma lineal de glucosa a través de la reacción de Schiff. Esta reacción es irreversible y se conoce como glucosilación o glicación no enzimática, debido a que en ella no participan enzimas por lo que no tiene "límite".

Se han estado estudiando los cambios que se producen en la RD con glicación no enzimática de las proteínas. La glucosa puede reaccionar de forma no enzimática con los residuos de lisina de las proteínas y tras una serie de reacciones bioquímicas dar lugar a los llamados "productos finales de glicación"(35). La glicación va a depender de los niveles de glucemia presentes en el organismo, y una hiperproducción de estos productos trae como consecuencia la desnaturalización de las proteínas ocasionando efectos nocivos (funcionales, estructurales e inmunológicos), tanto intra como extracelularmente, lo que da lugar a una desestructuración tisular a la vez que da alteración de la transducción a nivel nuclear. Estos metabolitos producen por lo tanto disfunción endotelial, y otras acciones directas, ya que son potentes generadores de radicales libres, y se han relacionado con el engrosamiento de la membrana basal, la pérdida de pericitos y las alteraciones de la permeabilidad vascular observadas en la diabetes (32). Los productos avanzados de la glicación (pentosidina, carboximetilisina y croslina) representan la sobreexposición de la glucosa. En un estudio se valoró la relación entre productos avanzados de la glicación y la inducción de la expresión de genes retinianos (mRNA de VEGF) in vivo e in vitro, en ratas y en conejos (35). Se observó que aumentaba la expresión tisular del mRNA de VEGF en situación de hipoxia o en exposición a productos finales de la glicación externos, aunque de manera moderada, pero la combinación de ambos aumentaba de manera importante los niveles titulares del mRNA de

VEGF. En la capa ganglionar y nuclear interna sus células expresan VEGF ante la exposición de productos finales de la glicación externos.

Una de las consecuencias de esta vía es la Hb glicosilada (HbA1c) que se produce cuando la glucosa se une a la hemoglobina mediante un proceso de glicación no enzimática (36). La Hb glicosilada está presente en individuos no diabéticos pero aumenta con la hiperglucemia. El porcentaje de HbA1c respecto al total nos ayuda a saber el control diabético de los últimos 3 meses (en no diabéticos 4-6%, DM mal controlados mayor o igual a 7%). La Hb glicosilada tiene gran afinidad por el oxígeno. El aumento de ésta en casos mal controlados disminuye la difusión de oxígenos a los tejidos dando hipoxia de la retina.

Otro factor importante es el 2-3 difosfoglicerato (2-3 DFG) y consecuentemente los niveles de fosfatos inorgánicos plasmáticos. Este regula la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. En DM el 2-3 DFG está elevado lo que traduce una respuesta compensatoria, sin embargo los niveles están condicionados por las tasas de fósforo inorgánico, a su vez relacionado con la glucosuria. En diabéticos mal compensados con gran pérdida, que hace que al tiempo que penetra la glucosa en la célula penetre el fosfato, disminuye la tasa de fosfato plasmático y disminuyendo de manera consecuente el 2-3 DFG y la liberación de oxígeno por los eritrocitos.

A pesar de que parece razonable pensar que los productos finales de la glicación puedan ser en parte responsables de las complicaciones de la DM, todavía no hay estudios concluyentes al respecto.

1.5.1.1.3 Activación de la PKC (Protein Kinasa C):

La PKC es una familia de enzimas que funcionan como señales de distintos factores de crecimiento, hormonas, neurotransmisores y citoquinas (32). La familia de PKC incluye al menos 11 isoformas, 9 de las cuales son activadas por el segundo mensajero lipídico, el DiAcilGlicerol (DAG; activador fisiológico de la PKC). La hiperglucemia aumenta la síntesis de novo de DAG lo que activa la PKC. Las isoformas β y γ son las que se activan primariamente en los tejidos vasculares durante la hiperglucemia, aunque aumentos de otras isoformas también se han encontrado en ratas diabéticas (37). La

hiperglucemia también puede activar la PKC indirectamente a través de los receptores de los productos finales de la glicación y a través de la actividad incrementada de la vía de los polioles, probablemente por el aumento de los radicales libres (32). La activación de esta proteína, específicamente de su isoforma β (PKC β) se ha implicado en la patogenia de las manifestaciones tempranas y tardías de la RD (32, 38).

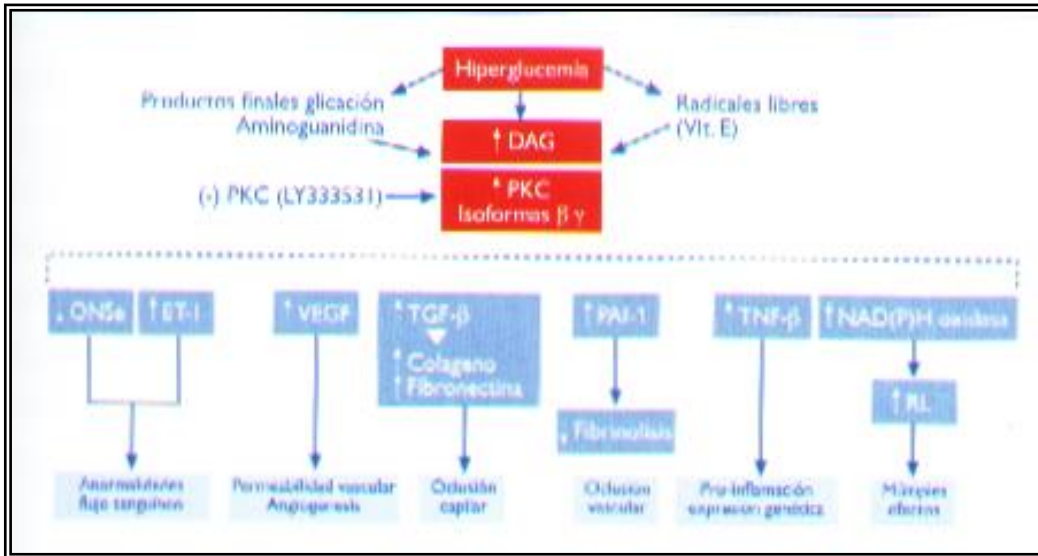


Fig. 3: Algunas consecuencias de la activación de la PKC por la hiperglucemia.

Su activación induce cambios en la contractilidad del músculo liso, aumenta la síntesis de proteínas en la membrana basal contribuyendo al engrosamiento de la misma, en la permeabilidad endotelial y en la angiogénesis (37). Además, su activación puede conducir a la activación de citoquinas, incluidos los factores vaso activos como el Factor Transformador de Crecimiento (TGF), y el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF), factores implicados en el desarrollo de la neovascularización en los estadios más avanzados de la RD que más tarde se expondrá.

Estudios experimentales realizados con la administración oral de un inhibidor específico de la isoforma β de PKC (LY333531 o riboxistaurina) en diabéticos humanos (tipo 1 y 2, con < 10 años), en el PCK Inhibitor Diabetic Retinopathy Study sugieren que podría ser efectivo terapéuticamente para aminorar la progresión de la retinopatía, la proliferación, el aumento de la permeabilidad vascular, y la necesidad de tratamiento láser, asociándose

también a un aumento de la mejoría visual en pacientes con retinopatía diabética no proliferativa (38).

El segundo inhibidor de la PKC, PK412, ha demostrado ser efectivo en la reducción del edema macular y la mejoría en la agudeza visual en pacientes diabéticos.

1.5.1.2 CAMBIOS HEMATOLOGICOS:

Se habla de mecanismos Hemorreológicos bajo la hipótesis de que para el desarrollo de la RD es necesaria una conjunción de alteraciones bioquímicas que afectan a elementos formes de la sangre y a la viscosidad.

Los cambios hematológicos afectan a los elementos formes, sobre todo a los glóbulos rojos y plaquetas, y a la viscosidad del plasma y de la sangre total. Los factores determinantes de la viscosidad sanguínea que se encuentran alterados en la diabetes son: concentración de glóbulos rojos, agregación plaquetaria y deformidad de los eritrocitos. La viscosidad plasmática viene determinada por las proteínas plasmáticas: el fibrinógeno y las globulinas la elevan, y la albúmina la disminuye. En la diabetes están elevadas las dos primeras y la tercera está disminuida. Los hematíes en condiciones de velocidad de flujo elevadas adquieren disposiciones especiales. Se sitúan separadamente y orientándose en dirección al flujo. Cuando de manera patológica el flujo está disminuido, los hematíes se agregan formando masas alargadas o "rouleaux" que obstruyen el flujo sanguíneo. La rigidez del hematíe diabético se presenta por glicación proteica no enzimática de la membrana.

En la sangre se produce un estado de hipercoagulabilidad con aumento de la viscosidad sanguínea, de la adhesividad y agregación plaquetaria. Los glóbulos rojos son más rígidos por lo que dañan con su roce las células endoteliales, ya de por sí deterioradas, y ocasionan alteración y obstrucción del flujo sanguíneo a la vez que se agregan con facilidad. Este aumento de agregabilidad parece condicionado por el nivel de control metabólico y por los niveles elevados de proteínas plasmáticas (aumento de fibrinógeno a nivel plasmático). Existen además otros factores que producen un estado de hipercoagulabilidad: por aumento del fibrinógeno y factor VIII, así como una actividad fibrinolítica disminuida: el Activador del Plasminógeno (AP). En

diabetes por hiperglucemia hay disminución del activador del plasminógeno en las células endoteliales y aumento de niveles de factor VIII de von Willebrand. La GH estimula el aumento de factor VIII del endotelio, disminuye la síntesis de prostaciclina por las células endoteliales y en cambio aumenta la síntesis de tromboxanos (Tx B2, metabolito inactivo del tromboxano plaquetario A2 (Tx A2) que está aumentado en algunos pacientes diabéticos). El Tx A2 es el más potente vasoconstrictor y agregante plaquetario conocido. El ADP (Adenosin DiPhosfato) es también agregante. El Tx A2 potencia la liberación de ADP y otros contenidos plaquetarios por lo que aumenta la agregabilidad y adhesividad plaquetar. Todo esto puede causar oclusiones vasculares focales, microtrombosis.



Figura 4: Esquema de la patogenia de la Retinopatía Diabética.

Los factores que en 1.998 estimulaban in vitro la proliferación celular, y que tras diálisis se vio que disminuía su efecto, fueron identificados pronto (40). Se estudió en el plasma la concentración de diferentes moléculas: β - tromboglobulina, FP IV, fibrinógeno, fibropéptido A, antitrombina 3, antígeno de FP IV, macroglobulina α 2 y HbA1c (41). También se estudió la actividad

plaquetaria a través de la β -tromboglobulina plasmática (que se encuentra en gránulos plaquetarios), y su significación en la RD (42). Algunos estudios también han incluido el estudio del Factor Tisular (FT) que es un iniciador celular de la cascada de la coagulación que parece estar aumentado en humor acuoso de RDP más que en los RD simple o en los controles. El origen de éste en el humor acuoso no se conoce, pero sí se ve un reflejo entre la severidad de la RD y los resultados en humor acuoso por lo que se sugiere que podría jugar algún papel en la progresión de la RD (43). También se ha sugerido que la interacción de inmunocomplejos con factores hemostáticos influiría en el desarrollo de la RD (44).

1.5.1.3 CAMBIOS ANATÓMICOS:

1.5.1.3.1 Alteraciones de la membrana basal capilar :

Se produce un engrosamiento marcado de la membrana basal, vacuolización y depósito de colágeno fibrilar en fases iniciales de la RD. Estos cambios estructurales de la membrana basal ocasionan alteraciones funcionales en los capilares retinianos. Puede disminuir el calibre vascular y así el flujo lo que dificulta la difusión de nutrientes contribuyendo a la hipoxia tisular. También al disminuir el calibre favorece el roce y la rotura de hematíes que ya de por sí son rígidos y lábiles. En la RD, la falta de contacto entre estas células secundarias al engrosamiento de la membrana basal favorece la proliferación endotelial, y unido a la pérdida de pericitos, de la cual se hablará más tarde, esta proliferación se incrementa.

Varios estudios han relacionado los cambios de la membrana basal con la vía del sorbitol, ya comentada anteriormente (32).

1.5.1.3.2 Pérdida de pericitos:

Los pericitos pueden producir factores de crecimiento por ellos mismos y su pérdida podría contribuir en los cambios precoces de la RD (33). Se ha confirmado en un estudio en el cual pericitos y células musculares lisas que crecen en cultivo en contacto con células endoteliales inhiben el crecimiento y

la multiplicación de éstas. En ausencia de contacto pero con libre acceso de factores difusibles la inhibición se pierde. Lo que sugiere que los pericitos producen un inhibidor del crecimiento de células endoteliales y se cree que esta inhibición es mediada a través de la secreción de TGF- β .

La clave de la RD precoz es la pérdida selectiva de pericitos (células murales) en los capilares de la retina. Los pericitos son células contráctiles de la pared capilar, se sitúan en el espesor de la membrana basal del capilar y rodean en parte o en su totalidad a las células endoteliales. Son más frecuentes en los capilares de la retina que en los del córtex cerebral. Su función es contrarrestar las presiones transmuralas. En la retina normal existen aproximadamente el mismo número de células endoteliales que de pericitos. En la diabetes el número disminuye. Algunos autores consideran este hallazgo como el único patognomónico de la enfermedad diabética. Los pericitos murales de manera fisiológica inhiben la proliferación de células endoteliales maduras (al igual que los esteroides angiostáticos). Participan en el turn-over de los vasos, aunque en grado leve (45).

La pérdida de pericitos facilita la dilatación focal de la pared capilar y esto podría favorecer la aparición de microaneurismas, primera lesión observada clínicamente en la RD. Si bien, todavía no se ha dilucidado con exactitud que la formación de microaneurisma se deba exclusivamente a la pérdida de estas células.

1.5.1.3.3 Las células endoteliales:

El crecimiento de las células endoteliales está afectado en el curso de la retinopatía diabética de dos maneras diferentes. Mientras que generalmente se observa una multiplicación acelerada de estas células, que conduce a la obliteración de los capilares por una reducción de su luz, en ciertos microvasos se observa una disminución de células endoteliales por apoptosis que conduce a la formación de tubos capilares acelulares de membrana basal desprovistos de células.

En las células endoteliales también se alteran su morfología y funciones en el curso de la retinopatía. De esta forma, las uniones estrechas, normalmente compactas, adquieren cierta laxitud produciendo una adherencia

intercelular menor. Ello contribuye a la ruptura de la barrera hematorretiniana interna y a la fuga de macromoléculas hacia el espacio extravascular. Además, el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) inducen cambios similares en la expresión de estas proteínas de unión e incrementan la permeabilidad vascular, pudiendo desempeñar un importante papel en la patogenia del edema macular. A diferencia de la barrera hematorretiniana interna, cuya función se ve muy afectada según el grado de RD, la membrana hematorretiniana externa parece bastante estable, lo que sugiere que el edema retiniano se debe a un aumento de la permeabilidad, y no a una disminución del mecanismo de bombeo.

Por otra parte, el endotelio en la diabetes presenta disfunciones en el equilibrio pro y anti-agregante: déficit en la secreción de prostaglandina I₂, aumento de los niveles circulantes del factor von Willebrand, aumento de la expresión de moléculas de adhesión, profunda reducción del glicocalix endotelial,...

1.5.1.4. CAMBIOS FISIOLÓGICOS:

Los cambios bioquímicos, hematológicos y anatómicos condicionan una serie de cambios de la fisiología del vaso y de la microcirculación.

En la diabetes, en el endotelio vascular se produce una disminución de la síntesis o de la acción de factores vasodilatadores y un aumento de la liberación de factores vasoconstrictores lo que resulta en una alteración en el balance de la homeostasis vascular. La hiperglucemia puede mediar esta disfunción en las células endoteliales a través de distintas vías.

1.5.1.4.1 Pérdida del mecanismo autorregulador del flujo sanguíneo en la retina:

El ojo tiene un doble origen del flujo sanguíneo: los vasos retinianos y los vasos uveales. En la retina hay mecanismos de autorregulación muy eficaces que previenen los cambios de flujo. El sistema simpático que produce vasoconstricción uveal parece proteger de una sobreperfusión y rotura de las barreras oculares en condiciones de elevación aguda de la presión arterial.

Esta autorregulación conduciría también a que el volumen de flujo retinal temporal sea mayor que la nasal, que no haya diferencias entre hemisferio superior e inferior y que la velocidad en los grandes vasos retinianos sea a igualdad de condiciones, constante tanto a corto como a largo plazo. En la diabetes este mecanismo podría estar alterado.

1.5.1.4.2 Disminución de la velocidad sanguínea:

La velocidad del flujo sanguíneo en la retina en pacientes diabéticos disminuye mucho antes de aparecer las primeras manifestaciones oftalmoscópicas influenciada por varios factores, como la mayor viscosidad sanguínea, la degeneración de los pericitos y el estrechamiento arteriolar entre otros. Estudios en diabéticos tipo 1 de menos de 10 años de duración de la enfermedad tratados con dosis elevadas de vitamina E parece normalizar el flujo sanguíneo en la retina de estos pacientes cuando se compara con diabéticos tipo 1 del mismo tiempo de evolución pero tratados con placebo (46). Resultados similares se han encontrado con otros inhibidores (38).

1.5.1.4.3 Vasodilatación compensatoria:

Las arteriolas y vénulas, en general, en diabéticos presentan mayor calibre que en no diabéticos. La dilatación vascular pudiera producirse por un mecanismo de autorregulación para compensar la hipoxia de la retina. Estudios recientes señalan que en diabéticos tipo 1 con retinopatía, hay una disminución del diámetro arteriolar y un aumento del diámetro venular, y que estas variaciones se correlacionan con la severidad de la RD. En pacientes panretinofotocoagulados se observa una disminución tanto arterial como venular que podría ser el resultado del menor volumen de flujo sanguíneo requerido al haber disminuido las necesidades metabólicas y haber aumentado la oxigenación tras destruir con láser el tejido retiniano isquémico.

1.5.1.4.4. Interacción con la pared vascular:

La pared vascular sufre los efectos de una circulación alterada. Este cambio estructural aumenta la permeabilidad de los vasos con salida de plasma y proteínas. Hay también una pérdida de la elasticidad. La pared arteriolar cargada de proteínas y otras sustancias plasmáticas se engrosa, endurece y pierde elasticidad. La retina es así incapaz de controlar los aumentos de presión de perfusión de forma adecuada. Por lo tanto, se produce lo que se denomina una rotura de la barrera hematorretiniana (BHR) interna, que es una alteración observada ya en estadios iniciales de la diabetes, antes incluso de observarse signos clínicos de RD.

La función de la BHR es separar a los elementos neuronales de la retina de la circulación, y protegerla de células inflamatorias así como de otros productos citotóxicos que viajan en la sangre. Se consigue así que la retina regule su composición química extracelular, especialmente la iónica, de gran importancia para la actividad neuronal. Se conoce desde hace más de 20 años que la BHR interna reside “funcionalmente” a nivel de las uniones estrechas (tight junctions) existentes entre células endoteliales. Se ha demostrado recientemente que en la diabetes experimental se reduce la cantidad de proteína ocludina en las uniones estrechas de las células endoteliales, lo que conduce a una desorganización de las uniones tanto en capilares como en arteriolas (47).

Los fenómenos de microtrombosis en diabéticos de los que hasta el momento se tenían evidencias indirectas han sido demostrados recientemente en ojos postmortem de diabéticos tipo 2, y se han relacionado con la duración de la diabetes (48).

Todos los procesos que se han expuesto producen en la retina una situación de isquemia con hipoxia. La hipoxia parece que actúa como el estímulo fundamental para la liberación de determinados factores angiogénicos que son los responsables de la formación de neovasos sanguíneos en la retina y en el iris.

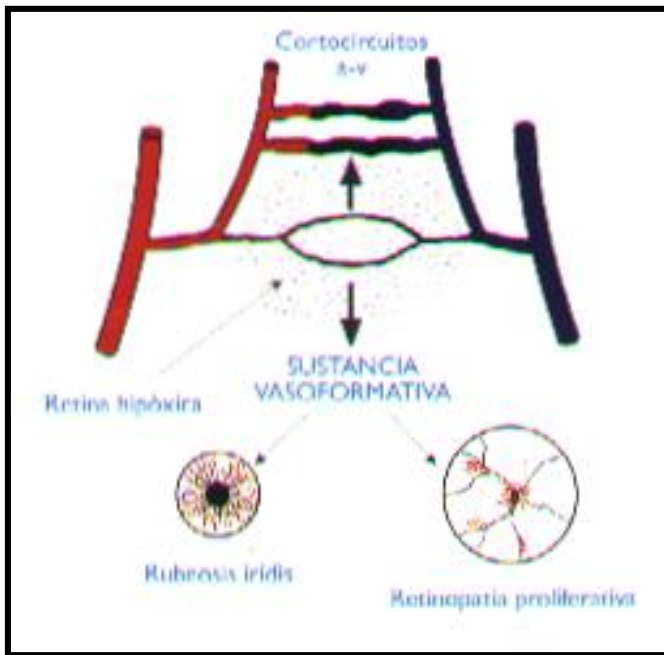


Figura 5: Consecuencias de la isquemia retiniana en la Retinopatía Diabética.

Es precisamente la neovascularización lo que caracteriza a las fases avanzadas de la RD, la Retinopatía Diabética Proliferante (RDP).

1.5.1.5 FISIOPATOLOGÍA DE LA ANGIOGÉNESIS:

La angiogénesis es un complejo proceso caracterizado por una cascada de eventos: una vasodilatación inicial de los vasos existentes se acompaña por un incremento de la permeabilidad vascular y una degradación de la matriz extracelular presente, el cual dirige a una activación y proliferación de células endoteliales que emigran y forman tubos. Esas células endoteliales que brotan de vasos se piensa que son el soporte para una red de diferenciación de células periendotheliales y de matriz. Posteriormente, una fase de maduración y remodelamiento de esos nuevos vasos se da lugar para formar una red vascular.

La invasión de células endoteliales y su migración requiere de la actividad cooperativa del activador de la urokinasa del plasminógeno (uPA), de metaloproteinasas de la matriz (MMPs) y de sistemas cistein–proteinasas. La expresión de genes de proteasas es inducida por citoquinas y los factores

angiogénicos: factor de crecimiento básico fibroblástico (bFGF) y VEGF-A (factor de crecimiento vascular endotelial A), mientras la proteólisis está estimulada por la activación de pro-proteinasas por un lado y por otro lado por inhibidores de los niveles de inhibidores endógenos de enzimas proteolíticas como los inhibidores del activador del plasminógeno (IPA), los inhibidores tisulares de metaloproteinasas y de cistatinas. Las células endoteliales activadas expresan integrinas, como las α - β , que dirigen la migración a través de la matriz degradada seguidas de la proliferación de células endoteliales. Después, las células endoteliales de los capilares neoformados sintetizan una nueva membrana basal. Además, la estabilización de los nuevos capilares se piensa que va acompañada de recubrimiento por pericitos y células musculares lisas. Este proceso está regulado por el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). Sin embargo, existen controversias todavía si los pericitos envuelven sólo en este paso tardío de la angiogénesis o si también preceden y/o acompañan la migración celular endotelial e incluso promueven el retoño endotelial.

1.5.1.6 FACTORES REGULADORES:

Este proceso de múltiples pasos llamado angiogénesis es controlado por un balance entre factores reguladores positivos y factores reguladores negativos.

Reguladores positivos o estimulantes. Hay una evidencia importante que el VEGF-A es el regulador primario de la angiogénesis.

Reguladores negativos o inhibidores endógenos. Cuando la neovascularización es suficiente para cubrir las demandas locales de oxígeno y nutrientes los factores angiogénicos se decrementan y/o las concentraciones locales de inhibidores se incrementan.

1.5.1.6.1 Factores Reguladores Estimulantes:

El déficit de insulina produce además de la hiperglucemia otras alteraciones humorales que afectan al metabolismo y que condicionan, por ejemplo, la síntesis de proteínas.

El estudio sobre el papel que juegan los factores de crecimiento es uno de los prioritarios en la actualidad desde que Michaelson en 1.948 definió la existencia de un factor bioquímico responsable de la aparición y crecimiento de los neovasos en la retina (33). Michaelson postuló que la neovascularización se debía a la liberación de un factor difusible por parte de la retina isquémica. La teoría defendida por Glaser mantiene que el citado factor de Michaelson estaría constituido por un grupo de factores moduladores extracelulares secretados por células dentro de la retina y tejidos adyacentes. La hipoxia u otro componente de la isquemia deberían inducir la expresión de esta molécula. Además, las concentraciones intracelulares deberían aumentar durante la neovascularización activa. Y, la inhibición de estos factores debería prevenir la neovascularización. A pesar de esta teoría, vigente hoy en día, no se ha encontrado ningún factor específico que pueda inducir por sí solo la aparición de neovasos. Se han descrito numerosas sustancias con capacidad angiogénica entre las que citaremos a los polipéptidos por ser las moléculas angiogénicas más importantes (45,49).

Todas estas sustancias pueden jugar un papel en la estimulación del crecimiento de las células endoteliales, quimiotaxis y producción de matriz extracelular, y todas ellas pueden contribuir al complejo proceso de la neovascularización o angiogénesis, como se expone a continuación.

1.5.1.6.1.1 El IGF (Insulin-like growth factor I):

El Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) anteriormente conocido como somatomedina C, es un mediador plasmático de la hormona de crecimiento con una estructura similar a la de la insulina ya que es un péptido básico con constitución en aminoácidos como la cadena A de la insulina. El principal lugar de síntesis parece ser el hígado. El IGF-II es homólogo a la proinsulina. En el organismo por el IGF-I se desarrollan una serie de acciones conocidas que pueden dividirse en: acciones de tipo agudo y acciones de tipo crónico. Las acciones agudas son de tipo insulina, mientras que las de tipo crónico, más interesantes para nuestro estudio, se refieren a sus acciones a nivel de crecimiento y diferenciación en líneas celulares como fibroblastos, condrocitos, músculo liso, células de Sertoli o de la granulosa ovárica (45).

Varios estudios, sobretodo in vitro, respaldan la hipótesis de que el IGF-I desempeña un papel en la neovascularización retiniana.

En 1.983 Merimée encontró elevados niveles de IGF-I y II en suero de pacientes que presentaban un rápido deterioro de su retinopatía.

En estudios inmunocitoquímicos en animales se encontraron receptores para IGF-I en pericitos y células endoteliales de los capilares retinianos de vaca, también en muestras oculares de cristalino de embrión de pollo y en segmentos internos y externos de fotorreceptores de la retina de vaca.

Los trabajos de mayor importancia fueron los que determinaron la concentración de IGF-I en vítreo de pacientes con RDP comparándolos con controles no diabéticos (50). En estos trabajos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos (por lo que se ha relacionado con el progreso de la retinopatía diabética) con unas concentraciones de IGF-I en vítreo en el rango conocido capaz de estimular la diferenciación celular y el crecimiento en otras poblaciones celulares, especulando con el posible papel quimiotáctico de IGF-I sobre las células endoteliales.

Aunque, las concentraciones en suero de diabéticos y no diabéticos en algunos estudios no siempre coinciden, y en ocasiones son contradictorias, estos datos podrían reflejar variaciones en los métodos de selección y clasificación, y el número pequeño de pacientes estudiados.

En estudios posteriores y de metodología igualmente correcta se encontraron diferencias entre los niveles de IGF-I en plasma de diabéticos con retinopatía y en controles no diabéticos. Los niveles plasmáticos de IGF-I son mayores en pacientes con diabetes juvenil que en diabéticos adultos o en sujetos no diabéticos. Estos niveles también se relacionan con la progresión de la retinopatía. Las concentraciones de IGF-I en vítreo están elevadas en el vítreo de algunos pacientes diabéticos y en un 85% de los diabéticos con retinopatía avanzada, frente a concentraciones bajas o no detectables en sujetos no diabéticos.

Grant y cols. demostraron que el IGF-I promueve la quimiotaxis de células endoteliales de capilares aórticos y retinianos en concentraciones que resultaron ser similares a las encontradas en vítreo de pacientes con diabetes con neovascularización.

Se estudió el efecto del IGF-I en células del endotelio retinal humano en condiciones de aumento de niveles de glucosa y en ayuno severo (51). Parece que la IGF-I protege de la apoptosis a las células endoteliales de la retina humana en estas extremas circunstancias. El Wortmannin (inhibidor específico de la kinasa-3-fosfatidilinositol) bloquea la habilidad del IGF-I de proteger el endotelio de la apoptosis. Estos estudios sugieren que el IGF es crítico para la supervivencia del endotelio retiniano de humanos.

También en humor acuoso se han determinado sus proteínas de unión IGFBP (-1, -2 y -3), especialmente IGFBP-2 que también se vió aumentada en pacientes con RDP, mientras que la IGFBP- 3 se vio incrementada en casos de rubeosis iridis pero no en RDP (52).

Pero, se ha demostrado en algunos estudios que el IGF parece que no ser capaz de inducir neovascularización en ausencia de otros factores de crecimiento ya que se requirieron de cantidades suprafisiológicas para estimular la neovascularización, por lo que podría actuar como factor ayudante más que como el principal factor angiogénico (33).

1.5.1.6.1.2 El FGF (Factor de crecimiento del fibroblasto):

Son polipéptidos y se han descrito al menos 7 diferentes. Los más estudiados a nivel retinal son los básicos (FGF-b) y los ácidos (FGF-a). Son moléculas mitogénicas presentes en los extractos retinales. Tienen una secuencia homóloga, en 55% de aa, se unen al mismo receptor, y se conserva altamente en todas las especies. Ambos se han localizado en algunas células de la retina por métodos inmunocitoquímicos. Algunos tipos de células retinales son capaces de sintetizar dichos factores (33, 52).

El FGF-b lo han implicado en varias líneas diferentes de investigación como el factor principal angiogénico del ojo. Fue el primer factor de crecimiento hallado en la retina. Está presente en el ojo y otros tejidos donde la frecuencia de formación de neovasos es muy baja. Probablemente deriva de la retina y no del plasma u otros componentes sanguíneos pues no se ha detectado en plasma (53). Tiene gran afinidad por la heparina (44). Se produce después de la exposición de las células endoteliales a agentes injuriosos o isquemia retinal

(no se libera de forma rápida). La liberación de FGF-b parece estimular la neovascularización en condiciones oculares patológicas.

En una serie pequeña de 36 muestras vítreas obtenidas al realizar vitrectomías la enfermedad proliferativa estaba presente en un 75% de los ojos con niveles elevados de FGF-b y sólo en un 22% de los ojos con niveles no detectables de dicho factor. La concentración de FGF-b estaba elevada en RDP activas, mientras estaba disminuida o ausente en RD regresivas y en vítreo de pacientes no diabéticos cuya cirugía se realizó por otras causas (53).

Por si solo no es suficiente para inducir neovascularización retiniana. Sin embargo, estudios en ratones transgénicos han demostrado su acción sinérgica potente con el VEGF.

1.5.1.6.1.3 El TGF- α y β (Factor transformador de crecimiento):

Recibe este nombre porque habilita la transformación de fibroblastos. Son polipéptidos con capacidad angiogénica in vivo. Los producen los pericitos capilares y las células musculares lisas del endotelio vascular. Se ha visto aumentar sus niveles en caso de hiperglucemia (45, 52).

El TGF-b es bien conocido como factor de crecimiento multifuncional ya que in vivo es importante en la angiogénesis porque estimula la proliferación y diferenciación de células endoteliales de los capilares, favoreciendo la neovascularización, y también la proliferación y diferenciación de matriz extracelular. Sin embargo, in vitro inhibe la proliferación celular del endotelio vascular, inducida por el FGF. Es difícil explicar esta paradoja de efectos, por lo que en función de las circunstancias este factor parece ser un regulador bifuncional del crecimiento celular in vitro.

Es secretado de forma inactiva latente. Connor y cols. y otros autores lo han estudiado en vítreo. Se ha visto que existen tres isoformas de TGF- β (-1, -2 y -3). El aumento de TGF- β 2 en humor vítreo de RDP es mucho mayor que en control (predomina en polo posterior), mientras que los niveles de TGF - β 3 y - β 1 fueron más bajos en humor vítreo. Sin embargo, en rubeosis los niveles de TGF- β 3 y - β 1 fueron altos frente a la TGF- β 2 que fue baja. Los niveles de TGF- β 2 vítreos traducen la posible correlación con la severidad de la proliferación fibrosa o con la extensión de la PRFC (54).

Se han observado niveles altos en humor vítreo de conejo tras PRFC. Yoshimura y cols. rechazan que la fotocoagulación retiniana de células del epitelio pigmentario in vitro produzca una inhibición de la proliferación celular, y que el carácter inhibitor parece podría corresponder al TGF- β 2 (posible supresión de la vascularización después de PRFC). Aunque cabría aclarar que en este estudio no se muestra una clara correlación entre extensión y concentración de TGF.

1.5.1.6.1.4 El HGF (Factor de crecimiento hepatocítico):

Es un factor pleiotrófico derivado del mesénquima que regula la motilidad y la morfogénesis de varios tipos celulares (55). El HGF promueve la dispersión en monocapa de células endoteliales dentro de la matriz colágena y su crecimiento allí, al inicio de los eventos del proceso de angiogénesis, por lo que se ha considerado un potente factor angiogénico. No queda claro si ya son secretadas activas o se activan en el humor vítreo (56). Es más, tiene actividad mitogénica más potente que el FGF-b, VEGF, IL-1 e IL-6, por lo que juega un papel importante en los pasos avanzados del proceso de angiogénesis.

Muchos estudios sólo valoran este factor, pero a medida que han ido tomando importancia otros factores se han hecho estudios de combinación para valorar la importancia de unos con respecto a otros. Katsura y cols. han evaluado en humor vítreo los niveles de VEGF y HGF, en RD y su posible relación entre ellos, y con la severidad de la patología. Se hallaron ambos altos con respecto a los controles. No se encuentra relación entre los niveles de VEGF y HGF en vítreo ni de RDP ni en controles. La observación de que entre niveles de VEGF y HGF no hay correlación sugiere que estos actúan independientemente (56). Se desconoce la fuente de este factor en vítreo. Por estudios de Burgos y cols. se descarta que la influencia sérica pudiera explicar los niveles vítreos.

Los niveles de HGF, al igual que de VEGF, son mayores en función de la severidad de la RD, coincidiendo por lo expuesto por Aiello y cols. (57). Se reconoce que la VEGF podría jugar un papel más importante en estadios precoces de la RD, como promotor del aumento de permeabilidad vascular,

mientras que se sugiere que la HGF es más eficaz en el crecimiento celular endotelial y podría ser más importante en estadios avanzados.

Otros autores como Shinoda y cols. han encontrado niveles de HGF en humor acuoso incrementados en relación a la progresión de RDP activa. Se ha visto que los niveles de las muestras séricas eran menores que en humor acuoso, por lo que se postula que se produciría intraocularmente (58).

La medida de niveles de HGF en vítreo original y en vítreo postvitrectomía muestra que no sólo estaría implicado en el desarrollo sino también podría estar en las recurrencias, a diferencia de lo que pasa con VEGF que disminuye en retinas PRFC y vitrectomizadas cuando hay una nueva hemorragia vítrea (59).

En algunos estudios se ha combinado la evaluación de los factores de crecimiento anteriormente comentados, como se expone en el trabajo de Boulton y cols (60). En su estudio se realiza una valoración general en 51 ojos de pacientes con RD, 31 insulinodependientes y 18 no insulinodependientes, ambos vitrectomizados, frente a 13 controles vitrectomizados por otras causas (agujero macular, o DR regmatógeno sin PVR). Se analizan diferentes factores de crecimiento (FGF-b, IGF-I, insulina y EGF medidos por RIA, TGF-b2 por ELISA, y por Western-Blot de IGFBP's). Se observaron diferencias significativas de los factores (excepto EGF), no sólo entre diabéticos y controles, sino también entre DMID y DMNID. Concluye que ninguno de estos factores es predominante en la RDP, y que en este proceso participan diferentes factores. No hubo correlación entre sexo o edad y los niveles de factores de crecimiento. Coinciden en la discusión con niveles obtenidos en estudios de otros autores como Sivalinghan y cols.

1.5.1.6.1.5 El VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial):

Isaac Michaelson en 1.948 postuló que la neovascularización estaba inducida por un factor angiogénico soluble secretado por la retina en respuesta a la isquemia. En la búsqueda de ese factor final, en 1.989 fue secuenciado por primera vez. Estaban entonces implicados varios grupos de investigación incluyendo el de Ferrara y el de Don Senger en los años 80. Es conocido anteriormente como factor de permeabilidad vascular (45, 52, 61).

El gen humano del VEGF está organizado en 8 exones y separado por 7 intrones. Está localizado en el cromosoma 6p21.3. Se trata de una familia de proteínas (glicoproteínas homodiméricas) de las que se conocen 9 isoformas. Las más conocidas incluyen la VEGF-A, VEGF-B y PlGF o Factor de crecimiento placentario, con una gran actividad vasopermeable y angiogénica específico de células endoteliales que presenta afinidad por receptores tirosin-kinasa (receptores por los que media su acción). La más estudiada es la VEGF-A. Además existen tres tipos de receptores (VEGFR) con distinta afinidad, que principalmente son expresados en la superficie de las células vasculares endoteliales (63).

En cuanto a la VEGF-A, existen cuatro formas diferentes en el humano: dos isoformas pequeñas (VEGF₁₂₁ y VEGF₁₆₅), que son difusibles o solubles, y dos isoformas más grandes (VEGF₁₈₉ y VEGF₂₀₆) unidas a una matriz extracelular de la superficie de las células que son productoras o sintetizadoras tales como epitelio pigmentario, pericitos, células endoteliales, células gliales, células de Muller, células ganglionares y las membranas basales. El número hace referencia al número de aminoácidos que contiene la cadena y, por tanto, a la longitud de la misma.

El VEGF-A ejerce su función en las células endoteliales vía interacción con los receptores celulares Flt-1 (VEGFR-1) y Flt-1/KDR (VEGFR-2), ambos tirosin-kinasa. Parece que la acción patogénica más potente se produce por la unión del VEGF-A y el VEGFR-2. Es 10.000 veces más potente que la histamina para aumentar la permeabilidad.

Inicialmente fue estudiada en el campo oncológico. Kim y cols. en 1993 y Winkler y cols. en 2004 encontraron que su expresión estaba inducida en tumores y su inhibición podría reducir drásticamente el crecimiento tumoral.

Varios estudios han aportado pruebas sólidas de que el VEGF desempeña un papel en los procesos angiogénicos retinianos. En el estudio de Aiello y cols. se estudiaron 210 muestras de humor acuoso, humor vítreo y fluido subretinal, y se observó un aumento de las concentraciones en vítreo mayor que en humor acuoso. Además, también quedó constancia que tras la PRFC disminuyeron las concentraciones en todos de 5,6 a 1,4 ng/ml. Estas observaciones fueron confirmadas incluso utilizando los nuevos modelos de administración (vectores adenovíricos), y la importancia de la VEGF se

constata en estudios de otros autores (Adamis y cols., Maleczak y cols., Pfeiffer y cols., Ozaki y cols.,...) (64).

En estudios de hibridación *in situ* encontraron que en ojos vitrectomizados con varias enfermedades oculares angiogénicas se presentaban mRNA de VEGF en las capas retinales (capa nuclear retinal externa e interna y capa ganglionar), en situaciones de isquemia (64). Pe'er y cols. estudiaron en ojos enucleados humanos de RDP y rubeosis las posibles células productoras de VEGF, y determinaron por mRNA de VEGF las regiones isquémicas de la retina como las especialmente productoras (65). También se observó que la sobreexpresión de VEGF ya aparecía en retinas de estadios precoces, y persistía y aumenta en retinas más deterioradas. Se postuló que las áreas celulares y de localización topográfica de la retina que tenían sobreexpresión del VEGF pudieran estar relacionadas con el padecimiento isquémico. Lo que se observó claramente es que la sobreexpresión se asoció a la progresión.

Según Burgos y cols. las concentraciones vítreas no parecen venir influenciadas por las concentraciones séricas, a pesar del aumento de permeabilidad e incremento del flujo sanguíneo retiniano con el avance de la RD no proliferativa en humanos por la VEGF (66). Su secreción en muchos artículos aparece como autocrina.

En un estudio mediante inmunohistoquímica de ojos enucleados se valoró la isoforma 165 de VEGF y la VEGF total (67). Se observó mayor tinción en vasos prerretinianos y asociados a retina interna (capa nuclear interna). De acuerdo con Aiello y cols. quién encontró disminución de VEGF en vítreo en RDP PRFC, es posible que la disminución de la retina isquémica con tratamiento láser pueda reducir la producción de la VEGF, y dirija a la regresión y quiescencia.

La expresión del VEGF está regulada por hipoxia, aumenta su producción ocular en situación de isquemia (68). La hipoxia aumenta *in vivo* hasta 30 veces la producción de VEGF por las células que la sintetizan en la retina (69-70). Sin embargo, el aumento de la VEGF puede ocurrir antes que se evidencie extensas áreas retinianas de no perfusión capilar, lo que sugiere que la regulación del VEGF puede depender, no sólo del estímulo hipóxico sino que el VEGF podría jugar un papel en estadios más precoces de la RD (71-73).

Aunque existen evidencias sustanciales para valorar la relación del VEGF en varios procesos que se dan en estadios iniciales de la RD, no se conoce cuál es la primera señal para desencadenar la cascada de cambios bioquímicos y metabólicos (49). La producción de VEGF también puede estar incrementada por mediadores de la inflamación (IL's, TGF- β , PGE2). En casos de inicio en tratamiento con insulina se ha documentado un empeoramiento transitorio de la RD. Se ha estudiado in vitro y se cree que ésto podría ser debido al aumento de la expresión de mRNA del VEGF inducido por insulina (74).

La PKC endotelial, la cual es directamente activada por glucosa, es también una parte esencial en la cascada de señales responsable del efecto proliferativo y permeabilidad de VEGF. La expresión de VEGF se encuentra aumentada en RDNP en humanos y en modelos experimentales animales. En estadios más tardíos la producción aumenta en áreas isquémicas donde el VEGFR-2 (receptor -2 de VEGF) está sobrerregulado, entonces dirige a los signos bien conocidos de filtración vascular y neovascularización. La inyección repetida intravítrea de VEGF en monos se ha visto asociado a un aumento rápido de capilares (75).

La patogénesis de los capilares no perfundidos es desconocida aunque se han planteado diferentes hipótesis. Parece que habría un círculo vicioso que llevaría al desarrollo de capilares no perfundidos en RD en situaciones de isquemia y la sobreexpresión de VEGF. Este factor estimula la formación de neovasos y además estimula la permeabilidad de los vasos contribuyendo al edema. Así, estudios recientes han demostrado que esta potente citoquina induce cambios en la expresión de las proteínas de ensamblaje entre las uniones estrechas de las células endoteliales (occludina y zónula occludens-1), disminuyendo la cantidad de las mismas y así aumenta la permeabilidad vascular. La hiperpermeabilidad que provocaría la VEGF en edema macular puede ser responsable de la formación de exudados y de la persistencia de éstos (76). Estudios experimentales recientes han demostrado la capacidad mitógena y el aumento de permeabilidad de este factor de crecimiento.

Un paso fundamental es la activación de la proteinkinasa C (37, 77). Si se bloquea la acción de VEGF en modelos de experimentación de retinopatía isquémica se inhibe la neovascularización retiniana, y la inhibición de la PKC con el antagonista selectivo (LY333531) reduce los efectos mitógenos del

VEGF (70). Es razonable pensar que tratamientos que fueran capaces de inhibir este factor angiogénico podrían resultar beneficiosos en pacientes con neovascularización. Este hecho ha sido demostrado ya en modelos animales.

Se han estudiado varias estrategias para inhibir la acción del VEGF. Una de ellas consiste en la inyección intraocular de inhibidores relativamente grandes, como aptámeros o fragmentos de anticuerpos (Fab) contra en VEGF. Otra se basa en la administración de pequeñas moléculas que actúan como antagonistas del VEGF. Ferrara y cols. y Aiello y cols. experimentaron el uso de inhibidores de VEGF administrados intraocularmente en monos cynomolgus, y provocaba según sus observaciones la inhibición la neovascularización del iris (61, 63, 77). La VEGF bloqueada podría ser útil en la prevención de la progresión del grado de RD en casos de daño de los vasos retinianos (78). No obstante, se observó que cuando se utilizan los dominios de unión a ligandos de los receptores del VEGF unidos al fragmento Fc de la Ig, se ralentizaba la depuración de los receptores solubles y se suprimía al neovascularización. Además, la inhibición de la tirosin-kinasa de los receptores de la VEGF puede ser una estrategia prometedora, no sólo en el tratamiento del cáncer, sino también en el tratamiento de la retinopatía diabética proliferante.

En estudios en niños, adolescentes y adultos jóvenes se ha visto que el control adecuado de la glucemia influye en los valores séricos de VEGF (79). Se ha planteado que la administración sistémica o intraocular de anticuerpos neutralizantes podría ser útil como terapia de enfermedades neovasculares intraoculares humanas incluyendo la RD (80). Por tanto, podríamos decir que el VEGF es necesario y suficiente para inducir neovascularización en la retina y en el iris, así como para producir un gran aumento de permeabilidad vascular retiniana.

En estudios publicados en 2007 se observó que el VEGF puede ser también un factor importante en desarrollo de la RD no proliferativa, ya que se ha visto que existe un aumento de la respuesta al VEGF que induce las alteraciones vasculares características de este estadio. También se ha observado que la proliferación y la hipertrofia de las células endoteliales puede estar inducida por VEGF-A. Además, el VEGF puede intervenir en las alteraciones del flujo sanguíneo y en la leucostasis mediante inducción de expresión de ICAM-1.

Se han experimentado en ratones el uso de tiazolidinedionas intravítreas (maleato de Troglitazona y Rosiglitazona), inhibidores de la proliferación y migración de células endoteliales, de la formación del tubo y señalización en respuesta al VEGF. Se ha visto en estos experimentos que estos fármacos parecen inhibir la neovascularización retinal, pero serían necesarios estudios con animales similares a humanos (81).

Se han realizado trabajos en los que se han estudiado combinaciones de moléculas, como VEGF e IGF, en humor vítreo de diabéticos con RDP y de controles. Se ha investigado las posibles correlaciones entre los niveles en relación a la actividad de RDP, pero no se han encontrado relaciones entre estos dos factores (82). En estos estudios lo que sí se expone, y que se podría considerar importante, es la corrección que debe realizarse si hay sangre en vítreo (hemovítreo) cuando se evalúa los niveles de proteínas en humor vítreo. En esta circunstancia habría un aumento de proteínas provenientes de la sangre. Esto ha dado lugar a la aparición de una ecuación especial. En ésta se podrían desprestigiar las proteínas sanguíneas que pudieran hallarse en el humor vítreo (83). Esta ecuación de ajuste de los resultados fue propuesta por Ambati y cols.

$$(X)_{\text{corregido}} = ((X)_{\text{medido}} \times (Hb)_{\text{sangre}}) - ((X)_{\text{sangre}} \times (Hb)_{\text{vítreo}}) / ((Hb)_{\text{sangre}} \times (Hb)_{\text{vítreo}})$$

Figura 6: Ecuación de ajuste proteico en caso de hemovítreo.

Aunque se ve aumentada la presencia de varios factores de crecimiento, como el FGF-b, el IGF, el PDGF y el VEGF, y éstos son responsables del crecimiento de neovasos, sin embargo numerosas pruebas apuntan a que el VEGF puede ser el mediador más importante de la angiogénesis ocular en situación de isquémica, y por tanto una de las mejores dianas moleculares para el tratamiento de la RD proliferativa. A pesar de ello, antes de realizar tratamientos anti-VEGF deberíamos saber que cantidades de VEGF son necesarias para el funcionamiento normal de la retina. La VEGF y sus receptores han sido identificados en retinas no diabéticas, lo que sugiere un papel de esta hormona en el funcionamiento ocular normal, sobre todo las

isoformas VEGF 121 y VEGF 165 (82). De hecho, el VEGF es un factor que parece tener un papel crítico en el desarrollo normal de los vasos en el organismo y está implicado en los procesos angiogénicos normales de cicatrización de heridas o el desarrollo de la circulación colateral en la vida adulta (70).

1.5.1.6.1.6 El SDF-1 (Factor derivado del estroma vítreo):

El SDF-1 es miembro de la superfamilia de quemoquinas, más concretamente de la subfamilia C-X-C. Su receptor se encuentra en células endoteliales (84).

Es una quemoquina con potente efecto estimulador de la VEGF. En algún estudio se ha intentado establecer la relación entre SDF-1 y VEGF en estroma de RD (85). La inyección de triancilonona provoca una importante reducción de la VEGF y SDF-1 hasta casi niveles indetectables eliminando el edema macular diabético. En estudios previos (ETDRS) se demostró el beneficio significativo de la fotocoagulación focal en casos de EM focal diabético. La patogenia del EMD no se conoce y el mecanismo por el que la triancinolona ejerce su beneficio terapéutico es también desconocido.

1.5.1.6.1.7 Las citoquinas:

Las citoquinas son hormonas polipéptidicas. Entre las relevantes: IL-1 β , IL-6, TNF- α y IFN- γ . Tienen actividad angiogénica, estimulan la proliferación de células gliales, e inducen la proliferación fibroblástica y la síntesis de colágeno.

En un estudio se propuso valorar los mecanismos inmunes de la RD y para ello se examinó en suero y en humor vítreo estas citoquinas (IL-1 β , IL- 6, TNF α y INF- γ). Se halló que los pacientes con RDP presentaban en un 94% IL-6 en humor vítreo y que sus niveles se correlacionaban con los criterios de afectación retiniana. El IL-6 es también llamado Factor-2 estimulante de células B, se puede producir en monocitos, células T activadas, células endoteliales vasculares, fibroblastos y células gliales. Todas estas podrían ser responsables del aumento en vítreo de sus niveles. También lo producen el hígado y algunos tumores (mixoma cardíaco). Los otros factores (IL-1 β , TNF- α y IFN- γ) no se

podieron justificar que la producción fuera intravítrea ya fuera por no ser detectados, por ser muestra insuficiente o porque aun hallándose en RDP, por ejemplo IL-1 β , también había aunque en menor número en muestras de controles (86).

En otro estudio donde se valoraban varias interleuquinas (IL-6, IL-1 β , IL-2 y el TNF- α) en vítreo vs humor acuoso, se observó que las citoquinas particularmente IL-6 e IL-1 β fueron detectadas y podrían jugar un papel en la amplificación local de señales en la RD (y en otros procesos inflamatorios) (87). No fue detectado en humor vítreo de controles ninguna citoquina.

La IL-6 no induce por sí mismo la proliferación de células endoteliales (88). La IL-6 también se ha encontrado elevada en procesos vítreos como la PVR o RDP. Se ha sugerido que estaría implicado en la rotura de la BHR y/o rotura de la BHA. Se desconoce si los niveles de IL-6 en acuoso incrementados son debidos a la producción externa y/o por el ojo mismo, pero sus resultados sugieren que puede ser debido a la producción ocular.

El VEGF es de los factores que podría estar implicado en el EM, ya que aumentaría la permeabilidad vascular y promovería la rotura de la BHR en RD simple. Parece que la IL-6 incrementa la permeabilidad vascular en pacientes con RD al igual que lo hace la VEGF, esto podría relacionarlo con la patogénesis y severidad del EM. Ante los resultados de Funatsu y cols., se hipotetiza que la rotura de la BHR, adhesiones vítreas y citoquinas intraoculares podrían jugar un papel importante en la formación y exacerbación del EM (89-90). Los niveles de VEGF y IL-6 en muestras de humor acuoso reflejan las concentraciones intraoculares, más altas que en suero, y podría ser útil en la predicción de la progresión del Edema Macular.

En otro estudio se muestra que los pacientes con RDP presentan niveles vítreos más altos que los séricos de NO, sIL-2R, IL-8 y TNF- α (no de IL-1 β y IL-6 ya que la muestra fue insuficiente), y que estos factores e interleuquinas podrían jugar un papel importante y conjunto en la fisiopatología y progresión de la RD (91).

El TNF- α (Factor de necrosis tumoral α) es una citoquina que puede alterar la morfología y el comportamiento de las células endoteliales, juega un papel en la promoción de la angiogénesis en sistemas simplificados, estimula las células mesenquimales (fibroblastos) para generar proteínas de la matriz

extracelular, es proinflamatoria y vasculorreactiva (52). Además, en la activación del endotelio, TNF- α incrementa los niveles basales de expresión de ICAM-1 y PCAM mientras promueve de novo la inducción de moléculas de adhesión E-selectina, P-selectina y VCAM.

En el estudio de Limb y cols. se observó que en la RDP las células vasculares endoteliales serían consideradas como la primera “tarjeta” de la actividad de la TNF- α que dirige a una hiperproducción de membrana basal y otras proteínas de la matriz extracelular. Esto podría servir como andamio para continuar la angiogénesis, mientras que la sobreproducción de ICAM -1 serviría para promover la interacción selectiva leucocito-endotelial.

Es difícil identificar las células reactivas a TNF- α por inmunohistoquímica o por microscopía convencional, o que células fueron la fuente principal de esta citoquina dentro de las membranas en RDP. La duda es si los pacientes con RD podrían ser altos productores de TNF- α . En estudios in vitro, se ha mostrado la producción alterada de TNF- α en células sanguíneas periféricas en DM tipo 1 sin presentar RDP. En otro estudio no encontraron diferencias entre DM tipo 1 y 2 en la expresión de TNF α ni en moléculas de adhesión (92).

En estudios comparativos en sangre de TNF- α y receptores se ha visto que niveles bajos de TNF- α activo pueden ser detectados en sangre en pacientes RDP activado por lipopolisacáridos. En este contexto y sabiendo las funciones que ejerce la TNF- α , el receptor STNF-R podría contribuir al desarrollo de complicaciones microvasculares a veces observadas en individuos DM tipo 1. Esta afectación microvascular podría también ser la responsable de la nefropatía y neuropatía. También se cree que altos niveles de proteínas modificadas por metabolitos de glucosa, como el metilglioxal, podrían inducir la producción de TNF- α in vivo que ha sido mostrada in vitro. Todos estos hallazgos también hacen pensar que la TNF- α influye en la producción y control del desarrollo de la RDP.

Se ha propuesto que la inclusión de antiinflamatorios no esteroideos (AINES), vía COX-2, podrían prevenir la retinopatía diabética precoz vía supresión de la TNF- α .

En general, la IL-1 β y TNF- α son citoquinas proangiogénicas, y el IL-10 y la IL-12 son antiangiogénicas (93).

A mediados de los 90 se identifica y clona una superfamilia de mediadores biológicos, las quemoquinas, que son citoquinas de bajo peso molecular inductoras de quimotaxis y quimocinesis de poblaciones leucocitarias particulares. Los miembros de la superfamilia pueden dividirse en 3 familias basados en su actividad quimotáctica y homología de aminoácidos: la superfamilia C-X-C, la C-C superfamilia y la superfamilia gamma.

La IL-8 es una C-X-C quemoquina que se considera agente angiogénico capaz de producirse por células dentro del ojo, capaz de reclutar neutrófilos y monocitos en vítreo y que en estudios previos se ha visto aumentada en RDP (93-94). La presencia de proteínas séricas glicadas parece que podrían aumentar la producción de IL-8.

Otra C-X-C quemoquina es la IP-10 (proteína inductora de interferon-10), que es una quemoquina que carece de propiedades quimioatrayentes y angiogénicas, a diferencia de la IL-8. Se ha visto que la IP-10 inhibe la angiogénesis in vivo antagonizando la función del IL-8 y que de esta manera, como estudios previos exponen, prevendría la neovascularización inducida por IL-8. La rotura de la BHR es un factor importante que se da en la RDP, pero no se detectó en suero IL-8 ni IP-10 en diabéticos o en no diabéticos (controles), por tanto no hay correlación entre hemorragia vítrea y aumento de estos.

En estudios comparativos de determinaciones vítreas en RDP y en PVR de IL-8, MCP-1 (proteína tipo 1 quimotáctica de monocitos) y M-CSF (factor estimulador de colonias M) se sugiere que estos podrían participar en la patogénesis de estos 2 procesos (RDP y PVR) (94-97). La superfamilia C-X-C es principalmente activa en neutrófilos, mientras que la C-C familia (MCP-1, MIP-1 α y -1 β (proteína inflamatoria del macrófago)) son quimotácticas para células T, células B, macrófagos, monocitos, y dependiendo de las ocasiones para eosinófilos y basófilos. La tercera superfamilia ha mostrado ser quimotáctica para células T.

En 1.995 Elner y cols. presentan el primer estudio con MCP-1, encontrándolo aumentado en PVR y RDP, aunque no se hallaron diferencias significativas entre los dos grupos ni tampoco correlación entre el grado de PVR y MCP-1. Dos años más tarde Abu El-Asrar y cols. hicieron un estudio prospectivo para investigar niveles de MCP-1 en muestras vítreas de desprendimiento de retina, Macular Pucker, PVR y RDP, encontrando 48%,

63%, 72% y 76% respectivamente. Hallaron una correlación significativa entre MCP-1 y severidad de enfermedades vitreoproliferativas. En el estudio de Capeans y cols. se realiza una valoración en vítreo de DR, DR con PVR sometidos a vitrectomía para evaluar los niveles de MCP-1, MIP-1 α y MIP-1 β . Añade que como controles tomaron muestras vítreas en ojos cadavéricos de reciente extracción sin afectación ocular, ya que consideraron que las muestras vítreas tomadas de otras patologías diferentes a la estudiadas pueden condicionar los resultados comparativos (98). Frente los datos obtenidos por Elner y Abu El-Asrar, Capeans y cols. encontraron niveles detectables de MCP-1 en todas las muestras incluidas las cadavéricas.

La MIF (Factor inhibidor de la migración de macrófagos) fue la primera linfoquina soluble derivada de células T estudiada. Previene la migración de macrófagos y reclutamiento en el lugar de inflamación. También incrementa la actividad de macrófagos como de adherencia, motilidad y fagocitosis. Las acciones de MIF son similares a las de quemoquinas, como MCP-1 o el factor estimulante de colonias macrofágicas. En estudios de inicios del 2000 lo han relacionado como una citoquina proinflamatoria. Mitamura y cols. estudiaron la presencia vítrea de MIF y su relación con patologías vitreoretinianas (RDP, PVR), y la correlación de niveles de MIF y grados clínicos de RDP (99). Se observó que en RDP eran mayores que en controles, que aún era mayor en rubeosis, y que en casos de fotocoagulación los niveles fueron más bajos, lo que sugiere la posibilidad de que la MIF esté implicada en la patogénesis de RDP (99-100).

Se estudió la relación de MIF y MCP-1 en humor acuoso vs el estadio de RD por Tashimo y cols. observándose que ambos se encuentran elevados en humor acuoso vs los controles, y que existe una correlación entre estadio de RD y niveles, lo que implicaría que MIF y MCP-1 juegan un papel cooperando en la progresión de la RD (101).

Otras moléculas estimulantes:

1.5.1.6.1.8 También se han propuesto el estudio de **Poliaminas** en vítreo (Espermidina, Putrescina y Espermita) en procesos proliferativos de la retina. Se ha estudiado la relación entre poliaminas y niveles de otros factores ya

estudiados y conocidos (VEGF, IL-8 y TGFA 1) que se relacionan con la RDP y PVR (102). Las conclusiones a que llegan es que el aumento de Espermidina y la disminución de Putrescina se correlacionan con VEGF e IL-8, pero se requieren más estudios.

1.5.1.6.1.9 El NO (óxido nítrico) es una molécula importante en la señalización intercelular implicada en vasodilatación de conductos y vasos sanguíneos. Estudios in vivo sugieren que está implicado en el control del flujo retinal bajo condiciones basales, y después de isquemia retiniana. En un estudio se observaron valores de OH Arg más bajos en DM que en no DM en humor acuoso, pero por situaciones varias que reducen la capacidad inferencial este estudio no hace posible implicar el NO en el inicio del daño retiniano (103). Lo que se ha visto en otros estudios es que NO media acciones neurotóxicas de glutamato que son responsables de lesiones isquémicas retinianas.

En otro estudio, se muestra la presencia de óxido nítrico y VEGF en vítreo en RDS vs control, y vs suero, concluyéndose que aunque el NO y el VEGF están incrementados en fluido vítreo de pacientes con RDP, no están relacionados (104).

1.5.1.6.1.10- El Sistema Renina-Angiotensina del cual la **Angiotensina II** (All) es un componente, es activado por la presencia de hiperglucemia crónica (49). La All directamente estimula la secreción de VEGF en células musculares lisas de vasos in vitro y en células endoteliales cardíacas de rata.

En un estudio japonés se propone estudiar la correlación de los niveles de All, VEGF en vítreo y severidad de RDP. Se observaron aumentos de ambos en vítreo de RDP mayores a no DM (más altos a mayor estadio) (105). Se encontró que la Angiotensina II no es un inhibidor frecuente de la expresión de la angiogénesis en vítreo humano, pero comparándolo con la producción de la VEGF y el efecto de la fotocoagulación, parece que tendría una relación local y un efecto de down-regulation de VEGF. Se ha sugerido que la inhibición de Encima Convertidor de la Angiotensina (ECA) tiene acción retinoprotectora en pacientes diabéticos, pero el mecanismo no se conoce (106).

Igual que los IECA's o Bloqueantes de Receptores AT1 son protectores del deterioro de la función renal, en nefropatía diabética y en DM tipo 2 con lenta progresión, se ha sugerido investigar si esto podría ser efectivo en RD y en diabético (107). La inhibición del ECA (Lisinopril) tiene efectos beneficiosos

en la neuropatía diabética y en la enfermedad cardiovascular (108). Ésto se ha demostrado en modelos experimentales en ratas diabéticas por Gilbert y cols. el cual muestra que IECA reducen la expresión de VEGF y la hiperpermeabilidad vascular retiniana que se da a través de un efecto paracrino de VEGF (49). Por lo que los niveles vítreos de All y VEGF se han relacionado con EMD (109-110).

1.5.1.6.1.11 Menos estudiado es el **Sistema Kalicreina-Quinina**, sin embargo recientes estudios indican efectos en la angiogénesis y electrofisiología retiniana (111).

1.5.1.6.1.12 Se ha planteado que la **Eritropoyetina** también podría actuar como factor endógeno neuroprotector contra alteraciones retinianas isquémicas (112). Se ha hecho un estudio de 144 pacientes para investigar los niveles de VEGF y Eritropoyetina (EP) en humor vítreo medidos por ELISA en DM y en personas normales. Se ha visto que los valores eran significativamente mayores en RDP tanto de EP como de VEGF. Por lo que parece que la EP es un factor angiogénico potente inducido por isquemia que activa independientemente de la VEGF (113).

1.5.1.6.1.13 La **Fibronectina (FN)** juega un papel importante en varios procesos celulares que incluyen la migración y proliferación de fibroblastos y célula endoteliales. La hiperglucemia en DM incrementaría la producción de FN Oncofetal en cultivos de céls. endoteliales en estudios previos. Esto se confirma en el estudio de Khan y cols. También Khan y cols. demostraron la presencia de FN Oncofetal en vítreo retinal, que hasta este momento sólo se había podido comprobar en animales (55).

1.5.1.6.1.14 El **PDGF-AB** (**Factor de crecimiento derivado de las plaquetas**), se sabe que está involucrado en muchos procesos angiogénicos y proliferativos. En un estudio en vítreo se observó un aumento de las concentraciones en RDP superiores a controles, sugiriéndose que podría estar implicado en la patogénesis al igual que otros factores (114).

1.5.1.6.1.15 **Endotelina-1 (ET-1)**. Muchos de los cambios en diabetes (cambios histológicos y funcionales) se han asociado a cambios en ET-1 y VEGF. Se han observado que niveles altos de ET-1 disminuyen el flujo sanguíneo retiniano y pierden la autorregulación. Se estudió en ratas diabéticas y se observó que se produciría este aumento en ratas expuestas a

hiperglucemia, y que además inhibidores de la PKC disminuirían la PDGF y ET-1 (115).

1.5.1.6.1.16 La ICAM-1 (Molécula de Adhesión Intercelular-I). Su interacción con diferentes citoquinas (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ) es importante para la migración de linfocitos a lugares inflamatorios en etapas iniciales de PVR y RDP (116).

1.5.1.6.1.17 La VCAM-1 (Molécula de adhesión celular vascular-I) Se ha demostrado que promueve la angiogénesis in vivo e in vitro, pero su relación con VEGF no se ha estudiado. Olson y cols. detectaron niveles séricos aumentados de VCAM-1 en DM con RDP. Es más, encontró un incremento de moléculas de adhesión celular al empeorar la RD. Sin embargo, los niveles sistémicos no reflejan la producción local (117- 118).

Se ha escrito y publicado sobre otros factores con capacidad angiogénica, pero su estructura y función no son tan bien conocidas.

1.5.1.6.2 Factores Reguladores Inhibidores:

1.5.1.6.2.1 El PEDF (Factor derivado del Epitelio Pigmentario):

Es un miembro del gen de la familia de inhibidor de proteasas séricas. In vivo es secretado por el EPR en la matriz interfotorreceptor. Parece actuar como inhibidor en el balance de la angiogénesis. Se ha mostrado como un inhibidor de la migración de células endoteliales dosis-dependiente in vitro, más efectivo que inhibidores como la Angiostatina, la Trombopondina-1, o la Endostatina. Los niveles vítreos en RD se han mostrado ser más bajos que en los controles (49). Boehn y cols. proponen que visto que el aumento de niveles de VEGF se ha correlacionado con aumento de PEDF en vítreo, se ha visto a su vez correlacionado con el desarrollo y progresión de la RD, y la disminución de los valores de PEDF en vítreo se correlacionaría con inicio o desarrollo de RD. Se podría relacionar los valores de PEDF en humor acuoso con la capacidad predictiva de progresión de la RD (119).

Los resultados del estudio de Ogata y cols. demuestran la hipótesis de que hay un desbalance en la angiogénesis cosa que otros autores ya sugerían (Gao y cols.) (120). Se ha propuesto que la fotocoagulación activa los potenciales inhibidores de la neovascularización y/o reduce en nivel de

estimuladores de neovascularización. Los niveles de VEGF vítreos se han visto reducidos tras fotocoagulación láser y más recientemente se ha visto un aumento de la producción de PEDF tras fotocoagulación láser (121). El mecanismo de esta interrelación es todavía desconocido.

1.5.1.6.2.2 La Endostatina

Es un fragmento proteolítico del colágeno tipo XVIII. Es inhibidor de la angiogénesis tumoral, así como de la neovascularización coroidea.

Se han evaluado los niveles de VEGF y Endostatina (inhibidor de la proliferación de céls. endoteliales) en humor vítreo, humor acuoso y suero (122). Partiendo de la base que VEGF es estimulador y Endostatina es inhibidor de la angiogénesis se encuentra que ambos están más concentrados en vítreo y en el h. acuoso, y se correlaciona su concentración con el grado de RD.

En otro estudio donde se han analizado los niveles vítreos de VEGF y endostatina, se han visto aumentos del VEGF y disminución de la endostatina en los que progresaron, y la situación contraria en los que la cirugía dio buen resultado (123). Los niveles de VEGF y endostatina se relacionan con las áreas de isquemia y de retina fotocoagulada. Lo que no se ha aclarado es si la expresión de endostatina está aumentada por la fotocoagulación o/y por la reducción de la isquemia retiniana.

1.5.1.6.2.3 Otros inhibidores: En otro trabajo se expone que la **Angiopoyetina-1 (AY)** dada intravítrea en ratas diabéticas muestra la normalización de los niveles de VEGF (124). Parece reducir con ello la adhesión leucocitaria y la afectación endotelial. La AY se une a un receptor celular específico Tie-2 que juega un papel importante en el desarrollo vascular, especialmente en la maduración (125). Se han publicado estudios del **INF- α 2a** mostrando buenos resultados en el mantenimiento de la AV en pacientes panretinofotocoagulados (126). In vitro, se ha visto la activación deficiente por influencia de un inhibidor de la **A2-antiplasmina** que pasará por la BHR lesionada. Algunos autores consideran que el **Epitelio Pigmentario de**

la retina (EPR) pudiera actuar mediante una proteasa inhibidora del activador del plasminógeno tisular y prevenir la proliferación celular vascular.

1.5.2 ALTERACIONES CELULARES DE LA RD (Neurodegeneración Retiniana):

La retina se compone de cuatro tipos principales de células, y todas ellas se encuentran afectas en la diabetes. La neurodegeneración de la retina es un componente crítico de la RD. Hay dos hipótesis básicas en referencia a la pérdida de células en la retina: la pérdida de la integridad de la BHR (aumenta la permeabilidad, causa fallo del control de la composición del fluido extracelular lo que dirige a edema y pérdida de células neuronales retinianas), o por la afectación del metabolismo retiniano (127).

La reducción de la amplitud del potencial oscilatorio electroretinográfico es un factor observado en el desarrollo y progresión de la RD en humanos. Hay una clara evidencia de la implicación del metabolismo de GABA en la generación de potenciales oscilatorios. En ratas el aumento de la amplitud del potencial oscilatorio va unido a un aumento retiniano de GABA y su inmunorreactividad en células de Müller (128). El GABA exógeno puede disminuir los potenciales oscilatorios.

Los últimos estudios van encaminados a determinar la relación de las células microgliales de la retina, su implicación en la RD, y si la asociación de **Minociclina** puede disminuir la activación de microglía aligerando las complicaciones. En un análisis inmunohistoquímico se ha visto que la microglía está activada en estadios tempranos de la diabetes (129). Además, la mRNA para IL-1 β y TNF- α , mediadores proinflamatorios conocidos, es activada para liberar las citoquinas por la microglía. En un ensayo in vitro se demuestra que la microglia activada por citoquinas libera citotoxinas que matan neuronas retinales. La Minociclina parece prevenir la síntesis de mediadores (TNF- α) por inducción de la expresión de la COX -2 en la microglía (no por IL-1 β o IL-6 que no se ven interferidos por la Minociclina). La Minociclina parece reducir la expresión de mediadores inflamatorios (reduciendo la actividad de la Caspasa -3) (130).

1.6 El Sistema Inmune (131).

Existen dos tipos básicamente: La inmunidad innata, nativa o natural, y la inmunidad específica o adaptativa. La inmunidad innata no proporciona sólo una primera defensa contra los microorganismos, sino también desempeña diversas funciones importantes en la inducción de respuestas inmunitarias específicas.

La inmunidad específica es un mecanismo de defensa más evolucionado. Los componentes de la inmunidad específica son los linfocitos y sus productos, entre ellos los anticuerpos. En la inmunidad específica, la inmunidad mediada por células, también llamada inmunidad celular, participan células llamadas linfocitos T. Los linfocitos T constan de diferentes subgrupos que difieren en sus funciones y productos proteicos, aunque todos ellos parecen morfológicamente similares.

Hay dos clases principales de linfocitos, los linfocitos B y los linfocitos T. Los linfocitos B llamados así porque se observó en las aves que estos maduraban en un órgano llamado Bolsa de Fabricio. Son las únicas células capaces de producir anticuerpos. La segunda clase principal de linfocitos son los T, cuyos precursores provienen de la médula ósea, y después migran y maduran en el timo (de ahí su nombre). Los linfocitos T se subdividen en poblaciones funcionalmente distintas, siendo las denominadas: células T colaboradoras (helper o Th) y las células T citotóxicas (o citolíticas o Tc).

En respuesta a la estimulación antigénica, las células Th secretan hormonas proteicas llamadas citoquinas, cuya función es promover la proliferación y diferenciación de las células T, así como de otras células, entre ellas las células B y los macrófagos. Las citoquinas también atraen y activan a los leucocitos inflamatorios, incluyendo macrófagos y granulocitos, proporcionando importantes conexiones entre la inmunidad específica de las células T y los mecanismos efectores de la inmunidad natural.

Los linfocitos T, por ejemplo los Th, expresan la mayoría una proteína de superficie CD4 y la mayoría de linfocitos Tc expresan CD8 en su superficie.

La principal función efectora de las células T colaboradoras que expresan CD4 es la secreción de citoquinas que actúan sobre las células T y otros tipos celulares, entre ellos linfocitos B, macrófagos, granulocitos y

endotelio vascular. Estas citoquinas ejercen varios efectos que promueven y regulan las respuestas inmunitarias humorales y las mediadas por células y la inflamación.

1.6.1 Las Citoquinas

Las citoquinas son hormonas proteicas que median fases efectoras de la inmunidad. En la inmunidad innata las citoquinas son producidas por los fagocitos mononucleares y por ello reciben el nombre de monoquinas. La mayoría de citoquinas de la inmunidad específica son producidas por linfocitos T activados, y tales moléculas se llaman generalmente linfoquinas. Las citoquinas son muy variadas, de manera que algunas sirven para regular el crecimiento y diferenciación de diversas poblaciones de linfocitos (fase de activación); otras citoquinas actúan activando y regulando las células inflamatorias (macrófagos, mononucleares, neutrófilos y eosinófilos), actuando por tanto en la fase efectora de la inmunidad celular y comunicando células del sistema inmune o inflamatorio, y otras citoquinas son producidas por leucocitos (células T o monocitos) que actúan sobre otras poblaciones de leucocitos. Estas últimas se denominan interleuquinas.

1.6.1.1 Tipos de citoquinas

1. Citoquinas que median y regulan la inmunidad innata.

Incluyen citoquinas antivirales (IFN-I, IL-12 e IL-15), citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- α , y quimioquinas) y reguladoras (IL-10). La fuente celular son los fagocitos mononucleares.

A- Antivirales

1.1. Interferones tipo I (IFN- α)

Comprenden dos grupos de proteínas serológicamente distintos. El primer grupo, denominado genéricamente IFN- α y la principal fuente es el fagocito mononuclear. El segundo grupo es una glicoproteína llamada IFN- β y

la fuente celular habitual es el fibroblasto. Aunque muchas células sintetizan ambos grupos.

1.2. Interleuquina-12

Se identificó originalmente como activador de la función citolítica de las células NK, producido por los macrófagos. Los fagocitos mononucleares activados y las células dendríticas son las fuentes principales. Las acciones biológicas de la IL-12 son:

- + Estimula la secreción de IFN- α de las células NK y las células T
- + Actúan como un factor de diferenciación de las células T CD4+ favoreciendo su especialización en células tipo Th1 productoras de IFN- γ
- + Aumenta la función citolítica de las células NK activadas y las células T CD8+
- + Proporciona una importante conexión entre la inmunidad innata y la inmunidad específica

1.3. Interleuquina-15

Citoquina polipeptídica liberada por fagocitos mononucleares y ciertas células tisulares como respuesta a Infección viral y otras señales que desencadenan la inmunidad innata. Es homóloga estructuralmente a la IL-12. Parece ser que la función primaria de la IL-15 es favorecer la proliferación de las células NK. También parece actuar como factor de crecimiento para las células T.

B. Proinflamatorias

1.4. Factor de necrosis tumoral- α (TNF- α)

Es el mediador principal de la respuesta frente a bacterias gramnegativas. Inicialmente, y de ahí su nombre, fue identificado como un mediador de la necrosis tumoral que se encontraba en el suero de animales tratados con lipopolisacaridos (LPS). La principal fuente celular son los

fagocitos mononucleares activados por el LPS, aunque también puede ser secretado por células T, células Nk y mastocitos activados.

El IFN- γ producido por las células T aumenta la síntesis de TNF- α por los fagocitos mononucleares. De esta manera el TNF- α actúa como mediador tanto de la inmunidad innata como de la específica.

Cuando se producen cantidades pequeñas el TNF- α actúa localmente, como un regulador paracrino y autocrino de los leucocitos y las células endoteliales. Entonces sus principales acciones biológicas son:

- + Estimula a las células endoteliales vasculares a que expresen nuevos receptores de superficie (moléculas de adhesión) que hacen que los leucocitos, neutrófilos y monocitos se adhieran a la superficie de la célula endotelial.
- + Estimula a los fagocitos mononucleares y a otros tipos celulares a la producción de quimioquinas.
- + Activa la acción citolítica de los leucocitos inflamatorios.
- + Estimula la remodelación tisular, que las concentraciones bajas, mantienen de manera crónica.

Si el estímulo para la producción es suficientemente intenso se producen grandes cantidades de la citoquina puede tener efectos sistémicos. Las principales acciones sistémicas del TNF- α son:

- + Es un pirógeno endógeno actuando sobre las células de las regiones reguladoras del hipotálamo para inducir fiebre. Comparte esta propiedad con IL-1.
- + Actúa sobre los fagocitos y sobre las células endoteliales vasculares para estimular la secreción de IL-1 y la IL-6 a la circulación.
- + Actúa sobre los hepatocitos aumentando la síntesis de ciertas proteínas séricas, al igual que hace el IL-1, como es la proteína A del amiloide sérico.
- + Activa el sistema de coagulación, principalmente por alteración del equilibrio de las actividades procoagulante y anticoagulante del endotelio vascular.
- + Suprime la división de células madre en la médula ósea.
- + Actúa como mediador crítico del shock séptico o endotóxico, a concentraciones extremadamente elevadas.

1.5. Interleuquina-1

La principal fuente es el fagocito mononuclear activado, aunque puede ser producido por muchos tipos celulares distintos (células epiteliales, células endoteliales,...). Su función principal, al igual que la del TNF- α , es mediadora de la respuesta inflamatoria del huésped en la inmunidad innata.

Como ocurre con el TNF- α , la IL-1 puede encontrarse en la circulación tras la sepsis por gramnegativos, pudiendo actuar como hormona endocrina.

Hay dos formas principales: La IL-1 α y la IL-1 β . Pero se han encontrado otras formas, como la IL-1 γ o el antagonista del receptor de IL-1. La mayoría de la actividad de IL-1 encontrada en circulación es IL-1 β .

Los efectos biológicos de la IL-1, de forma similar a los del TNF- α , dependen de la cantidad de citoquina liberada. A bajas concentraciones, la IL-1 es mediador local de la inflamación, principalmente. Cuando se secreta en cantidades mayores, la IL-1 entra en la circulación y ejerce efectos endocrinos.

A diferencia de la TNF- α , la IL-1 no produce daño tisular en sí misma, además, incluso a concentraciones sistémicas elevadas, la IL-1 no es letal. La IL-1 tampoco induce la apoptosis.

1.6. Interleuquina-6

Sintetizada por los fagocitos mononucleares (macrófagos), células endoteliales vasculares, fibroblastos, algunas células T activadas y en otras células en respuesta a la IL-1 y, en menor medida al TNF- α .

Sus principales acciones son: Estimular los hepatocitos a la síntesis de varias proteínas plasmáticas; Como factor de crecimiento de las células B activadas en las fases finales de la diferenciación de las células B; También como coestimulador de las células T; Junto a otras citoquinas como cofactor de crecimiento de las células madre hematopoyéticas en la médula ósea.

C. Citoquinas Reguladoras

1.7. **Interleuquina-10**

Producida por macrófagos activados, algunos linfocitos y algunos otros tipos celulares (queratinocitos). Las dos actividades principales son: Inhibir la producción de citoquinas (TNF- α , IL-1, quimioquinas, IL-2) por los macrófagos, e inhibir las funciones accesorias de estos en la activación de las células T. El efecto neto de estas acciones es inhibir la inflamación inmunitaria innata y la específica mediada por células T.

2. Citoquinas que median y regulan la inmunidad específica.

2.1. **Interferón γ (IFN- γ)**

También llamado interferón tipo II o inmunitario. Es producido por células T CD4+ y T CD8+ activadas, y por las células NK.

Tiene varias propiedades relacionadas con la inmunoregulación que lo separan funcionalmente del IFN tipo I:

- + Es un potente activador de los fagocitos mononucleares.
- + Aumenta la expresión de moléculas MHC de clase I y a diferencia del IFN tipo I, también provoca la expresión de moléculas MHC de clase II en gran variedad de tipos celulares.
- + Actúa sobre los linfocitos T favoreciendo su diferenciación de CD4+ vírgenes a Th1 e inhibiendo la proliferación de Th2. También es requerida para la maduración de los linfocitos TCD8+.
- + Induce respuestas de anticuerpos que también participan en la eliminación de microorganismos mediada por fagocitos.
- + Activa los neutrófilos, pero de manera menos potente que el TNF- α .
- + Estimula la actividad citolítica de las células NK.
- + Es un activador de las células endoteliales vasculares favoreciendo la adhesión de los linfocitos TCD4+ y las alteraciones morfológicas que facilitan la extravasación de éstos. También potencia muchas de las acciones del TNF- α sobre las células endoteliales.

2.2. Interleuquina-2

Es la principal citoquina responsable de la progresión de los linfocitos T en las fases celulares. Es producida por las células T CD4+ y en menor cuantía por las células T CD8+. Actúa sobre las mismas células que la producen, como factor de crecimiento autocrino, y sobre los linfocitos T de su alrededor, factor de crecimiento paracrino. No circula en sangre durante la respuesta inmunitaria, no es endocrino. La síntesis suele ser transitoria. Sus principales acciones son:

- + Es el principal factor de crecimiento autocrino de los linfocitos T. Estimula también la síntesis de otras citoquinas producidas por las células T, como el IFN- γ y la linfoxina.
- + Estimula la proliferación de las células NK y potencia su acción citolítica.
- + Actúa como factor de crecimiento de linf. B y como estímulo de la síntesis de Ac's.

2.3. Interleuquina-4

Las principales fuentes celulares son los linfocitos T CD4+, específicamente la subpoblación Th2, a diferencia de las T CD4+ Th1 que presentan IFN- γ . Los mastocitos y basófilos activados, al igual que los linfocitos TCD8+, son capaces igualmente de producir IL-4.

Tiene importantes acciones sobre varios tipos celulares:

- + La función fisiológica principal es regular las reacciones inmunitarias mediadas por IgE y mastocitos/eosinófilos. Es la principal citoquina que estimula el cambio de las células B a este isotipo de cadena pesada. Factor de crecimiento y de la proliferación de los mastocitos.
- + Factor de crecimiento y diferenciación para las células T, en particular para las células de la subpoblación Th2.
- + Estimula la expresión de ciertas moléculas de adhesión, especialmente la VCAM-1 de las células endoteliales, aumentando la unión de linfocitos, monocitos y especialmente eosinófilos.

2.4. Interlequina-5

Es producida por la subpoblación Th2 de las células TCD4+ y por los mastocitos activados.

La acción principal es estimular el crecimiento y diferenciación de los eosinófilos y activar a los eosinófilos maduros de manera que puedan matar helmintos.

2.5. Interlequina-17

La IL-17A (o IL-17) fue clonada por primera vez en 1993 en céls. T que provenían de un roedor. En el año 2000 fue demostrado que la IL-17A era producida por un subtipo independiente de células Th. A posteriori, se demostró definitivamente que las células T podían diferenciarse hacia células productoras de IL-17 in vitro e “in vivo” independientemente de las células Th1 y Th2, estableciéndose por ello las células Th17 como una nueva línea de linaje de las células Th. Las células Th 17 se diferencian de las Th1 y Th2 ya que no producen las clásicas citoquinas IFN- γ o IL-4.

La IL-17 es caracterizada como una citoquina inflamatoria local. Las células Th17 producen IL-17A e IL-17F que pertenecen a la misma familia y son parcialmente redundantes en sus funciones efectoras:

- + Las células Th17 juegan un papel muy importante en la mediación defensiva del huésped contra patógenos extracelulares por medio del reclutamiento de neutrófilos y macrófagos en tejidos Infectados. Tienen una función especializada en la limpieza de patógenos no tratados por las céls. Th1 o Th2.
- + Pueden inducir citoquinas proinflamatorias como la IL-1, IL-6 y TNF- α , y quimioquinas pro-inflamatorias como CXCL1, GCP-2 e IL-8, y promover así la inflamación de los tejidos en varios niveles, y el reclutamiento de neutrófilos al lugar de la inflamación.
- + Debido al importante papel de la IL-17 en la inducción de inflamación de los tejidos, las células Th17 son particularmente aptas para la promoción de la autoinmunidad. En consecuencia, la regulación aberrante de células Th17 podría jugar un papel significativo en la

patogénesis de enfermedades inflamatorias múltiples (encefalomielitis o colitis) y autoinmunes. Los niveles elevados de IL-17 se han detectado en varias enfermedades autoinmunes incluyendo la esclerosis múltiple, la artritis reumatoide, y la psoriasis.

2.6. Interlequina-22

Pertenece a la familia de la citoquina antiinflamatoria e inmunosupresora IL-10. Descubierta el año 2000. La mayor fuente son las céls. Th1 activadas y las células NK. Posteriormente se ha visto primariamente secretada por la Th22 activada, un nuevo subtipo de célula T claramente separada de otras células Th conocidas. Estas células no expresan IFN- γ ni citoquina IL-17. La IL-6 y el TNF- α podrían promocionar su diferenciación. Se ha comprobado la expresión de IL-22 en diferentes patologías como las oncológicas o autoinmunes. Actúa en la promoción de la defensa antimicrobiana y, aunque es producido por células del sistema inmune, regula la protección de los tejidos y la homeostasis. Por tanto, la función es difícil de generalizar: no es antiinflamatorio, pero tampoco necesariamente proinflamatorio, por lo que podría “actuar” según el lugar y momento.

2.7. Otras citoquinas

2.7.1. Interlequina-13

Producida por células T CD4+ Th2 y otras. Las acciones de la IL-13 sobre las células endoteliales, que incluyen la inducción de la VCAM-1 y la producción de quimioquinas C-C, pueden contribuir al reclutamiento de eosinófilos hacia los tejidos durante las reacciones inmunitarias mediadas por Th2.

3. Citoquinas como estimuladores de la proliferación y diferenciación de los leucocitos inmaduros

La diferenciación de las células T en sus subpoblaciones, desde un mismo precursor o “naive”, está determinada por el tipo de citoquinas

producidas en el momento de reconocimiento del antígeno. Además una vez producida la subpoblación, éstas producen citoquinas que inhiben la diferenciación hacia otras subpoblaciones.

3.1 Interleuquina-9

Fue reconocida inicialmente como citoquina de las células Th2. Su inducción podría estar mediada por diferentes moléculas como TGF- β , que estimularían la diferenciación de células Th2, mientras la expresión de IL-4 es suprimida. Pero también se ha encontrado en presencia de IL-4. Se ha propuesto que existe una línea celular, Th9, en la que es polarizada la producción de IL-9. Pero, las células Tregs y Th17 también son competentes para la producción de IL-9. Se desconoce si además de Th2, Th17 y Tregs, la Th1 podría producir IL-9 en ciertas circunstancias. Estimula la proliferación de algunas líneas de células T y de los progenitores de los mastocitos procedentes de la médula ósea. Se conoce muy poco de los efectos biológicos.

1.7- El Humor Vítreo.

1.7.1 Definición y características (3):

El humor vítreo es una estructura transparente, gelatinosa, de forma esférica, ligeramente aplanada meridionalmente, con un volumen aproximado de 4 ml y un peso cercano a 4 gr. Ocupa cuatro quintas partes (80%) del volumen total del ojo. El volumen y peso precisos varían en función de la edad y del tamaño del ojo. Larsen y cols. realizaron mediciones ultrasónicas de la longitud axial del cuerpo vítreo de 926 niños y observó que el valor medio era de 10,48. Observó una diferencia en el sexo masculino, donde eran de mayor tamaño que en el sexo femenino, y esto persistía con el período del crecimiento.

Es un tejido conectivo avascular que está compuesto de un 99% de agua, un 0.9% de sales inorgánicas y lípidos de bajo peso molecular, y un 0.1% de colágeno tipo II, hialuronato (una molécula de ácido glucurónico y una de acetilglucosamida) y un grupo de células colocadas hacia el área cortical del vítreo, llamados hialocitos, cuya función precisa es desconocida, aunque se les atribuye, entre otras cosas la producción del hialuronato.

Cristianson demostró con una diabetes inducida en conejos que se producían aumentos en los contenidos glucosamínicos y la viscosidad del humor vítreo, provocando una disminución en el volumen del vítreo. Estudios más recientes muestran un pequeño aumento en la tonicidad del vítreo diabético humano. Lundquist y Osterlin han comprobado que en los diabéticos hay un aumento de los niveles de la glucosa en el vítreo. Sebag y cols. establecieron que estos niveles elevados de glucosa están asociados con productos de glucolización enzimática en el vítreo humano y niveles elevados de la enzima medida.

Los cambios relacionados con valores elevados de glucosa vítrea pueden afectar al ácido hialurónico, o mejor dicho, al núcleo proteico. Las alteraciones estructurales que se dan como resultado son la contracción y la inflamación del cuerpo vítreo, transmitiendo tracción a estructuras pegadas a la corteza del vítreo posterior. Esto puede provocar la rotura de nuevos coágulos y causar una hemorragia vítrea.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.- Hipótesis y objetivos

La diabetes mellitus es una enfermedad de gran prevalencia en nuestro medio, que además presenta una marcada tendencia hacia su aumento y que constituye una causa de alta morbilidad y de disminución de la esperanza de vida en los que la padecen. Es una enfermedad crónica que provoca un progresivo deterioro en la estructura y función de diferentes órganos y sistemas, entre los cuales la afectación ocular es muy relevante por su elevada incidencia e importante impacto en la calidad de vida del enfermo.

En los diferentes patrones de las distintas lesiones que la diabetes provoca a nivel ocular, la retinopatía diabética proliferante y el edema macular diabético difuso son especialmente significativos por su gravedad y por constituir una de las causas de ceguera importante en nuestro medio.

La diabetes se asocia a alteraciones en el sistema inmunitario que suponen el compromiso funcional de diferentes extirpes celulares, que incluyen a las células de la respuesta del sistema inmune innato (monocito-macrófago, células dendríticas y células NK) y a las del sistema inmune adaptativo (linfocitos T y linfocitos B). Esta afectación de las células del sistema inmunitario compromete sus funciones reguladoras y efectoras, y se han implicado en la patogenia de diferentes manifestaciones clínicas, como la predisposición a infecciones, el estado inflamatorio sistémico y el daño vascular de diferentes órganos. Esta afectación inmunitaria se asocia a anomalías en el estado de activación de diferentes células y conlleva la producción anómala o alterada de citoquinas, factores de crecimiento y otros mediadores solubles.

El aumento o el defecto en la síntesis y secreción y en los consiguientes niveles extracelulares de citoquinas puede generar efectos patogénicos, no sólo sobre células respondedoras inmunitarias, sino también sobre componentes somáticos de otros órganos o sistemas como células endoteliales, mesenquimales, etc.

Las citoquinas constituyen una amplia familia de moléculas solubles secretadas fundamentalmente por células del sistema inmunitario que ejercen su función de forma paracrina y endocrina sobre otros componentes celulares del sistema inmunitario o de otros tejidos. Esta amplia familia de moléculas se puede clasificar atendiendo a distintos criterios. Se identifican citoquinas

preferentemente secretadas por el sistema inmune innato (IL-1 β , IL-6, IL-12p70, IL-13, TNF- α) y por el sistema inmune adaptativo (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-17A, IL-22).

En diferentes enfermedades inflamatorias se ha objetivado la existencia de alteraciones en los niveles séricos de citoquinas y en el espacio extracelular de órganos, cuando ha sido factible su análisis, que se relacionan con la intensidad y patrón de las lesiones tisulares y la actividad clínica de la enfermedad.

En este trabajo se plantea que el patrón e intensidad de las alteraciones de los niveles séricos de citoquinas en pacientes con diabetes sean diferentes en función de la intensidad de las lesiones orgánicas. En concreto, en este estudio se analiza la relevancia de la afectación ocular con desarrollo de retinopatía diabética proliferante como marcador clínico de severidad evolutiva de la enfermedad. Además, se profundiza en el conocimiento patogénico de la complicación de la enfermedad analizando no sólo la presencia de citoquinas en sangre periférica sino en humor vítreo de los enfermos.

En una población de pacientes diabéticos estratificados por la presencia o ausencia de retinopatía proliferante y en un grupo control de pacientes sin enfermedad metabólica, inflamatoria o neoplásica que requieren vitrectomía se plantean los siguientes objetivos:

- 1- Estudiar los niveles séricos de citoquinas preferentemente producidas por las células del sistema inmunitario de la respuesta innata (IL-1 β , IL-6, IL-12p70, IL-13, TNF- α) y de la respuesta adaptativa (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-17A, IL-22).
- 2- Estudiar los niveles en el humor vítreo obtenido por vitrectomía de las citoquinas: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-22, IFN- γ y TNF- α .
- 3- Análisis de la significación clínica de los niveles de las citoquinas cuantificadas con especial interés con el edema macular diabético

difuso, la agudeza visual y parámetros de control metabólico (glucemia y HbA1c).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.- MATERIAL Y MÉTODOS

3.1- DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo descriptivo no intervencional de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 1 y 2, con 10 o más años de evolución, y sin retinopatía diabética o con retinopatía diabética proliferante. Se ha realizado un seguimiento clínico a lo largo de 12 meses durante el cual se efectuó el estudio sérico y funcional al inicio y al 1 mes, y sólo funcional a los 6 y a los 12 meses, así como la evaluación y estudio de la muestra vítrea obtenida durante vitrectomía en aquellos que en el momento de seguimiento lo han requerido como tratamiento.

3.2- CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN

La población estudiada está formada por 71 personas. De estos 71 individuos 54 son pacientes con diabetes mellitus, dentro de los cuales 27 pacientes forman parte del grupo de diabéticos sin RD y los otros 27 conforman el grupo de diabéticos con Retinopatía Diabética Proliferante (RDP) vitrectomizados. El grupo de los controles sanos está formado por 17 individuos no diabéticos que han sido sometidos a vitrectomía por otras circunstancias.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE PACIENTES DIABÉTICOS:

- Edad 18-80 años ambos inclusive de ambos sexos
- Diabetes Mellitus tipo 1 o 2 (según la guías de la American Diabetes Association o OMS) de 10 o más años de evolución
- Presentar el estadio DM sin retinopatía o DM con RDP, según la ETDRS (4)
- Obtención del consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE PACIENTES DIABÉTICOS

- Historia de vitrectomía previa en el ojo a estudio
- Antecedentes de neoplasias, infarto de miocardio, accidente cerebro-vascular (ictus), enfermedades inflamatorias o inmunológicas o tratamientos para patología alérgica (vacunas o corticoides o Inmunosupresores) o fármacos inmunomoduladores que puedan influir sobre los mediadores a estudio.
- Enfermedad intraocular activa
- Cualquier infección activa en el momento de la inclusión o historia de uveítis
- Glaucoma no controlado o con PIO > 24 mm Hg al hacer la vitrectomía
- Participaren otro estudio o ensayo.
- Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
- No aceptar cualquiera de las condiciones del estudio.

3.2.1- Metodología en los pacientes vitrectomizados

Los diabéticos con RDP vitrectomizados deberán cumplir los criterios de inclusión como pacientes diabéticos, presentar el estadio de severidad de la diabetes en su forma proliferativa, como se especifica en la página anterior, y además presentar como criterio de indicación de vitrectomía cualquiera de los siguientes:

- Hemorragia prerretiniana no foveal
- Hemovítreo no resoluble de más de 2 meses
- DR traccional secundario a la retinopatía diabética o
- Edema macular que no cede con tratamiento laser

Los controles vitrectomizados deberán presentar los criterios expuestos a continuación:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE CONTROL VITRECTOMIZADOS.

- Edad 18-80 años ambos inclusive de ambos sexos.
- DR no traumático ni exudativo, Agujero macular espontáneo, Membrana Epirretiniana o Macular Pucker que requiera vitrectomía como tratamiento.
- Obtención del consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE PACIENTES CONTROL VITRECTOMIZADOS.

- Diabetes Mellitus.
- Historia de vitrectomía previa en el ojo a estudio
- Antecedentes de neoplasias, infarto de miocardio, accidente cerebro-vascular (ictus), enfermedades inflamatorias o inmunológicas o tratamientos para patología alérgica (vacunas o corticoides o Inmunosupresores) o fármacos inmunomoduladores que puedan influir sobre los mediadores a estudio.
- Enfermedad intraocular activa
- Cualquier Infección activa en el momento de la inclusión o historia de uveítis
- Glaucoma no controlado o con PIO > 24 mm Hg al hacer la vitrectomía
- Participaren otro estudio o ensayo.
- Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
- No aceptar cualquiera de las condiciones del estudio.

Todos los pacientes que han sido vitrectomizados fueron informados de los riesgos del procedimiento (catarata, Vitreorretinopatía Proliferativa, Sangrado intraquirúrgico, endoftalmítis,...), explicados por el cirujano, se les

entregó una hoja informativa del procedimiento, Anexo 9.3, y firmaron el consentimiento informado.

Tanto en los diabéticos como en los no diabéticos que han sido vitrectomizados se realizó la vitrectomía por el procedimiento habitual vía pars plana (tres vías). La muestra de humor vítreo se procesó según la técnica descrita en el siguiente apartado de metodología de obtención de muestras y se almacenó a -80°C hasta su valoración. Las muestras séricas también se procesaron y se almacenaron a -80°C .

3.3- METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS

3.3.1- METODOLOGÍA DE LA MUESTRA SÉRICA.

En ayunas, y previo consentimiento, se efectuó por venopunción la extracción de una muestra de 15 ml de sangre en tubos estériles de una vena periférica, antecubital o dorsal de la mano. En no vitrectomizados se realizó la extracción al día siguiente de la inclusión en el estudio y al mes, y en aquellos que han sido vitrectomizados se realizó el día del procedimiento quirúrgico, en el mismo antequirófano, y al mes. Las muestras de sangre de cada paciente siguieron dos vías o caminos: unas muestras fueron por la vía normal del laboratorio de análisis de hospital Son Dureta para la realización de una analítica general completa, que se ve reflejada en la hoja de recogida de datos, y otras muestras fueron reservadas el mismo día en el mismo momento de la extracción para su procesamiento. Estas muestras últimas, para su procesamiento, se centrifugaron a 3000 g durante 5 minutos a 4°C . De los sobrenadantes se obtuvieron 4 alícuotas que, una vez identificadas y etiquetadas correctamente, fueron congeladas a -80°C (90, 120, 133). De las alícuotas se realizó la determinación específica de citoquinas mediante la técnica que será descrita en este texto en líneas posteriores.

3.3.2- METODOLOGÍA DE LA MUESTRA VÍTREA.

Tanto en diabéticos como en los no diabéticos vitrectomizados se efectuó a la vitrectomía via pars plana, previo consentimiento. Esta técnica

consiste en una cirugía muy similar al procedimiento de laparoscopia que se realiza en el abdomen. Se procede a la colocación de una vía de infusión a través de una esclerotomía (incisión en la esclera) de tamaño estandarizado según el procedimiento. Se suele infundir suero o gas, a una determinada presión para mantener en la cavidad vítrea el espacio adecuado para poder realizar la cirugía. Además se realizan 2 esclerotomías nuevas, una para la vía de la luz y otra para la vía por donde se introduce el vitreotomo, u otro instrumento. Se obtuvo una muestra de humor vítreo al inicio, previo a la infusión de líquido, quedando almacenada en tubos estériles (tubos de aspiración bronquial) que se incluyeron en una batea de hielo a 4° C (132). Estos tubos fueron transportados al laboratorio y al llegar a éste se efectuó la centrifugación. La centrifugación se realizó a 3000 rpm manteniendo la temperatura a 4° C durante 5 min, según lo descrito por Funatsu y cols. entre otros (90, 120, 133). Del sobrenadante se obtuvieron 2-3 alíquotas de 0,5 ml, y éstas se congelaron a -80 °C hasta el análisis de los mediadores. De las alíquotas se realizó la determinación de citoquinas mediante técnica que más adelante será descrita.

3.4- METODOLOGÍA DE ESTUDIO DE LAS MUESTRAS

Se ha utilizado el kit comercial Th1/Th2/Th9/Th17/Th22 13plex FlowCytomix Multiplex, de eBiosciencie®, con referencia BMS817FF, sobre las muestras de suero y de humor vítreo para el análisis de las citoquinas: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17A, IL-22, TNF- α e IFN- γ , mediante de citometría de flujo. Está basado en bolas de captura de analitos (citoquinas) y un segundo anticuerpo para su cuantificación. El kit utilizado presenta unos límites de sensibilidad, que son especificados en el siguiente cuadro (**figura 7**):

Sensibilidad	hIFN- γ :	1.6 pg/mL
	hIL-1 β :	4.2 pg/mL
	hIL-2:	16.4 pg/mL
	hIL-4:	20.8 pg/mL
	hIL-5:	1.6 pg/mL
	hIL-6:	1.2 pg/mL
	hIL-9:	1.5 pg/mL
	hIL-10:	1.9 pg/mL
	hIL-12p70:	1.5 pg/mL
	hIL-13:	4.5 pg/mL
	hIL-17A:	2.5 pg/mL
	hIL-22:	43.3 pg/mL
	hTNF- α :	3.2 pg/mL

Fig 7: Límites de sensibilidad del kit comercial Th1/Th2/Th9/Th17/Th22 13plex FlowCytomix Multiplex.

3.5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS VARIABLES

3.5.1- DEMOGRÁFICAS

- Número correlativo de enfermo:
- Nº de hª clínica:
- Fecha del registro: día / mes / año
- Tipo de Diabetes Mellitus: (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Tipo 1 2. Tipo 2)
- Paciente o Control: (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Paciente, 2. Control)
- Ojo operado: (codificado como variable cualitativa tricotómica 1. Ojo derecho, 2. Ojo izquierdo, 3. No operado)
- Causa de la intervención: (codificado como variable cualitativa heptacotómica: 1. No intervención, 2. Agujero macular, 3. Macular Pucker, 4. Membrana Epirretiniana, 5. Desprendimiento de Retina, 6. Hemovítreo, 7. Edema Macular)

- **Datos personales del paciente:**

+ **Sexo:** H =hombre, M= Mujer (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. H, 2. M)

+ **Edad (años) (codificado como variable cuantitativa continua)**

3.5.2- SISTÉMICAS

- **Antecedentes Familiares de Cardiopatía Isquémica Precoz: (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)**

- **IMC:**(codificado como variable cuantitativa continua en Kg/ m²)

- **PAS/PAD:** (Presión Arterial Sistólica y Diastólica codificado como variable cuantitativa continua en mm Hg)

- **Tabaquismo:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

- **Tiempo de evolución desde su diagnóstico (años) (codificado como variable cuantitativa continua)**

- **HbA1c:** (%) (Codificado como variable cuantitativa continua)

Nivel de control de la diabetes mellitus a través de la determinación del porcentaje de Hemoglobina glicosilada.

- **Microalbuminuria:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Presencia de albumina en orina en niveles superiores a los normales (< 30 mgr/dl).

- **Proteinuria:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Presencia de albumina en orina en niveles superiores a 300 mgr/dl.

- **Nefropatía:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Definida como creatinina sérica > o = 125 micromol/l (1,4mgr/dl) para hombres y > o =110 micromol/l (1,3mgr/dl) para mujeres.

- **Neuropatía periférica:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Definida como afectación de los nervios pares craneales o los de la columna vertebral y sus ramificaciones que tiende a desarrollarse por etapas con clínica que va desde hormigueo, adormecimiento, disminución de sensibilidad,... hasta diarrea, trastornos del lenguaje, mareos, contracciones musculares.

- **Arteriopatía periférica: (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)**

Definida como claudicación intermitente de cualquier grado o patología vascular periférica demostrable.

- **Cardiopatía Isquémica: (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)**

Definida como presencia de historia de angina, infarto, y/o insuficiencia cardíaca (clase I-IV).

- **HTA (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)**

Definida por informe o diagnóstico previo o la medición de TA sistólica de >160 mmHg y/o TA diastólica >95 mmHg tras 5 min de reposo.

- **Hipercolesterolemia:(codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)**

Definida como niveles de colesterol total superiores a 240 mgr/dl.

- **Medicación para la diabetes: (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)**

+ ADO: 1. SI 2. NO.

TIPOS:

1- SULFONILUREAS 1. SI, 2. NO. TIPO Y DOSIS:

2- BIGUANIDAS 1. SI, 2. NO. TIPO Y DOSIS:

3- INHIBIDORES DE LA A GLUCOSIDASA 1. SI, 2. NO. TIPO Y DOSIS:

4- TIAZOLIDINEDIONAS 1. SI, 2. NO. TIPO Y DOSIS:

5- MEGLITINIDAS 1. SI, 2. NO. TIPO Y DOSIS:

+ Insulina: 1. Si, 2. No

+ Tipo:

Rápida: 1. Si, 2. No

Intermedia: 1. Si, 2. No

Lenta o prolongada: 1. Si, 2. No

+ Dosis.: (codificado como variable numérica) X / Y / Z

- **Medicación para enfermedad vascular:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

+ Estatinas: 1. Si, 2. No

+ IECA: 1. Si, 2. No

+ Antagonistas del Calcio: 1. Si, 2. No

+ Antiagregantes: 1. Si, 2. No

+ Heparina: 1. Si, 2. No

Otras: _____

3.5.3- OFTALMOLÓGICAS

- **Agudeza visual:** (codificado como variable cuantitativa continua)

Grado de visión medida mediante **test de Snellen** en valores comprendidos entre percibe luz y 1.

- **Visión de Colores:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Evaluación de la visualización correcta y completa de los colores mediante el test de Ishihara. Se considera correcta y completa de 21/21 imágenes. Si es menor de ello entonces no es completa.

- **Angiografía fluoresceínica:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Definida como la valoración mediante contraste específico (fluorescina sódica) del fondo de ojo para evaluar isquemias, neovasos, alteraciones maculares,... que se especifican a continuación:

+ Isquemia Periférica: 1. Si, 2. No

+ Isquemia Macular: 1. Si, 2. No

+ Neovasos: 1. Si, 2. No

+ Edema Macular Focal: 1. Si, 2. No

+ Edema Macular difuso: 1. Si, 2. No

- **Rubeosis en iris:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Definido como la presencia de neovasos en la superficie del iris desde el ángulo a la pupila.

- **Fondo de ojo (grado de Retinopatía Diabética):** (codificado como variable cualitativa ordinal)

0: no RD

1: RD No proliferante leve

2: RD No proliferante moderada

3: RD No Proliferante Grave

4: RD Proliferante

- **Presión Intraocular:** (codificado como variable cuantitativa continua)

Definida como la presión intraocular medida mediante tonómetro de Goldman en milímetros de Hg.

- **Laserterapia:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Aplicación de laser en diferentes procedimientos como tratamiento.

+ Fotocoagulación focal: 1. Si, 2. No

+ Fotocoagulación rejilla: 1. Si, 2. No

+ Panretinofotocoagulación: 1. Si, 2. No

3.5.4- END-POINTS (Acontecimientos Adversos)

Aparece unido en cada caso con la fecha del acontecimiento

FECHA: (__/__/__)

- **Ceguera:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Pérdida completa de agudeza visual con ausencia total de percepción ni siquiera la luz.

- **Vitrectomía:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Considerado como necesidad de vitrectomía en RDP ante los acontecimientos descritos en los criterios y que provocan o son signo de mala evolución de la retinopatía diabética.

- **Recidiva:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Definida como reaparición de neovasos o sus manifestaciones a pesar de laser o cirugía.

- **Reintervención:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si, 2. No)

Necesidad de nueva cirugía, a pesar de tratamiento previo quirúrgico, por recidiva de complicaciones.

- **Muerte:** (codificado como variable cualitativa dicotómica 1. Si 2. No)

Fallecimiento del paciente en el curso del estudio.

3.5.5- SEROTECA:

Pruebas de laboratorio y seroteca (ver hoja de recogida de datos). Se muestran en los siguientes esquemas tanto las variables estudiadas en la analítica general como las citoquinas analizadas en los dos medios a estudio.

ANALÍTICA GENERAL	INTRAOPERAT/ INICIO	1 MES
Hematocrito	X	X
Neutros	X	X
Leucos	X	X
Linfos	X	X
Alb	X	X
Colesterol Total	X	X
HDL	X	X
LDL	X	X
Glucemia	X	X
Hb A1c	X	X
Urea	X	X
Creatinina	X	X
Na	X	X
K	X	X
Proteínas en orina	X	X

MUESTRA VÍTREA	EXTRACCIÓN INTRAOPERATORIA
IL-1β	X
IL-2	X
IL-4	X
IL-5	X
IL-6	X
IL-9	X
IL-10	X
IL-12p70	X
IL-13	X
IL-17A	X
IL-22	X
INF-γ	X
TNF-α	X

MUESTRA SÉRICA	EXTRACCIÓN INTRAOPERATORIA / INICIO DE ESTUDIO
IL-1β	X
IL-2	X
IL-4	X
IL-5	X
IL-6	X
IL-9	X
IL-10	X
IL-12p70	X
IL-13	X
IL-17A	X
IL-22	X
IFN-γ	X
TNF-α	X

3.6- SEGUIMIENTO Y CALENDARIO DE VISITAS

El seguimiento de los pacientes y controles se efectuará en visitas patentemente programadas, en cada una de las cuales se ha realizado lo establecido en el cuadro siguiente:

ESQUEMA DEL ESTUDIO: Calendario de Visitas

	VISITA 1ª No INTERVENCION	VISITA 1ª Preoperat/ Intraoperat	VISITA 2ª (1 MES)	VISITA 3ª (6 MESES)	VISITA 4ª (12 MESES)
Asignación del grupo Paciente / control	X	X			
Criterios de inclusión / exclusión	X	X			
Hª clínica y Oftalmológica	X	X			
Análítica General	X	X	X		
AV (Snellen)	X	X	X	X	X
Visión de colores	X	X	X	X	X
Rubeosis	X	X	X	X	X
F de ojo	X	X	X	X	X
PIO	X	X	X	X	X
AGF	X	X			X
LASER	X		X	X	X
Muestra de sangre	X	X			
Muestra de vítea		X			
ACONTECIMIENTOS ADVERSOS	X	X	X	X	X

La muestra de humor vítreo sólo se realiza en la intervención de controles y en pacientes diabéticos con Retinopatía Diabética Proliferante.

3.7- ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

La estrategia de búsqueda viene condicionada por el sistema de recuperación de información de cada fuente, así como de sus descriptores e instructores. Por tanto, debemos tener en cuenta las características propias de cada fuente con el fin de poder recuperar el máximo de información relevante.

En nuestro trabajo la principal fuente de información ha sido la base de datos Medline. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>. Esta fuente documental producida por un organismo de reconocido prestigio, la “Nacional Library of Medicine” de Estados Unidos, se ha convertido en el primer y mayor referente en medicina, ya que se trata de la base de datos más completa a nivel mundial, su contenido puede ser considerado fiable y riguroso, su grado de cobertura y exhaustividad es muy elevada y la información que recoge se muestra muy estructurada y sometida a un tratamiento riguroso en cuanto al sistema de descriptores y de clasificadores.

Antes de iniciar la búsqueda hemos elaborado una lista de descriptores generales y específicos, que definirán el contenido de la búsqueda, adaptándolos a las necesidades y posibilidades del motor de búsqueda del sistema, es decir, traduciéndolos al inglés y delimitando la búsqueda mediante la utilización de operadores booleanos y límites.

La búsqueda avanzada, es decir, utilizando los descriptores incluidos en el tesoro MESH (MEDICAL SUBJECT HEADINGS), será más precisa, más pertinente y con un menor “ruido” documental, aunque menos exhaustiva. Por ello, hemos optado por realizar la búsqueda en lenguaje libre en el campo de búsqueda básica, mediante los términos siguientes:

Términos en castellano

Diabetes, retinopatía diabética, citoquinas, interleuquinas, factores de crecimiento, quimioquinas

Términos en inglés

Diabetis, diabetic retinopathy, cytokines, interleukins, grow factors, chemokines, T helper.

En la búsqueda se utilizó como conector básicamente “AND” entre diabetes o retinopatía diabética y los otros términos. Se han obtenido diferente número de resultados según la búsqueda:

Diabetic Retinopathy AND cytokines or interleukines or grow factors or chemokines.....	230942
Diabetic retinopathy AND cytokines	977
Diabetic retinopathy AND interleukins	155
Diabetic retinopathy AND chemokines	137
Diabetic retinopathy AND grow factors	13
Diabetic retinopathy AND cytokines AND T helper	6

SELECCIÓN DE LOS ARTÍCULOS:

Una vez efectuada la búsqueda y seleccionadas las referencias que más se ajustaban al tema a tratar en nuestro trabajo utilizamos la opción de Related Articles de Medline que nos permitió ampliar los resultados obtenidos.

De los abstrats obtenidos de todos los resultados se hizo una lectura exhaustiva y se seleccionó aquellos cuyo contenido era referido a cualquiera de los ítems y de la pretensión de nuestro estudio. Obtuvimos los artículos a través de centros de documentación en la gran mayoría pero aquellos que pudieron ser obtenidos utilizamos el correo electrónico para contactar con su autor y poder obtenerlos. Si aun así no fue posible conseguir su contenido, fue mencionado y este fue referido en la bibliografía con esta referencia “Abstract”.

En la metodología de obtención de las muestras de humor vítreo se valoró el apartado de material y métodos de los diferentes estudios, se consultó vía e-mail con algunos autores que no especificaban el procedimiento y se seleccionó de las diferentes fuentes bibliográficas el utilizado en nuestro estudio, como se especifica en el apartado correspondiente.

3.8- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el objetivo de determinar si los datos de las muestras de los pacientes y de los controles son homogéneos en situación basal, y por tanto se ajustan a la curva de normalidad, hemos realizado pruebas de homogeneidad basal en las variables estudiadas. Cuando los datos se ajustan a la curva de

normalidad se utilizan test paramétricos, y si no se ajustan a la curva de normalidad se usarán test no paramétricos

Se ha realizado un análisis descriptivo de las variables figurando como medidas centralizadoras, la media, desviación estándar (DE) e intervalo de confianza al 95% si la variable sigue una distribución normal, o la mediana con los 1º y 3º cuartiles (rango), en caso de no seguir una distribución normal, como es el caso del presente estudio. Para las variables categóricas, se describen los porcentajes con los intervalos de confianza al 95% de las variables más relevantes.

El contraste de hipótesis para variables cuantitativas se ha llevado a cabo con las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney y Kruskal Wallis ya que no se cumplieron las asunciones de normalidad. Para las variables cualitativas se ha utilizado la Chi-cuadrado.

Los cálculos han sido realizados mediante el programa IBM® SPSS® Statistics v 20.0, por medio del responsable del área de estadística del departamento de investigación del Hospital Son Espases.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN

De un total de 205 personas a las que se les propuso entrar en el estudio aceptaron 118 (57,57%) (**tabla 4**). De los 118 que aceptaron al aplicar los criterios de inclusión-exclusión descritos en el apartado 3.2 de las páginas 101-103 sólo se incluyeron 71 individuos (60,17%), formando la población objeto del estudio. De estas 71 personas, 27 fueron Diabéticos con RDP (38,02%) que se denominó Grupo 1, 27 DM sin retinopatía (38,02%) que son el Grupo 2 y 17 Controles sanos no diabéticos (23,95%), que constituyen el Grupo 3 (**tabla 4**).

	GRUPO 1 : DM CON RDP	GRUPO 2 : DM SIN RETINOPATIA	GRUPO 3 : CONTROL SANO	TOTAL
Total consultados	44	111	50	205
Incluidos :	27(38,02%)	27(38,02%)	17(23,95%)	71
Excluidos	17	12	18	47
NO quieren realizar	0	72	15	87

Tabla 4: Población a estudio.

Aunque los criterios de exclusión de los pacientes se especifican en las páginas 101-103, en la tabla 5 se destacan las causas concretas de exclusión de los diabéticos con RDP.

Grupo 1:	Numero	Causa
Diabéticos con Retinopatía diabética Proliferante	13	En tratamiento antiVEGF
	1	Cancer de Colon
	1	En tratamiento con corticoides por Artritis Reumatoide
	1	En tratamiento con inmunosupresores por Lupus
	1	VRP

Tabla 5: Causas de exclusión de DM con RDP

La inclusión del primer paciente en el estudio se produjo el día 15 de Enero de 2007, siendo agregado el último el día 20 de Septiembre de 2010.

A continuación se describen las características generales de la población estudiada.

4.1.1 Características demográficas

4.1.1.1 La Edad

Los pacientes diabéticos con retinopatía diabética proliferante presentan una edad mediana de 51 años (IC95% 45,1 a 58), con edades comprendidas en un rango entre 28 y 84 años. Los pacientes con diabetes sin retinopatía diabética presentan una edad mediana de 61 años (IC95% 50,7 a 63,4), con edades comprendidas en un rango entre 25 y 79 años. Los pacientes controles sanos presentan una edad media de 65 años (IC95% 54,61 a 69,7), con edades comprendidas en un rango entre 20 y 79 años.

4.1.1.2 El Sexo

En el grupo de los pacientes con diabetes con retinopatía diabética proliferante 21 son hombres (77,8 %) y 6 son mujeres (22,2 %). En el grupo de los pacientes con diabetes sin retinopatía diabética 16 son hombres (59,3%) y 11 son mujeres (40,7%). En el grupo de los controles sanos 8 son hombres (47,1 %) y 9 son mujeres (52,9%), (**tabla 6**).

VARÍABLES	GRUPO 1: DM CON RDP	GRUPO 2 : DM SIN RETINOPATÍA	GRUPO 3 : CONTROL SANO
Número	27	27	17
Edad (Mediana, rango)	51 (28-84)	61 (25-79)	65 (20-79)
SEXO (H/M) %	77,8 / 22,2	59,3 / 40,7	47,1 / 52,9

Tabla 6: Características demográficas de la población a estudio

4.1.1.3 Tipo de diabetes

Del total de 71 individuos examinados, 17 (23,95%) fueron controles sanos y 54 pacientes (76,05%) fueron pacientes diabéticos. Dentro de los 54 diabéticos un 39,9% fueron de tipo 1 y un 60,1% fueron de tipo 2. Dentro del Grupo 1 (DM con RDP) de un total de 27 pacientes, el 48,14% fueron diabéticos tipo 1 y el 51,86% fueron diabéticos tipo 2. En el Grupo 2 (DM sin Retinopatía) el 29,63% fueron diabéticos tipo 1 y el 70,37% fueron diabéticos tipo 2.

4.1.1.4 Ojo explorado

En un total de 71 personas examinadas (71 ojos explorados) 39 fueron ojos derechos (54,93%), y 32 fueron ojos izquierdos (45,07%). En DM con RDP 14 eran OD, y 13 eran OI, lo mismo que en DM sin RD, siendo en un 51,85% ojos derechos y un 48,15% ojos izquierdos. En el grupo de controles sanos no DM, 11 fueron OD (64,71%) y 6 OI (35,29%).

4.1.2 Características clínicas y analíticas de la población

Se describen a continuación las variables clínicas registradas en los 27 pacientes con retinopatía diabética proliferante: tipo de diabetes, tiempo de evolución, ojo operado, causa de la intervención, índice de masa corporal, hipertensión arterial, hipercolesterolemia, tabaquismo, antecedentes familiares de cardiopatía isquémica, cardiopatía isquémica, nefropatía, neuropatía periférica, arteriopatía periférica (**tabla 7**).

VARIABLES	CATEGORÍAS	RESULTADOS Mediana (Rango) o %
Tipo de diabetes	Tipo 1	48,1 %
	Tipo 2	51,9 %
Tiempo de evolución.	Años	18,00 (11,00 - 26,00)
Ojo operado.	No	0
	Ojo derecho	51,9 %
	Ojo izquierdo	48,1 %
Causa de la intervención.	No intervención	0 %
	Agujero macular	0 %
	Macular Pucker	0 %
	Membrana Epirretiniana	0 %
	Desprendimiento de Retina	22,2%
	Hemovítreo	63%
	Edema Macular	14,8%
Índice de masa corporal (IMC)	Kg/m ²	24,22 (22,75 - 27,34)
Hipertensión arterial	Si	55,5 %
	No	44,5 %
Hipercolesterolemia	Si	33,3 %
	No	66,7 %
Tabaquismo	Si	51,9 %
	No	48,1 %
Antecedentes familiares de Cardiopatía Isquémica	Si	14,8 %
	No	85,2 %
Cardiopatía Isquémica	Si	14,8 %
	No	85,2 %
Nefropatía	Si	37 %
	No	73 %
Neuropatía periférica	Si	29,63 %
	No	70,37%
Arteriopatía periférica	Si	14,8 %
	No	85,2 %

Tabla 7: Características clínicas generales del grupo 1: Diabéticos con retinopatía proliferante. En la tabla se expresa el porcentaje (%) de casos de cada patología o variable. Las variables cuantitativas índice de masa corporal y tiempo de evolución se expresan en la tabla en Kg/m² y años respectivamente.

Seguidamente se describen las variables clínicas registradas en los 27 pacientes diabéticos sin retinopatía: tipo de diabetes, tiempo de evolución, ojo operado, causa de la intervención, índice de masa corporal, hipertensión arterial, hipercolesterolemia, tabaquismo, antecedentes familiares de cardiopatía isquémica, cardiopatía isquémica, nefropatía, neuropatía periférica, arteriopatía periférica (**tabla 8**).

VARIABLES	CATEGORÍAS	RESULTADOS Mediana (Rango) o %
Tipo de diabetes	Tipo 1	29,6 %
	Tipo 2	70,4 %
Tiempo de evolución.	Años	17,00 (13,00 - 24,00)
Ojo operado.	No	100%
	Ojo derecho	0 %
	Ojo izquierdo	0 %
Causa de la intervención.	No intervención	100 %
	Agujero macular	0 %
	Macular Pucker	0 %
	Membrana Epirretiniana	0 %
	Desprendimiento de Retina	0 %
	Hemovítreo	0 %
	Edema Macular	0 %
Índice de masa corporal (IMC)	Kg/m ²	26,03 (23,05 - 28,84)

Hipertensión arterial	Si	48,15 %
	No	51,85 %
Hipercolesterolemia	Si	37 %
	No	63 %
Tabaquismo	Si	37 %
	No	63 %
Antecedentes familiares de Cardiopatía Isquémica	Si	44,4 %
	No	55,6%
Cardiopatía Isquémica	Si	18,5 %
	No	81,5 %
Nefropatía	Si	0 %
	No	100 %
Neuropatía periférica	Si	0 %
	No	100 %
Arteriopatía periférica	Si	0 %
	No	100 %

Tabla 8: Características clínicas generales del grupo 2: Diabéticos sin retinopatía. En la tabla se expresa el porcentaje (%) de casos de cada patología o variable. Las variables cuantitativas índice de masa corporal y tiempo de evolución se expresan en la tabla en Kg/m² y años respectivamente.

Por último, también se presentan a continuación las variables clínicas registradas en los 17 controles sanos: ojo operado, causa de la intervención, índice de masa corporal, hipertensión arterial, hipercolesterolemia, tabaquismo, antecedentes familiares de cardiopatía isquémica, cardiopatía isquémica, nefropatía, neuropatía periférica, arteriopatía periférica (**tabla 9**).

VARIABLES	CATEGORÍAS	RESULTADOS Mediana (Rango) o %
Ojo operado.	No	0 %
	Ojo derecho	64,7 %
	Ojo izquierdo	35,3 %
Causa de la intervención.	No intervención	0 %

	Agujero macular	17,64 %
	Macular Pucker	5,9 %
	Membrana Epirretiniana	17,64 %
	Desprendimiento de Retina	58,8 %
	Hemovítreo	0 %
	Edema Macular	0 %
Índice de masa corporal (IMC)	Kg/m ²	29,90 (28,04 - 32,00)
Hipertensión arterial	Si	64,7 %
	No	35,3 %
Hipercolesterolemia	Si	47,1 %
	No	52,9 %
Tabaquismo	Si	11,8 %
	No	88,2 %
Antecedentes familiares de Cardiopatía Isquémica	Si	11,76 %
	No	88,24%
Cardiopatía Isquémica	Si	5,9 %
	No	94,1 %
Nefropatía	Si	0 %
	No	100 %
Neuropatía periférica	Si	5,9 %
	No	94,1 %
Arteriopatía periférica	Si	0 %
	No	100 %

Tabla 9: Características clínicas generales del grupo 3: Controles sanos. En la tabla se expresa el porcentaje (%) de casos de cada patología o variable. Las variables cuantitativas índice de masa corporal y tiempo de evolución se expresan en la tabla en Kg/m² y años respectivamente.

En la siguiente tabla, se muestran los tratamientos iniciales recibidos por los grupos patológicos estudiados: insulina, tipos de antidiabéticos orales, estatinas, inhibidores del enzima convertora de la angiotensina (IECAs), antagonistas del calcio, antiagregantes y heparina de bajo peso (**tabla 10**).

VARIABLES	CATEGORÍAS		RESULTADOS (%)		
			DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
Fármaco			DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
Insulina		Si	28,17%	14,08%	0 %
		No	9,86%	23,94%	23,94%
Antidiabéticos orales (ADO)		Si	15,49%	23,94%	0 %
		NO	22,54%	14,08%	23,94%
ADO Subtipos	Sulfonilureas	Si	4,23%	9,86%	0 %
		No	33,80%	28,17%	23,94%
	Biguanidas	Si	11,27%	16,90%	0%
		No	26,76%	21,13%	23,94%
	Inhibidores de la α -Glucosidasa	Si	0 %	0 %	0 %
		No	38,03%	38,03%	23,94%
	Tiazolidinedionas	Si	0 %	0 %	0 %
		No	38,03%	38,03%	23,94%
Meglitinidas	Si	1,41%	2,82%	0%	
	No	36,62%	35,21%	23,94%	
Estatinas		Si	11,27%	14,08%	7,04%
		No	26,76%	23,94%	16,90%
Inhibidores del enzima conversora de la angiotensina (IECAs)		Si	8,45%	4,23%	4,23%
		No	29,58%	33,80%	19,72%
Antagonistas del calcio		Si	2,82%	1,41%	4,23%
		No	35,21%	36,62%	19,72%
Antiagregantes		Si	16,90%	11,27%	5,63%
		No	21,13%	26,76%	18,31%
Heparina		Si	0 %	0 %	0 %
		No	37,14%	38,57%	24,29%

Tabla 10: Tratamiento inicial de la población a estudio. En la tabla se expresa el porcentaje (%) de casos dentro de cada grupo respecto al total estudiado que son tratados o no con las diferentes medicaciones.

En las 4 tablas siguientes **tabla 11**, **tabla 12**, **tabla 13** y **tabla 14**, se muestran las variables oftalmológicas y END-POINTS en los diferentes momentos del periodo de seguimiento clínico.

VARIABLES	CATEGORÍAS	RESULTADOS Mediana (Rango) o %		
		DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
AGUDEZA VISUAL	Ojo Derecho	0,10 (0,00 - 0,40)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,60 (0,16 - 0,70)
AGUDEZA VISUAL	Ojo Izquierdo	0,1 (0 - 0,7)	1,00 (0,5 - 1,00)	0,5 (00 - 1,00)
PIO	Ojo Derecho	15,00 (12,00 - 18,00)	14,00 (12,00 - 14,00)	14,00 (13,00 - 17,00)
PIO	Ojo Izquierdo	15,00 (12,00 - 17,00)	14,00 (12,00 - 14,00)	14,00 (12,00 - 16,00)
ISQUEMIA PERIFÉRICA	SI	29,58%	0 %	0%
	NO	8,45%	38,03%	23,94%
ISQUEMIA MACULAR	SI	22,54%	0 %	0 %
	NO	15,49%	38,03%	23,94%
NEOVASOS	SI	26,76%	0 %	0 %
	NO	11,27%	38,03%	23,94%
EMFOCAL	SI	18,31%	0 %	0 %
	NO	19,72%	38,03%	23,94%
EMDIFUSO	SI	23,94%	0 %	0 %
	NO	14,08%	38,03%	23,94%
RUBEOSIS IRIS	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
FONDO DE OJO	0	0 %	38,03%	23,94%
	1	0 %	0 %	0 %
	2	0 %	0 %	0 %
	3	11,27%	0 %	0 %
	4	26,76%	0 %	0 %
FFOCAL	SI	12,68%	0 %	0 %
	NO	25,35%	38,03%	23,94%
FREGILLA	SI	2,82%	0 %	0 %
	NO	35,21%	38,03%	23,94%

PRFC	SI	19,72%	0 %	0 %
	NO	18,31%	38,03%	23,94%
CEGUERA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
VITRECTOMÍA	SI	38,03%	0 %	23,94%
	NO	0 %	38,03%	0 %
RECIDIVA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
REINTERVENCIÓN	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
MUERTE	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%

Tabla 11: Características oftalmológicas al inicio. La agudeza visual se expresa en decimales entre 0 y 1,0, donde 1,0 es igual al 100% de la visión. La PIO (presión intraocular) se expresa en mmHg (milímetros de mercurio). En la variable Fondo de ojo las categorías presentes corresponden por orden a lo siguiente: 0: no RD, 1: RD No proliferante leve, 2: RD No proliferante moderada, 3: RD No Proliferante Grave, 4: RD Proliferante. La variable fondo de ojo y el resto de variables son expresadas en porcentaje (%) de casos dentro de cada grupo respecto al total estudiado que presentan o no la categoría correspondiente.

VARIABLES	CATEGORÍAS	RESULTADOS Mediana (Rango) o %		
		DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
AGUDEZA VIUAL	Ojo Derecho	0,30 (0,10 - 0,70)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,50 (0,30 - 0,70)
AGUDEZA VIUAL	Ojo Izquierdo	0,20 (0,01 - 0,40)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,70 (0,20 - 1,00)
PIO	Ojo Derecho	15,00 (12,00 - 17,00)	14,00 (12,00 - 14,00)	14,00 (12,00 - 18,00)
PIO	Ojo Izquierdo	14,00 (12,00 - 16,00)	14,00 (12,00 - 14,00)	16,00 (12,00 - 17,00)

ISQUEMIA PERIFERICA	SI	7,04%	0 %	0 %
	NO	30,99%	38,03%	23,94%
ISQUEMIA MACULAR	SI	5,63%	0 %	0 %
	NO	32,39%	38,03%	23,94%
NEOVASOS	SI	4,23%	0 %	0 %
	NO	33,80%	38,03%	23,94%
EMFOCAL	SI	18,31%	0 %	0 %
	NO	19,72%	38,03%	23,94%
EMDIFUSO	SI	18,31%	0 %	0 %
	NO	19,72%	38,03%	23,94%
RUBEOSIS IRIS	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
FONDO DE OJO	0	0 %	38,03%	23,94%
	1	0 %	0 %	0 %
	2	0 %	0 %	0 %
	3	7,04%	0 %	0 %
	4	30,99%	0 %	0 %
FFOCAL	SI	1,41%	0 %	0 %
	NO	36,62%	38,03%	23,94%
FREGILLA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
PRFC	SI	12,68%	0 %	0 %
	NO	25,35%	38,03%	23,94%
CEGUERA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
VITRECTOMÍA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	38,03%	38,03%	23,94%
RECIDIVA	SI	0 %	0 %	1,41%
	NO	38,03%	38,03%	22,54%
REINTERVENCIÓN	SI	1,41%	0 %	1,41%
	NO	36,62%	38,03%	22,54%
MUERTE	SI	1,41%	0 %	0 %
	NO	36,62%	38,03%	23,94%

Tabla 12: Características oftalmológicas al mes. La agudeza visual se expresa en decimales entre 0 y 1,0, donde 1,0 es igual al 100% de la visión. La PIO (presión intraocular) se expresa en mmHg (milímetros de mercurio). En la

variable Fondo de ojo las categorías presentes corresponden por orden a lo siguiente: 0: no RD, 1: RD No proliferante leve, 2: RD No proliferante moderada, 3: RD No Proliferante Grave, 4: RD Proliferante. El resto de variables y la variable fondo de ojo son expresadas en porcentaje (%) de casos dentro de cada grupo respecto al total estudiado que presentan o no la categoría correspondiente.

VARIABLES	CATEGORÍAS	RESULTADOS Mediana (Rango) o %		
		DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
AGUDEZA VISUAL	Ojo Derecho	0,40 (0,15 - 0,60)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,50 (0,10 - 0,80)
AGUDEZA VISUAL	Ojo Izquierdo	0,20 (0,05 - 0,40)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,70 (0,30 - 1,00)
PIO	Ojo Derecho	14,00 (12,00 - 16,00)	14,00 (12,00 - 14,00)	14,00 (11,00 - 16,00)
PIO	Ojo Izquierdo	14,00 (12,00 - 16,00)	14,00 (12,00 - 14,00)	15,00 (13,00 - 17,00)
ISQUEMIA PERIFERICA	SI	15,94%	0 %	0 %
	NO	20,29%	39,13%	24,64%
ISQUEMIA MACULAR	SI	7,25%	0 %	0 %
	NO	28,99%	39,13%	24,64%
NEOVASOS	SI	11,59%	0 %	0 %
	NO	24,64%	39,13%	24,64%
EMFOCAL	SI	13,04%	0 %	0 %
	NO	23,19%	39,13%	24,64%
EMDIFUSO	SI	13,04%	0 %	0 %
	NO	23,19%	39,13%	24,64%
RUBEOSIS IRIS	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
FONDO DE OJO	0	0 %	39,13%	24,64%
	1	0 %	0 %	0 %
	2	0 %	0 %	0 %
	3	8,70%	0 %	0 %
	4	27,54%	0 %	0 %

FFOCAL	SI	5,80%	0 %	0 %
	NO	30,43%	39,13%	24,64%
FREGILLA	SI	1,45%	0 %	0 %
	NO	34,78%	39,13%	24,64%
PRFC	SI	8,70%	0 %	0 %
	NO	27,54%	39,13%	24,64%
CEGUERA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
VITRECTOMÍA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
RECIDIVA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
REINTERVENCIÓN	SI	2,90%	0 %	0 %
	NO	33,33%	39,13%	24,64%
MUERTE	SI	1,41%	0 %	0 %
	NO	36,62%	38,03%	23,94%

Tabla 13: Características oftalmológicas a los 6 meses. La agudeza visual se expresa en decimales entre 0 y 1,0, donde 1,0 es igual al 100% de la visión. La PIO (presión intraocular) se expresa en mmHg (milímetros de mercurio). En la variable Fondo de ojo, las categorías presentes corresponden por orden a lo siguiente: 0: no RD, 1: RD No proliferante leve, 2: RD No proliferante moderada, 3: RD No Proliferante Grave, 4: RD Proliferante. El resto de variables y la variable fondo de ojo son expresadas en porcentaje (%) de casos dentro de cada grupo respecto al total estudiado que presentan o no la categoría correspondiente.

VARIABLES	CATEGORÍAS	RESULTADOS Mediana (Rango) o %		
		DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
AGUDEZA VISUAL	Ojo Derecho	0,40 (0,20 - 0,80)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,50 (0,30 - 0,80)
AGUDEZA VISUAL	Ojo Izquierdo	0,20 (0,10 - 0,40)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,60 (0,30 - 1,00)

PIO	Ojo Derecho	15,00 (11,00 - 17,00)	14,00 (13,00 - 14,00)	14,00 (11,00 - 16,00)
PIO	Ojo Izquierdo	14,00 (12,00 - 16,00)	14,00 (12,00 - 14,00)	15,00 (14,00 - 17,00)
ISQUEMIA PERIFERICA	SI	7,25%	0 %	0 %
	NO	28,99%	39,13%	24,64%
ISQUEMIA MACULAR	SI	2,90%	0 %	0 %
	NO	33,33%	39,13%	24,64%
NEOVASOS	SI	7,25%	0 %	0 %
	NO	28,99%	39,13%	24,64%
EMFOCAL	SI	17,39%	0 %	0 %
	NO	18,84%	39,13%	24,64%
EMDIFUSO	SI	8,70%	0 %	0 %
	NO	27,54%	39,13%	24,64%
RUBEOSIS IRIS	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
FONDO DE OJO	0	0 %	39,13%	24,64%
	1	0 %	0 %	0 %
	2	0 %	0 %	0 %
	3	15,94%	0 %	0 %
	4	20,29%	0 %	0 %
FFOCAL	SI	8,70%	0 %	0 %
	NO	27,54%	39,13%	24,64%
FREGILLA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
PRFC	SI	15,94%	0 %	0 %
	NO	20,29%	39,13%	24,64%
CEGUERA	SI	1,45%	0 %	0 %
	NO	34,78%	39,13%	24,64%
VITRECTOMÍA	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
RECIDIVA	SI	1,45%	0 %	0 %
	NO	34,78%	39,13%	24,64%
REINTERVENCIÓN	SI	0 %	0 %	0 %
	NO	36,23%	39,13%	24,64%
MUERTE	SI	1,41%	0 %	0 %
	NO	36,62%	38,03%	23,94%

Tabla 14: Características oftalmológicas a los 12 meses. La agudeza visual se expresa en decimales entre 0 y 1,0, donde 1,0 es igual al 100% de la visión. La PIO (presión intraocular) se expresa en mmHg (milímetros de mercurio). En la variable Fondo de ojo, las categorías presentes corresponden por orden a lo siguiente: 0: no RD, 1: RD No proliferante leve, 2: RD No proliferante moderada, 3: RD No Proliferante Grave, 4: RD Proliferante. El resto de variables y la variable fondo de ojo son expresadas en porcentaje (%) de casos dentro de cada grupo respecto al total estudiado que presentan o no la categoría correspondiente.

A continuación, se muestran en las **tablas 15 y 16** las variables analíticas en el momento de inicio del estudio y al mes, respectivamente.

VARIABLES	RESULTADOS Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
NEUTROFILOS (X1000/microlitro)	3,96 (3,33 - 5,10)	3,60 (3,20 - 4,50)	4,90 (3,85 - 5,35)
LEUCOCITOS (X1000/microlitro)	6,98 (6,30 - 8,60)	6,56 (6,12 - 7,59)	6,51 (5,55 - 7,73)
LINFOCITOS (X1000/microlitro)	2,10 (1,70 - 3,00)	2,10 (1,70 - 2,50)	1,86 (1,50 - 2,12)
ALBUMINA (g/L)	45,00 (38,00 - 46,10)	46,00 (44,30 - 48,00)	46,00 (44,30 - 47,00)
COLESTEROL TOTAL (mgr/dL)	178,00 (165,00 - 226,00)	182,00 (169,00 - 207,00)	181,00 (170,00 - 189,00)
HDL (mgr/dL)	49,00 (42,50 - 60,50)	52,00 (46,00 - 61,00)	50,00 (46,00 - 51,00)
LDL (mgr/dL)	99,00 (92,00 - 121,50)	106,00 (90,00 - 132,00)	99,00 (98,00 - 102,00)
GLUCEMIA(mgr/dL)	139,00 (118,00 - 172,00)*	178,00 (130,00 - 230,00)*	100,00 (97,00 - 104,00)
HbA1c (%)	7,90 (7,00 - 10,10)*	7,00 (6,50 - 8,60)*	4,70 (4,20 - 5,10)
HEMATOCRITO (%)	40,30 (35,50 - 43,80)	41,70 (39,80 - 42,90)	39,70 (39,00 - 40,80)
UREA (mgr/dL)	44,00 (33,00 - 53,00)	35,00 (28,00 - 43,00)	36,00 (29,00 - 42,00)

CREATININA (mgr/dL)	0,94 (0,84 - 1,29)*	0,78 (0,70 - 0,87)†	0,80 (0,60 - 0,90)
Na (mmol/L)	139,00 (136,00 - 141,00)	141,00 (138,00 - 143,00)*	136,00 (135,00 - 138,00)
K (mmol/L)	4,20 (4,00 - 4,80)*	4,60 (4,30 - 4,80)*	3,90 (3,80 - 4,00)

Tabla 15: Resultados al inicio. En la columna de las variables se muestran los diferentes tipos de variables estudiadas en la analítica sanguínea con su unidad de expresión al lado entre paréntesis. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

VARIABLES	RESULTADOS		
	DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano
NEUTROFILOS (X1000/microlitro)	3,56 (3,22 - 4,10)	3,81 (3,18 - 4,55)	4,38 (3,48 - 5,20)
LEUCOCITOS (X1000/microlitro)	6,90 (5,60 - 8,10)	7,32 (6,37 - 9,12)	7,43 (6,20 - 8,07)
LINFOCITOS (X1000/microlitro)	2,10 (1,80 - 2,40)	2,57 (1,98 - 3,17) ð	2,03 (1,79 - 2,31)
ALBUMINA (g/L)	45,00 (41,00 - 46,20)	46,20 (44,30 - 46,80)	45,00 (43,15 - 46,50)
COLESTEROL TOTAL (mgr/dL)	176,00 (155,00 - 199,00)	193,00 (172,00 - 220,00) ð	194,00 (173,00 - 212,00)
HDL (mgr/dL)	50,00 (45,00 - 56,00)	52,00 (45,00 - 66,00)	56,00 (45,00 - 60,00)
LDL (mgr/dL)	96,00 (88,00 - 99,00)*	121,00 (93,00 - 136,00) †	107,50 (101,00 - 128,00)
GLUCEMIA (mgr/dL)	151,00 (117,00 - 214,00)*	141,00 (111,00 - 200,00)*	102,50 (90,00 - 107,00)
HbA1c (%)	8,40 (7,10 - 9,90)*	6,90 (6,50 - 8,30)* †	5,50 (4,90 - 5,80) ð
HEMATOCRITO (%)	38,60	44,00	43,00

	(36,90 - 40,00)	(41,50 - 45,00) † δ	(38,20 - 44,70)
UREA (mgr/dL)	45,00 (37,00 - 55,00)	35,00 (29,00 - 39,00) †	41,00 (29,00 - 44,00)
CREATININA (mgr/dL)	0,99 (0,89 - 1,22)*	0,79 (0,71 - 0,92) †	0,73 (0,70 - 0,82)
Na (mmol/L)	141,00 (137,00 - 142,00)	142,00 (140,00 - 144,00)	141,50 (140,00 - 143,00) δ
K (mmol/L)	4,10 (4,00 - 4,60)	4,70 (4,30 - 5,10) †	4,30 (4,10 - 4,70)

Tabla 16: Resultados al mes. En la columna de las variables se muestran los diferentes tipos de variables estudiadas en la analítica sanguínea con su unidad de expresión al lado entre paréntesis. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

δ $p < 0,05$: Diferencias significativas entre basal y 1 mes de cada grupo

En la analítica al inicio en los pacientes tanto diabéticos con retinopatía como sin retinopatía se encuentran diferencias significativas con los controles sanos básicamente en la glucemia, hemoglobina glicosilada y potasio. En la analítica al mes, entre pacientes y controles sanos se hallan las mismas diferencias significativas en las variables glucemia y hemoglobina glicosilada, como era de esperar por las características de los pacientes, no así en potasio. En esta última analítica realizada al mes, también se hallan diferencias significativas entre los grupos de pacientes DM con RDP y DM sin RD en las variables colesterol LDL, hemoglobina glicosilada, hematocrito, urea, creatinina y potasio. En lo referente a las diferencias de cada una de las variables entre su valor analítico inicial y al mes en su mismo grupo examinado, se encuentran diferencias significativas en el grupo de DM sin RD en: linfocitos, colesterol total y hematocrito, y en grupo de Controles sanos en las variables hemoglobina glicosilada y sodio.

4.2 ANÁLISIS DE LAS CITOQUINAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO

A continuación se describen los resultados obtenidos al inicio del estudio al valorar la concentración de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias presente tanto a nivel sérico como en humor vítreo, y el análisis de las diferencias encontradas en los grupos de pacientes y de controles.

Los resultados han sido divididos en dos apartados acorde a los objetivos propuestos: en función de la respuesta del sistema inmune innato (IL-1 β , IL-6, IL-12p70, TNF- α) o de la respuesta del sistema inmune adaptativo dirigido por los linfocitos T colaboradores (IFN- γ , IL-4, IL-9, IL-10, IL-17A, IL-22).

Dado el número de variables y de grupos estudiados, se han realizado las correspondientes comparaciones estadísticas siguiendo siempre la siguiente estrategia:

1. Comparación de las concentraciones en suero de citoquinas entre los 3 grupos.
2. Comparación de las concentraciones en humor vítreo de citoquinas entre los 2 grupos vitrectomizados.

4.2.1 Mediadores inmunológicos producidos por células pertenecientes al sistema inmune innato (monocitos, macrófagos y células dendríticas)

4.2.1.1 Valoración de las concentraciones de IL-1 β

CITOQUINA	RESULTADOS Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-1 β en suero	136,8 (98,4- 171,9) * p=0,000	116,3 (107,3- 139,1) * p=0,000	89,5 (76,3- 101,7)
IL-1 β en humor vítreo	148,4 (123,1- 171,9) * p=0,000	-	111,8 (96,2- 118,6)

Tabla 17: Valores de IL-1 β (pg/ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el estudio de las concentraciones de IL-1 β (pg/ml) se han presentado valores significativamente aumentados en suero en el grupo de pacientes con retinopatía diabética proliferante (DM con RDP) con respecto de los controles sanos. Además también se han hallado valores significativamente aumentados de IL-1 β en el grupo de pacientes diabéticos sin retinopatía diabética (DM sin RD) con respecto del grupo de controles sanos (**tabla 17, figura 8**).

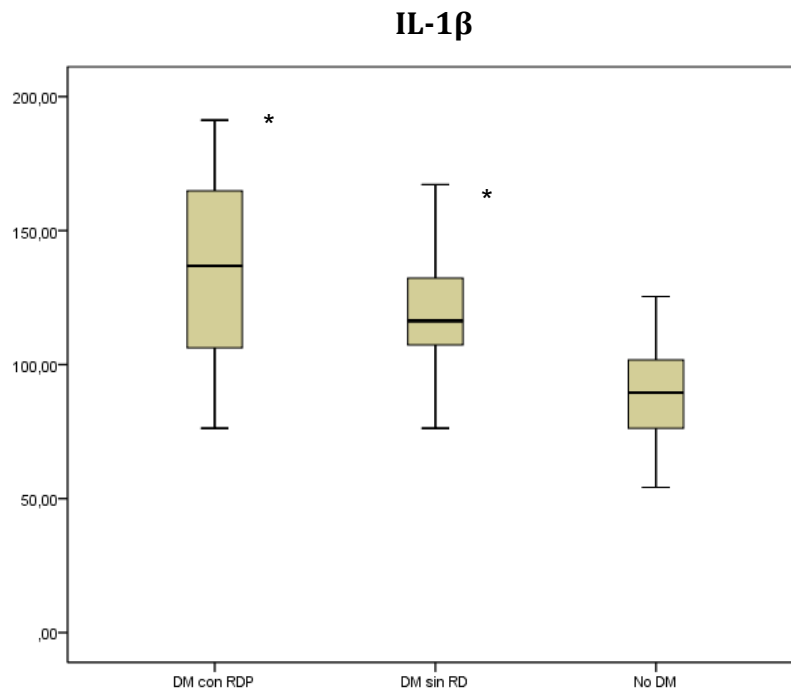


Fig. 8: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-1 β (pg/ml) en el suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

El estudio de los niveles de IL-1 β en humor vítreo ha mostrado valores incrementados de manera significativa en los pacientes DM con RDP con respecto de los controles sanos (**tabla 17, figura 9**).

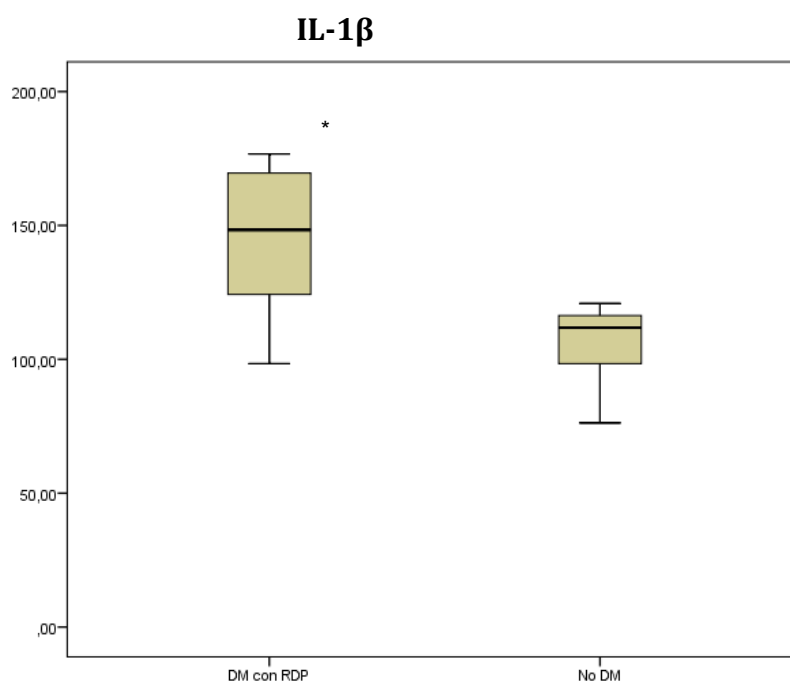


Fig. 9: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-1 β (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.1.2 Valoración de las concentraciones de IL-6

CITOQUINA	RESULTADOS Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-6 en suero	57,9 (44,9- 84,7) * $p=0,001$	38,5 (33,7- 44,1) † $p=0,000$	40,1 (36,9- 52,6)
IL-6 en humor vítreo	168,6 (104,3- 684,5) * $p=0,002$	-	108,0 (47,4- 219,7)

Tabla 18: Valores de IL-6 (pg/ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Los pacientes con DM con RDP han presentado valores significativamente aumentados en la concentración de IL-6 (pg/ml) presente en suero respecto del grupo de pacientes controles sanos. Además, también se han encontrado valores significativamente incrementados de IL-6 en el grupo de pacientes DM con RDP con respecto a los pacientes con DM sin RD (**tabla 18, figura 10**).

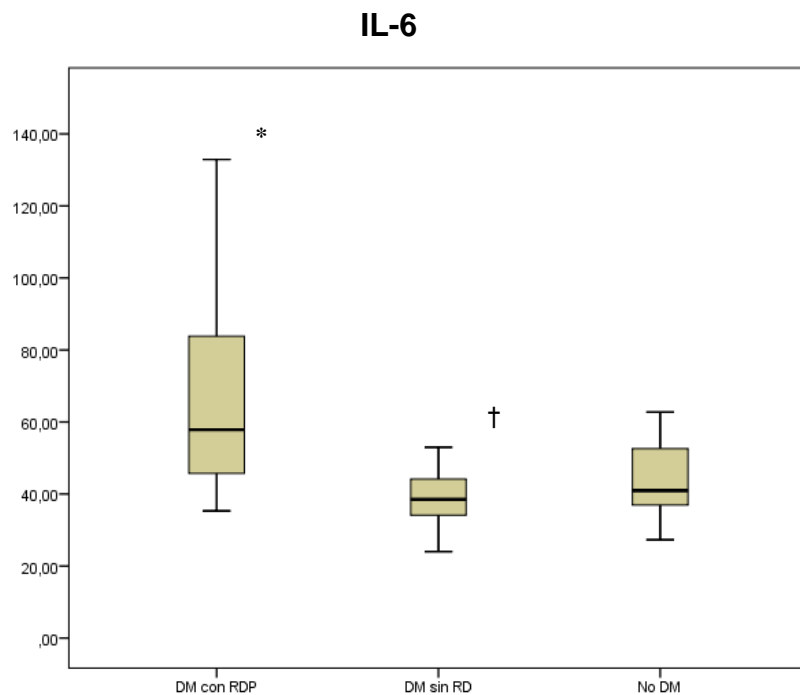


Fig. 10: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-6 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto a los controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el estudio de los niveles de IL-6 en humor vítreo se han mostrado valores incrementados de manera significativa en los pacientes DM con RDP respecto de los controles sanos (**tabla 18, figura 11**).

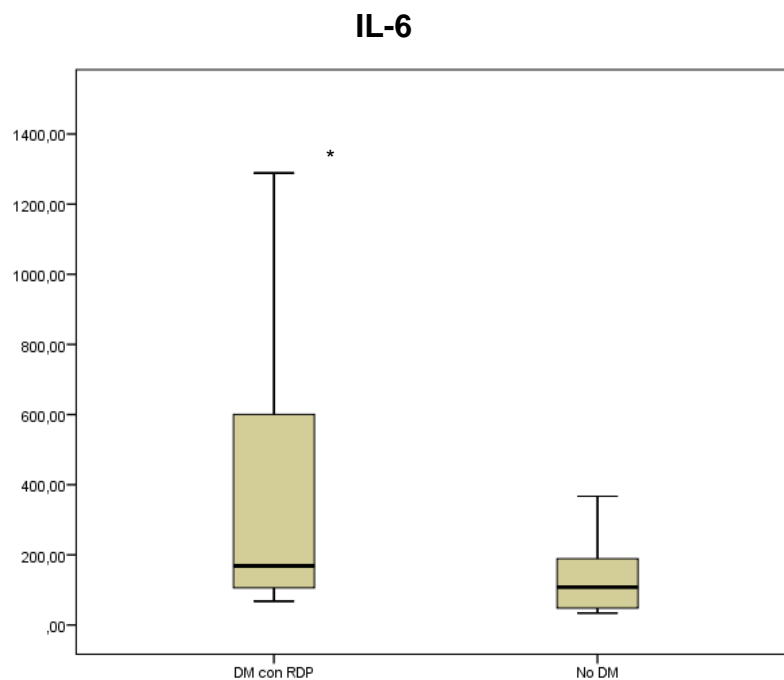


Fig. 11: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-6 (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los controles sanos.

4.2.1.3 Valoración de las concentraciones de IL-12p70

CITOQUINA	RESULTADOS		
	Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-12p70 en suero	217,8 (156,0- 305,7) * p=0,009	186,6 (143,8- 265,9) * p=0,044	131,7 (110,7- 206,8)
IL-12p70 en humor vítreo	217,8 (186,6- 322,7) * p=0,004	-	171,2 (156,0- 183,6)

Tabla 19: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el estudio en las concentraciones de IL-12p70 (pg/ml) han presentado valores significativamente aumentados en suero en el grupo de pacientes con retinopatía diabética proliferante con respecto de controles sanos. Además, también se han encontrado valores significativamente más elevados de IL-12p70 en el grupo de pacientes diabéticos sin retinopatía diabética con respecto del grupo de controles sanos (**tabla 19, figura 12**).

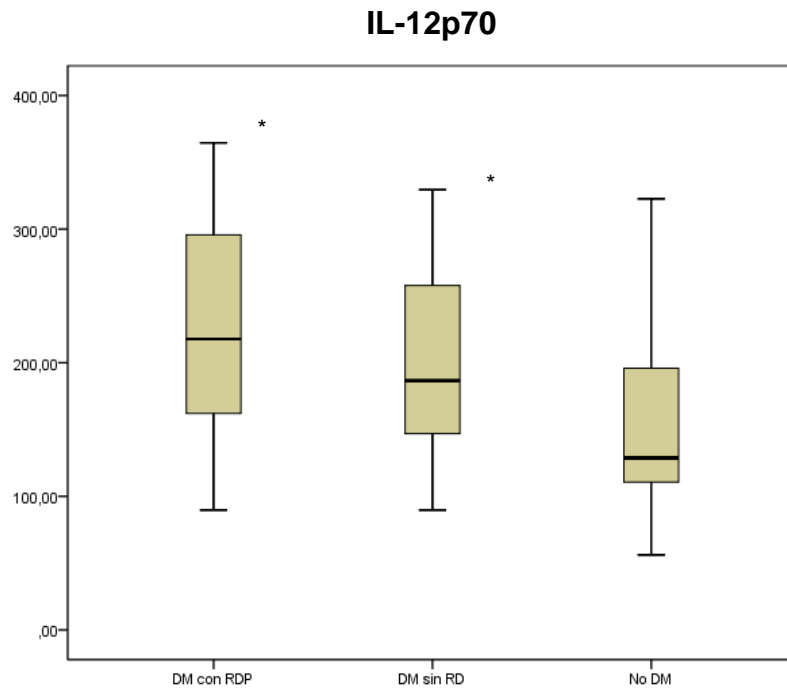


Fig. 12: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-12p70 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el estudio de los niveles de IL-12p70 en humor vítreo los pacientes DM con RDP han mostrado valores incrementados de manera significativa en respecto de los controles sanos (**tabla 19, figura 13**).

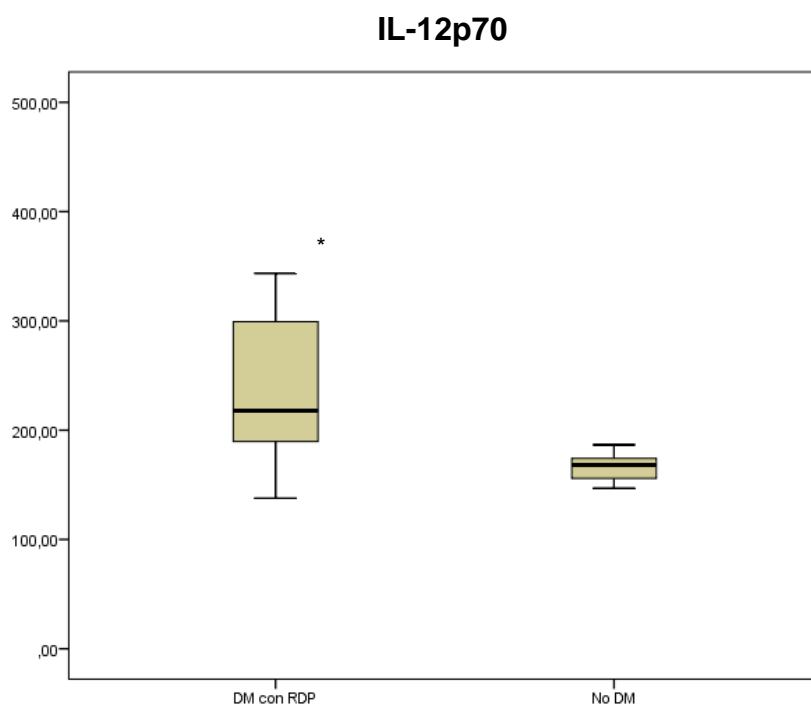


Fig. 13: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-12p70 (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.1.4 Valoración de las concentraciones de IL-13

CITOQUINA	RESULTADOS		
	Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-13 en suero	422,7 (385,3- 481,9) * $p=0,000$	413,6 (375,3- 431,6) † $p=0,000$	338,3 (283,2- 370,2)
IL-13 en humor vítreo	465,7 (422,7- 513,3) * $p=0,000$	-	375,3 (346,5- 409,0)

Tabla 20: Valores de IL-13 (pg/ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Si analizamos las concentraciones de IL-13 (pg/ml) en suero, se han presentado valores significativamente aumentados en el grupo de pacientes diabéticos con RDP con respecto del grupo de controles sanos, hallando también valores significativamente aumentados de IL-13 en el grupo de pacientes con retinopatía diabética proliferante con respecto de DM sin RD (tabla 20, figura 14).

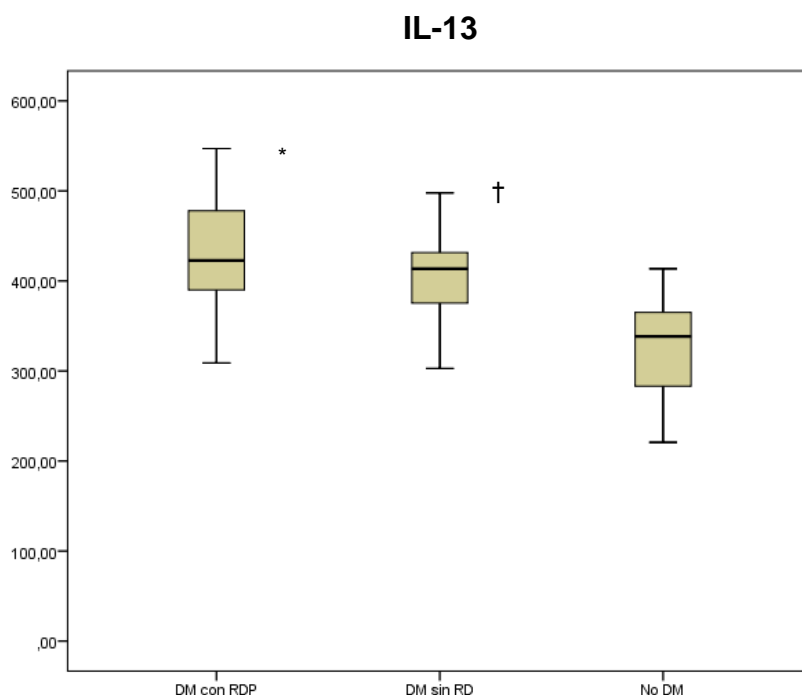


Fig. 14: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-13 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Si comparamos los valores de IL-13 (pg/ml) en humor vítreo se pueden apreciar valores significativamente incrementados en DM con RDP respecto a controles sanos (**tabla 20, figura 15**).

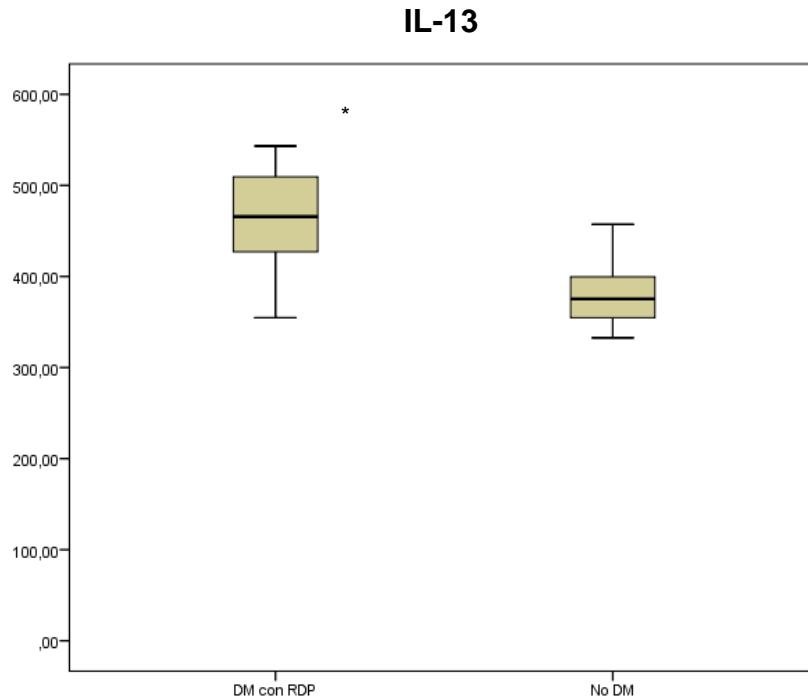


Fig. 15: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-13 (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.1.5 Valoración de las concentraciones de TNF- α

CITOQUINA	RESULTADOS		
	Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
TNF- α en suero	344,9 (288,8- 379,5) * p=0,000	288,8 (245,2- 327,9) * p=0,000 † p=0,007	223,8 (189,7- 277,8)
TNF- α en humor vítreo	379,5 (288,8- 426,8) * p= 0,000	-	266,9 (245,2- 299,9)

Tabla 21: Valores de TNF- α (pg/ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Por último, se puede observar que al analizar las concentraciones de TNF- α (pg/ml) en suero se hallan valores significativamente aumentados en DM con o sin RDP frente a controles sanos, y también, se encuentran valores significativamente elevados en los DM con RDP con respecto a DM sin RD (**tabla 21, figura 16**).

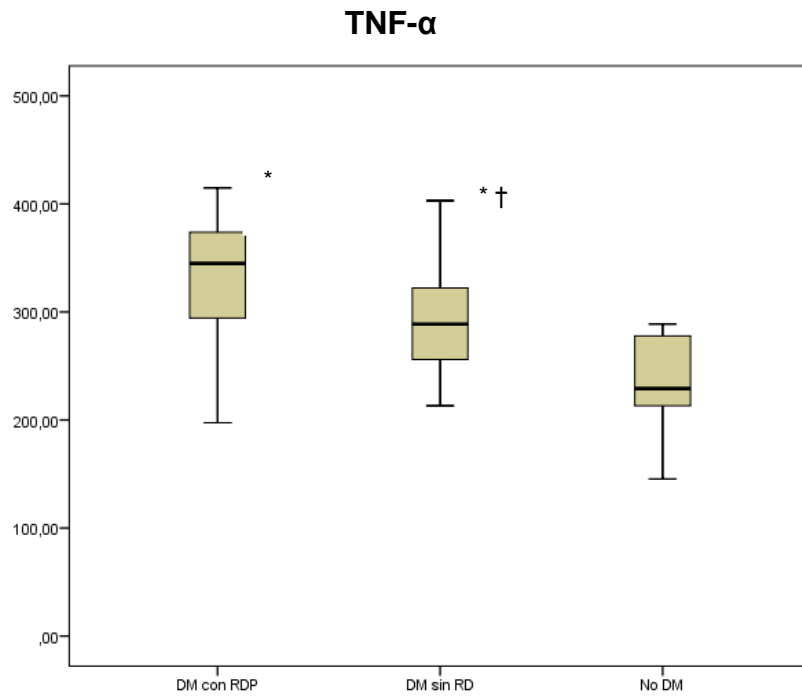


Fig. 16 Diagramas de caja de las concentraciones de TNF- α (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Si se analizan las concentraciones de TNF- α (pg/ml) en humor vítreo se aprecian valores significativamente incrementados en los DM con RDP con respecto a los controles sanos (**tabla 21, figura 17**).

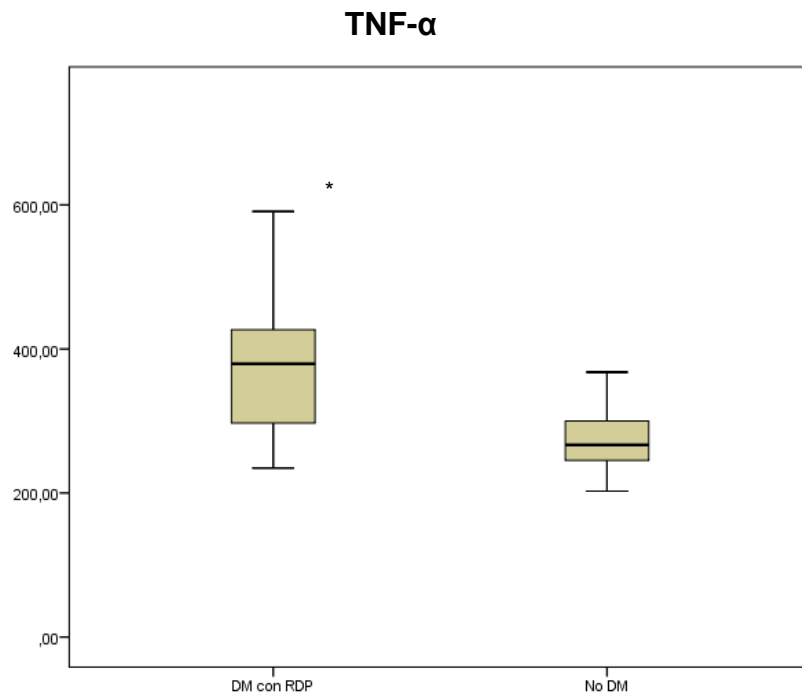


Fig. 17: Diagramas de caja de las concentraciones de TNF- α (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2 Mediadores inmunológicos producidos por el sistema inmune adaptativo dependiente de las células T colaboradoras.

4.2.2.1 Valoración de las concentraciones de IFN- γ

CITOQUINA	RESULTADOS Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IFN- γ en suero	2.012,3 (1.765,8- 2.227,1); * p=0,000	1.664,1 (1.533,7- 1.963,8) * p=0,005 † p=0,016	1.398,6 (1.078,4- 1.573,0)
IFN- γ en humor vítreo	1.914,9 (1.612,4- 2.529,4); * p=0,008	-	1.664,1 (1.243,4- 1.816,1)

Tabla 22: Valores de IFN- γ (pg/ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Si se analizan las concentraciones de IFN- γ (pg/ml) en suero, se han presentado valores significativamente aumentados en ambos grupos de pacientes respecto los controles sanos, encontrando también valores significativamente aumentados los pacientes con DM con RDP con respecto a los pacientes DM sin RD (**tabla 22, figura 18**).

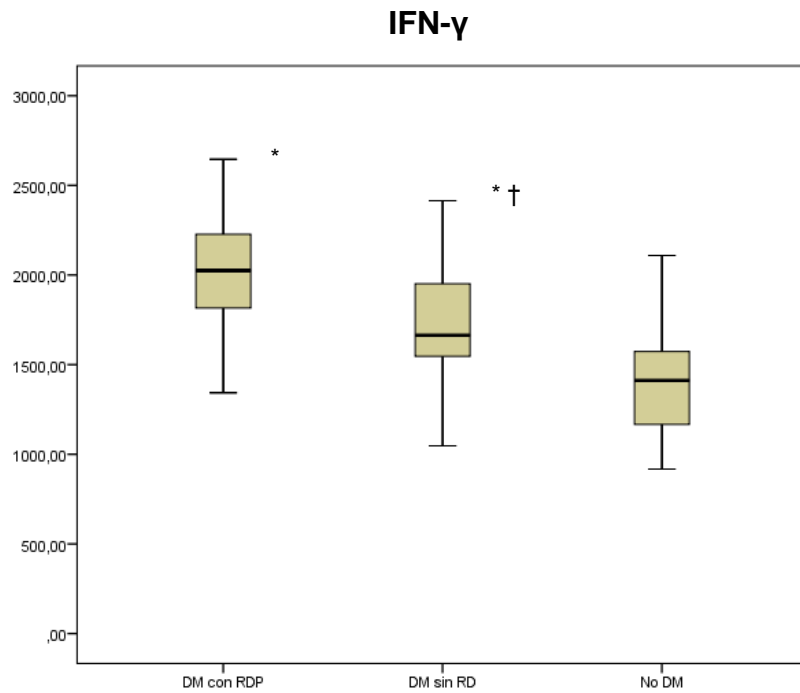


Fig. 18: Diagramas de caja de las concentraciones de IFN- γ (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Si se comparan los valores de IFN- γ (pg/ml) en humor vítreo se hallan valores significativamente incrementados en los DM con RDP con respecto a los controles sanos (**tabla 22, figura 19**).

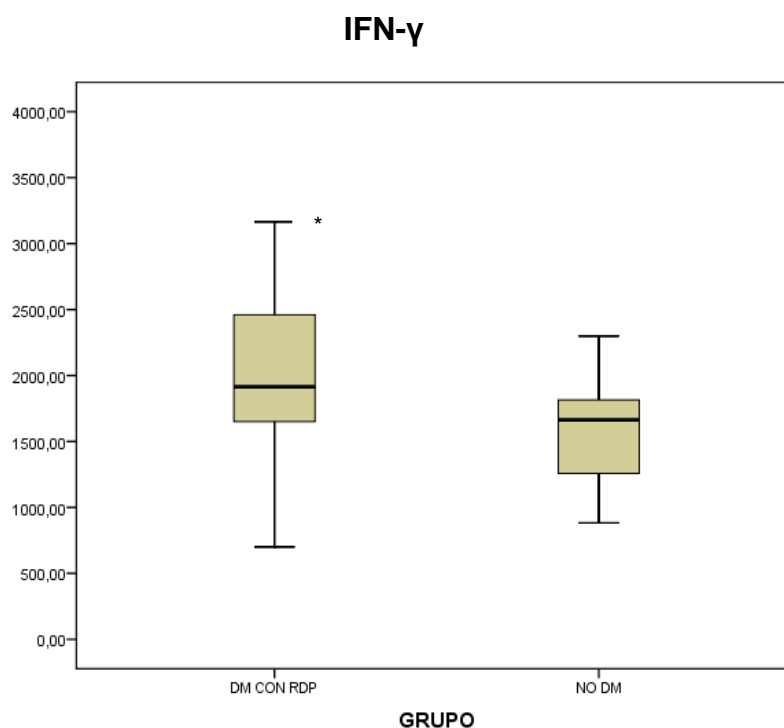


Fig. 19: Diagramas de caja de las concentraciones de IFN- γ (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2.2 Valoración de las concentraciones de IL-4

	RESULTADOS		
	Mediana (Rango)		
CITOQUINA	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-4 en suero	746,8 (685,5- 814,1) * $p=0,000$	733,7 (678,3- 784,3) * $p=0,002$	640,2 (585,5- 703,2)
IL-4 en humor vítreo	831,4 (746,8- 875,8) * $p=0,000$	-	685,5 (640,2- 706,7)

Tabla 23: Valores de IL-4 (pg/ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el estudio en las concentraciones de IL-4 (pg/ml) se han presentado valores significativamente aumentados en suero en el grupo de pacientes (DM con RDP y DM sin RD) con respecto de controles sanos. (**tabla 23, figura 20**).

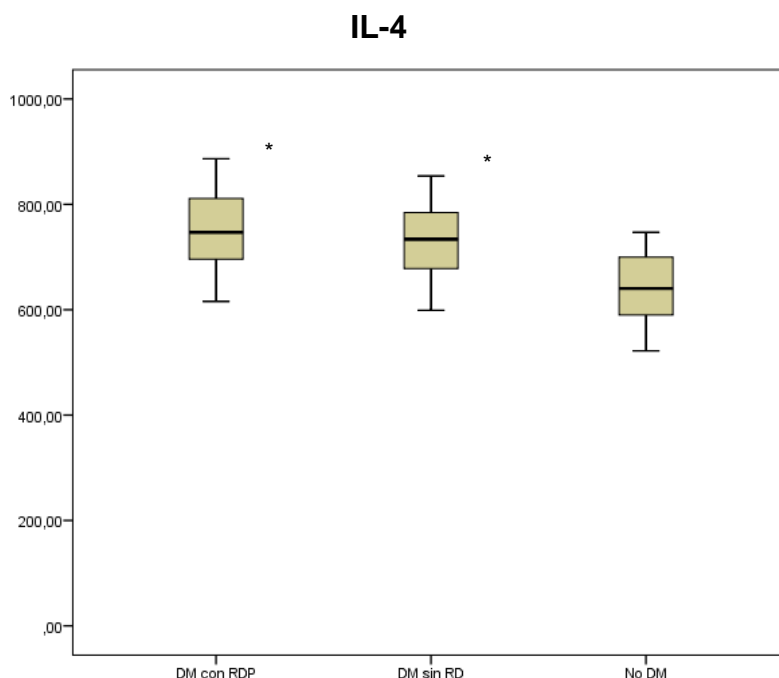


Fig. 20: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-4 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el caso del estudio de la concentraciones de IL-4 en humor vítreo han mostrado valores incrementados de manera significativa en los pacientes DM con RDP respecto de los controles sanos (**tabla 23, figura 21**).

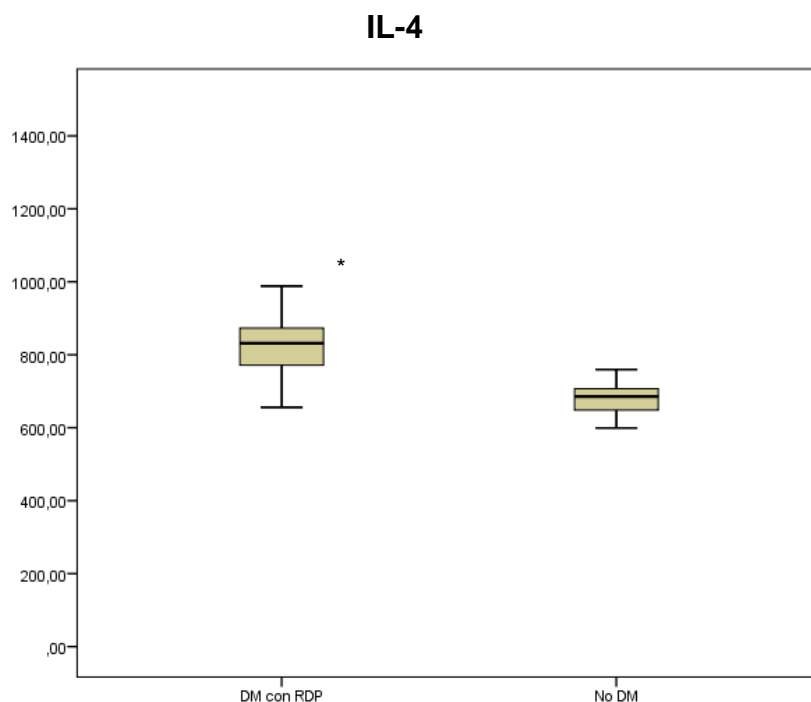


Fig. 21: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-4 (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2.3 Valoración de las concentraciones de IL-17A

CITOQUINA	RESULTADOS		
	Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-17A en suero	1.079,2 (860,6- 1.230,2) * $p=0,002$	979,4 (860,6- 1.079,2) * $p=0,038$	860,6 (650,1- 1.043,9)
IL-17A en humor vítreo	1.203,1 (1.051,0- 1.336,9) * $p=0,000$	-	979,4 (860,3- 1.065,1)

Tabla 24: Valores de IL-17A (pg./ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Al estudiar las concentraciones de IL-17A (pg./ml) en suero se han encontrado valores significativamente incrementados en el grupo de pacientes (DM con RDP y DM sin RD) con respecto del grupo de controles sanos (**tabla 24, figura 22**).

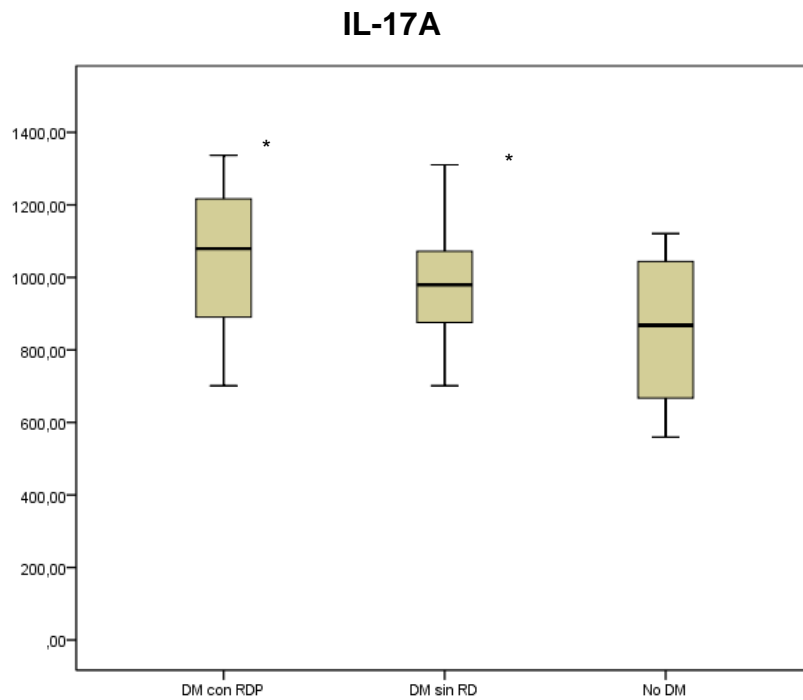


Fig. 22: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-17A (pg./ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el humor vítreo, también se han mostrado valores aumentados de manera significativa en los pacientes DM con RDP respecto de los controles sanos en el estudio de los niveles de IL-17A (tabla 24, figura 23).

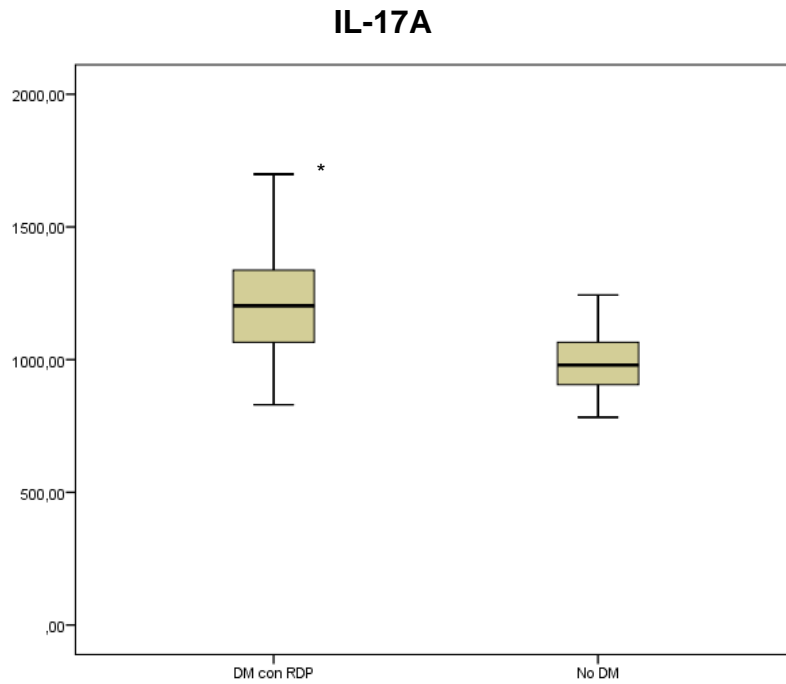


Fig. 23: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-17A (pg./ml) en vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2.4 Valoración de las concentraciones de IL-10

CITOQUINA	RESULTADOS		
	Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-10 en suero	241,3 (202,4- 268,5) * p=0,001	210,2 (163,0- 249,1) † p=0,044	171,0 (141,0- 200,4)
IL-10 en humor vítreo	280,1 (206,3- 307,4) * p=0,000	-	186,7 (145,0- 214,1)

Tabla 25: Valores de IL-10 (pg./ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Al analizar las concentraciones de IL-10 (pg./ml) en suero se han presentado valores significativamente aumentados en diabéticos con RDP frente al grupo de controles sanos, hallando también valores significativamente mayores de IL-10 los pacientes con DM con RDP con respecto a DM sin RD (**tabla 25, figura 24**).

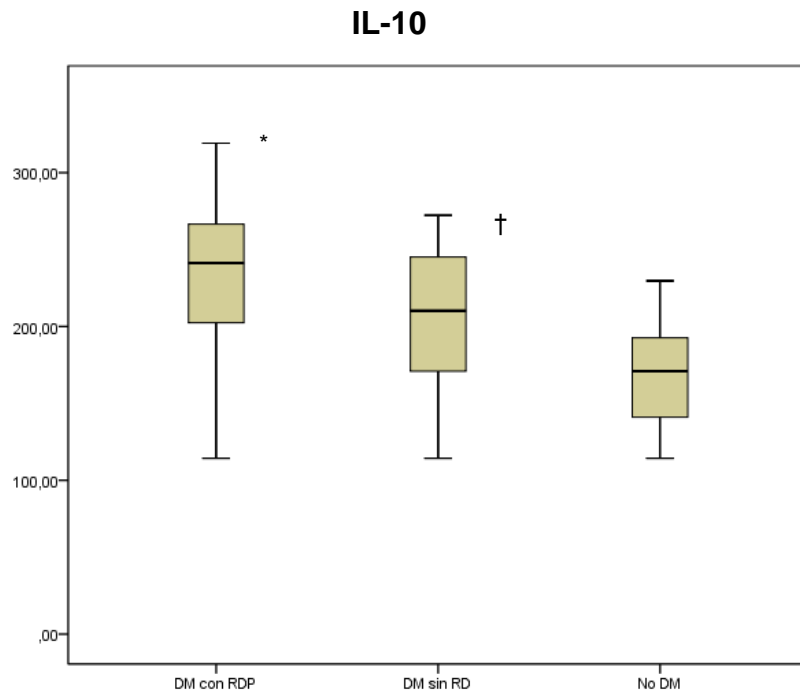


Fig. 24: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-10 (pg./ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Del análisis de las concentraciones de IL-10 en humor vítreo se desprende que existen valores significativamente incrementados en los pacientes DM con RDP con respecto a los controles sanos (**tabla 25, figura 25**).

IL-10

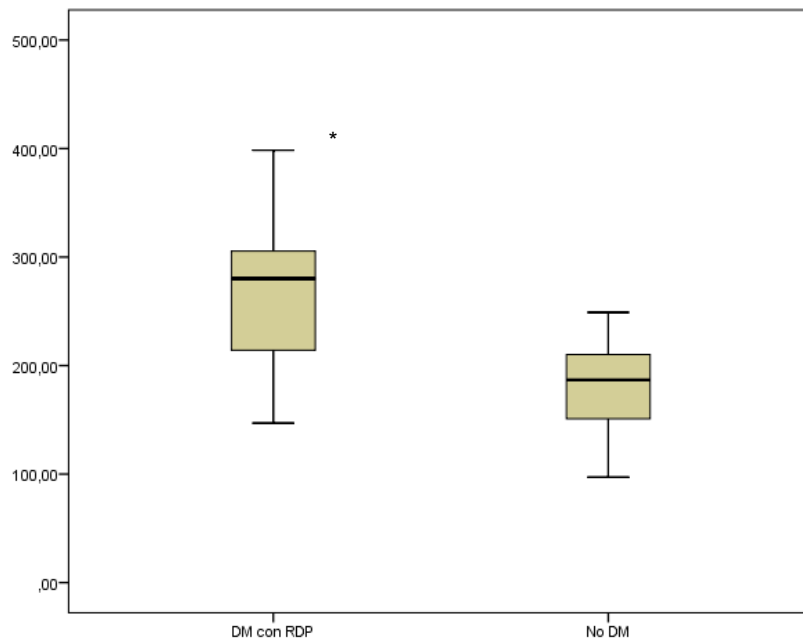


Fig. 25: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-10 (pg./ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2.5 Valoración de las concentraciones de IL-9

CITOQUINA	RESULTADOS		
	Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-9 en suero	59,8 (46,7- 83,6) * $p=0,006$	50,5 (38,9- 59,8)	40,9 (33,8- 53,3)
IL-9 en humor vítreo	84,6 (63,5- 98,4)	-	83,6 (74,5- 93,8)

Tabla 26: Valores de IL-9 (pg./ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el estudio de las concentraciones de IL-9 (pg./ml) en suero se han presentado valores significativamente aumentados en el grupo de pacientes con RDP con respecto de los controles sanos (**tabla 26, figura 26**).

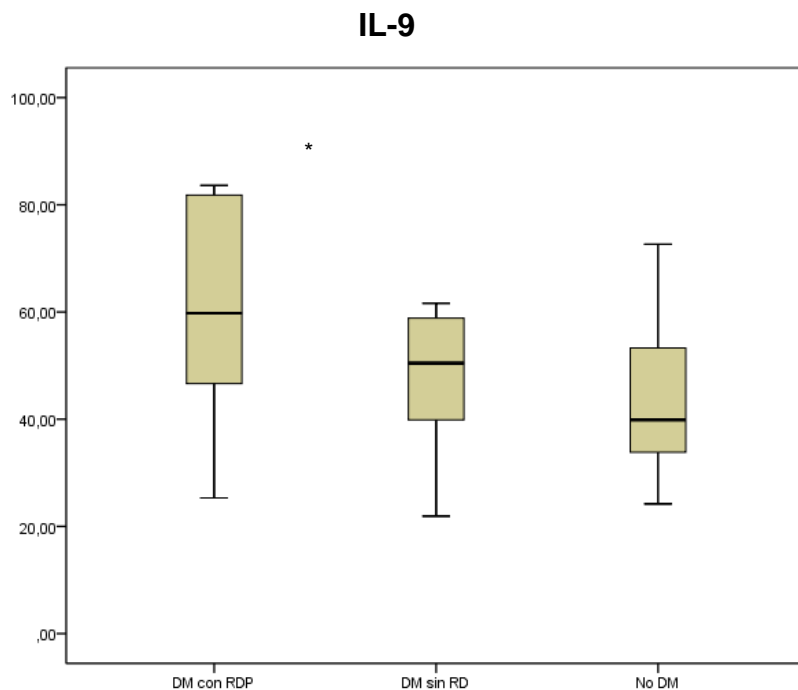


Fig. 26: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-9 (pg./ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

No se han hallado diferencias significativas en el estudio de las concentraciones de IL-9 (pg./ml) en humor vítreo (**tabla 26 figura 27**).

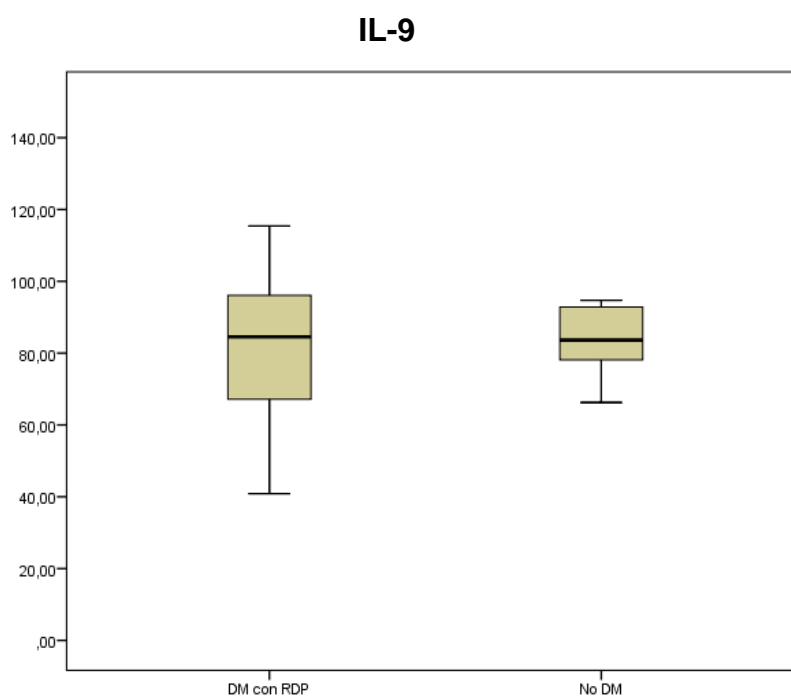


Fig. 27: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-9 (pg./ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2.6 Valoración de las concentraciones de IL-22

CITOQUINA	RESULTADOS Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-22	1.527,2 (1.183,8- 1.739,1) * $p=0,005$	1.183,8 (1.008,0- 1.356,6) † $p=0,006$	1.096,2 (984,7- 1.345,9)
IL-22	1.484,9 (1.227,4- 2.035,0)	-	1.335,2 (1.183,8- 1.410,1)

Tabla 27: Valores de IL-22 (pg./ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Al analizar las concentraciones de IL-22 (pg./ml) en suero se encuentran valores significativamente aumentados en los DM con RDP frente a los controles sanos. También se hallan diferencias significativas con valores incrementados en los DM con RDP con respecto a los DM sin RD (**tabla 27, figura 28**).

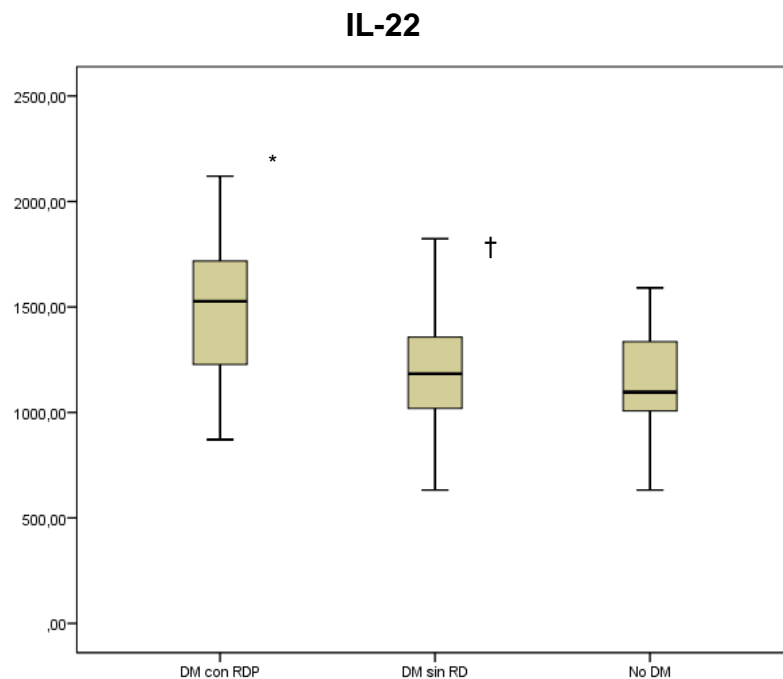


Fig. 28: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-22 (pg./ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

No se han encontrado diferencias significativas en humor vítreo en el estudio de las concentraciones de IL-22 (pg./ml) (**tabla 27, figura 29**).

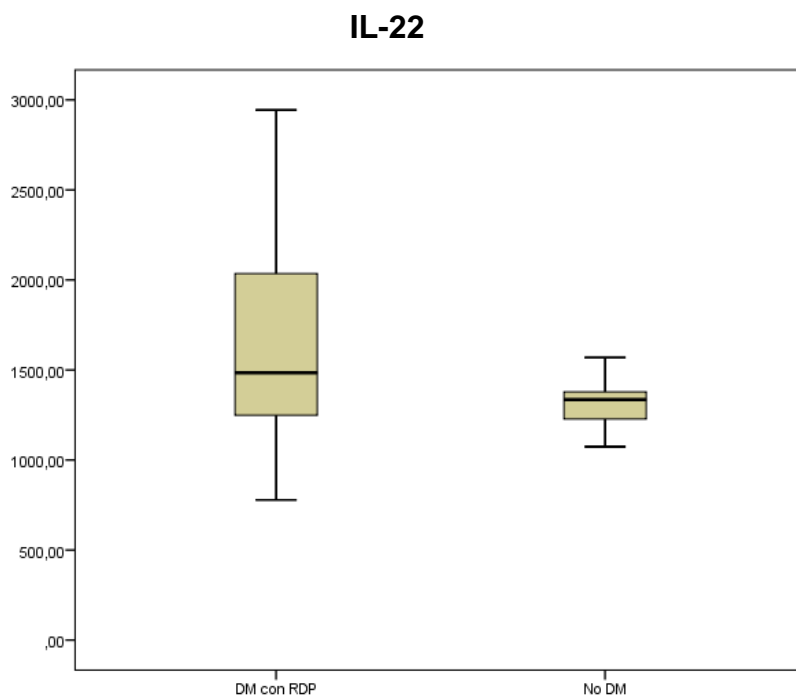


Fig. 29: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-22 (pg./ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2.7 Valoración de las concentraciones de IL-2

CITOQUINA	RESULTADOS Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-2 en suero	574,2 (485,8- 641,1) * p=0,000	517,9 (485,7- 549,4) * p=0,006	432,7 (398,0- 514,7)
IL-2 en humor vítreo	617,0 (555,6- 683,0) * p=0,000	-	472,7 (432,6- 505,1)

Tabla 28: Valores de IL-2 (pg./ml) en suero y en humor vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Al analizar las concentraciones de IL-2 (pg./ml) en suero se encuentran valores significativamente aumentados en pacientes (DM con RDP y DM sin RD) con respecto a los controles sanos (tabla 28, figura 30).

IL-2

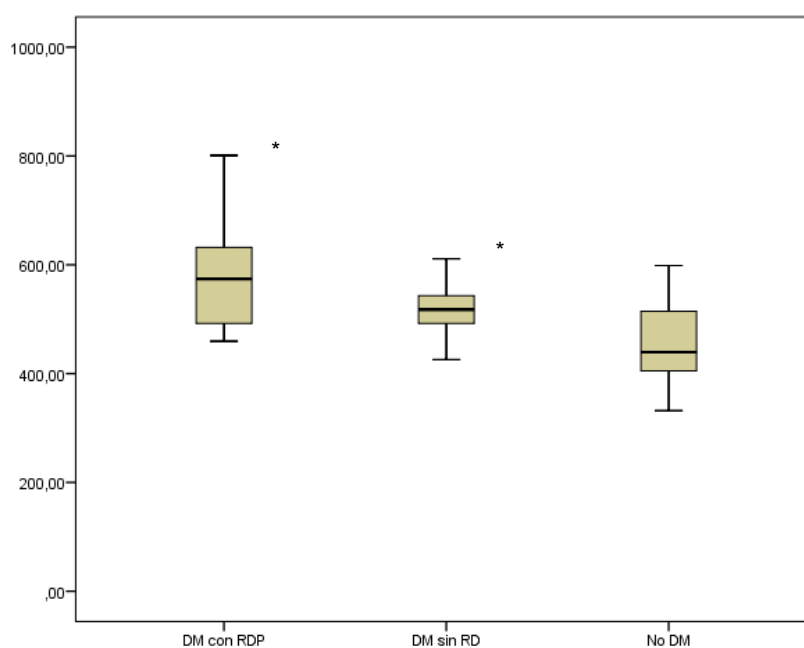


Fig. 30: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-2 (pg./ml) en suero en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En el estudio de las concentraciones de IL-2 (pg./ml) en humor vítreo se han encontrado valores significativamente más elevados en DM con RDP con respecto a controles sanos (**tabla 28, figura 31**).

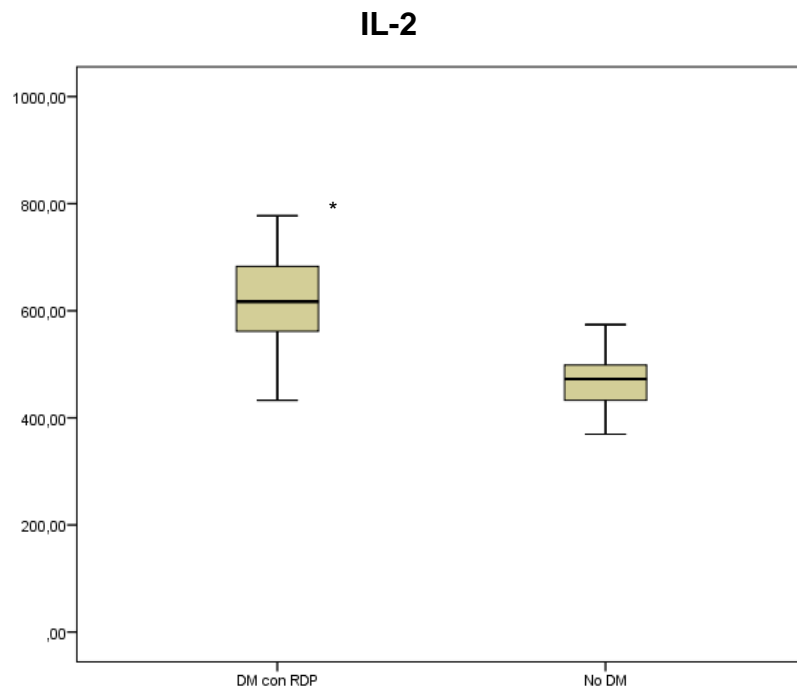


Fig. 31: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-2 (pg./ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

4.2.2.8 Valoración de las concentraciones de IL-5

CITOQUINA	RESULTADOS Mediana (Rango)		
	DM con RDP	DM sin RD	Control sano
IL-5 en suero	347,8 (310,9- 406,9) * p=0,000	327,0 (282,9- 368,0) * p=0,000	246,7 (199,6- 282,9)
IL-5 en humor vítreo	406,9 (358,0- 453,5) * p=0,000	-	294,3 (259,3- 316,3)

Tabla 29: Valores de IL-5 (pg./ml) en suero y en vítreo en los tres grupos. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD respecto Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Por último, se puede observar que las concentraciones de IL-5 (pg./ml) en suero se encuentran significativamente aumentadas en los pacientes (DM con RDP y DM sin RD) con respecto a los controles sanos (**tabla 29, figura 32**).

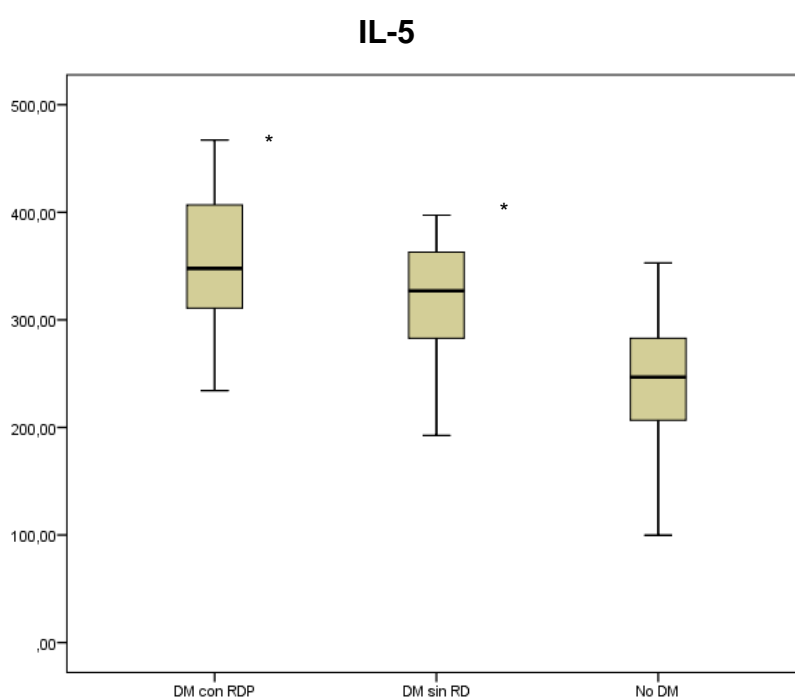


Fig. 32: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-5 (pg./ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 3 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En la comparación de las concentraciones de IL-5 (pg./ml) en humor vítreo se han hallado valores significativamente incrementados en DM con RDP con respecto a los controles sanos (**tabla 29, figura 33**).

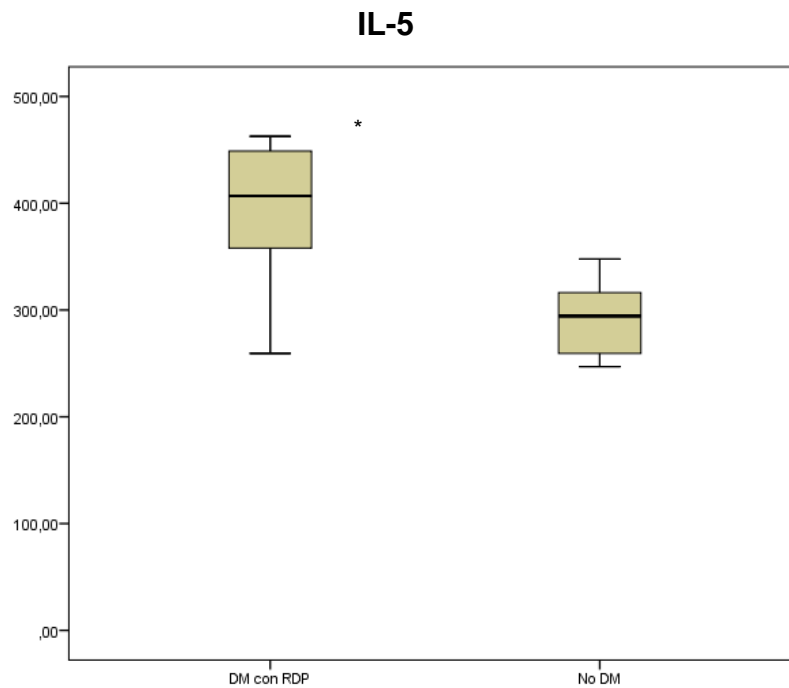


Fig. 33: Diagramas de caja de las concentraciones de IL-5 (pg./ml) en humor vítreo en los tres grupos de estudio. Se muestran los valores de la citoquina en el eje de ordenadas, mientras en el eje de abscisas se representan los 2 grupos del estudio.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP con respecto a los Controles sanos.

En las **tablas 30 y 31**, a modo de resumen, se muestran cada una de las citoquinas estudiadas en los dos grupos de sistemas inmunes de los que participan, así como las diferencias estadísticas que han sido halladas.

Citoquinas proinflamatorias predominantemente producidas por las células del sistema inmune innato				
Citoquinas (pg./ml)	DM con RDP	DM sin retinopatía	Control sano	p
Suero				
IL-1β	136,82 (98,42 - 171,91) *	116,33 (107,33 - 139,12) *	89,51 (76,25 - 100,63)	0,000
IL-6	57,85 (44,94 - 84,69) *	38,54 (33,73 - 44,14) †	40,14 (36,94 - 50,56)	0,000
IL-12p70	217,78 (155,95 - 305,72) *	186,58 (143,82 - 265,91) *	131,74 (113,69 - 202,11)	0,025
IL-13	422,70 (385,26 - 481,94) *	413,64 (375,34 - 431,59) †	332,69 (283,15 - 354,68)	0,000
TNF-α	344,92 (288,83 - 379,50) *	288,83 (245,24 - 327,90) *	223,83 (213,21 - 277,83)	0,000
Humor vítreo				
IL-1β	1.914,88 (1.612,3 - 2.529,3) *		1.664,08 (1.257,9 - 1.815,9)	0,000
IL-6	168,59 (104,2 - 684,5) *		107,95 (48,15 - 189,10)	0,020
IL-12p70	217,81 (186,58 - 322,69) *		171,21 (155,95 - 180,53)	0,004
IL-13	465,66 (422,70 - 513,29) *		375,34 (354,68 - 399,70)	0,000
TNF-α	379,50 (288,83 - 426,80) *		266,90 (245,24 - 299,90)	0,000

Tabla 30: Resumen de las citoquinas proinflamatorias predominantemente producidas por las células del sistema inmune innato en suero y en humor vítreo. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos. En la última columna se puede observar la *p* o nivel de significación estadística, en la comparación de los tres grupos. Se calcula el nivel de significación por corrección BONFERRONI=0,01666.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

Citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias predominantemente producidas por las células del sistema inmune adaptativo				
Citoquinas (pg/ml)	DM con RDP Mediana (Rango)	DM sin retinopatía Mediana (Rango)	Control sano Mediana (Rango)	<i>p</i>
Suero				
IFN-γ	2.012,30 (1.765,82 - 2.227,09) *	1.664,08 (1.533,68 - 1.963,77) * †	1.398,63 (1.109,44 - .533,68)	0,000
IL-4	746,75 (685,53 - 814,13) *	733,71 (678,26 - 784,33) *	632,29 (580,99 - 692,67)	0,001
IL-17A	1.079,18 (860,55 - 1.230,17) *	979,43 (860,55 - 1.079,18) *	860,55 (650,21 - 1.036,83)	0,000
IL-10	241,30 (202,39 - 268,48) *	210,19 (163,02 - 249,06) †	170,96 (143,00 - 194,57)	0,003
IL-9	59,78 (46,65 - 83,63) *	50,45 (38,87 - 59,78)	40,85 (34,86 - 52,34)	0,017
IL-22	1.527,21 (1.183,76 - 1.739,13) *	1.183,76 (1.008,02 - 1.356,59) †	1.096,07 (962,26 - 1.313,64)	0,005
IL-2	574,16 (485,79 - 641,11) *	517,87 (485,73 - 549,35) *	432,68 (405,03 - 511,49)	0,000
IL-5	347,78 (310,88 - 406,91) *	326,96 (282,91 - 367,98) *	234,14 (192,47 - 282,91)	0,000
Humor vítreo				
IFN-γ	1.914,88 (1.612,37 - 2.529,39) *		1.664,08 (1.257,91 - .815,94)	0,008
IL-4	831,42 (746,75 - 875,82) *		685,53 (648,12 - 706,69)	0,000
IL-17A	1.203,13 (1.051,03 - 1.336,88) *		979,43 (890,86 - 1.065,11)	0,007
IL-10	280,12 (206,30 - 307,41) *		186,73 (151,05 - 210,19)	0,000
IL-9	84,55 (63,47 - 98,41)		83,63 (78,13 - 92,84)	NS

IL-22	1.484,89 (1.227,44 - 2.035,00)		1.335,18 (1.227,25-1.378,07)	NS
IL-2	616,96 (555,59 - 683,03) *		472,67 (432,62 - 498,67)	0,000
IL-5	406,91 (357,95 - 453,51) *		294,28 (259,27 - 316,28)	0,000

Tabla 31: Resumen de las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias predominantemente producidas por las células del sistema inmune adaptativo en suero y en humor vítreo. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos. En la última columna se puede observar la p o nivel de significación estadística, en la comparación de los tres grupos. Se calcula el nivel de significación por corrección BONFERRONI=0,01666.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4.2.3 Estudio de la distribución de las principales citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias en función de los tipos de respuestas asociadas a los linfocitos T colaboradores.

4.2.3.1 En suero

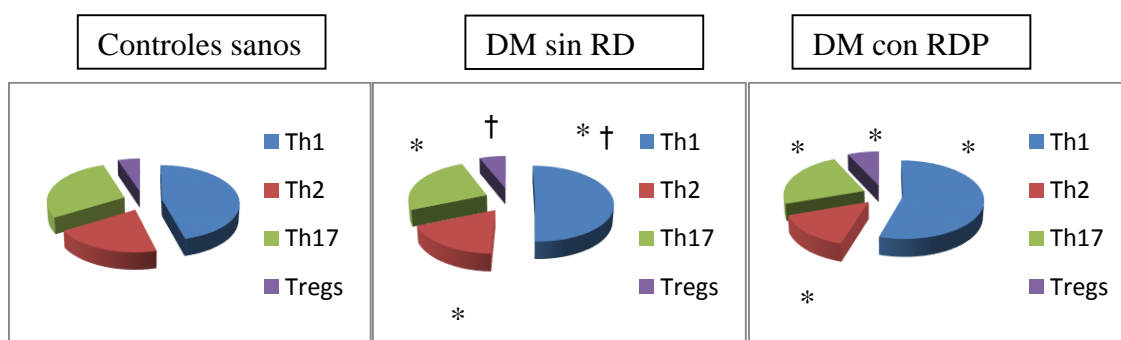


Figura 34: Proporciones de las citoquinas (1) Th1 (IFN- γ), (2) Th2 (IL-4), (3) Th17 (IL-17) y (4) Tregs (IL-10), en suero de los grupos DM con RDP, DM sin RD y controles sanos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En las **figura 34** se muestran los gráficos en sectores de los tres grupos a estudio. Se puede apreciar como existe un predominio de la respuesta de tipo Th1 al progresar de control sano a estadios más avanzados de retinopatía. Se observa un aumento de IFN- γ respecto a una disminución de la respuesta Th2 y Th17, y como además persiste aumentada la IL10, lo que indicaría que existen células Tregs productoras de IL-10. Los pacientes con diabetes con RDP tienen un aumento de inflamación en suero respecto de los diabéticos sin RD.

4.2.3.2 En humor vítreo

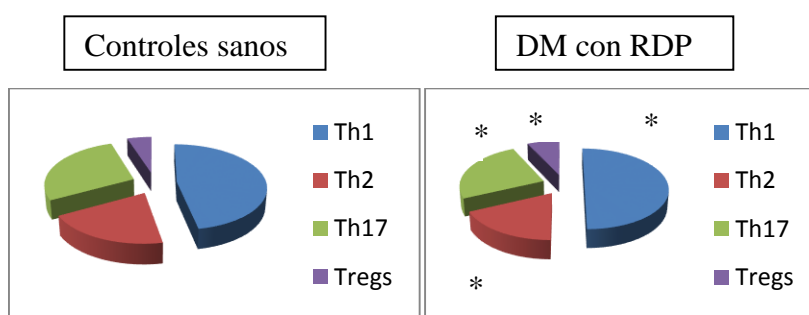


Figura 35: Proporciones de las citoquinas (1) Th1 (IFN- γ), (2) Th2 (IL-4), (3) Th17 (IL-17) y (4) Tregs (IL-10), en humor vítreo de los grupos DM con RDP y controles sanos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

En la **figura 35** se representan los gráficos en sectores de los dos grupos a estudio en humor vítreo. Los resultados que se obtienen en humor vítreo se corresponden a los hallazgos obtenidos en suero. Existe una correlación en la cual se observa un aumento significativo de todas las citoquinas estudiadas (IFN- γ , IL-4, IL-17 e IL-10) con respecto a los controles, pero con predominio de IFN- γ .

4.3 SIGNIFICACIÓN DE LOS PATRONES INMUNOLÓGICOS EN LA CLÍNICA

4.3.1 Criterios de estudio clínico.

Se ha realizado un estudio comparativo entre las variables: niveles de citoquinas en suero y en humor vítreo con las variables clínicas seleccionadas: Agudeza Visual, Edema Macular Difuso diabético y Ceguera.

Las variables clínicas han sido codificadas como variables de tipo dicotómico en los casos de EMD y en Ceguera. Pero, en el caso de la agudeza visual al ser una variable cuantitativa continua se establecieron 3 subgrupos: $< 0,3$, $0,3-0,6$ y $>0,6$. Esta separación es artificial, y ha partido de la aplicación del concepto Baja Visión. Según la OMS se puede considerar Baja Visión a aquellos casos que tienen una disminución visual significativa. La OMS en 1992 definió a una persona con ***Baja Visión*** como “aquella persona con una incapacidad en la función visual aun después de tratamiento y/o refracción común, con una agudeza visual en el mejor ojo de 0,3”. Hay que diferenciar la Baja Visión del concepto de “Ceguera”, que son aquellos casos que presentan una agudeza comprendida entre NPL (no percibe luz) y 0,05, o una restricción del campo visual a menos de 10 grados alrededor del punto de fijación. Posteriormente, en el Consejo Internacional de la Oftalmología celebrado en Sydney en 2002, debido a la confusión de los diferentes criterios, se adoptó una resolución. Esta resolución trata de clarificar el concepto de **“Ceguera”** a nivel funcional, y no jurídico o legal, empleándose solamente ante la pérdida total de la visión. Este es el concepto que se aplica en el presente estudio.

A continuación se muestran los resultados encontrados en suero y humor vítreo en los diferentes grupos del estudio.

4.3.2 Agudeza visual

Dado que en el apartado de las características generales de la población a estudio se especifica que el grupo de individuos sanos no presenta, a diferencia de los dos grupos de diabéticos, una proporción al 50% de cada ojo sino un 65% (11 ojos) derechos y un 35% (6 ojos) izquierdos, se ha realizado un estudio comparativo para determinar si en esta variable, ojo explorado, existen diferencias entre los grupos. **Se ha concluido que no hay diferencias significativas entre ojo derecho y ojo izquierdo en los tres grupos.**

4.3.2.1 Significación en el grupo de Diabéticos con RDP

1- En suero

En el grupo de diabéticos con RDP al comparar las citoquinas con la agudeza visual, sólo el IFN- γ en suero ha mostrado diferencias significativas entre los intervalos. Más concretamente se han presentado niveles de esta citoquina significativamente aumentados en los casos de agudeza menor de 0,3 frente a agudezas superiores, **tabla 32**.

ESTADISTICOS	IFN- γ suero		
	<0,3	0,3-0,6	>0,6
Mediana (Rango)	2060,4 (1939- 2344,2) * p= 0,028	1913,2 (1210,9- 1987)	1815,94 (1371,05-2060,51)

Tabla 32: Valores de IFN- γ (pg/ml) en suero en los tres grupos de agudeza visual. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre agudeza visual < 0,3 y >0,6, o entre agudeza 0,3-0,6 y >0,6.

δ $p < 0,05$: Diferencias significativas entre agudeza visual < 0,3 y 0,3-0,6

2- En humor vítreo

En el grupo de diabéticos con retinopatía diabética proliferante se puede hallar que en la comparación de los niveles de las diferentes citoquinas con la agudeza visual en el humor vítreo sólo la IL-12p70 muestra diferencias significativas entre los 3 grupos, **tabla 33**. Esta citoquina presenta niveles más elevados de manera significativa en agudezas menores de 0,6.

ESTADÍSTICOS	IL-12p70 humor vítreo		
	<0,3	0,3-0,6	>0,6
Mediana (Rango)	217,81 (189,68- 309,63) *p=0,017	205,23 (151,40- 289,42) * p=0,020	86,42 (73,42- 113,7)

Tabla 33: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en humor vítreo en los tres grupos de agudeza visual. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre agudeza visual < 0,3 y >0,6, o entre agudeza 0,3-0,6 y >0,6.

δ $p < 0,05$: Diferencias significativas entre agudeza visual < 0,3 y 0,3-0,6

4.3.2.2 Significación en el grupo de Diabéticos sin RD

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las citoquinas estudiadas tanto a nivel sérico como en humor vítreo.

4.3.2.3 Significación en el grupo de controles sanos

1- En suero

En el grupo de controles sanos se ha podido hallar que en la comparación de las diferentes citoquinas con la agudeza visual sólo la IL-9 en suero muestra diferencias significativas entre los 3 grupos, **tabla 34**. Se han

observado valores más elevados de citoquina IL-9 de manera significativa en agudezas medias (0,3-0,6) con respecto a agudezas visuales altas (>0,6).

ESTADISTICOS	IL-9 suero		
	<0,3	0,3-0,6	>0,6
Mediana (Rango)	40,85 (38,87- 52,34)	54,21 (46,61- 65,31) * p=0,017	35,84 (30,53-43,66)

Tabla 34: Valores de IL-9 (pg/ml) en suero en los tres grupos de agudeza visual. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre agudeza visual < 0,3 y >0,6, o entre agudeza 0,3-0,6 y >0,6.

δ $p < 0,05$: Diferencias significativas entre agudeza visual < 0,3 y 0,3-0,6

2- Humor vítreo

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las citoquinas estudiadas frente a la variable agudeza visual a nivel del humor vítreo del grupo de controles sanos.

4.3.3 EDEMA MACULAR DIFUSO Diabético

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos de pacientes a estudio al comparar las citoquinas en función de la presencia o ausencia de EDEMA MACULAR DIFUSO.

4.3.4 CEGUERA

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos de pacientes a estudio al comparar las citoquinas con respecto a la presencia o ausencia de CEGUERA.

4.4 SIGNIFICACIÓN DE LOS PATRONES INMUNOLÓGICOS EN EL ESTUDIO ANALÍTICO

4.4.1 Criterios de estudio analítico.

Se ha realizado un estudio comparativo entre las variables: niveles de citoquinas en suero y en humor vítreo en los diferentes grupos establecidos: DM con RDP, DM sin RD y Control sano, con las variables analíticas seleccionadas: glucemia, Hemoglobina glicosilada y nivel de linfocitos en sangre.

Las variables analíticas han sido codificadas como variables de tipo dicotómico o tricotómico, estableciendo unos criterios de estratificación ya que realmente son variables cuantitativas continuas.

Para la variable "glucemia" se han establecido dos grupos, uno de valor menor o igual a 125 mgr/dl y un segundo grupo de más de 125 mgr/dl. Se ha basado en el valor límite de la normalidad según la OMS, donde consta que: el diagnóstico se establece cuando la glucemia en ayunas es superior o igual a 1,26 g/L (126 mgr/dl). Se aconseja verificar esta cifra una segunda vez a fin de tener 2 datos fiables (134).

Para la variable hemoglobina glicosilada "HbA1c" se parte de la base que según la OMS valores de 4-6% son normales y que valores de >6 son valores por encima del límite normal. Pero, dado que se han estado analizando complicaciones de la retinopatía diabética que generan disfunción visual, se ha establecido el límite en 7%. El valor de 7% se considera un nivel de hemoglobina glicosilada que si es superado aumenta el riesgo de complicaciones importantes. Por ello, se han establecido dos grupos, uno de valores menor o igual a 7% y otro de valores >7%. (4,15)

Para la variable "nivel de linfocitos" se han establecido tres grupos, uno de valores menor a 18%, otro de valores entre 18-47% y otro mayor 47% de linfocitos. En las diferentes fuentes bibliográficas es considerado que los valores normales de linfocitos se encuentran en un rango entre 15-50%, pero los valores considerados de normalidad del laboratorio donde fueron analizadas las muestras (Laboratorio de referencia de Hospital Son Dureta)

están comprendidos en el rango entre 18-47%. Por ello, se decidió tomar como límites los valores del rango de nuestro laboratorio.

4.4.2 Significación en el Grupo de Diabéticos con RDP

En el grupo de pacientes diabéticos con retinopatía diabética proliferante se han hallado en las siguientes citoquinas en suero o en humor vítreo diferencias significativas con las variables analíticas.

4.4.2.1 En suero

A- Glucemia

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes Diabéticos con RDP al comparar en suero las citoquinas con la variable analítica glucemia.

B- HbA1c

En suero, al comparar las diferentes citoquinas con los valores de HbA1c se ha observado que existen diferencias significativas entre los dos niveles de hemoglobina glicosilada únicamente en la citoquina IL-12p70. Se ha hallado, más concretamente, valores de IL-12p70 en suero significativamente mayores en casos con hemoglobina glicosilada mayor de 7, **tabla 35**.

ESTADISTICOS	IL-12p70 suero	
	HbA1c ≤ 7%	HbA1c > 7%
Mediana (Rango)	143,82 (125,72- 217,78)	236,83 (174,3- 336,45)
MANN-WHITNEY $p=$	0,031	

Tabla 35: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en suero en los dos grupos de nivel de HbA1c a estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

C- Nivel de linfocitos

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes Diabéticos con RDP al comparar en suero las citoquinas con la variable nivel de linfocitos.

4.4.2.2 En humor vítreo

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de diabéticos con RDP al comparar en humor vítreo las citoquinas con las variables analíticas: glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos.

4.4.3 Significación en el Grupo de Diabéticos sin RD

En el grupo de pacientes diabéticos sin retinopatía diabética se han hallado diferencias significativas en la comparación de las citoquinas en suero o en humor vítreo con las variables analíticas glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos como se puede observar a continuación.

4.4.3.1 En suero

A- Glucemia

En el grupo de pacientes diabéticos sin retinopatía al comparar los valores de las citoquinas en suero con los niveles de glucemia, se han observado diferencias significativas en las siguientes citoquinas.

1- IL-4

En la comparación de niveles de glucemia con IL-4 en suero, se han encontrado valores significativamente bajos de IL-4 en niveles altos de glucemia en ayunas, **tabla 36**.

ESTADISTICOS	IL-4 suero	
	Glucemia \leq 125	Glucemia $>$ 125
Mediana (Rango)	759,53 (746,75- 796,40)	720,36 (648,12- 772,05)
MANN-WHITNEY $p=$	0,042	

Tabla 36: Valores de IL-4 (pg/ml) en suero en los dos grupos de nivel de glucemia a estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p .

2- IL-5

En la comparación de niveles de glucemia con IL-5 en suero, se han encontrado valores significativamente bajos de IL-5 en niveles altos de glucemia en ayunas, **tabla 37**.

ESTADISTICOS	IL-5 suero	
	Glucemia \leq 125	Glucemia $>$ 125
Mediana (Rango)	367,98 (357,95- 397,34)	305,39 (271,25- 352,9)
MANN-WHITNEY $p=$	0,004	

Tabla 37: Valores de IL-5 (pg/ml) en suero en los dos grupos de nivel de glucemia a estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p .

3- IL-9

En la comparación de niveles de glucemia con IL-9 en suero, se han encontrado valores significativamente bajos de IL-9 en niveles altos de glucemia en ayunas, **tabla 38**.

ESTADISTICOS	IL-9 suero	
	Glucemia \leq 125	Glucemia $>$ 125
Mediana (Rango)	130,99 (61,63- 221,98)	46,65 (38,87- 50,45)
MANN-WHITNEY $p=$	0,003	

Tabla 38: Valores de IL-9 (pg/ml) en suero en los dos grupos de nivel de glucemia a estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p .

4- IL-10

En la comparación de niveles de glucemia con IL-10 en suero, se han encontrado valores significativamente bajos de IL-10 en niveles altos de glucemia en ayunas, **tabla 39**.

ESTADISTICOS	IL-10 suero	
	Glucemia \leq 125	Glucemia $>$ 125
Mediana (Rango)	249,06 (217,98- 256,82)	194,57 (163,02- 225,76)
MANN-WHITNEY $p=$	0,026	

Tabla 39: Valores de IL-10 (pg/ml) en suero en los dos grupos de nivel de glucemia a estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p .

5- IL-12p70

En la comparación de niveles de glucemia con IL-12p70, se han encontrado valores significativamente bajos de IL-12p70 en niveles altos de glucemia en ayunas, **tabla 40**.

ESTADISTICOS	IL-12p70 suero	
	Glucemia \leq 125	Glucemia $>$ 125
Mediana (Rango)	249,70 (202,11- 299)	162,04 (143,82- 211,49)
MANN-WHITNEY $p=$	0,026	

Tabla 40: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en suero en los dos grupos de nivel de glucemia a estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p .

6- TNF- α

En la comparación de niveles de glucemia con TNF- α en suero, se han encontrado valores significativamente bajos de TNF- α en niveles altos de glucemia en ayunas, **tabla 41**.

ESTADISTICOS	TNF- α	
	Glucemia \leq 125	Glucemia $>$ 125
Mediana	316,65 (311,04- 356,36)	266,90 (234,5- 299,9)
MANN-WHITNEY $p=$	0,031	

Tabla 41: Valores de TNF- α (pg/ml) en suero en los dos grupos de nivel de glucemia a estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p .

Por tanto, en este grupo a estudio, Diabéticos sin RD, en suero se han hallado diferencias estadísticamente significativas en los niveles de las citoquinas: IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-12p70 y TNF- α , entre los dos grupos de glucemia a estudio, mostrando globalmente que **en presencia de niveles de glucemia alta (>125) se hallan en suero valores bajos de estas citoquinas.**

B- HbA1c

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes Diabéticos sin RD al comparar en suero las citoquinas con la variable analítica HbA1c.

C- Nivel de linfocitos

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes Diabéticos sin RD al comparar en suero las citoquinas con la variable nivel de linfocitos.

4.4.3.2 En humor vítreo

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de Diabéticos sin retinopatía diabética al comparar en humor vítreo las citoquinas con la variables analíticas: glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos, ya que no se extrajeron muestras de humor vítreo en este grupo.

4.4.4 Significación en el Grupo de Controles sanos

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de Controles sanos ni en suero ni en humor vítreo al comparar las citoquinas con las variables analíticas: glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos.

4.4.5 Significación en los niveles de normalidad de las diferentes variables analíticas

Se han comparado los niveles de citoquinas en suero y en humor vítreo entre los pacientes y controles que presentaban valores analíticos dentro de los rangos de normalidad para cada una de las variables estudiadas: glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos.

4.4.5.1 Niveles normales de glucemia

Cuando los niveles de glucemia son menores o iguales de 125 mgr /dl en los tres grupos a estudio, los niveles de citoquinas estudiadas muestran los resultados que se exponen a continuación.

A- En suero

1- IL-1 β

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-1 β que se muestran en la **tabla 42**.

ESTADÍSTICOS	IL-1 β suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	157,72 (125,39- 181,5) * p= 0,003	125,39 (111,82- 143,73) * p= 0,001	89,510 (76,25- 100,63)

Tabla 42: Valores de IL-1 β (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

1- IL-2

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-2 que se muestran en la **tabla 43**.

ESTADÍSTICOS	IL-2 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	580,33 (549,35- 623) * p=0,008	498,67 (498,67- 653,12) * p=0,004	432,68 (405,03- 511,49)

Tabla 43: Valores de IL-2 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

2- IL-4

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-4 que se muestran en la **tabla 44**.

ESTADÍSTICOS	IL-4 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	772,05 (678,26- 875,82) * p=0,004	759,53 (746,75- 796,4) * p=0,002	632,29 (580,99- 692,67)

Tabla 44: Valores de IL-4 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

3- IL-5

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-5 que se muestran en la **tabla 45**.

ESTADÍSTICOS	IL-5 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	347,78 (316,28- 416,39) * $p=0,002$	367,98 (357,95- 397,34) * $p=0,000$	234,14 (192,47- 282,91)

Tabla 45: Valores de IL-5 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4- IL-6

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-6 que se muestran en la **tabla 46**.

ESTADÍSTICOS	IL-6 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	59,49 (47,35- 61,12) * p=0,014	38,54 (38,54- 46,54) † p=0,003	40,14 (36,94- 50,56)

Tabla 46: Valores de IL-6 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

5- IL-10

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-10 que se muestran en la **tabla 47**.

ESTADÍSTICOS	IL-10 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	264,58 (210,19- 303,5)	249,06 (217,98- 256,82) * p=0,028	170,96 (138,94- 190,66)

Tabla 47: Valores de IL-10 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

6- IL-12p70

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-12p70 que se muestran en la **tabla 48**.

ESTADÍSTICOS	IL-12p70 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	217,78 (140,80- 5770,63)	249,7 (202,11- 299,0) * p=0,018	125,72 (107,68- 189,68)

Tabla 48: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

7- IL-13

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-13 que se muestran en la **tabla 49**.

ESTADÍSTICOS	IL13- suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	413,64 (385,26- 465,66) * p=0,013	422,7 (413,64- 440,32) * p=0,001	332,69 (283,15- 354,68)

Tabla 49: Valores de IL-13 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

8- IL-17A

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-17A que se muestran en la **tabla 50**.

ESTADÍSTICOS	IL-17A suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	1148,53 (920,75- 1310,4) * $p=0,016$	1036,83 (1008,4- 1065,11) * $p=0,028$	860,55 (650,21- 1036,83)

Tabla 50: Valores de IL-17A (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

9- IL-22

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-22 que se muestran en la **tabla 51**.

ESTADÍSTICOS	IL-22 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	1612,03 (1183,76- 1739,13) * p=0,038	1248,96 (1051,8- 1399,41)	1096,07 (962,26- 1313,64)

Tabla 51: Valores de IL-22 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

10- IFN- γ

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IFN- γ que se muestran en la **tabla 52**.

ESTADÍSTICOS	IFN- γ suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	2060,51 (2012,3- 2645,28) * p=0,009	1815,94 (1612,37- 2012,3) * p=0,012	1398,63 (1047,35- 1533,68)

Tabla 52: Valores de IFN- γ (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

11-TNF- α

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la TNF- α que se muestran en la **tabla 53**.

ESTADISTICOS	TNF- α suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	356,36 (333,55- 391,2)	316,65 (311,04- 356,36) * p=0,000	223,83 (213,21- 277,83)

Tabla 53: Valores de TNF- α (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

B- En humor vítreo

1- IL-1 β

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-1 β que se muestran en la **tabla 54**.

ESTADISTICOS	IL-1 β humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	134,52 (120,85- 162,42)	111,82 (98,40- 116,33)
MANN-WHITNEY $p=$	0,007	

Tabla 54: Valores de IL-1 β (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

2- IL- 2

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-2 que se muestran en la **tabla 55**.

ESTADISTICOS	IL-2 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	568,0 (511,49- 682,97)	472,67 (432,62- 498,67)
MANN-WHITNEY $p=$	0,000	

Tabla 55: Valores de IL-2 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

3- IL-4

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-4 que se muestran en la **tabla 56**.

ESTADISTICOS	IL-4 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	808,26 (720,36- 875,82)	685,53 (648,12- 706,69)
MANN-WHITNEY $p=$	0,005	

Tabla 56: Valores de IL-4 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4- IL-5

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-5 que se muestran en la **tabla 57**.

ESTADISTICOS	IL-5 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	357,95 (282,91- 453,51)	294,28 (259,27- 316,28)
MANN-WHITNEY $p=$	0,025	

Tabla 57: Valores de IL-5 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

5- IL-6

Ante niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-6 que se muestran en la **tabla 58**.

ESTADISTICOS	IL-6 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	408,65 (149,24- 516,82)	107,95 (48,15- 189,1)
MANN-WHITNEY $p=$	0,019	

Tabla 58: Valores de IL-6 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

6- IL-10

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-10 que se muestran en la **tabla 59**.

ESTADISTICOS	IL-10 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	241,3 (206,3- 303,5)	186,73 (151,05- 210,19)
MANN-WHITNEY $p=$	0,010	

Tabla 59: Valores de IL-10 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

7- IL-13

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-13 que se muestran en la **tabla 60**.

ESTADISTICOS	IL-13 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	431,59 (413,64- 520,9)	375,34 (354,68- 399,7)
MANN-WHITNEY $p=$	0,005	

Tabla 60: Valores de IL-13 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

8- IL-17A

Dentro de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-17A que se muestran en la **tabla 61**.

ESTADISTICOS	IL-17A humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	1148,53 (950,27- 1203,13)	979,43 (890,86- 1065,11)
MANN-WHITNEY $p=$	0,043	

Tabla 61: Valores de IL-17A (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

9- TNF- α

En presencia de niveles normales de glucemia, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la TNF- α que se muestran en la **tabla 62**.

ESTADISTICOS	TNF- α humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	379,5 (266,9- 426,8)	266,9 (245,24- 299,9)
MANN-WHITNEY $p=$	0,046	

Tabla 62: Valores de TNF- α (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4.4.5.2 Niveles normales de HbA1c

A- En suero

1- IL-1 β

Ante niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-1 β que se muestran en la **tabla 63**.

ESTADÍSTICOS	IL-1 β suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	139,12 (134,52- 157,72) * p= 0,003	125,39 (102,86- 148,37) * p= 0,001	89,51 (76,25- 100,63)

Tabla 63: Valores de IL-1 β (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

2- IL-2

En presencia de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-2 que se muestran en la **tabla 64**.

ESTADÍSTICOS	IL-2 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	549,35 (498,67- 610,87) * p=0,008	524,2 (498,67- 610,87) * p=0,004	432,68 (405,03- 511,49)

Tabla 64: Valores de IL-2 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

3- IL-4

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-4 que se muestran en la **tabla 65**.

ESTADÍSTICOS	IL-4 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	746,75 (746,75- 796,4) * p=0,004	746,75 (706,69- 796,4) * p=0,002	632,29 (580,99- 692,67)

Tabla 65: Valores de IL-4 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4- IL-5

Si existen niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-5 que se muestran en la **tabla 66**.

ESTADÍSTICOS	IL-5 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	377,88 (347,78- 397,34) * p=0,002	357,95 (282,91- 367,98) * p=0,000	234,14 (192,47- 282,91)

Tabla 66: Valores de IL-5 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

5- IL-6

En presencia de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-6 que se muestran en la **tabla 67**.

ESTADÍSTICOS	IL-6 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	59,49 (44,94- 84,69) * p=0,014	40,94 (36,14- 46,54) † p=0,003	40,14 (36,94- 50,56)

Tabla 67: Valores de IL-6 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

6- IL-10

Ante niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-10 que se muestran en la **tabla 68**.

ESTADÍSTICOS	IL-10 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	210,19 (178,89- 256,82)	217,98 (178,86- 256,82) * $p = 0,028$	170,96 (138,94- 190,66)

Tabla 68: Valores de IL-10 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

7- IL-12p70

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-12p70 que se muestran en la **tabla 69**.

ESTADÍSTICOS	IL-12p70 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	143,82 (125,72- 217,78)	202,11 (155,95- 299,0) * p=0,018	125,72 (107,68- 189,68)

Tabla 69: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

8- IL-13

En presencia de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-13 que se muestran en la **tabla 70**.

ESTADÍSTICOS	IL13- suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	422,7 (404,39- 465,66) * p=0,001	413,64 (375,34- 440,32) * p=0,001	332,69 (283,15- 354,68)

Tabla 70: Valores de IL-13 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

9- IL-17A

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-17A que se muestran en la **tabla 71**.

ESTADÍSTICOS	IL-17A suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	1148,53 (950,27- 1230,17) * p=0,016	1008,4 (891,0- 1189,58) * p=0,028	860,55 (650,21- 1036,83)

Tabla 71: Valores de IL-17A (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

10- IL-22

En presencia de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-22 que se muestran en la **tabla 72**.

ESTADÍSTICOS	IL-22 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	1548,49 (1183,76- 1992,63) * p=0,038	1183,76 (1029,6- 1313,64)	1096,07 (962,26- 1313,64)

Tabla 72: Valores de IL-22 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

11- IFN- γ

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IFN- γ que se muestran en la **tabla 73**.

ESTADÍSTICOS	IFN- γ suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	2060,51 (2012,3- 2227,09) * $p=0,009$	1765,82 (1533,68- 2012,3) * $p=0,012$	1398,63 (1047,35- 1533,68)

Tabla 73: Valores de IFN- γ (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

12- TNF- α

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la TNF- α que se muestran en la **tabla 74**.

ESTADÍSTICOS	TNF- α suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	344,92 (333,55- 356,36) * $p=0,000$	299,9 (266,9- 356,36) * $p=0,000$	223,83 (213,21- 277,83)

Tabla 74: Valores de TNF- α (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

B- En humor vítreo

1- IL-1 β

En presencia de niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-1 β que se muestran en la **tabla 75**.

ESTADÍSTICOS	IL-1 β humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	143,73 (134,52 - 176,69)	111,82 (98,4 - 116,33)
MANN-WHITNEY $p=$	0,003	

Tabla 75: Valores de IL-1 β (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

2- IL- 2

Ante niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-2 que se muestran en la **tabla 76**.

ESTADÍSTICOS	IL-2 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	586,46 (568,0 - 659,1)	472,67 (432,62 - 498,67)
MANN-WHITNEY p=	0,001	

Tabla 76: Valores de IL-2 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

3- IL-4

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-4 que se muestran en la **tabla 77**.

ESTADÍSTICOS	IL-4 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	842,75 (796,4 - 886,57)	685,53 (648,12 - 706,69)
MANN-WHITNEY p=	0,005	

Tabla 77: Valores de IL-4 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4- IL-5

Ante niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-5 que se muestran en la **tabla 78**.

ESTADÍSTICOS	IL-5 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	444,34 (357,95 - 453,51)	294,28 (259,27 - 316,28)
MANN-WHITNEY $p=$	0,001	

Tabla 78: Valores de IL-5 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

5- IL-10

Si existen niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-10 que se muestran en la **tabla 79**.

ESTADÍSTICOS	IL-10 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	287,91 (221,88 - 311,31)	186,73 (151,05 - 210,19)
MANN-WHITNEY $p=$	0,006	

Tabla 79: Valores de IL-10 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

6- IL-12p70

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-12p70 que se muestran en la **tabla 80**.

ESTADÍSTICOS	IL-12p70 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	205,23 (186,58 - 343,38)	171,21 (155,95 - 180,53)
MANN-WHITNEY $p=$	0,036	

Tabla 80: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

7- IL-13

Ante niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-13 que se muestran en la **tabla 81**.

ESTADÍSTICOS	IL-13 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	489,92 (413,64 - 520,9)	375,34 (354,68 - 399,7)
MANN-WHITNEY $p=$	0,002	

Tabla 81: Valores de IL-13 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

8- IL-17A

En presencia de niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-17A que se muestran en la **tabla 82**.

ESTADÍSTICOS	IL-17A humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	1203,13 (1079,18 - 1363,25)	979,43 (890,86 - 1065,11)
MANN-WHITNEY $p=$	0,003	

Tabla 82: Valores de IL-17A (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

9- IL-22

Dentro de niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-22 que se muestran en la **tabla 83**.

ESTADÍSTICOS	IL-22 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	1781,2 (1270,53 - 2035,0)	1335,18 (1227,25 - 1378,07)
MANN-WHITNEY $p=$	0,036	

Tabla 83: Valores de IL-22 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

10- TNF- α

Ante niveles normales de HbA1c, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la TNF- α que se muestran en la **tabla 84**.

ESTADÍSTICOS	TNF- α humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	379,5 (344,92 - 426,8)	266,9 (245,24 - 299,9)
MANN-WHITNEY $p=$	0,004	

Tabla 84: Valores de TNF- α (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4.4.5.3 Niveles normales de linfocitos

A- En suero

1- IL-1 β

En presencia de niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-1 β que se muestran en la **tabla 85**.

ESTADÍSTICOS	IL-1 β suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	139,12 (98,42- 176,69) * $p = 0,000$	116,33 (107,33- 139,12) * $p = 0,003$	93,95 (87,30- 102,86)

Tabla 85: Valores de IL-1 β (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

2- IL-2

Ante niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-2 que se muestran en la **tabla 86**.

ESTADISTICOS	IL-2 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	580,33 (479,23- 641,11) * p=0,000	517,87 (485,73- 549,35)	511,49 (390,93- 517,87)

Tabla 86: Valores de IL-2 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

3- IL-4

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-4 que se muestran en la **tabla 87**.

ESTADISTICOS	IL-4 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	772,05 (678,26- 819,93) * p=0,000	733,71 (678,26- 784,33) * p=0,009	648,12 (598,81- 692,67)

Tabla 87: Valores de IL-4 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4- IL-5

Si existen niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-5 que se muestran en la **tabla 88**.

ESTADISTICOS	IL-5 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	347,78 (310,88- 406,91) * $p=0,00$	326,96 (282,91- 367,98) * $p=0,002$	259,27 (192,47- 282,91)

Tabla 88: Valores de IL-5 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

5- IL-6

Ante niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-6 que se muestran en la **tabla 89**.

ESTADISTICOS	IL-6 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	56,23 (44,94- 84,69) * $p=0,005$	38,54 (33,73- 44,14) † $p=0,000$	40,14 (33,73- 54,60)

Tabla 89: Valores de IL-6 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

6- IL-9

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-9 que se muestran en la **tabla 90**.

ESTADISTICOS	IL-9 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	67,15 (46,65- 153,36)	50,45 (38,87- 59,78) † $p=0,031$	44,73 (32,81- 54,21)

Tabla 90: Valores de IL-9 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

7- IL-10

Ante niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-10 que se muestran en la **tabla 91**.

ESTADISTICOS	IL-10 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	252,95 (202,39- 280,12) * p=0,000	210,19 (163,02- 249,06) † p=0,031	170,96 (138,94- 194,57)

Tabla 91: Valores de IL-10 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

8- IL-12p70

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-12p70 que se muestran en la **tabla 92**.

ESTADISTICOS	IL-12p70 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	217,78 (155,95- 305,72) * p=0,004	186,58 (143,82- 265,91)	131,74 (113,69- 202,11)

Tabla 92: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

9- IL-13

En presencia de niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-13 que se muestran en la **tabla 93**.

ESTADISTICOS	IL13- suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	448,90 (394,93- 481,94) * p=0,000	413,64 (375,340- 431,59) * p=0,002	332,69 (283,15- 375,34)

Tabla 93: Valores de IL-13 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

10- IL-17A

Ante niveles normales linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-17A que se muestran en la **tabla 94**.

ESTADISTICOS	IL-17A suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	1065,11 (829,78- 1230,17) * p=0,001	979,43 (860,55- 1079,18)	875,79 (684,26- 1051,03)

Tabla 94: Valores de IL-17A (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

11- IL-22

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-22 que se muestran en la **tabla 95**.

ESTADISTICOS	IL-22 suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	1569,65 (1183,76- 1823,65) * $p=0,028$	1183,76 (1008,02- 1356,59) † $p=0,004$	1096,27 (1051,80- 1313,64)

Tabla 95: Valores de IL-22 (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

12- IFN- γ

Ante niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IFN- γ que se muestran en la **tabla 96**.

ESTADISTICOS	IFN- γ suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	2012,30 (1371,05- 2108,42) * $p=0,043$	1664,08 (1533,68- 1963,77) * $p=0,010$	1398,63 (1047,35- 1533,68)

Tabla 96: Valores de IFN- γ (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

13- TNF- α

En presencia de niveles normales de linfocitos, en la comparación en suero de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la TNF- α que se muestran en la **tabla 97**.

ESTADISTICOS	TNF- α suero		
	DM con RDP	DM sin RD	Controles sanos
Mediana (Rango)	344,92 (288,83- 391,20) * $p=0,008$	288,83 (245,24- 327,90) * $p=0,007$; † $p=0,009$	245,24 (213,21- 277,83)

Tabla 97: Valores de TNF- α (pg/ml) en suero en los tres grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los tres grupos.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

B- En humor vítreo

1- IL-1 β

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-1 β que se muestran en la **tabla 98**.

ESTADÍSTICOS	IL-1β humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	153,03 (123,12 - 176,69)	111,82 (98,4 - 116,33)
MANN-WHITNEY p=	0,000	

Tabla 98: Valores de IL-1β (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

2- IL- 2

Ante de niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-2 que se muestran en la **tabla 99**.

ESTADÍSTICOS	IL-2 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	610,87 (555,59 - 706,73)	472,67 (432,62 - 511,49)
MANN-WHITNEY p=	0,000	

Tabla 99: Valores de IL-2 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

3- IL-4

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-4 que se muestran en la **tabla 100**.

ESTADÍSTICOS	IL-4 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	842,75 (808,26 - 886,57)	692,67 (663,42 - 706,69)
MANN-WHITNEY $p=$	0,000	

Tabla 100: Valores de IL-4 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4- IL-5

Si existen niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-5 que se muestran en la **tabla 101**.

ESTADÍSTICOS	IL-5 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	406,91 (357,95 - 453,51)	305,39 (259,27 - 316,28)
MANN-WHITNEY $p=$	0,000	

Tabla 101: Valores de IL-5 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

5- IL-6

Ante niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-6 que se muestran en la **tabla 102**.

ESTADÍSTICOS	IL-6 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	252,98 (115,44 - 693,78)	81,24 (48,15 - 138,94)
MANN-WHITNEY $p=$	0,005	

Tabla 102: Valores de IL-6 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

6- IL-10

En presencia de niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-10 que se muestran en la **tabla 103**.

ESTADÍSTICOS	IL-10 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	287,91 (221,88 - 311,31)	194,57 (170,96 - 217,98)
MANN-WHITNEY $p=$	0,000	

Tabla 103: Valores de IL-10 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

7- IL-12p70

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-12p70 que se muestran en la **tabla 104**.

ESTADÍSTICOS	IL-12p70 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	220,95 (186,58 - 343,38)	168,17 (155,95 - 180,53)
MANN-WHITNEY $p=$	0,004	

Tabla 104: Valores de IL-12p70 (pg/ml) en humor vitreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

8- IL-13

Ante niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-13 que se muestran en la **tabla 105**.

ESTADÍSTICOS	IL-13 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	465,66 (422,70 - 520,90)	380,34 (354,68 - 418,20)
MANN-WHITNEY $p=$	0,000	

Tabla 105: Valores de IL-13 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

9- IL-17A

En presencia de niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-17A que se muestran en la **tabla 106**.

ESTADÍSTICOS	IL-17A humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	1203,13 (1079,18 - 1363,25)	979,43 (890,86 - 1065,11)
MANN-WHITNEY $p=$	0,001	

Tabla 106: Valores de IL-17A (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

10- IL-22

Dentro de niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IL-22 que se muestran en la **tabla 107**.

ESTADÍSTICOS	IL-22 humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	1484,89 (1227,44 - 2205,17)	1270,53 (1227,25 - 1378,07)
MANN-WHITNEY $p=$	0,028	

Tabla 107: Valores de IL-22 (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

11- IFN- γ

Ante niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la IFN- γ que se muestran en la **tabla 108**.

ESTADÍSTICOS	IFN- γ humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	1914,88 (1533,68 - 2848,73)	1715,22 (1398,63 - 1815,94)
MANN-WHITNEY $p=$	0,043	

Tabla 108: Valores de IFN- γ (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

12- TNF- α

Si existen niveles normales de linfocitos, en la comparación en humor vítreo de los tres grupos de estudio se han hallado diferencias significativas para la TNF- α que se muestran en la **tabla 109**.

ESTADÍSTICOS	TNF- α humor vítreo	
	DM con RDP	Controles sanos
Mediana (Rango)	379,5 (266,90 - 426,80)	288,83 (256,03 - 299,90)
MANN-WHITNEY $p=$	0,008	

Tabla 109: Valores de TNF- α (pg/ml) en humor vítreo en los dos grupos de estudio. Los resultados se representan utilizando la mediana y rango en los dos grupos. Se presenta el valor del estadístico de comparación, p.

* $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP o DM sin RD con respecto a los Controles sanos.

† $p < 0,05$: Diferencias significativas entre DM con RDP y DM sin RD.

4.5 CORRELACIONES DE LOS PATRONES INMUNOLÓGICOS EN EL ESTUDIO

4.5.1 Correlaciones entre citoquinas diferentes.

Se han estudiado las correlaciones de diferentes citoquinas: IFN- γ , IL-4 y IL-17A, en suero y en humor vítreo.

A- En suero.

En suero, se ha podido observar lo que se muestra en las tres figuras siguientes, **figuras 36-38**.

1- Correlación entre IFN- γ e IL-4.

La correlación entre IFN- γ e IL-4 en suero, en los tres grupos a estudio, se presenta en la **figura 36**.

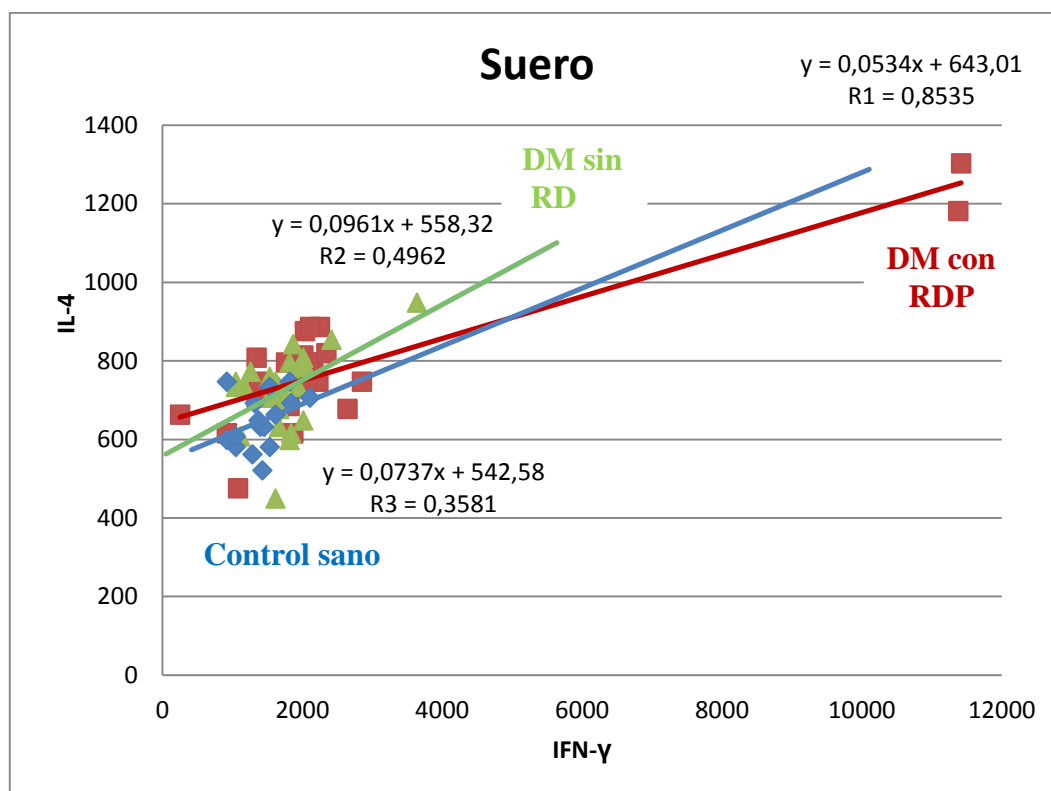


Figura 36: Representación gráfica de la correlación entre IFN- γ e IL-4 en suero en DM con RDP (grupo 1), DM sin RD (grupo 2) y Controles sanos (grupo 3). Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

Existe una baja correlación entre IFN- γ e IL-4 en los grupos DM sin RD y en Control sano, pero la correlación es alta en el grupo de DM con RDP, presentando una $r = 0,8535$.

2- Correlación entre IFN- γ e IL-17.

La correlación entre IFN- γ e IL-17 en suero, en los tres grupos a estudio, se presenta en la **figura 37**.

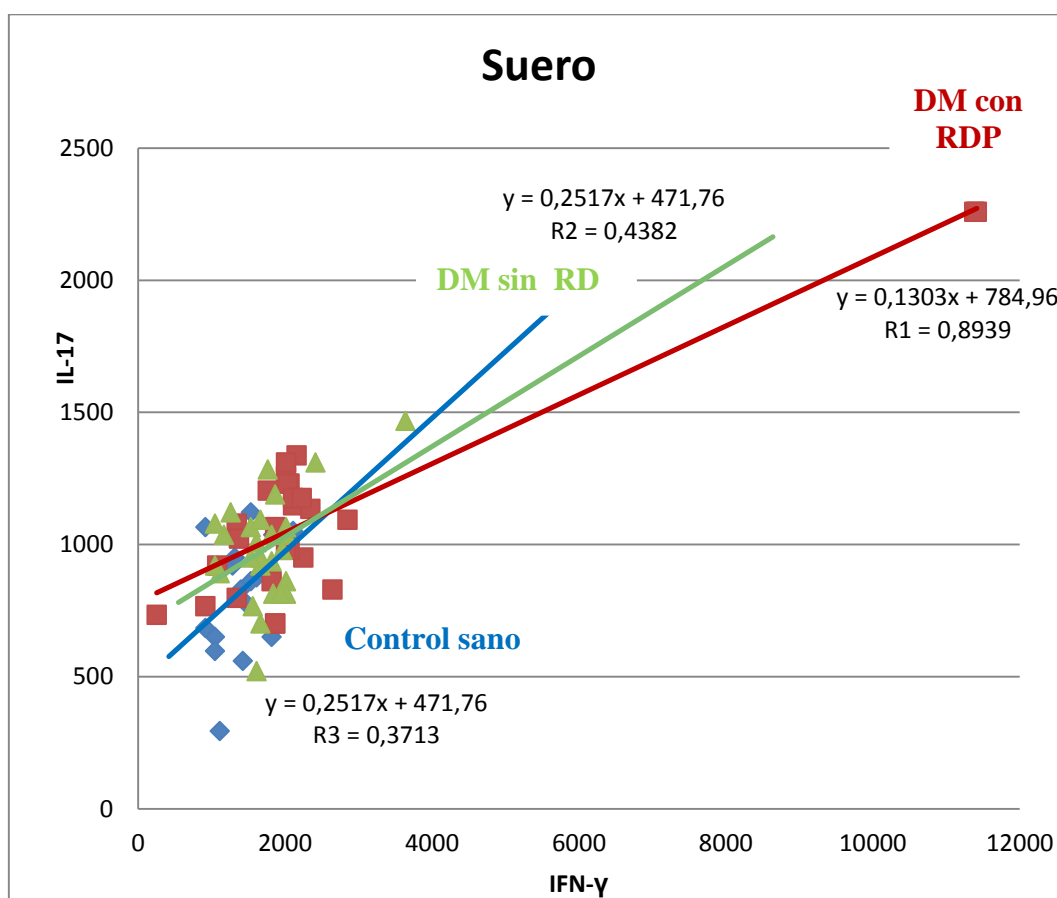


Figura 37: Representación gráfica de la correlación entre IFN- γ e IL-17 en suero en DM con RDP (grupo 1), DM sin RD (grupo 2) y Controles sanos (grupo 3). Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

Lo mismo ha pasado al estudiar la correlación de los niveles en suero de las citoquinas IFN- γ e IL-17, ya que se ha dado una baja correlación en los grupos DM sin RD y en Control sano, siendo alta en el grupo de DM con RDP, presentando una $r = 0,8939$.

3- Correlación entre IL-4 e IL-17.

La correlación entre IL-4 e IL-17 en suero, en los tres grupos a estudio, se observa en la **figura 38**.

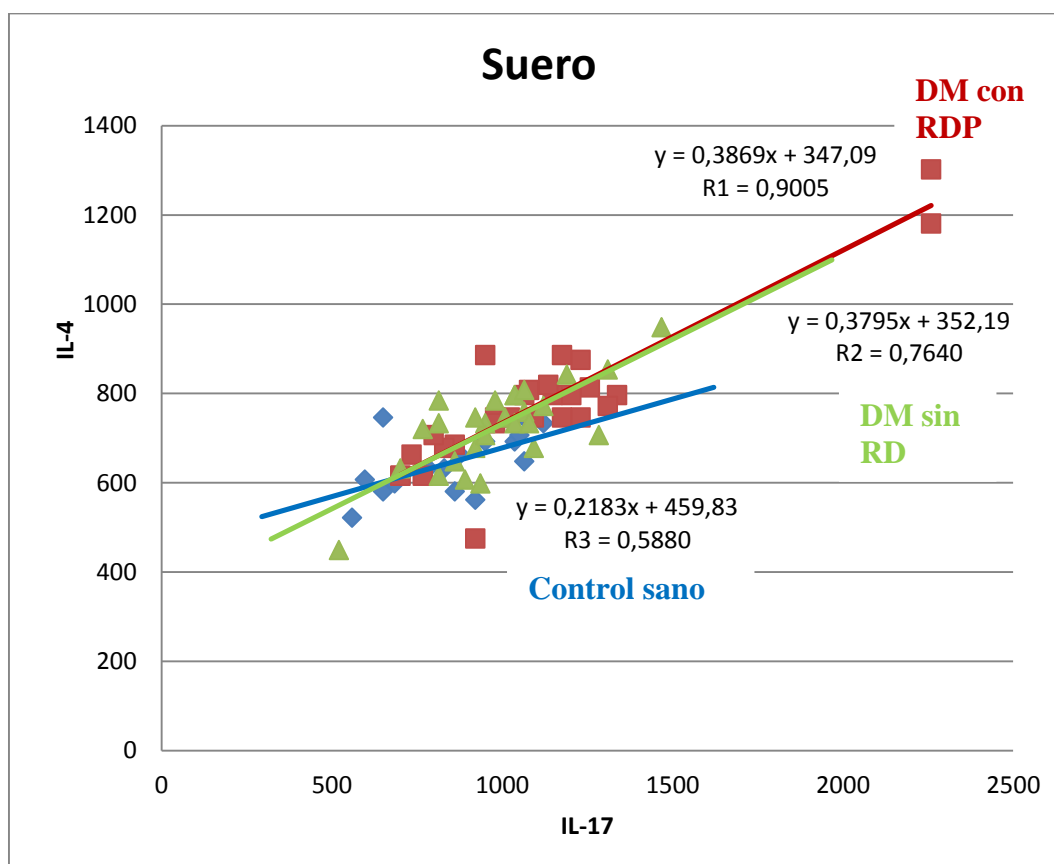


Figura 38: Representación gráfica de la correlación entre IL-4 e IL-17 en suero en DM con RDP (grupo 1), DM sin RD (grupo 2) y Controles sanos (grupo 3). Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

Y en esta última gráfica se aprecia que en el estudio de la correlación entre IL-4 e IL-17 hay una correlación media en el grupo de Control sano, la correlación es media-alta en DM sin RD con un coeficiente $r = 0,764$, y es alta en el grupo de DM con RDP, presentando un coeficiente de correlación $r = 0,9005$.

B- En humor vítreo.

En humor vítreo, se pueden observar las correlaciones en las tres figuras siguientes, **figuras 39-41**.

1- Correlación entre IFN- γ e IL-4.

La correlación entre IFN- γ e IL-4 en humor vítreo en los grupos a estudio se presenta en la **figura 39**. Sólo se han valorado en los grupos vitrectomizados, DM con RDP y Controles sanos.

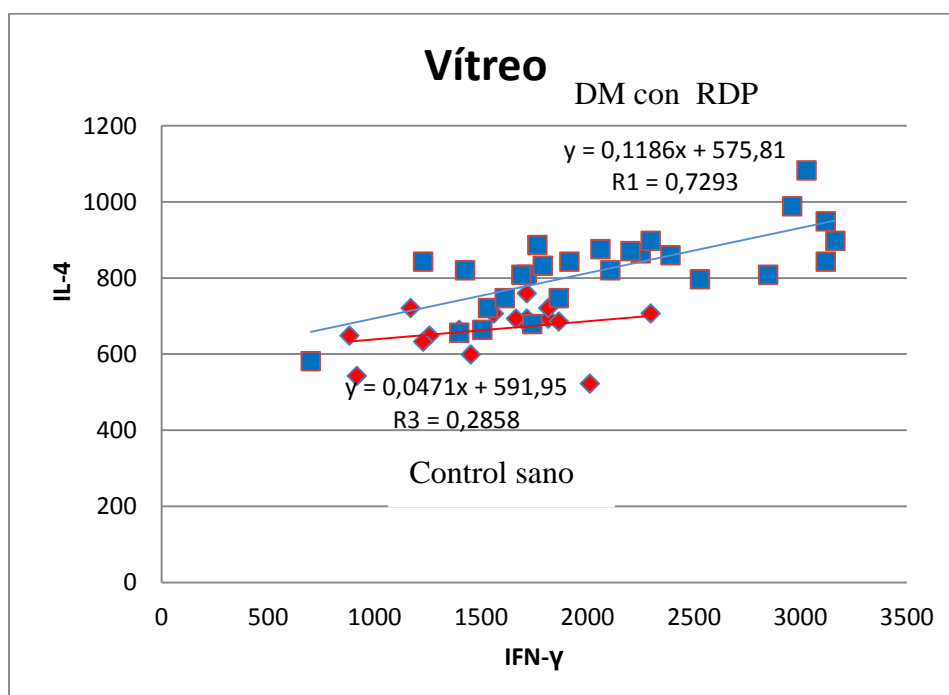


Figura 39: Representación gráfica de la correlación entre IFN- γ e IL-4 en humor vítreo entre DM con RDP (grupo 1) y Controles sanos (grupo 3). Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

La correlación en humor vítreo entre las citoquinas IFN- γ e IL-4 ha sido baja en el grupo Controles sanos con un coeficiente de correlación $r = 0,2858$, pero por el contrario existe una correlación media-alta en el grupo de DM con RDP, presentando una $r = 0,7293$.

2- Correlación entre IFN- γ e IL-17.

En el estudio de la correlación entre las citoquinas IFN- γ e IL-17 en humor vítreo en los dos grupos vitrectomizados, se observa lo presente en la **figura 40**.

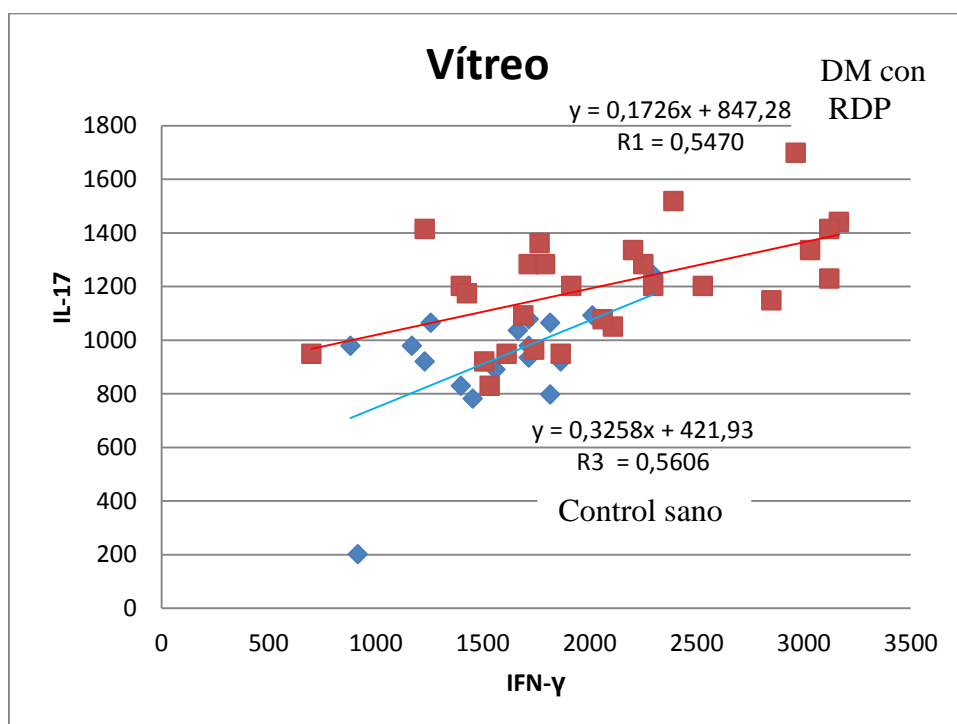


Figura 40: Representación gráfica de la correlación de IFN- γ e IL-17 en humor vítreo en DM con RDP (grupo 1) y Controles sanos (grupo 3). Se observa

representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

Existe una correlación media entre las citoquinas IFN- γ e IL-17 en ambos grupos a estudio.

3- Correlación entre IL-4 e IL-17.

En el análisis de la correlación entre las citoquinas IL-4 e IL-17 en humor vítreo en los dos grupos vitrectomizados se ha observado lo representado en la siguiente figura, **figura 41**.

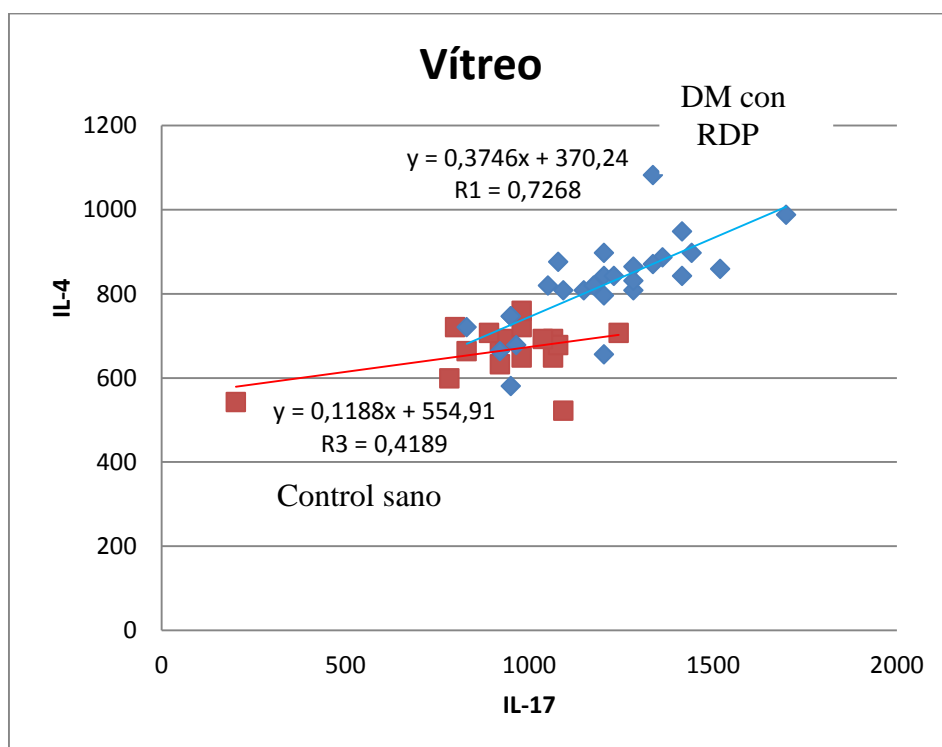


Figura 41: Representación gráfica de la correlación entre IL-4 e IL-17 en humor vítreo en DM con RDP (grupo 1) y Controles sanos (grupo 3). Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

Se observa una baja correlación de las citoquinas IL-4 e IL-17 en el grupo de Controles sanos, mientras que esta existe una correlación media-alta

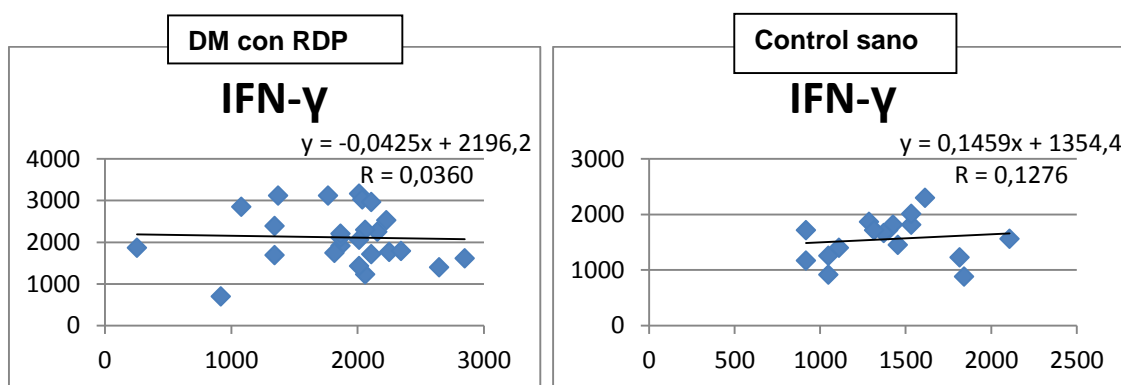
en el grupo de DM con RDP, presentando coeficiente de correlación de $r = 0,7268$

4.5.2 Correlaciones de la misma citoquina entre medios biológicos diferentes.

En la búsqueda de las correlaciones de cada una de las citoquinas consigo misma, entre suero y humor vítreo, se han observado los hallazgos que se muestran a continuación. Sólo se han representado el grupo de DM con RPD y el grupo de Controles sanos, ya que son los únicos grupos en los que se han obtenido los dos tipos de muestras biológicas.

1- IFN- γ .

La correlación de los niveles de IFN- γ entre humor vítreo y suero se representa en las figuras siguientes, **figuras 42 y 43**.

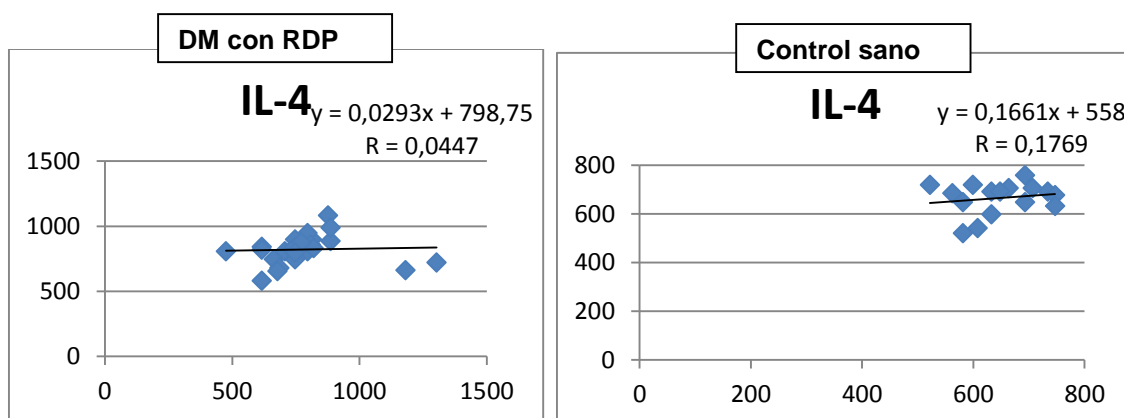


Figuras 42 y 43: Representación gráfica de la correlación entre los niveles de IFN- γ en suero y en humor vítreo en DM con RDP y en Controles sanos, respectivamente. Están representados en vertical (ordenadas) los valores de humor vítreo y en horizontal (abscisas) los valores de suero. Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

En los DM con RDP la correlación de IFN- γ entre suero y humor vítreo ha sido baja, presentando un coeficiente de correlación $r = 0,0360$. En el grupo de Controles sanos la correlación ha sido baja también, con un $r = 0,1276$.

2- IL-4.

La correlación de los niveles de IL-4 entre humor vítreo y suero se representa en las figuras siguientes, **figuras 44 y 45**.

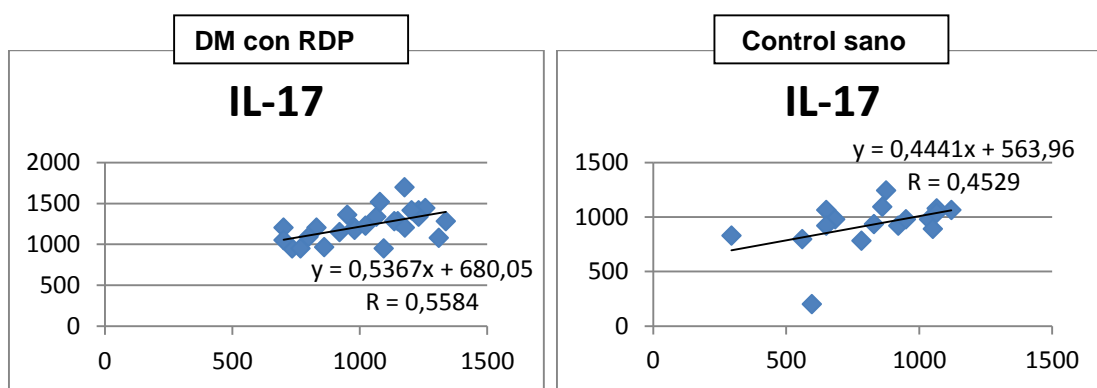


Figuras 44 y 45: Representación gráfica de la correlación entre los niveles de IL-4 en suero y en humor vítreo en DM con RDP y en Controles sanos, respectivamente. Están representados en vertical (ordenadas) los valores de humor vítreo y en horizontal (abcisas) los valores de suero. Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

En el estudio de la correlación de los niveles de IL-4 entre humor vítreo y suero tanto en el grupo de DM con RDP como en los Controles sanos se ha encontrado una correlación baja, presentando un coeficiente de correlación $r = 0,0447$ y $r = 0,1769$, respectivamente en cada grupo.

3- IL-17.

La correlación de los niveles de IL-17 entre humor vítreo y suero se representa en las figuras siguientes, **figuras 46 y 47**.

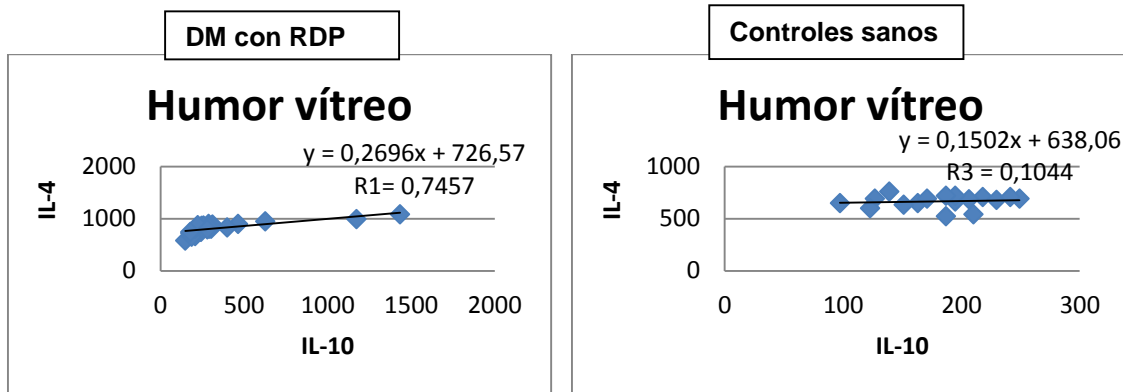


Figuras 46 y 47: Representación gráfica de la correlación entre los niveles de IL-17 en suero y en humor vítreo en DM con RDP y en Controles sanos, respectivamente. Están representados en vertical (ordenadas) los valores de humor vítreo y en horizontal (abcisas) los valores de suero. Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

Existe una correlación media entre los niveles de IL-17 en humor vítreo y en suero en DM con RDP, con un coeficiente de correlación $r = 0,5584$. En el caso de los Controles sanos también existe una correlación media entre niveles de IL-17 en ambos medios biológicos, con un $r = 0,4529$.

4.5.3 Citoquina IL-10.

En los diferentes gráficos resultantes del estudio de la correlación entre IL-10 con las otras 3 citoquinas anteriormente evaluadas: IFN- γ , IL-4 e IL-17, en suero o en humor vítreo, no se ha encontrado ningún caso de correlación alta. Tampoco existe una correlación alta cuando se comparan los niveles de la IL-10 entre suero y humor vítreo. De todo ello, sólo cabe destacar que se ha encontrado una correlación media-alta, en humor vítreo entre IL-10 e IL-4 en el grupo de DM con RDP, presentando un coeficiente de correlación $r = 0,7457$. En las figuras siguientes, **figuras 48 y 49**, se puede observar los resultados de la comparación de IL-10 con IL-4 en humor vítreo, tanto en DM con RDP como en Controles sanos. En el caso de DM con RDP, **figura 48**, se evidencia lo anteriormente explicado.



Figuras 48 y 49: Representación gráfica de la correlación entre los niveles de IL-4 y IL-10 en humor vítreo en DM con RDP y en Controles sanos, respectivamente. Se observa representada con la “y” la ecuación de la recta de correlación, y con la “R”, en cada grupo a estudio, se representa el coeficiente de correlación.

5. DISCUSIÓN

5.- DISCUSIÓN

5.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y ANALÍTICAS DE LAS COHORTES INCLUIDAS EN ESTE ESTUDIO.

Cuando se revisa la literatura, en los artículos publicados de estudios caso-control los pacientes diabéticos incluidos como casos se suelen comparar con controles que generalmente son sanos. Pero, algunos de estos controles denominados “sanos” lo son de la patología a estudiar ya que estos sujetos requieren de otros tratamientos que normalmente no suelen interferir en el estudio. Ejemplos de ello serían el tratamiento quirúrgico, como es la vitrectomía, o tratamientos farmacológicos de otras patologías que no influyen en el desarrollo del estudio. Por otro lado, en estos trabajos los pacientes diabéticos han sido seleccionados y evaluados de diversas maneras lo que genera dificultad o sesgo a la hora de comparar los resultados. Por tanto, será necesario encontrar ensayos con una metodología similar. En la bibliografía se pueden encontrar artículos que van desde aquellos en los que se han incluido juntos los diabéticos de tipo 1 y tipo 2 (135, 97, 136, 137), otros que incluyen diabéticos de un solo tipo, ya sea con diabéticos tipo 1, como en el estudio the EURODIAB Prospective Complications Study u otros (138-139, 140), o con pacientes diabéticos tipo 2 (141, 142, 143). También, hay estudios en los que se han separado los diferentes grados de retinopatía según la EDTRS retinopathy severity scale (4) como (91, 144, 145, 146). Otros autores se han limitado a comparar los controles con diabéticos en estadios avanzados, en retinopatía diabética proliferante (86, 147, 148). Y en otros trabajos se ha estudiado a diabéticos en los que se ha combinado lo descrito anteriormente. Incluso podemos hallar algunos otros ensayos en los que se ha asociado dentro del mismo estudio la valoración de diferentes citoquinas en diferentes patologías vasculares, como la obstrucción de vena central de la retina, o patología vítreo-proliferativa (148-150).

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, el presente estudio se ha realizado sobre 54 diabéticos tipo 1 y tipo 2 en una proporción 1/3 y 2/3 respectivamente, asemejándose a otros estudios (135, 97). Se intentó distribuir los diabéticos al 50% entre tipo 1 y tipo 2, para ser ecuánime, pero esto no fue

posible dado que los criterios de inclusión-exclusión no incluían a menores de 18 años, y éstos hubieran ayudado a igualar la distribución aumentando los de tipo 1. Por otro lado, en el presente estudio se incluyeron sólo dos grupos de la escala EDTRS: DM sin signos de retinopatía diabética y DM con RDP. No se intentó establecer la separación de los diabéticos en los grupos de DM con RDP, DM con retinopatía No proliferante y diabéticos sin RD, con sus diferentes estadios de las formas pre-proliferativas que han sido expuestas en la introducción, sino abreviar el estudio para poder extraer conclusiones más concretas entre controles sanos, diabéticos sin afectación retiniana de ningún tipo y diabéticos en su estadio más avanzado, en estadio proliferante (91, 144, 145, 146). La obtención de muestras vítreas también ha limitado los grupos ya que solo ha sido posible la extracción de éstas en diabéticos en estadios avanzados que requerían la realización de una vitrectomía. No es ético realizar esta técnica para la obtención de humor vítreo en pacientes diabéticos sin afectación retiniana, dada la no indicación y los riesgos que para el ojo ésta supone. Por último, las comparaciones han sido realizadas entre los pacientes diabéticos con controles “sanos”, que han necesitado como parte de su tratamiento la realización de una vitrectomía. Por tanto, se ha realizado un estudio combinando varios criterios en la selección de los diabéticos.

En el presente estudio, el grupo de diabéticos tuvo para la variable “edad” una media y mediana inferior al de los controles. Más concretamente, el grupo formado por pacientes diabéticos con RDP fueron los más jóvenes, a pesar de estar formado al 50% de pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2. No hubo ningún interés por establecer distribuciones por edad y, por tanto, este hallazgo no fue deliberado. En un estudio de Gustavsson y cols. el grupo de los pacientes diabéticos fue más joven que los controles no diabéticos, como ocurre en nuestro trabajo (151). Contrariamente, en otros estudios como el realizado por Pinazo-Durán y cols., donde se han comparado grupos de diabéticos con RDP, diabéticos sin RD y controles, las edades fueron similares en los tres grupos ya que se pretendían unas cohortes sin o con mínimas diferencias en cuanto a características demográficas (152). También se han presentado edades similares en otros trabajos aunque en estos casos tampoco de manera deliberada (90, 144, 153, 154).

Además, en el presente trabajo el grupo con IMC superior fue el de los controles sanos. Por el contrario en otros estudios se han hallado valores de IMC mayores en los DM con RDP (144, 155, 156). En otra publicación, donde se ha evaluado entre las características generales el IMC, se ha visto que es también mayor en el grupo de diabéticos a pesar de presentar mayor motivación de realizar ejercicio físico (152). Por otro lado, otros estudios presentaban valores de IMC similar entre los tres grupos a estudio (139-140).

Dadas las valoraciones mostradas de los datos demográficos y del tipo de distribución de las cohortes, cabría la posibilidad de que los resultados de nuestro estudio fueran diferentes a los de otros artículos que se presentan en la discusión ya que las cohortes son ligeramente diferentes. Podríamos discutir, por ejemplo, si el hecho de que nuestra cohorte del grupo de DM con RDP al ser más jóvenes tendría un estado inflamatorio general diferente y esto podría influir sobre los resultados. Ésta sería una cuestión a proponer para estudiar en nuevas investigaciones y que no es el objetivo del presente trabajo.

Por tanto, debido a la heterogeneidad en el tipo de individuos seleccionados por otros autores para realizar sus estudios somos conscientes de que esto puede provocar discrepancias con nuestros resultados. Por ello, en el presente estudio se han seleccionado las cohortes con las características concretas que han sido expuestas. La manera de elegir a los pacientes es lo que consideramos que da carácter novedoso a este trabajo.

A nivel de la analítica general, en el seguimiento sólo hubo diferencias significativas en:

- La Hb1Ac, la glucemia y el K⁺ entre pacientes y controles, presentando valores aumentados de manera significativa en los pacientes diabéticos tanto al inicio como al mes. Resultados similares, con valores aumentados en el grupo de los pacientes diabéticos, fueron observados en el trabajo de Pinazo-Duran y cols. en cuanto a la glucemia y HbA1c (152), y en cuanto a la HbA1c en los estudios (135, 138, 144, 146, 152, 153), entre otros. Pero en ninguno de estos estudios ha sido evaluado el K⁺.

- En el estudio analítico general al mes se hallaron diferencias significativas entre los pacientes DM con RDP y DM sin RD en Hb1Ac y urea, estando aumentados en DM con RDP. Por otro lado, el colesterol LDL,

Hematocrito y K^+ se halló aumentado de manera significativa en DM sin RD. En un estudio de Gverović Antunica y cols. se hallaron también valores de LDL mayores en DM sin RD, al contrario de lo que se presenta en otro trabajo de Schram y cols. donde se hallaron valores más elevados en DM con RDP (155, 138). Además, en cuanto a valores de colesterol LDL, se presenta aumentado significativamente en el grupo control respecto al grupo de diabéticos en el estudio de Pinazo-Duran y cols. (152). En nuestro estudio no hay diferencias significativas entre el grupo de DM sin RD con el grupo control, ni en la analítica inicial ni al mes.

En cuanto al K^+ , si bien se ha encontrado más elevado en sangre de pacientes diabéticos sin RD con respecto a los controles y a los pacientes con RDP, sorprendentemente no se han encontrado alteraciones significativas en los niveles de las citoquinas incluidas en este estudio. Estos resultados no pueden ser contrastados debido a la ausencia de estudios científicos previos, hasta nuestro conocimiento.

5.2 ESTUDIO DE LOS MEDIADORES INMUNOLÓGICOS

Aunque el mecanismo exacto por el cual los factores de riesgo provocan la disrupción vascular que evoluciona a retinopatía aún no está claro, existe una nueva evidencia que indica que la inflamación retiniana juega un papel significativo en la patogénesis de la retinopatía diabética. En las pasadas tres décadas han sido descubiertos gran número de factores de crecimiento y citoquinas la mayoría de los cuales han sido implicados en el proceso de la retinopatía diabética. La identificación y el entendimiento del completo papel de esas citoquinas en la patogénesis de la RDP es difícil ya que estas pueden actuar solas o muchas veces en una interacción coordinada. Hay varios componentes comunes a nivel de las citoquinas inflamatorias que están disregulados, tanto en suero como en humor vítreo, en pacientes con retinopatía diabética, y estas citoquinas pueden presentar múltiples interacciones e influir en la patogénesis de esta enfermedad (157). Estudios recientes han demostrado que la RD tiene las características de enfermedad inflamatoria crónica subclínica que contribuye no solo al daño de la vasculatura retiniana que podría evolucionar a la retinopatía diabética en desarrollo sino también al edema macular diabético (130, 148, 158, 159). Durante muchos años, desde que en 1986 Coffman y Mosmann postulasen la existencia de subtipos de células T colaboradoras caracterizadas por la secreción diferencial de citoquinas, se pensaba que en las células T CD4+ sólo existía una línea dicotómica, habiendo células Th1 y células Th2 (160, 161). Sin embargo, recientes descubrimientos han evidenciado que la población de células T colaboradores no estaba limitada a esos dos subtipos. En la actualidad se han descrito las subpoblaciones Th17, Th9, Thf y Treg, además de las Th1 y Th2 (161). Estas subpoblaciones linfocitarias se han caracterizado por la secreción de diferentes citoquinas implicadas en la fisiopatología de diferentes enfermedades, entre ellas la diabetes mellitus. Sin embargo, citoquinas liberadas por otros tipos celulares pertenecientes al sistema inmune innato como los monocitos, las células dendríticas, los macrófagos y las células endoteliales entre otras, también están implicadas en los mecanismos patológicos que se presentan en estas enfermedades (162).

5.2.1 Citoquinas estudiadas propias del sistema inmune innato.

1- En suero:

En el estudio de las citoquinas producidas por las células que participan en el sistema inmune innato se ha encontrado que hay en suero un aumento significativo de IL-1 β , IL-12p70 y TNF- α en todos pacientes diabéticos con respecto a los controles. Sin embargo, en los pacientes diabéticos están todas las citoquinas estudiadas (IL-1 β , IL-6, IL-12p70, IL-13 y TNF- α) aumentadas de manera significativa en el grupo de DM con RDP respecto a los controles, mientras que sólo lo están la IL-1 β , la IL-12p70 y el TNF- α en DM sin RDP. Además, se han encontrado niveles más elevados significativamente de IL-6 y IL-13 en los pacientes de DM con RDP con respecto a los DM sin RP. Se observa, por tanto, que los pacientes DM con RDP están más inflamados que los pacientes DM sin RD. Estos resultados se asocian con el aumento de inflamación encontrado previamente al estudiar los niveles de IFN- γ en estos pacientes.

Existen múltiples estudios que están de acuerdo con los resultados presentados en este trabajo. En 2006 se publica un artículo de Demircan y cols. en el que se estudia en suero y humor vítreo los niveles de IL-1 β y TNF- α de 21 pacientes diabéticos con RDP frente a humor vítreo de 21 cadáveres sanos y suero de 21 voluntarios sanos. Se encontró que los niveles de IL-1 β y TNF- α , medidos en suero, estaban incrementados de manera significativa en sujetos con RDP con respecto a los controles sanos (147). En 2007 Adamiec y cols. realizaron un estudio sobre 46 diabéticos para determinar en humor vítreo y en suero variaciones de ICAM, VCAM, IL-6 y TNF- α . Hallaron en suero niveles elevados de manera significativa tanto de las moléculas de adhesión como de las citoquinas pro-inflamatorias en diabéticos respecto a los controles (153). Mysliwiec y cols. en 2008 realizaron un trabajo con 202 diabéticos y 85 voluntarios sanos en el cual se estudiaron los niveles séricos de las citoquinas pro-inflamatorias IL-6 y TNF- α , junto el VEGF (140). El grupo de pacientes con retinopatía presentó en suero niveles significativamente más elevados de las tres moléculas (IL-6, TNF- α y VEGF) con respecto a los que no presentaban retinopatía y a los no diabéticos. Pero, lo más interesante del estudio fue que

en un grupo particular de pacientes que mostraban signos de neovascularización de la retina presentaron niveles indetectables de la VEGF, y no de las otras moléculas. Lo que sugiere que además del VEGF tiene que haber otros factores pro-inflamatorios importantes, como los estudiados, que jueguen su parte en el proceso de angiogénesis. Además, en 2008 en un artículo de Gustavsson y cols. realizado sobre muestras de suero de 128 individuos diabéticos sin RD, DM con RDP y controles sanos, se analizaron diferentes citoquinas y otras moléculas entre ellas IL-1 β , IL-6 y TNF- α . En el caso del TNF- α se hallaron diferencias significativas entre los grupos de diabéticos, mostrando valores más altos en los DM con RDP (139). En otro trabajo de Gustavsson y cols., de 2013 con metodología similar, se presentaron resultados similares a los expuestos en el estudio anterior (151). En el ensayo de Koleva-Georgieva y cols. de 2011 se analizaron en suero los niveles de IL-1 β , y TNF- α , entre otros, en diabéticos tipo 2 y controles sanos. Los resultados mostraron diferencias significativas en IL-1 β y TNF- α entre diabéticos y controles sanos (141). Estos resultados les llevaron a sugerir que los pacientes con diabetes tendrían un estado o ambiente inflamatorio comparado con los individuos sanos. En el trabajo de Doganay y cols. se investigó en suero de diabéticos con RDP la IL-1 β , sIL-2R, IL-6, IL-8, el óxido Nítrico y el TNF- α . Los niveles de TNF- α fueron significativamente más elevados en DM con RDP que en DM sin RD y que en controles (91). Todos estos trabajos presentan en común un aumento de los niveles de IL-6 y de TNF α similares a los obtenidos en el estudio aquí presentado. La IL-6 es producida por el sistema inmune innato, por fagocitos mononucleares, pero también es secretada por el hígado y por el endotelio. El papel de estas dos interleuquinas pro-inflamatorias en la patogenia de la retinopatía diabética permanece en discusión, sin embargo hay estudios que sugieren que la IL-6 jugaría un papel relevante, esencialmente al inicio del proceso (158).

En cuanto a la IL-12 en relación con la retinopatía diabética existen 13 estudios publicados, hasta el momento, de los cuales sólo uno está realizado en humanos adultos (Winkler y cols. 1998). Este trabajo describe niveles incrementados a nivel sérico de IL-12 en pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2 con respecto a los controles (163). Otro trabajo, pero realizado en niños diabéticos también presenta los niveles de IL-12 aumentados en suero de niños

diabéticos con retinopatía respecto de los hallados en los DM sin retinopatía o los controles sanos (164). La IL-12 (IL-12p70) es indispensable para la diferenciación y especialización de los linfocitos T colaboradores hacia Th1, lo que avalaría la elevación de las citoquinas del sistema inmune adaptativo que se ha expuesto anteriormente. Sin ambiente de IL-12, y en presencia de otras citoquinas como IL-4, TGF β o IL-6 los linfocitos T se polarizarían hacia otros tipos de respuesta inmune, como por ejemplo: Th2, Th9, Th17 o iTregs. En el presente trabajo se demuestra una diferente proporción de la IL-12 en los 3 grupos: DM con RDP > DM sin RD > Controles sanos, tanto en suero como en humor vítreo. Estos datos indican que los pacientes con DM con RDP presentan una marcada polarización por parte de los linfocitos del sistema inmune adaptativo hacia respuestas de tipo Th1, que en un segundo orden temporal provocarían una intensificación de la respuesta inflamatoria sobre las células inmigrantes presentes en el cuerpo vítreo colaborando en el deterioro de la retina.

No obstante, hay estudios que presentan resultados diferentes a los presentados en este trabajo. En algunos ensayos se han hallado valores de citoquinas en suero por debajo de los niveles de detección, como es el caso de la IL-1 β y el TNF- α en el trabajo de Abu-el-Asrar y cols., de la IL-6 y el TNF- α en el estudio de Ohara y cols., de la IL-1 β en el estudio de Gustavsson y cols., o de la IL-1 β y la IL-6 en el estudio de Doganay y cols. (86-87, 91, 139, 165). Pero esto difiere de nuestros hallazgos ya que la técnica de detección utilizada en estos trabajos es diferente a la utilizada en el nuestro, pudiendo ser esta menos sensible en las mismas condiciones. En otros estudios, aun detectando las citoquinas, no se encontraron diferencias entre los diabéticos y los controles sanos. Por ejemplo, el estudio de Lee y cols. se analizaron sobre 74 pacientes diabéticos con y sin retinopatía los niveles séricos de las citoquinas: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α e IFN- γ , junto a otras moléculas, y valoraron su posible influencia en la predicción de la progresión de la retinopatía diabética (154). Otro caso sería el trabajo de Gverović Antunica y cols., en el que se investiga la presencia de la citoquina pro-inflamatoria IL-12p70 en suero y por primera vez en el humor acuoso (155). La IL-12 se presenta en humor acuoso en niveles significativamente más altos en diabéticos con RDP sin tratar que en sanos, pero a diferencia de nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas

en los valores séricos. El número de diabéticos que participaron en los estudios: 46 pacientes diabéticos tipo 2 en el de Lee y cols. (casi el triple que en nuestro estudio), y 23 pacientes diabéticos (sin especificar el tipo) en el de Gverović Antunica y cols. ; la raza oriental de los individuos estudiados frente a la caucásica en nuestro caso (Lee y cols.); la metodología de análisis de las muestras (Gverović Antunica y cols.) mediante ELISA (técnica diferente a la utilizada en nuestro estudio y probablemente menos sensible); la edad mediana mayor de 70 años de los individuos estudiados, muy superior a los nuestros (Gverović Antunica y cols.); y el hecho de no reflejar como criterio de exclusión el estar bajo tratamiento con inmunosupresores o moduladores de la respuesta inmune en ninguno de los dos estudios, podrían explicar que los valores de las citoquinas estudiadas y su comparación en los grupos sean diferentes a los nuestros.

Aunque la IL-1 β es esencial en el proceso inflamatorio envuelto en la retinopatía diabética, hay diferentes estudios que han reportado conclusiones contradictorias como hemos visto, pero siempre asociadas a la heterogeneidad de las características de cada estudio. Además, la relevancia clínica de la IL-1 β no está clara ya que los niveles de IL-1 β utilizados en experimentos in vitro suelen ser más elevados que los medidos in vivo. En estudios realizados en 2009 y 2010 en base a cultivos de células de Muller se observó que en presencia de niveles elevados de glucosa aumentaba la IL-1 β , y que ésta podría alterar la función de la glutamato sintetasa de las células de Muller (162). Las células de Muller controlan a través de la glutamato sintetasa los niveles intersticiales de glutamato que es tóxico para las neuronas. Si éste se acumulara aceleraría la apoptosis neuronal. Por tanto, esto evidenciaría la posible asociación entre niveles altos de IL-1 β y la presencia de retinopatía diabética proliferativa, como se puede observar en nuestro estudio. En otro estudio de 2012, realizado sobre ratas diabéticas y combinado con cultivos celulares, se confirman los hallazgos descritos en estudios anteriores de Shen y cols. (166, 162). Pero estos trabajos no son comparables con el nuestro ya que se realizaron sobre medios de experimentación celular o con animales de experimentación y no sobre humanos.

2- En humor vítreo:

En el estudio de las citoquinas producidas por las células que participan en el sistema inmune innato (IL-1 β , IL-6, IL-12p70, IL-13 y TNF- α) se ha encontrado que están todas elevadas en diabéticos con RDP con respecto a los controles en humor vítreo, pero además de manera significativa

Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en el ensayo de Abu-el-Asrar y cols. en 1992. Se examinaron en suero y en humor vítreo las citoquinas IL-1 β , IL-6, TNF- α y IFN- γ en pacientes con DM con RDP. El humor vítreo de controles sanos se obtuvo del contenido de ojos sanos de cadáveres. Se hallaron en los pacientes con RDP niveles vítreos de IL-6 más altos que en pacientes diabéticos no proliferantes (86). De igual manera Demircan y cols. hallaron en su trabajo que los niveles de IL-1 β y de TNF- α medidos en humor vítreo estaban incrementados de manera significativa en sujetos con RDP con respecto a los controles sanos (147). En 2007 Adamiec y cols. publicaron un estudio en el que se encontraron niveles elevados de manera significativa de las citoquinas pro-inflamatorias IL-6 y TNF- α en diabéticos con respecto a los controles a nivel vítreo (153). En el estudio, de Zhou y cols., también fueron encontrados los niveles de IL-1 β , IL-6 y TNF- α significativamente más elevados en el humor vítreo de pacientes diabéticos en comparación con sujetos no diabéticos (167). En 2011 se realizó un estudio con humor vítreo de 76 ojos de pacientes con RDP comparándolos con 23 ojos sanos mediante análisis múltiple simultáneo. Se analizaron 27 citoquinas y quemoquinas, incluidas 12 de las evaluadas en nuestro estudio. Se detectaron valores significativamente más elevados en la IL-6, IL-8, IL-10 e IL-13 en los pacientes diabéticos que en los controles sanos. Estos resultados evidenciarían no solo la presencia de citoquinas del sistema inmune innato en el desarrollo de la retinopatía, sino además el intento de autocontrol (IL-10) (148). En un artículo de Gustavsson y cols. se estudiaron varias citoquinas (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) en diabéticos con retinopatía, en diabéticos sin retinopatía y en no diabéticos. Las muestras se obtuvieron de suero, humor vítreo y humor acuoso, En humor vítreo se detectaron niveles elevados de manera significativa de IL-6 en DM con RDP con respecto a los controles sanos (151). Existen otros artículos que apoyan nuestros resultados en cuanto a la presencia de niveles vítreos de la IL-6

significativamente más elevados en DM con RDP frente a controles (88-89, 136, 149, 156, 168-172). Pero, en algunos de estos trabajos se han encontrado concentraciones menores, e incluso niveles casi indetectables de IL-6 en suero con respecto al humor vítreo, lo que elucida un proceso inflamatorio local en la retinopatía diabética. Por tanto, muchos estudios han sugerido un papel significativo de los niveles vítreos de IL-6 en la patogénesis de la RDP, pero hay pocos trabajos donde además se haga referencia sobre la influencia de los niveles en suero de IL-6 en la RDP (140, 153, 154). Por último, otros ejemplos recientes de trabajos que están de acuerdo con los resultados del presente estudio son la revisión de Graves y cols., y la revisión de dell'omo y cols. que muestran que los niveles de TNF- α son más altos en retinas diabéticas (173-174). Todos estos resultados evidencian un aumento de inflamación del sistema inmune innato a través del aumento de los valores de las citoquinas: IL-1 β , IL-6 y TNF- α , y están de acuerdo con los resultados obtenidos en nuestro trabajo.

Pero hay ensayos en los que se han presentado resultados disímiles a los nuestros. En algunos casos no fueron detectadas algunas citoquinas, como por ejemplo en trabajos de Abu-el-Asrar y cols. en ellos se propuso valorar los mecanismos inmunes de la RD. Para ello se examinaron en suero y en humor vítreo algunas citoquinas (IL-1 β , IL-6, TNF- α y IFN- γ) en pacientes con DM con RDP. Las muestras de humor vítreo que utilizaron como controles las obtuvieron de ojos sanos de cadáveres. No se detectaron niveles de IL-1 β ni TNF- α , ni en humor vítreo ni en suero (86-87). Estos resultados se debieron probablemente a los umbrales de detección de la técnica de análisis de la época, diferente a la del presente trabajo, lo que explicaría la diferencia con nuestros resultados. En un artículo de Ideta y cols., donde se valoraron varias interleuquinas (IL-1 β , IL-2 y IL-6) y el TNF- α en humor vítreo vs humor acuoso, se observó que las citoquinas que fueron detectadas,, particularmente IL-1 β e IL-6, podrían jugar un papel en la amplificación local de señales en la RD (y otros procesos inflamatorios) (88). Pero, este estudio está sesgado ya que se comparó con un grupo control formado solo por 4 individuos controles sanos, e impreciso porque no se explica ningún dato más que la propia detección de las citoquinas. Tampoco se explica el grado de potencia de esta detección (si

presentaban niveles más elevados, similares o menores que los controles), probablemente porque no fue detectada ninguna citoquina en el humor vítreo de los controles, dado su escaso número. La técnica de análisis, ELISA, fue probablemente menos sensible y las muestras escasas de volumen. En otro ensayo, de Doganay y cols., se observó que los pacientes con RDP presentaban niveles vítreos indetectables de IL-1 β y IL-6 (91). Lo mismo se halló en el trabajo de Kauffmann y cols. para IL-1 β , IL-6, IL-8, y TNF- α o en el de Gustavsson y cols. para IL-1 β (150-151). En estos tres últimos trabajos las muestras también fueron analizadas mediante ELISA. Las interleuquinas IL-1 β , IL-6 e IL-8 no se pudieron medir en todas las muestras debido a los insuficientes volúmenes, lo que limitó la comparación de los resultados (150). En un amplio trabajo que realizó Yoshimura y cols. se estudió el humor vítreo de 345 pacientes. Se analizaron múltiples citoquinas, factores de crecimiento y quemoquinas en diferentes patologías (RDP, edema macular diabético, oclusión de vena central, oclusión de rama de vena y desprendimiento de retina regmatógeno), y se halló que la IL-1 β y el TNF- α , junto a otras citoquinas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-17 e IFN- γ), no fueron detectadas porque estaban por debajo del umbral de detección de la técnica utilizada, a pesar de que la técnica de determinación de las citoquinas, Luminex, fuera diferente a la descrita en los estudios anteriores (ELISA) (149). En resumen, las diferencias en la metodología de estudio podrían explicar que las concentraciones de las citoquinas detectadas no fueran similares a las de nuestro trabajo.

Por todo lo expuesto en los párrafos anteriores podemos concluir que se observa un ambiente más inflamado en los pacientes diabéticos con respecto a los controles. Pero además, están más inflamados los pacientes DM con RDP con respecto a los pacientes DM sin RD. Esto indica que según la gravedad de la retinopatía diabética, en los grupos estudiados, hay diferente grado de inflamación. El sistema está inflamado y además hay un predominio de la respuesta inmune de tipo Th1. Sin embargo, no podemos distinguir si el incremento de los niveles de las citoquinas es la causa o el resultado del desarrollo de la retinopatía diabética.

5.2.2 Citoquinas estudiadas secretadas por el sistema inmune adaptativo.

En el presente estudio al evaluar las citoquinas producidas por células del sistema inmune adaptativo, en suero y en humor vítreo, se han hallado valores de éstas que indican que los pacientes están más inflamados que los controles.

1- En suero:

Se observa en el suero que las concentraciones de las citoquinas pro-inflamatorias IFN- γ , IL-4, IL-17, IL-22 y la anti-inflamatoria IL-10 halladas en los pacientes DM con RDP y DM sin RD se presentan más elevadas de manera significativa respecto de los controles sanos. Además, en el suero de los pacientes DM con RDP los niveles de las citoquinas IFN- γ , IL-22 e incluso de la IL-10 están aumentados de manera significativa respecto a los DM sin RD. Estos datos demuestran que existe un predominio del IFN- γ respecto de las citoquinas IL-4 e IL-17 en los pacientes con DM con RDP lo que implicaría una polarización hacia un tipo de respuesta inmune de tipo Th1. Sin embargo en los pacientes diabéticos pero sin RD, a pesar de tener elevados los tres tipos de citoquinas principales no existe ningún predominio de tipo de respuesta inmune en suero. Estos resultados están de acuerdo con el trabajo realizado por Lee y cols. (154). En este estudio, realizado exclusivamente en suero, se evaluaron 12 citoquinas, entre ellas el IFN- γ . Al igual que en nuestros resultados ellos encontraron más elevados los niveles de IFN- γ en pacientes diabéticos con RDP. Respecto de la IL-10 existen pocos estudios que la relacionen con la DM con o sin RD. Mysliwiec y cols. hallaron que los niveles plasmáticos de IL-10 en diabéticos se incrementaban a medida que el estadio de la DM era más avanzado (140). Este resultado estaría a favor de nuestros hallazgos en los cuales encontramos un aumento de IL-10 en DM con RDP con respecto a los pacientes DM sin RD, demostrando que el aumento de IL-10, al igual que el IFN- γ , está directamente relacionado con la progresión de la patología. Acorde con los resultados del presente estudio, en otro trabajo publicado por Chen y

cols. sobre pacientes diabéticos con RDP utilizando la misma metodología se obtuvo un incremento significativo de los niveles de IL-22 (144).

Sin embargo, hay trabajos que no están de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio. Si bien los resultados de IFN- γ son acordes a nuestro estudio, en este mismo trabajo de Lee y cols. los resultados de IL-4 y de IL-10 no están de acuerdo con los nuestros (154). En este trabajo realizado en 74 pacientes que no son de raza caucásica se incluyeron pacientes exclusivamente diabéticos tipo 2, y no de ambos tipos como en el nuestro. Además, no está descrito si estaban bajo algún tipo de tratamiento con corticoides o inmunosupresores que posibilitaran que las muestras pudieran haber estado sometidas a alteraciones de las moléculas inflamatorias. Tampoco se hallaron diferencias significativas entre diabéticos y controles para las interleuquinas IL-10 e IL-17 en el trabajo de Chen y cols (144). Este estudio se efectuó sobre 29 diabéticos divididos en grupos de estadios intermedios de la retinopatía diabética con una "n" baja en cada subgrupo (entre 9-10 pacientes). También incluyeron pacientes de raza oriental y exclusivamente diabéticos tipo 2. En los resultados de los trabajos anteriormente discutidos se incluyen diferencias raciales, estar sometidos al tratamiento inmunosupresor e incluso el número "n" bajo que justificarían la falta de diferencias significativas.

Incluso existen trabajos con resultados totalmente contradictorios en los cuales se encuentra una disminución de IFN- γ , IL-4, IL-10 o/y de IL-17 (Hernández y cols., de Koskela y cols., Nadeem y cols.), pero el uso de una técnica de análisis menos sensible (ELISA), la exclusividad de un tipo específico de diabético analizado y el haber estado previamente bajo algún tratamiento inmunosupresor o corticoides, explicaría las diferencias con nuestro estudio (97, 137, 175).

2- En humor vítreo:

Al igual que en suero se presentan elevados los niveles de IFN- γ , IL-4, IL-17 y IL-10 en humor vítreo. Los resultados obtenidos en pacientes con DM con RDP vitrectomizados, por tanto en humor vítreo, no hacen más que confirmar el predominio de la citoquina IFN- γ , hallando diferencias significativas con los controles. Existen estudios que apoyan los resultados de este estudio.

Un ejemplo de ello es el trabajo de Suzuki y cols. que se realizó con 76 pacientes con RD frente a 23 controles (148). En él se obtuvieron valores más elevados en los diabéticos que en los controles de manera significativa de IFN- γ e IL-10. De igual manera en un estudio de Koskela y cols., siguiendo una metodología similar a la del presente estudio, se expone que en humor vítreo se encontraron valores elevados de IL-10 de manera significativa en DM con RDP respecto a los controles, acorde con nuestros resultados (137).

Sin embargo, existe heterogeneidad en los resultados obtenidos de las citoquinas ensayadas en los trabajos descritos en la bibliografía. Existen estudios en los que no hay diferencias significativas, como se observa para las citoquinas IFN- γ e IL-4 en el trabajo de Koskela y cols. (137), y para la IL-10 en los estudios de Hernández y cols., Yoshimura y cols., y Zhou y cols. (97, 149, 167). Estos trabajos presentan unas características comunes como son: haber sido realizados sobre diabéticos de un tipo en mayor proporción, haber utilizado para la determinación de citoquinas el ELISA, en algunos casos incluir pacientes de raza no caucásica, no haber constancia de los criterios de inclusión-exclusión de los pacientes, y no reflejarse en los textos si estaban previamente con algún tratamiento inmunosupresor. En estos cuatro últimos trabajos comentados, las explicaciones expuestas serían cada una de las que justificarían los diferentes resultados con los de nuestro estudio.

En relación con IFN- γ , autores como Abu el Asrar y cols. (1992) o Ongkosuwito y cols. (1998) no detectaron en sus estudios el IFN- γ en las muestras de humor vítreo en DM con RDP (86, 176). La causa de la no detección de IFN- γ en estos trabajos fue la débil sensibilidad de la técnica de ELISA empleada en aquella época. Otro ensayo que mostró valores de las citoquinas IFN- γ , IL-4 e IL-17 por debajo de los niveles de detección fue el de Yoshimura y cols. (149). En éste se estudió el humor vítreo de una muestra de 345 pacientes con DM con RDP frente a 83 controles. Aunque se utilizó una técnica de determinación múltiple de citoquinas (Luminex), esta técnica es menos sensible que la de nuestro estudio. Se estudió sobre una muestra de pacientes diabéticos de raza oriental, no se habla de los criterios de inclusión-exclusión de los pacientes y no se identifica que proporción o tipo de diabéticos

forman parte del estudio. Estas serían las causas que explicarían el tener resultados diferentes a los de nuestro estudio. Contrariamente a estos resultados, en estudios experimentales de Johnsen-Soriano y cols. sobre ratas Long-Evans encontraron valores significativamente elevados de IFN- γ e IL-2, sugiriendo que los relevantes hallazgos indicarían un predominio de la respuesta inmune de tipo Th1 (177). Pero cabe evaluar con cautela el estudio, ya que no se analizaron las citoquinas en humor vítreo humano sino en un homogeneizado de retina de animal de experimentación que incluía otras estructuras celulares, por lo que estos resultados no son comparables con los nuestros.

Por último, el estudio de Koskela y cols. describe resultados contradictorios a los hallados en este estudio de las citoquinas estudiadas en humor vítreo hallando valores disminuidos de IL-10. Pero cabe decir que existen diferencias importantes que podrían justificar que sus resultados sean incomparables a los del presente estudio. Por un lado la proporción de diabéticos estudiados de tipo 1 fue mucho mayor al nuestro. Y por otro lado, no se explicita criterios de exclusión como la presencia enfermedad autoinmune o estar bajo tratamiento inmunosupresor o inmunomodulador (137).

En general, se demuestra en el presente estudio que los niveles de la mayoría de las citoquinas valoradas son más elevados en humor vítreo que en suero, lo que indicaría una inflamación producida por células infiltrantes en el cuerpo vítreo. Destacando que existe un marcado predominio de los niveles de IFN- γ tanto en suero como en humor vítreo. Aunque hay trabajos que apoyan la posibilidad de que el aumento de citoquinas sea debido a la producción local (89, 97, 153, 158, 166-167, 176-179), otros opinan que las citoquinas circulantes en sangre participarían en proporcionar un aumento de su concentración en el cuerpo vítreo debido a una posible rotura de la barrera hematorretiniana (91, 141, 153).

En resumen, teniendo en cuenta todas las citoquinas estudiadas y siendo las relevantes: IFN- γ , IL-4, IL-17 e IL-10 en suero y en humor vítreo, se puede concluir que existe un predominio de la respuesta de tipo Th1 con aumento de IFN- γ frente a las respuestas de tipo Th2 y Th17. Además, persiste aumentada la IL-10, lo que indicaría la existencia de células Tregs asociadas al

aumento de inflamación en los pacientes diabéticos. Sin embargo, no parece que la IL-10 sea capaz de regular la inflamación de los mismos ni en suero ni en humor vítreo.

5.3 SIGNIFICACIÓN EN LA CLÍNICA

En el presente estudio en la evaluación de las citoquinas estudiadas con respecto a la agudeza visual se ha observado que:

1- En el grupo de pacientes DM con RDP:

- a. En suero: se ha encontrado que en agudezas visuales bajas, menor de 0,3, existe un aumento significativo en el IFN- γ , frente agudezas altas.
- b. En humor vítreo: se ha encontrado que en agudezas visuales bajas, menos de 0,6, existe un aumento significativo de IL-12p70 frente a los pacientes con agudezas visuales mayores de 0,6, y estos cambios de los niveles de esta citoquina se han visto que se asocia a un aumento significativo de IFN- γ en suero.

2- En el grupo de DM sin RD:

- a. En suero: no se han hallado diferencias significativas entre niveles de citoquinas y agudeza visual.
- b. En humor vítreo: no se han encontrado alteraciones de las citoquinas en función de la agudeza visual.

3- En el grupo de controles sanos:

- a. En suero: se han presentado diferencias significativas sólo para la interleuquina 9. De tal manera que se encontraron en agudezas medias (0,3-0,6) niveles significativamente más elevados de IL-9 frente a las agudezas altas, $>0,6$.
- b. En humor vítreo: no se han encontrado valores significativamente aumentados en ninguna de las citoquinas.

Tras revisar la literatura, en la búsqueda de trabajos o ensayos que evalúen la relación en diabéticos entre cambios de los niveles de las citoquinas estudiadas en suero y/o humor vítreo y la agudeza visual, no hemos podido encontrar ningún estudio ni general ni dirigido a ninguna interleuquina específica (IL-9, IL-12p70 o IFN- γ) para que pueda ser comparado con nuestros resultados, hasta nuestro conocimiento. Aunque en muchos trabajos publicados que hemos revisado (4, 135, 152, 170-171, 180-181,...) dentro de la metodología se ha evaluado la agudeza visual (independientemente de si se asociaba a la valoración de edema macular diabético o no, o si la muestra era de suero, de humor vítreo o de humor acuoso) ésta no ha sido reflejada. Si se ha descrito en otros artículos la relación entre agudeza visual y otros mediadores no han sido objeto de estudio en el presente trabajo, como por ejemplo el VEGF, IL-18, HGF, PEDF,... (89, 136, 140, 145-146, 148, 162, 168, 171, 181,...), o también se han evaluado los cambios de la agudeza visual tras diversos tratamientos experimentales (por ej.: anti-VEGF) para ciertas complicaciones en la retinopatía diabética (143, 170, 181,...), pero este no ha sido el objeto de nuestro trabajo.

En nuestras cohortes no se han encontrado ni en suero ni en humor vítreo diferencias significativas en los niveles de las 13 citoquinas evaluadas en presencia o en ausencia de edema macular diabético.

En los artículos publicados que tratan de la diabetes y las moléculas o mediadores que podrían estar en relación con el edema macular diabético, las citoquinas han sido estudiadas de diversas maneras: desde de forma individualizada hasta en grupos, solas o con otras moléculas. Por ejemplo, hay varios estudios que evalúan la existencia o no de edema macular asociado a determinadas citoquinas en suero (aunque son pocos) y/o en humor vítreo (168, 170, 182-183). Estos trabajos que incluyen en su estudio, además de las citoquinas que han sido evaluadas en nuestro ensayo, otras citoquinas (IL-2, IL-8, IL-18, IL-22, IP-10, MCP-1), otros factores de crecimiento (VEGF, HGF,...) u otras moléculas (Fibrinógeno, factor de Von Willebrand, ICAM, VCAM, homocisteína,...) muestran resultados similares a los nuestros, no hallando diferencias significativas en ninguna molécula estudiada.

Por otro lado, hay estudios que muestran resultados diferentes. En un estudio de Umazume y cols. se evaluó sobre muestras de humor vítreo la presencia de edema macular diabético asociado a la expresión de sCD14, propio de las células que forman parte del sistema inmune innato (macrófagos-monocitos, células dendríticas), junto otras citoquinas y quemokinas (IL-8, MCP-1, IP-10, VEGF) (180). En este trabajo todas las moléculas se presentaron elevadas de manera significativa en los ojos con edema macular diabético frente a los ojos sin edema. Pero no son comparables con los resultados del presente estudio ya que en su desarrollo no fue evaluada ninguna de las citoquinas que fueron seleccionadas en el nuestro. De igual manera a Umazume y cols. concluyeron otros trabajos en los que se estudiaron diversas moléculas (138, 141, 145, 184). Dentro de estos últimos trabajos, donde las citoquinas estudiadas se presentaron elevadas de manera significativa en los ojos con edema macular diabético frente a los ojos sin edema, sí se estudiaron entre las múltiples moléculas algunas de las citoquinas de nuestro estudio: IL-1 β (141), IL-6 (141, 145, 184), TNF- α (138, 141). Todas ellas son citoquinas propias del sistema inmune innato. Estos estudios coinciden en que se han realizado sobre pacientes diabéticos de un solo tipo, las poblaciones de diabéticos son de raza caucásica, no se hace referencia a ningún rango de edad como criterio de inclusión-exclusión para participar en el estudio, tampoco se valoran en los criterios de exclusión los tratamientos inmunomoduladores o inmunodepresores, además se toman todas las muestras de suero y la técnica de análisis es la misma (ELISA). Aunque el presente estudio ha sido realizado sobre pacientes y controles de raza caucásica ninguna de las otras características coincide con lo realizado en nuestro estudio. La edad muy establecida en unos rangos entre 18 y 80 años, la ausencia de tratamiento relacionado con la modulación del sistema inmune, el análisis de las muestras mediante una técnica probablemente más sensible que el ELISA, desde el punto de vista de las especificaciones, y la población diabética conjunta de ambos tipos, todo ello forma parte de la metodología de este trabajo y podría explicar los diferentes resultados con los estudios anteriormente expuestos.

En el presente trabajo, en el estudio de las citoquinas frente a la variable ceguera se observan resultados similares a los descritos para el EMD. No se han hallado diferencias significativas entre los diferentes mediadores inmunológicos estudiados en presencia o ausencia de ceguera. Estos resultados no pueden ser contrastados debido a la ausencia de estudios científicos previos, hasta nuestro conocimiento.

5.4 SIGNIFICACIÓN DE LA ANALÍTICA.

En el grupo de pacientes diabéticos se han hallado diferencias significativas con los controles en la comparación de las citoquinas en suero o en humor vítreo en función de los niveles de las variables analíticas: glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos, como se puede observar a continuación.

A- Cuando se comparan los valores de las citoquinas en función de los niveles de los parámetros analíticos estudiados:

1- En controles sanos no se observaron diferencias significativas en las citoquinas estudiadas, ni en suero ni en humor vítreo, con respecto a los parámetros analíticos (glucemia, Hb1Ac o nivel de linfocitos).

2- En los pacientes al estudiar en suero las citoquinas frente a los parámetros analíticos expuestos se ha detectado que:

- En DM con RDP se han hallado niveles elevados de IL-12p70 de manera significativa en presencia de Hb1Ac altas. Por tanto, al comparar los valores de las citoquinas en función de los niveles de hemoglobina glicosilada se ha visto que en presencia de niveles elevados en sangre de Hb1Ac se hallan en suero concentraciones altas de IL-12, lo que favorece el ambiente inmune-inflamatorio hacia una línea de respuesta inmune de tipo Th1.

En cuanto a la IL-12 en relación con la retinopatía diabética existen 13 estudios publicados hasta la fecha, de los cuales pocos han sido los realizados en humanos y a nivel sérico. Cabe resaltar el estudio de Winkler y cols. publicado en 1998 donde se hallan niveles incrementados de IL-12 en pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2, pero sin que se encontraran diferencias significativas (163). No se explica ni en éste ni en los otros trabajos publicados las variaciones de esta citoquina en función de parámetros analíticos tales como glucemia, Hb1Ac o nivel de linfocitos. Únicamente se muestran los niveles de citoquinas como datos pero no se establecen relaciones, como se puede observar en el estudio de Chacón y cols. (185). En el estudio de

Myśliwiec y cols. sólo se explica que elevados niveles de Hb1Ac en suero de jóvenes con diabetes tipo 1 detectados antes del desarrollo de retinopatía diabética podrían indicar la posibilidad de cambios patológicos asociados en un corto periodo de tiempo (184). Pero, aunque se ha estudiado en el trabajo de Myśliwiec y cols. también la IL-6 ni siquiera los correlaciona. Por otro lado, en otros estudios se han mostrado opiniones contrapuestas, como Ideta y cols. en el cual se hace referencia a una asociación en suero entre la IL-6 y la HbA1c, frente otros trabajos, entre ellos el de Nakamura y cols., en los que no detectan tal asociación (88, 178). Pero tampoco en ninguno de ellos se describe el grado de relación en presencia de niveles elevados de HbA1c y si se hallan o no entre los niveles de citoquinas diferencias significativas. Por tanto, debido a lo específico de las variables a confrontar y tras una revisión bibliográfica exhaustiva, no se han hallado estudios que permitan contrastar los resultados obtenidos, por lo menos hasta nuestro conocimiento.

- En DM sin RD se ha encontrado que en presencia de niveles altos de glucemia (>125 mgr/dL) se observan niveles significativamente bajos de las citoquinas: IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e TNF- α . Lo que indica una disminución significativa de esas citoquinas, y sugiere que existe una disminución de la inflamación dependiente de la respuesta inmune de tipo Th2. Por tanto, se podría considerar que en presencia de niveles bajos de algunas citoquinas (IL-4, IL-5) y dados los niveles de otras (IFN- γ) que no se presentan como disminuidos significativamente, se podría inferir de manera indirecta que el IFN- γ no sólo no está bajo sino que en proporción con las otras citoquinas está elevada.

En los artículos donde se ha estudiado las diferentes citoquinas en suero de pacientes diabéticos (con RDP o sin RD) y su posible relación con los niveles de glucosa en sangre, Hb1Ac o nivel de linfocitos se han encontrado resultados incompletos y dispares. Se debe mencionar inicialmente que trabajos de finales de los 90, como el ensayo de Kallman y cols., mostraban que la presencia en el medio de cultivo de niveles elevados de citoquinas tales como IL-4 e IL-10 se asociaba a un menor riesgo de diabetes (186). Por otro lado, también en la misma época otros autores como Berman y cols. describían

que el descenso de los niveles en suero de IL-4 se asociaba con el desarrollo de diabetes tipo 1 (187). Por tanto, y sin mencionar el estado glucémico de los pacientes, el descenso de algunas de las citoquinas expuestas en nuestro trabajo se asociaba al desarrollo de diabetes, pero no podemos especificar por lo descrito en el trabajo si en presencia o no de niveles altos de glucemia, aunque se suelen hacer los cultivos en ambientes especiales.

En los resultados de otros trabajos realizados sobre ratón se describe e la presencia de un desbalance de ciertas citoquinas a favor del predominio de las citoquinas que forman parte de la respuesta inmune de tipo Th1 (188). Además, se explica que no se puede concluir en este estudio si los altos niveles de IL-10 medidos en controles sanos predisponen el desarrollo posterior de la diabetes o si es un indicador de una respuesta inmune-protectora. Posteriormente, en un estudio experimental realizado con roedores, Nagai y cols. argumentan por su trabajo y por los resultados de trabajos previos que aumentos de glucemia o de Hb1Ac podrían activar la repuesta inmune de tipo Th1, de manera similar a como aparece en nuestros resultados. En este estudio se observa que el aumento de la expresión de la interleuquina IL-18 en presencia de niveles altos de glucosa en sangre dirige a un aumento de la producción de IFN- γ en la retina de ratas Long-Evans (189).

Entre los estudios publicados cabe destacar el trabajo de Chen y cols. Este ensayo fue realizado en suero de diabéticos tipo 2. Es el único trabajo en el que se describe que no se ha observado correlación entre Hb1Ac o glucosa en sangre y las citoquinas estudiadas (que son las mismas que en nuestro trabajo), sea cual sea la gravedad del cuadro de retinopatía. Pero no se explica si entre los niveles de citoquinas presentan o no diferencias significativas que permitan contrastarlo con los resultados del presente estudio. Además, este estudio ha sido realizado sobre diabéticos tipo 2 exclusivamente y con un número de pacientes muy reducido, lo que podría explicar las diferencias en los resultados con nuestro estudio (144).

Por otro lado, al evaluar las citoquinas en relación con los niveles de linfocitos en pacientes diabéticos no se han hallado estudios en los que esto haya sido investigado, hasta nuestro conocimiento, y que permitan comparar con los resultados obtenidos de nuestras cohortes.

3- En los pacientes diabéticos en humor vítreo: no se han detectado en DM con RDP con respecto a los controles diferencias significativas entre las citoquinas cuando los diferentes parámetros analíticos investigados están elevados.

De los estudios revisados, que han sido realizados en diabéticos con RDP sobre muestras de humor vítreo y en los que han sido investigadas múltiples citoquinas, incluyendo tanto las valoradas en nuestro trabajo como otras, en pocos se han mostrado relaciones entre estas citoquinas con los niveles analíticos que aquí se estudian. Entre ellos uno de los más claramente comparables con el nuestro es el trabajo publicado en 2007 por Adamiec-Mroczek y cols., donde contrariamente al nuestro ante niveles altos de HbA1c se hallaron valores significativamente aumentados del TNF- α en diabéticos con RDP con respecto a los controles (153). Aunque se estudiaron otras citoquinas y otras moléculas no se hace referencia de ningún otro dato adicional de éstas. Este ensayo se realizó con un número más bajo de pacientes que en el nuestro (casi la mitad) y sólo en diabéticos tipo 2. Las diferencias en la metodología de la selección y del reclutamiento de las cohortes podrían explicar los diferentes resultados con respecto a los del presente estudio. Por otro lado, en un estudio de Suzuki y cols. se observa que ante niveles altos en suero de HbA1c se hallan niveles bajos de IL-6, IL-10 o IL-13 (148). Este estudio, aun siendo muy similar al nuestro y con una metodología de análisis de las muestras de sensibilidad alta (Bioplex), se realizó con 76 paciente DM con RDP (un “n” mucho mayor que el nuestro, el triple). Pero a pesar de ello, al describir los resultados no se hace referencia sobre la existencia o no de diferencias significativas con los controles. Éste sería un estudio que podría indicarnos que posibles resultados tendríamos si aumentáramos nuestra “n”. Por tanto, hay pocos estudios e incompletos que permitan comparar con los resultados del presente estudio ya que en muchos textos revisados no ha sido reflejado desafortunadamente todo lo investigado.

B- Cuando los niveles de los parámetros bioquímicos estudiados (glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos) son normales, y por tanto, en pacientes bien controlados:

Tras exponer los resultados de la comparación de los niveles de cada citoquina en función de los valores normales o anormales de los parámetros analíticos (glucemia, Hb1Ac y nivel de linfocitos), ¿cómo se hallarán los niveles de estas citoquinas si se compararan los pacientes diabéticos (DM sin RD y DM con RDP) bien controlados, por lo menos desde el punto de vista analítico, con los controles?

En el presente trabajo ante niveles normales de los parámetros analíticos glucemia y HbA1c, en pacientes DM con RDP en suero se presentan valores elevados de manera significativa en todas las citoquinas respecto los controles, excepto IL-12 e IL-10. Por otro lado, en los DM sin RD en suero se observan valores significativamente elevados de todas las citoquinas investigadas, incluidas la IL-12 e IL-10, con respecto a los controles.

En el grupo de DM sin RD se presentan elevadas con respecto a los controles las mismas citoquinas que en el grupo de DM con RDP, y además también se eleva: IL-12 e IL-10. La IL-12 predispone un ambiente inmunológico que deriva hacia la producción de IFN- γ . Están elevadas las citoquinas pro-inflamatorias en DM sin RD, pero también la IL-10, ¿qué podría significar este hallazgo? Se podría pensar que hay un ambiente inflamatorio intenso y que la IL-10 conserva aquella situación de control metabólico relativo, puesto que al evolucionar la enfermedad (la diabetes) provoca un empeoramiento de la inflamación y una bajada de los niveles de la citoquina reguladora (IL-10), como se observa en el grupo de DM con RDP.

¿Qué consecuencias provocaría si se pudiera observar cómo evolucionan los niveles de las citoquinas en el humor vítreo de los pacientes diabéticos en diferentes momentos de la progresión de la retinopatía? Se podría saber el estado inmunológico en cada fase, pero dado que por ética y sin otra justificación no se puede realizar la vitrectomía y así tomar las muestras de humor vítreo en pacientes en cada una de las fases de la retinopatía, sólo se puede sugerir de manera indirecta que en DM sin RD podría progresar la retinopatía si disminuye en suero la IL-10, por tanto, si se

reduce el estímulo anti-inflamatorio previo. Y, ¿sólo persiste la respuesta inmune de tipo Th1? La IL-10 está ampliamente estudiado que biológicamente controla por igual al IFN- γ y a la IL-4, aunque en la cohorte estudiada aflore elevado el IFN- γ . En el presente trabajo la IL-10 quiere controlar y controla la respuesta inflamatoria IL-4, pero la IL-10 no puede controlar la producción del IFN- γ .

Por otro lado, en muestras de suero ante niveles normales de linfocitos en sangre se presentan aumentadas de manera significativa todas las citoquinas sin excepción en el grupo de DM con RDP y en el de DM sin RD respecto los controles.

En el presente estudio en humor vítreo de pacientes DM con RDP se presentan niveles elevados de manera significativa en todas las citoquinas con respecto a los controles sanos, excepto la IL-9 e el IFN- γ . Esto ocurre en presencia de valores normales de glucemia y Hb1Ac. En cambio ante niveles normales de linfocitos en sangre se presentan en humor vítreo aumentadas de manera significativa todas las citoquinas, excepto la IL-9. Entonces, ¿qué se observa en humor vítreo en los resultados de nuestras cohortes? Dado que son dos ambientes o compartimentos distintos no tiene por qué reflejarse en humor vítreo la inflamación sistémica. Pero, en nuestra cohorte sí parecen reflejarse en humor vítreo los cambios del suero que nuestros resultados demuestran, como ha sido comentado anteriormente.

Por consiguiente, aun estando dentro de los niveles normales de los 3 parámetros analíticos estudiados, aun así, casi todas las citoquinas estudiadas en suero y en humor vítreo en los diabéticos presentan niveles elevados de manera significativa respecto los controles. Esto indicaría que en los pacientes diabéticos (con o sin RD) hay un estado inflamatorio continuado a pesar de estar bien controlados.

Por último, tras revisar la bibliografía, y hasta nuestro conocimiento, no hay estudios publicados que evalúen en situación de normalidad de los parámetros analíticos descritos (glucemia, HbA1c y nivel de linfocitos) el estado de las citoquinas mencionadas en nuestro ensayo, ni en suero ni en humor vítreo.

5.5 CORRELACIONES ENTRE LAS PRINCIPALES CITOQUINAS PRO-INFLAMATORIAS Y ANTI-INFLAMATORIAS.

En el estudio de las correlaciones en suero y/o en humor de IFN- γ , IL-4, IL-10 y IL-17 se observó lo siguiente:

- Las correlaciones en suero han sido altas en el grupo de DM con RDP entre IFN- γ e IL-4, entre IFN- γ e IL-17 y entre IL-4 e IL-17. Por el contrario han sido bajas en el grupo de controles sanos y en el de DM sin RD entre IFN- γ e IL-4 y entre IFN- γ e IL-17. Lo que indica que en suero de diabéticos con retinopatía avanzada hay correlación alta entre las citoquinas pro-inflamatorias de las respuestas inmune de tipo Th1, Th2 y Th17. Por el contrario, en sanos y diabéticos sin retinopatía la correlación es baja.
- Las correlaciones en humor vítreo han sido altas en los DM con RDP entre IFN- γ e IL-4 y entre IL-4 e IL-17, y ha sido baja en el grupo de controles sanos.
- Al comparar los niveles en suero con los niveles en humor vítreo se ha observado que la correlación ha sido baja tanto en el grupo de DM con RD como en el grupo de controles para la citoquina IFN- γ como para la IL-4. Por otro lado, la IL-17 mostró en ambos grupos a estudio una correlación media entre los niveles de suero y los de humor vítreo.
- La IL-10 presentó una correlación baja con las citoquinas: IFN- γ , IL-4 e IL-17 al compararla en suero, en los tres grupos a estudio, y al compararla en humor vítreo, en los dos grupos vitrectomizados. Lo que revela que elevaciones de citoquinas pro-inflamatorias que traducen respuesta inmune de tipo Th1, Th2, o Th17 no van asociadas a aumentos progresivos de la citoquina antiinflamatoria IL-10, ni a una correlación negativa (con bajada de la IL-10) sino a un mantenimiento de sus niveles. La correlación entre los niveles de IL-10 en suero y en humor vítreo también fue baja. Lo que indica, al igual que se comentó anteriormente, que tanto en diabéticos avanzados como en controles sanos al aumentar la IL-10 en un

compartimento, torrente sanguíneo, no hay aumento en otro compartimento, cuerpo vítreo.

Los trabajos realizados sobre las citoquinas y su relación con las complicaciones retinianas de la diabetes han sido estudiados desde diferentes vertientes. Una de estas formas es el estudio de las correlaciones de las moléculas investigadas. Ejemplos de ello son:

- El artículo publicado de 2003 de Nakamura y cols. en el cual se investigó la correlación existente de la IL-6 entre suero y humor vítreo. Se halló una correlación baja entre sus concentraciones, lo que indica que aumentos de los niveles en suero no van asociados a aumentos de los niveles en humor vítreo. En este estudio no existen datos que puedan compararse con nuestros resultados, ya que la citoquina correlacionada no forma parte de las estudiadas en nuestro trabajo (178).
- En el trabajo realizado por Adamiec-Mroczek y cols. se muestran los resultados de la búsqueda de correlaciones entre ciertas citoquinas (IL-6 o TNF- α) con otras moléculas estudiadas como la endotelina. No se hace referencia durante su investigación a las citoquinas concretas que se han estudiado en nuestro trabajo. Por tanto, no es posible confrontar sus resultados con los del presente estudio (153).
- Por último, en el estudio de 2011 de Suzuki y cols. se estudiaron las correlaciones en el grupo de diabéticos con RDP entre el VEGF y otras citoquinas (IL-1B, IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, IL-17, IFN- γ , MCP-1, IP-10, PDGF), pero no entre estas últimas (148).

Por tanto, puesto que no han sido publicados trabajos de sistemática similar en los que hayan sido correlacionadas las mismas citoquinas que en el presente estudio, por lo menos que conste en la literatura revisada hasta el momento, no se pueden confrontar los resultados del presente estudio.

6. CONCLUSIONES

6.- CONCLUSIONES:

En este estudio prospectivo realizado en pacientes diabéticos estratificados por padecer retinopatía diabética proliferante y tras la cuantificación en suero y en humor vítreo de citoquinas se concluye que:

- 1- Los pacientes con diabetes de forma independiente al padecimiento de retinopatía diabética presentan niveles séricos más elevados de las citoquinas IL-1 β , IL-12p70, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-17A, IL-2 e IL-5 con respecto a los controles no diabéticos. Los pacientes con retinopatía diabética proliferante presentan además incrementadas las concentraciones en suero de todas las citoquinas estudiadas (IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-22) frente a los controles.
- 2- Los pacientes que padecen diabetes con retinopatía diabética proliferante presentan, a diferencia de los que no sufren esta complicación, elevación en los niveles de las citoquinas IL-6, IL-13, IFN- γ , IL-10 e IL-22.
- 3- En el humor vítreo de los pacientes diabéticos con retinopatía diabética proliferante la concentración de las citoquinas IL-1 β , IL-6, IL-12p70, IL-13, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-17A, IL-10, IL-2 e IL-5 es significativamente mayor que el cuantificado en vitrectomía de etiopatogenia no inflamatoria. Sin embargo, no hay diferencias significativas en las concentraciones de IL-9 e IL-22.
- 4- Los pacientes diabéticos con retinopatía diabética proliferante y que presentan peor agudeza visual demuestran un aumento en los niveles de IL-12p70 en humor vítreo asociado a un incremento de los niveles de IFN- γ en suero.

CONCLUSIÓN FINAL:

Tomando en conjunto todos los hallazgos obtenidos en este estudio se demuestra que la diabetes mellitus se asocia a una marcada alteración en los niveles sistémicos circulantes de citoquinas cuya intensidad es mayor en pacientes diabéticos con retinopatía proliferante, y además se detecta su incremento local a nivel de humor vítreo en estos enfermos. Las alteraciones en los niveles de citoquinas se pueden adscribir al empeoramiento clínico que expresan los pacientes diabéticos con retinopatía diabética proliferante.

7. ANEXOS

7.- ANEXOS:

7.1- HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

Número correlativo de enfermo: _____

Nº de hª clínica: _____

Fecha del registro: __/__/_____

1- Tipo de Diabetes Mellitus: 1. Tipo 1 2. Tipo 2

2- Paciente o Control: 1. Paciente 2. Control

3- Ojo operado: 1. Ojo derecho 2. Ojo izquierdo 3. No operado

4- Causa de la intervención.

1. No intervención

2. Agujero macular

3. Macular Pucker

4. Membrana Epirretiniana

5. Desprendimiento de Retina

6. Hemovítreo

7. Edema Macular

5- Datos personales del paciente :

+ Sexo: 1. H 2. M

+ Edad :____(años)

- SISTÉMICAS

6- Antecedentes Familiares de Cardiopatía Isquémica Precoz: 1. Si 2. No.

7- IMC: ____Kg/ m²

8- PAS/PAD: _____ / _____ mm Hg

9- Tabaquismo: 1. Si 2. No.

10- Tiempo de evolución: _____ (años)

11- HbA1c: _____ (%)

12- Microalbuminuria: 1. Si 2. No

13- Proteinuria: 1. Si 2. No

14- Nefropatía: 1. Si 2. No

15- Neuropatía periférica: 1. Si 2. No

16- Arteriopatía periférica: 1. Si 2. No

17- Cardiopatía Isquémica: 1. Si 2. No

18- HTA: 1. Si 2. No

19- Hipercolesterolemia: 1. Si 2. No

20- Medicación para la diabetes:

+ ADO: 1. SI 2. NO.

TIPOS:

1- SULFONILUREAS 1. SI 2. NO. TIPO Y

DOSIS: _____

2- BIGUANIDAS 1. SI 2. NO. TIPO Y

DOSIS: _____

3- INHIBIDORES DE LA A GLUCOSIDASA 1. SI 2. NO. TIPO Y
DOSIS:_____

4- TIAZOLIDINEDIONAS 1. SI 2. NO. TIPO Y
DOSIS:_____

5- MEGLITINIDAS 1. SI 2. NO. TIPO Y
DOSIS:_____

+ Insulina: 1. Si 2. No

+ Tipo:

Rápida: 1. Si 2. No

Intermedia: 1. Si 2. No

Lenta o prolongada: 1. Si 2. No

+ Dosis.: __/__/__

21- Medicación para enfermedad vascular:

+ Estatinas: 1. Si 2. No

+ IECAS: 1. Si 2. No

+ Antagonistas del Calcio: 1. Si 2. No

+ Antiagregantes: 1. Si 2. No

+ Heparina: 1. Si 2. No

OTROS _____

- OFTALMOLÓGICAS

22- Agudeza visual: _____

23- Visión de Colores: 1. Si 2. No

24- Angiografía fluoresceínica:

+ Isquemia Periférica: 1. Si 2. No

+ Isquemia Macular: 1. Si 2. No

- + Neovasos: 1. Si 2. No
- + Edema Macular Focal: 1. Si 2. No
- + Edema Macular difuso: 1. Si 2. No

25- Rubeosis en iris: 1. Si 2. No

26- Fondo de ojo (grado de Retinopatía Diabética):

- 0: no RD
- 1: RD No proliferante leve
- 2: RD No proliferante moderada
- 3: RD No Proliferante Grave
- 4: RD Proliferante

27- Presión Intraocular: _____ / _____ mm Hg.

28- Laserterapia:

- + Fotocoagulación focal: 1. Si 2. No
- + Fotocoagulación rejilla: 1. Si 2. No
- + Panretinofotocoagulación: 1. Si 2. No

- END-POINTS

29- Ceguera: 1. Si 2. No, FECHA (__ / __ / __)

30- Vitrectomía: 1. Si 2. No, FECHA (__ / __ / __)

31- Recidiva: 1. Si 2. No, FECHA (__ / __ / __)

32- Reintervención: 1. Si 2. No, FECHA (__ / __ / __)

33- Muerte: 1. Si 2. No, FECHA (__ / __ / __)

- Esquemas de los resultados de las variables y citoquinas estudiadas:

ANALIT. GENERAL	INTRAOPERAT/ INICIO	1 MES
Hematocrito		
Neutros		
Leucos		
Linfos		
Alb		
Colesterol Total		
HDL		
LDL		
Glucemia		
HbA1c		
Urea		
Creatinina		
Na		
K		
Proteinas en orina		

MUESTRA SÉRICA	EXTRACCIÓN INTRAOPERATORIA / INICIO DE ESTUDIO
IL-1 β	
IL-2	
IL-4	
IL-5	
IL-6	
IL-9	
IL-10	
IL-12p70	
IL-13	
IL-17A	
IL-22	
IFN- γ	
TNF- α	

MUESTRA VÍTREA	EXTRACCIÓN INTRAOPERATORIA
IL-1 β	
IL-2	
IL-4	
IL-5	
IL-6	
IL-9	
IL-10	
IL-12p70	
IL-13	
IL-17A	
IL-22	
IFN- γ	
TNF- α	

Fecha de Vitrectomía: (__ / __ / __)

7.2.- CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL ESTUDIO.

“IMPLICACIONES DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN LA RETINOPATIA DIABÉTICA Y CUANTIFICACIÓN DE LOS MEDIADORES DE LA REPUESTA INFLAMATORIA IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-22, IFN- γ y TNF- α EN SUERO Y EN PACIENTES VITRECTOMIZADOS”

Las citoquinas (proteínas) son péptidos intracelulares secretados por linfocitos, monocitos, macrófagos, células endoteliales vasculares y otros tejidos. En los pacientes diabéticos se ha visto la posible influencia (patogenia) de los factores inmunes en la retinopatía diabética (complicación importante de la diabetes) y en su progresión. Algunos de estos factores inmunes pueden ser detectados en sangre y estar relacionados con los valores de éstos en el gel vítreo del ojo, donde pueden quedar depositados durante los cambios de la retinopatía diabética.

La finalidad del estudio es valorar la correlación entre niveles séricos en diferentes momentos de estos factores y la evolución de la retinopatía diabética, así como en aquellos que sean vitrectomizados necesariamente por su evolución y como método terapéutico, aprovechar el contenido de la vitrectomía para su estudio y relación de estos factores con los niveles séricos.

Si soy CONTROL_____ (SI O NO), EN SU CASO actuaría como CONTROL SANO QUIRÚRGICO, para comparar los valores del gel vítreo con respecto los de pacientes enfermos, aprovechando la cirugía que se le realizará para tomar una muestra vítrea (gel) del procedimiento habitual de vitrectomía.

El Dr. _____ me ha propuesto participar en este estudio. He recibido y he comprendido bien las informaciones siguientes:

- 1- La participación en este estudio no va a cambiar el tratamiento que se me va administrar, siendo éste el propuesto por las sociedades científicas.

- 2- La participación comporta la extracción de sangre para la determinación de proteínas específicas en intervalos de tiempo definidos. Sólo 1 vez si soy control y durante la cirugía.
- 3- En caso de requerir como tratamiento durante la evolución de mi retinopatía la necesidad de cirugía permitiré el dar una muestra del gel vítreo para el estudio. Si soy control cederé la muestra para el estudio comparativo.
- 4- Conservo todos mis derechos garantizados por ley. Si lo deseo, seré libre en todo momento de finalizar mi participación, informando entonces al Dr._____.

Yo _____ con
DNI_____.

DOY MI CONSENTIMIENTO

A que me practiquen, extracciones de sangre y de muestra vítrea definidas según lo especificado antes, para el estudio de proteínas de respuesta inmune. Este estudio ha sido evaluado por el comité ético dando autorización para su realización.

Palma de Mallorca, _____ de _____ de 200_

Firma del paciente o parentesco

Firma del médico responsable

7.3- DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO: VITRECTOMÍA

IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

El globo ocular contiene en su interior una sustancia de consistencia gelatinosa, denominada vítreo.

La intervención elimina este vítreo, cuando éste se ha opacificado de forma irreversible o está ejerciendo algún tipo de tracción o efecto negativo sobre la retina, produciendo lesiones graves que hace recomendable su extracción sustituyéndolo por líquidos, gases u otros materiales sintéticos.

DOCUMENTOS DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Las indicaciones de ésta operación son diversas: desprendimiento de retina, hemorragia vítrea, retinopatía Diabética avanzada, cuerpos extraños intraoculares derivados de accidentes o de cirugía previa, en-heredades de la retina (membranas maculares), Infecciones intraoculares, etc.

Con frecuencia se asocia a otras técnicas, como es la introducción de gas intraocular o de otras sustancias, aplicación de frío, colocación de implantes o cerclajes, extracción de muestras del interior del ojo, in-perención de cataratas.

Durante la cirugía se introducen instrumentos dentro del ojo con el fin de manipular las diferentes es-tractoras oculares, pudiendo añadirse, como se ha dicho, la inyección de sustancias.

OBJETIVO DEL PROCEDIMIENTO Y BENEFICIOS QUE SE ESPERAN ALCANZAR

Recuperar en unos casos la visión del ojo afectado, mantener o impedir la progresión de la pérdida vi-sal en otros, tratando de lograr la mejor reconstrucción estructural posible del interior del globo ocular. En caso de Infecciones, impedir que ésta acabe con la integridad del ojo y la visión del paciente. En caso de caer-pos extraños, la extracción de los mismos.

Con referencia a las alternativas razonables a dicho procedimiento, no existen otras alternativas a las descritas.

Las consecuencias previsibles de su realización son:

La manipulación de instrumentos, al igual que la introducción de sustancias dentro del ojo ocasiona cambios importantes de la anatomía del ojo.

Se pueden producir lesiones en las estructuras internas oculares.

El paciente necesitará revisiones después de la cirugía durante un tiempo variable (incluso meses).

Suele ser necesario ingreso hospitalario los primeros días, añadiéndose con frecuencia un tratamiento postural postoperatorio.

Es necesario realizar tratamientos locales con colirios y/o pomadas y con frecuencia generales.

Suele hacerse con anestesia general, aunque puede hacerse con anestesia local potenciada con sedación.

No debe olvidarse que la presencia de alteraciones en la retina puede limitar la recuperación visual

Puede ser necesario volver a operar para conseguir resultados satisfactorios o en caso de aparecer nuevas hemorragias, nuevos desprendimientos, etc.

Si no se realiza la vitrectomía, la enfermedad puede progresar, con deterioro de la estructura anatómica del ojo llegando incluso a producirse la atrofia ocular y consecuentemente la ceguera, a veces acompañada de dolor. En otros casos el obstáculo que impide la visión permanece en el ojo, no pudiendo producirse recuperación funcional alguna.

Toda intervención quirúrgica comporta algún tipo de riesgo. En este caso hay que tener presente:

- a) Durante la intervención pueden aparecer hemorragias y lesiones de estructuras intraoculares como retina y cristalino.
- b) Después de la operación, en el postoperatorio, hay dolor desde leve a moderado o intenso que pue-de

durar incluso varios meses, aumento de la tensión intraocular, formación de cataratas y desprendimiento de retina.

Otros riesgos relativamente poco frecuentes son los inherentes a la técnica anestésica empleada:

La anestesia tanto local como puede producir complicaciones tales como perforación ocular, hematoma retro bulbar, reacciones alérgicas graves y otras alteraciones generales (crisis vagales con mareos, hipotensión, taquicardia).

En estos casos la intervención debe suspenderse, para reintentarse semanas después con el mismo método o bien realizarse posteriormente bajo anestesia general o anestesia local con mayor profundización.

Derivadas de la anestesia general: shock anafiláctico, hipotensión, parada cardiorrespiratoria.

Existen otras complicaciones poco frecuentes como hemorragia intraocular graves que dependiendo de su cuantía, pueden empeorar el pronóstico visual del paciente. Puede producirse el desprendimiento de una o varias capas de las que se compone el ojo (retina, coroides).

En algunos casos también se puede producir una Infección grave.

Las patologías sistémicas asociadas como diabetes, hipertensión, cardiopatías, inmunodepresión y otras, aumentan el riesgo quirúrgico y la posibilidad de complicaciones intra y postoperatorias.

Existen descritas otras complicaciones Infrecuentes no incluidas en este texto dada su extensión, que podrán ser comentadas por su oftalmólogo si usted lo desea.

7.4- HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA VITRECTOMÍA.

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PARA TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE VITRECTOMÍA

Nº HISTORÍA

Don/Doña de años de edad.

(Nombre y dos apellidos del paciente)

con domicilio en y D.N.I. nº

Don/Doña de años de edad.

(Nombre y dos apellidos)

con domicilio en y D.N.I. nº

en calidad de de

(Representante legal, familiar o allegado) (Nombre y dos apellidos del paciente)

DECLARO

Que el DOCTOR/A DON/DOÑA.....

(Nombre y dos apellidos del facultativo que proporciona la Información)

me ha explicado que es conveniente proceder, en mi situación, a recibir TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE VITRECTOMÍA.

EL CONSENTIMIENTO INFORMADO EN OFTALMOLOGÍA

Otros riesgos o complicaciones que pueden aparecer teniendo en cuenta mis circunstancias personales (estado previo de salud, edad, profesión, creencias, etc) son:.....

.....
.....
.....

Se harán todas las pruebas y tratamientos necesarios para que los riesgos de la intervención se reduzcan al mínimo.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO

En mi caso particular, y después de haber Informado al médico de mis enfermedades generales y oculares que pudieran contraindicar la cirugía, se ha considerado que éste es el tratamiento más adecuado, aunque pueden existir otras alternativas que estarían indicadas en otro caso y que he tenido la oportunidad de comentar con el médico. También he sido Informado de las posibles consecuencias de no realizar el tratamiento que se me propone.

He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

Por ello, manifiesto que estoy satisfecho con la Información recibida y que comprendo el alcance y los riesgos del tratamiento, siendo consciente de que no existen garantías absolutas de que el resultado de la cirugía sea el más satisfactorio.

Y en tales condiciones

CONSIENTO

Que se me realice TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE VITRECTOMÍA, así como las maniobras u operacines

que sean necesarias durante la intervención quirúrgica.

En (Lugar y fecha)

Fdo.: El/la Médico Fdo.: El Paciente Fdo. El/la representante legal,
familiar o allegado

REVOCACIÓN

Don/Doña de años de edad.

(Nombre y dos apellidos del paciente)

con domicilio en y D.N.I. nº

Don/Doña de años de edad.

(Nombre y dos apellidos)

con domicilio en y D.N.I. nº

en calidad de de

(Representante legal, familiar o allegado) (Nombre y dos apellidos del paciente)

REVOCO el consentimiento prestado en fecha, y no deseo proseguir el trata-
miento,

que doy con esta fecha por finalizado.

En (Lugar y fecha)

Fdo.: El/la Médico Fdo.: El Paciente Fdo. El/la representante legal,
familiar o allegado

8. BIBLIOGRAFÍA

8.- Bibliografía:

- 1- **Bonafonte S., García C.A.** Retinopatía diabética. 1996. Ed. Mosby/Doyma Libros, S.A. Madrid (España). ISBN: 84-8174-101-9.
- 2- **Lafuente López - Herrera M.** Retinopatía diabética. 2005. Ed. Alcanfora Publicidad S.L. Madrid (España) ISBN: 84-689-0765-0.
- 3- **Aro V., Gomez-Ulla F., Quiroz-Mercado H.** Tratado de Retinopatía Diabética. 1ª ed. Madrid 2006. Pag. 35-36.
- 4- **ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study).** Group.nº 12 Fundus photographic risk factors progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1991; 98:823-833.
- 5- **Wilkinson CP., Ferris FL, Klein RE et al.** Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003; 110:1677-1682.
- 6- **Fong DS, Barton FB, Breswick GH.** Impaired color vision associated with diabetic Retinopathy: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report Nº 15 An Jophtalual 1999 ; 128(5):612-7.
- 7- **Breswick GH.** Non proliferative diabetic Retinopathy Capter 74 (1277-1318). Retina Ed. Stehar J. Ryan 2ª Edition. 1994. Mosby- St. Lanis, Missouri.
- 8- **Breswick Gh, Palta M.** Oxcillatory parteneiel amplitudes. Arch Ophtalmol 1987; 105:929-33.
- 9- **Fdez-Vigo J.** Diabetes ocular LXV III Ponencia Oficial de la Sociedad Española de Oft. 1992.

- 10- **Funatsu H, Yamashita H, Noma H, Mimura T et al.** Increased levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *Am J Ophthalmol* 2002 Jan; 133 (1):70-7.
- 11- **Antcliff RJ, Marghall J.** The pathogenesis of edema in diabetic maculopathy. *Semin Ophthalmol* 1999 Dec; 14(4):223-32.
- 12- **Pulido, JS.** Retinopatía diabética. En *Retina, coroides y vítreo. Requisitos en Oftalmología.* 2003; Ed. Elsevier. España, S.A. Madrid. ISBN: 84-8174-580-4.
- 13- **Shimizu K, Kobayash Y.** Mid-peripheral fundus involvement in diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1981; 88:601-12.
- 14- **Klein R., Klein BE., Moss SE et al.** 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; 105:1801-15.
- 15- **Fong DS., Aiello L., Gardner TW et al.** Retinopathy in Diabetes (for the American Diabetes Association). *Diabetes Care* 2004; 27:S84-S87.
- 16- **DCCT (Diabetes control and Complications Trial Research Group):** The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng.J Med* 1993; 329:977-986.
- 17- **DCCT (Diabetes control and Complications Trial Research Group):** The relationship of glycaemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 1995; 44:968-983.

- 18- **DCCT (Diabetes control and Complications Trial Research Group):** Effect of pregnancy on microvascular complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care* 2000; 23:1087-91.
- 19- **UKPDS (the United Kingdom Prospective Diabetes Study):** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33.) *Lancet* 1998; 352:837-53.
- 20- **UKPDS (the United Kingdom Prospective Diabetes Study).** Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: (UKPDS 38). *BMJ* 1998; 317:703-13.
- 21- **Merimee TJ., Zapf J., Froeh ER.** Insulin-like factors: studies in diabetes with and without retinopathy. *N Engl J Med* 1983; 309:527-530.
- 22- **Beck RW., Frank RN., Kraker RT. et al.** The effect of a growth hormone receptor antagonist drug on proliferative diabetic retinopathy. Growth Hormone antagonist for proliferative diabetic retinopathy Study Group. *Ophthalmology* 2001; 108:2266-72.
- 23- **T MB., Manes RN., Fitzgerald C. et al.** The efficacy of ocreotide in the therapy of severe non proliferative and early proliferative diabetic retinopathy: a randomised controlled study. *Diabetes Care* 2000; 23:504-9.
- 24- **Kohner EM., Aldington SJ., et al. UKPDS, 30:** diabetic retinopathy at diagnosis of non-insulin dependent diabetes mellitus and associated risk factors. *Arch Ophthalmol* 1998; 116:297-303.

- 25- **Chaturvedi N, Sjolie A, Stephenson J et al.** Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normotensive people with type I diabetes. The EUCLID Study Group. EURODIAB controlled trial of lisinopril in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*, 1998; 351:28-31.
- 26- **Klein BEK, Moss SE, Klein R** Effect of pregnancy on progression of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1990; 13:34-40.
- 27- **Gupta A, Gupta V, Thapar S, Bhansali A.** Lipid-lowering drug atorvastatin as adjunct in the management of diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2004; 137: 675-682.
- 28- **Aiello LP, Cahill MT, Wong JS.** Systemic considerations in the management of diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2001; 132: 760-776.
- 29- **Friedman EA.** Advanced glycosylated end products and hyperglycemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1999; 22 (Supp12):B65-71.
- 30- **Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G.** Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19:257-67.
- 31- **Frank RN.** On the pathogenesis of diabetic retinopathy. A 1990 update. *Ophthalmology* 1991 May;98(5) 586-93
- 32- **Brownlee M.** Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414(13):813-20.
- 33- **Sharp PS.** The role of growth factors in the development of diabetic retinopathy. *Metabolism*. 1995 Oct; 44(10 suppl4):72-5.

- 34- **Frank RN, Amin R, Kennedy A, Hohman TC.** An aldose reductase inhibition and aminoguanidine prevent vascular endothelial growth factor expression in rats with long-term galactosemia. *Arch Ophthalmol* 1997 Aug; 115(8):1036-47.
- 35- **Lu M, Kuroki M, Amano S, Tolentino M. et al.** Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J. Clin Invest* 1998. Mar 15; 101(6):1219-24.
- 36- **Augustin AJ, Dick HB, Koch F, Schmidt- Erfurth V.** Correlation of blood-glucose control with oxidative metabolites in plasma and vitreous body of diabetic patients. *Eur J. Ophthalmol* 2002 Mar-Apr; 12(2):94-101.
- 37- **Koya D, King GL.** Protein Kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* 1998; 47:859-66.
- 38- **Aiello LP.** The potential role of PKC β in diabetic retinopathy and macular edema. *Surv Ophthalmol* 2002; 47 (Supp12):S263-9.
- 39- **Nishikawa T, Edelstein D, Du XL. et al.** Normalizing mitochondrial superoxide production blocks pathways of hyperglycaemia damage. *Nature* 2000; 404(13):787-790.
- 40- **Petty RG, Pearson Jd, Morgan DM, Mahler RF.** Simulation of endothelial cell growth by sera from diabetic patients with retinopathy. *Lancet* 1998. Jun 30; 1 (8579):208-11.
- 41- **Borseley DQ, Prowse CV, Gray RS, Dawers I et al.** Platelet card coagulation factors in proliferative diabetic retinopathy. *J. Clin pathol* 1984 Jun; 37(6):659-64.
- 42- **García I, Simo R, Monasterio J, Soriano B et al.** Platelet hyperactivity in diabetic retinopathy: etiologic factor or

epiphenomenon of microangiopathy. *Rev clin Esp* 1993 May; 192(9):420-3.

43- **Sakamoto T, Ito S, Yoshikama H, Itata Y. et. Al.** Tissue factor increases in the aqueous humor of proliferative diabetic retinopathy. *Graefes Arch clin Exp Ophthalmol* 2001 Nov; 239(11):865-71.

44- **Di Mario V, Borseley DQ, Contreas G, Prowse C V et al.** The relationship of soluble immunocomplexes, insulin antibodies and insulin-anti-insulin complexes to platelet and coagulation factors in type I diabetic patients with and without proliferative retinopathy. *Clin Expr. Immunol* 1986 Jul; 65(1): 57-65. (Abstract)

45- **Wiedemann P.** Growth factors in retinal diseases: proliferative vitreoretinopathy diabetic retinopathy and retinal degeneration. *Surv Ophthalmol* 1992 Mar-Apr; 36(5):373-84.

46- **Bursell SE, Clermont A, Aiello LP et al.** High-dose vitamin E supplementation normalized retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:1245-1251.

47- **Barber AJ, Antonetti DA, Gardner TW.** Altered expression of retinal occluding and glial fibrillary acidic protein in experimental diabetes. The Penn State Retina Research Group. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 3561-8.

48- **Boeri D, Maiello M, Lorenzi M.** Increased prevalence of microthromboses in retinal capillaries of diabetic individuals. *Diabetes* 1997;50:1432-9.

49- **Witmer AN, Urensen GF, Van Noorden CJ, Schillingemann RO.** Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog retin eye res* 2003 Jan; 22(1):1-29.

- 50- **Pagues M, Massin P, Gaudric A.** Growth factors and diabetic retinopathy. *Diabetes Metab.* 1997 Apr; 23(2):125-30.
- 51- **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 Jun; 11 SuppA: 553-9.
- 52- **Pfeiffer A., Spranger J., Meyer-Schwickerath R., Schatz H.** Growth factor alterations in advanced diabetic retinopathy: a possible role of blood-retina barrier breakdown. *Diabetes* 1997 Sep; 46 suppl2: 526-30.
- 53- **Silvalingan A, Kenney JK., Brown GC et al.** Basic fibroblast growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1990; 108:869-872.
- 54- **Hirase K, Ikeda T, Sotozono C, Nishida K et al.** Transforming growth factor β 2 in the vitreous in proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1998. Jun; 116(6):738-41.
- 55- **Khan ZA, Curkiernik M. Gonder JR, Chakrabarti S.** Oncofetal fibronectin in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004 Jan; 45(1):287-95.
- 56- **Katsura Y, Okano T, Nowtake M, Kosano H et al.** Hepatocyte growth factor in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy and other retinal disorders. *Diabetes Care* 1998 Oct; 21(10):1759-63.
- 57- **Boulton M.** A role for hepatocyte growth factor in diabetic retinopathy? *Br J Ophthalmol* 1999 Jul; 83(7):763-4.

- 58- **Shinoda K, Ishida S, Kaeashima S, Wakabayashi T et al.** Comparison of the levels of hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor in aqueous fluid and serum with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol* 1999 Jul; 83(7):843-7.
- 59- **Shinoda K, Ishida S, Kawashima S, Wakabayashi T et al.** Clinical factors related to the aqueous levels of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res.* 2000 Aug; 21(2):655-61.
- 60- **Boulton M, Gregor Z, Mcleod D, Gharteris D et al.** Intravitreal growth factors in proliferative diabetic retinopathy: correlation with neovascular activity and glycaemic management. *Br J. Ophthalmol* 1997 Mar; 81(3):228-33.
- 61- **Bonn D.** Blocking angiogenesis in diabetic retinopathy. *Lancet* 1996 Aug 31; 348(9027):604.
- 62- **Grignolo FM, Emanuelli L, Eandi CM, Brogliatti B.** Ocular angiogenesis ; a new in vivo experimental model. *Acta Ophthalmol Sacand Suppl.* 1997; (224):10-1.
- 63- **Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA y cols.** Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Eng J Med* 1994 Dec 1; 331(22):1480-7.
- 64- **Rakocz y PE, Brankov M, Fonceca A, Zakmich T et al.** Enhanced recombinant adeno-associated virus-mediated vascular endothelial growth factor expression in the adult mouse retina: a potential model for diabetic retinopathy. *Diabetes* 2003 Mar; 52(3):857-63.

- 65- **Pe'er J, Folberg R, Itin A, Gnessin H et al.** Unpreregulated expression of vascular endothelial growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Br J. Ophthalmol* 1996 Mar; 80(3):241-5.
- 66- **Burgos R, Simo R, Audi L, Mateo C et al.** Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentrations in diabetic retinopathy. *Diabetología* 1997 Sep 40(9):1107-9.
- 67- **Clermont AC, Aiello LP, Mori F, Aiello LM et al.** Vascular endothelial growth factor and severity of non proliferative diabetic retinopathy mediate retinal hemodynamics in vivo: a potential role for vascular endothelial growth factor in the progression of non proliferative diabetic retinopathy. *Am J. Ophthalmol* 1997 Oct; 124(4):433-46.
- 68- **Boulton M, Foreman D, Williams G, McLeod D.** VEGF localisation in diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 1998 May; 82(5):561-8.
- 69- **Sone H, Kawakami Y, Okuda Y, Sekine Y et al.** Ocular vascular endothelial growth factor levels in diabetic rats are elevated before observable retinal proliferative changes. *Diabetología* 1997 Jun; 40(6):726-30.
- 70- **Miller JW, Adamis AP, Aiello LP.** Vascular endothelial growth factor in ocular neovascularization and proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Rev* 1997; 13:37-50.
- 71- **Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA. et al.** Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in retinal cells. *Arch Ophthalmol* 1995; 113(12):1538-1544.

- 72- **Amin RH, Frank RN, Kennedy A. et al.** Vascular endothelial growth factor present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic nopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38:36-47.
- 73- **Clermont A, Aiello LP, Mori F. et al.** Vascular endothelial growth factor (VEGF) and severity of nonproliferative diabetic retinopathy (NPDR) mediate retinal hemodynamics “in vivo”: A potential role for VEGF in the progression of nonproliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1997, 124: 433-446.
- 74-**Lu M, Amano S, Miyamoto K, Garland R et al.** Insulin induced vascular endothelial growth factor expression in retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999 Dec; 40(13):3281-6.
- 75-**Takagi H, Otani A, Kiryu J, Ogura Y.** New surgical a pproach for removing massive foveal hard exudates in diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 1999 Feb; 106(2):249-56.
- 76- **Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA. et al.** Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in retinal cells. *Arch Ophthalmol* 1995; 113(12):1538-1544.
- 77-**Tolentino MJ, Miller JW, Gragondas ES, Jakobiee FA et al.** Intravitreous injections of vascular endothelial growth factor produce retinal ischemia and microangiopathy in an adult primate *Ophthalmology* 1996 Nov; 103(11):1820-8.
- 78- **Janake Y, Katoh S, Hori S, Miura M et al.** Vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *Lancet* 1997 May 24; 149(9064):1520.
- 79- **Chiarelli F, Spagnolli A, Basciani F, Tumini S et al.** Vascular endothelial growth factor (VEGF) in children, adolescents and young

adults with type I diabetes mellitus: relation to glycaemic control and microvascular complications. *Diabetic Med* 2000 Sep; 17(9):650-6.

80- **Sone H, Kawakami Y, Segawa T, Okuda Y et al.** Effects in intraocular or systemic administration of neutralizing antibody against vascular endothelial growth factor on the murine experimental model of retinopathy. *Life Sci.* 1999; 65(24):2573-80. (Abstract)

81- **Murata T, Hata Y, Ishibashi T, Kim S et al.** Response of experimental retinal neovascularization to thiazolidinediones. *Arch Ophthalmol* 2001 May; 119(5):709-17.

82- **Antonetti DA, Lieth E, Barber AJ, Gardner TW.** Molecular mechanisms of vascular permeability in diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol* 1999; 14:240-8.

83- **Simo R, Lecube A, Segura RM, García Arumí J, Hernandez C.** Free insulin growth factor-I and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J. Ophthalmol.* 2002 Sep; 134(3):376-82.

84- **Brooks HI Jr, Caballero S Jr, Newel CK, Steinmetz RL et al.** Vitreous levels of vascular endothelial growth factor and atonal-derived factor 1 in patients with diabetic retinopathy and cystoid macular edema before and after introcular injection of triamcinolone. *Arch Ophthalmol* 2004 Dec; 122(12):1801-7.

85- **Butler JM, Guthrie SM, Koc M, Afzal A et al.** SDF-1 is both necessary and sufficient to promote proliferative retinopathy. *J Clin Invest* 2005 Jan; 115(1):86-93.

86- **Abu el-Asrar A M, Maimone D, Morse PH, Gregory S et al.** Cytokines in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1992 Dec 15; 114(6):731-6.

- 87- **Franks WA, Limb GA, Standfor MR, Ogilvie J et al.** Cytokines in human intraocular inflammation. *Curr Eye Res* 1992; 11 Suppl: 187-91.
- 88- **Ideta R, Yamashita H, Tamaka Y, Kato S et al.** Role of cytokines in diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1999 May; 117(5):700-1.
- 89- **Funatsu H, Yamashita H, Shimizu E, Kojuna R, Hori S.** Relationship between vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in diabetic retinopathy. *Retina* 2002; 21(5):469-77.
- 90- **Funatsu H, Yamashita H, Ikeda T, Mimura T et al.** Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2003 Sep; 110(9):1690-6.
- 91- **Doganay S, Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y et al.** Comparison of serum No, TNFX, IL-1 β , SIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye* 2002 Mar; 16(2):163-70.
- 92- **Limb GA, Chignell AH, Green W, Leroy F et al.** Distribution of TNF alpha and its reactive vascular adhesion molecules in fibrovascular membranes of proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 1996 Feb; 80(2):168-73.
- 93- **Cai J, Boulton M.** The pathogenesis of diabetic retinopathy: old concepts and new questions. *Eye* 2002 May; 16(3):242-60.
- 94- **Elnor SG, Strieler R, Brian ZM, Kunkel S.** Interferon-induced Protein 10 and Interleukin-8. C-X-C chemokines present in proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* Dec; 116(12):1597-601.

- 95- **Kawaschima M, Shoji J, Kamura Y, Sato Y.** Role of chemokines in the vitreous of proliferative diabetic retinopathy. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2005 Sep, 109(9):596-602. (Abstract)
- 96- **Elnor SG, Elnor Vm, Jaffe GJ, Stuart A et al.** Cytokines in proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreo retinopathy. *Curr Eye Res* 1995 Nov; 14(11):1045-53. (Abstract)
- 97- **Hernández C, Segura RM, Fonollosa A, Carrasco E et al.** Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetic Med* 2005 Jun; 22(6):719-22.
- 98- **Capeans C, De Rojas MV, Lojo S, Salorio MS.** C-C Chemokines in the vitreous of patients with proliferative vitreo retinopathy and proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 1998; 18(6):546-550.
- 99- **Mitamura Y, Takeuchi S, Matsuda A, Tagano Y et al.** Macrophage migration inhibitory factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2000 Jun; 84(6):636-9.
- 100- **Mitamura Y, Takenchi S, Matsuda A, Tagan Y et al.** Monocyte Chemotactic Protein-1 in the vitreous of patients with proliferative diabetic retino pathy. *Ophthalmologica* 2001 Nov-Dec; 215(6):415-8.
- 101- **Tashimo A, Mitamura Y, Nagai S, Na Kamura Y et al.** Aqueous levels of macrophage migration inhibitory factor and monocyte chemotactic protei-1 in patients with diabetic retinopathy. *Diabetic Med* 2004 Dec; 21(12):1292-7.
- 102- **Nicoletti R, Venza L, Ceci G, Visalli M et al.** Vitreous polyamines spermidine, putrescine, and spernine in human

proliferative disorders of the retina. Br. J. Ophthalmol. 2003. Aug; 87(8):1038-42.

- 103- **Hattenbach LO, Allers A, Klais C, Koch F, Mecker M. L-** Anginine-nitric oxide pathway-related metabolites in the aqueous humor of diabetic patients. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000 Jan; 441(1):213-17.
- 104- **Hernandez C, Lecubre A, Segura RM. Sararoles L et al.** Nitric oxide and vascular endothelial growth factor concentrations are increased but not related in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. Diabet Med 2002 Aug; 19(8):655-60.
- 105- **Funatsu H, Yamashita H, Nakhishi Y, Hori S.** Angiotensin II and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabética retinopathy. Br J. Ophthalmol. 2002 Mar; 86(3):311-5.
- 106- **Spranger J, Haurmes HP, Preissner KT, Shactz H. Et al.** Release of the angiogeneis inhibition angiotatin in pacients with proliferative diabetic retinopathy: association with retinal photocoagulation. Diabetología 2000Nov; 43(11):1404-7. (Abstract)
- 107- **Gilbert RE, Nelly DJ, Cox AJ, Wilkinson-Berka JL et al.** Angiotensin converting enzyme inhibition reduces retinal overexpression of vascular endothelial growth factor and hy permeability in experimental diabetes. Diabetologic 2000 Nov; 43(11):1360-7 (Abstract).
- 108- **Hogeboom van Buggenum IM, Pola K BC, Reichert- Thoen JW, de Uries-Knoppert WA et al.** Angiotensin converting enzyme inhibiting therapy is associated with lower vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in patients with proliferative diabetic retinopathy. Diabetología 2002 Feb; 45(2):203-9.

- 109- **Chaturvedi N, Fuller JH, Pokras F, Rottiers R et al.** Circulating plasma vascular endothelial growth factor and microvascular complications of type I diabetes mellitus: the INFLUENCE of ACE inhibition. *Diabet Med* 2001 April; 18(4):288-94.
- 110- **Funatsu H, Yamashita H, Ekedo T, Mimura T et al.** Relation of diabetic macular edema to cytokines and posterior vitreous detachment. *Am J Ophthalmol* 2003 Mar; 135(3):321-7.
- 111- **Wilkinson-Berka JL, Fletcher EL.** Angiotensin and bradykinin: targets for the treatment of vascular and neuro-glial pathology in diabetic retinopathy. *Curr Pharm Des* 2004; 10(27):3313-30.
- 112- **Inomata Y, Hirata A, Fakahashi E, Kawaji T et al.** Elevated erythropoietin in vitreous with ischemic retinal diseases. *Neuroreport*. 2004 Apr 9; 15(5):877-9.
- 113- **Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, Kurimoto M. Et al.** Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2005 Aug 25; 353(8):782-92.
- 114- **Ogata N, Nishikawa M, Noshimura T, Mitsuma Y et al.** Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *Am J ophthalmol* 2002 Sep; 134 (3):348-53.
- 115- **Boehn BO, Long G, Volpert O, Jehle PM et al.** Low content of natural ocular anti-angiogenic agent pigment epithelium-derived factor (PEDF). In aqueous humor predicts progression of diabetic retinopathy. *Diabetología* 2003 Mar; 45(3):394-400.

- 116- **Chakrabarti S, Khan ZA, Cukiermik M, Zhang W, Sima AA.** C-peptide and retinal microangiopathy in diabetes. *Exp Diabetes Rev* 2004 Jan- Mar; 5 (1): 91-6.
- 117- **Freyberger H, Braker M, Yakut H, Hammer J, et al.** Increased levels of platelet-derived growth factor in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Expl clin Endocrinol. Diabetes* 2000; 108(2):106-9.
- 118- **Yokota T, Ma RC, Park JY, Isshiki K 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 Mar; 52(3): 838-45.
- 119- **Esser P, Bregen M, Fischback R, Heiman K, Wiedemam R.** Intercellular adhesion molecule-1 levels in plasma and vitreous from patients with vitreoretinal disorders. *Ger J Ophthalmol* 1995 Sep; 4(5):259-74.
- 120- **Hernandez C, Burgos R, Canton A, García Asumí J 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 Mar; 24(3):516-21.
- 121- **Funatsu H, Yamashita H, Noma H, Shimizu E et al.** Stimulation and inhibition of angiogenesis in diabetic retinopathy. *Jpn J. Ophthalmol* 2001 Nov-Dec; 45(6)577-84. (Abstract).
- 122- **Noma H, Funatsu H, Yamashita H, Kitamo S et al.** Regulation of angiogenesis in D. Retinopathy: Possible balance between vascular endothelial growth factor and endostatin. *Arch Ophthalmol* 2002 Aug; 120(8):1075-80.

- 123- **Funatsu H, Yamahita H, Noma H, Mochizuki H et al.** Outcome of vitreous surgery and the balance between vascular endothelial growth factor and endostatin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 Mar; 44 (3):1042-7.
- 124- **Joussen AM, Poulaki V, Tsujikawa A; Qin W et al.** Suppression of diabetic retinopathy with Angiopoietin-I *Am J Pathol.* 2002 May; 160(5):1683-93.
- 125- **Lu M, Adamis AP.** Vascular endothelial growth factor gene regulation and action in diabetic retinopathy. *Ophthalmol Clin North Am* 2002 Mar; 15(1):69-79.
- 126- **Leibovitch I, Loewenstein A, Alster Y, Rosenblatt I et al.** Interferon alpha-2a for proliferative diabetic retinopathy after complete laser panretinal photocoagulation treatment. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2004. Jan- Feb; 35(1):16-22. (Abstract).
- 127- **Barber AJ.** A new view of diabetic retinopathy a neurodegenerative disease of the eye. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2003 April; 27(2):283-90.
- 128- **Ambati J, Chalam KV, Chawla DK, D'Angio CT et al.** Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate, and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 1997 Sep; 115(9):1161-6.
- 129- **Krady Jk, Basu A, Allen CM, Xu Y et al.** Minocycline reduces proinflammatory cytokine expression, microglial activation, and caspase-3 activation in a rodent model of diabetic retinopathy. *Diabetes* 2005 May; 54(5):1559-65.

- 130- **Mohr S.** Potencial news strategies to prevent the development of diaabetic retinopathy. *Expert Opin Investig Drugs.* 2004 Mar;13 (3):189-98.
- 131- **Abbas A., Lichtman A., Pober J.** *Inmunologia celular y molecular.* 1999. Ed. Mc Graw Hill. Interamericana de España, S.A.U. Madrid (España) ISBN84-486-0221-8.
- 132- **Olea JL, Mateos JM, Diéguez JM, Cardona A.** A new device for vitreous biopsy. *Arch Soc Esp Oftamol* 2004; 79:557-560.
- 133- **Dong N, Xu B, Wang B, Chu L.** Study of 27 aqueous humor cytokines in patients with type 2 diabetes with or without retinopathy. *Mol Vis.* 2013 Aug 4; 19:1734-46. Print 2013.
- 134- **World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglucemia: Report of a WHO/IDF.** Consultation: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva. World Health Org. 2006.
- 135- **Meleth AD, Agrón E, Chan CC, Reed GF, Arora K, Byrnes G, Csaky KG, Ferris FL 3rd, Chew EY.** Serum inflammatory markers in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Nov;46 (11):4295-301.
- 136- **Kocak N, Alacacioglu I, Kaynak S, Ozcan MA, Celik O, Yuksel F, Piskin O, Oner H, Saatci AO, Ergin M.** Comparison of vitreous and plasma levels of vascular endothelial growth factor, interleukin-6 and hepatocyte growth factor in diabetic and non-diabetic retinal detachment cases. *Ann Ophthalmol (Skokie).* 2010; 42 Spec No: 10-4.

- 137- **Koskela UE, Kuusisto SM, Nissinen AE, Savolainen MJ, Liinamaa MJ.** High vitreous concentration of IL-6 and IL-8, but not of adhesion molecules in relation to plasma concentrations in proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmic Res.* 2013; 49(2):108-14.
- 138- **Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Fuller JH, Stehouwer CD ; EURODIAB Prospective Complications Study Group.** Markers of inflammation are cross-sectionally associated with microvascular complications and cardiovascular disease in type 1 of diabetes -the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia.* 2005 Feb; 48(2):370-8. Epub 2005 Feb 4.
- 139- **Gustavsson C, Agardh E, Bengtsson B, Agardh CD.** TNF-alpha is an independent serum marker for proliferative retinopathy in type 1 diabetic patients. *J Diabetes Complications.* 2008 Sep-Oct; 22(5):309-16.
- 140- **Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Myśliwska J, Lipowski P, Raczyńska K.** The role of vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008 Jan; 79(1):141-6. Epub 2007 Aug 22.
- 141- **Koleva-Georgieva DN, Sivkova NP, Terzieva D.** Serum inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and VEGF have influence on the development of diabetic retinopathy. *Folia Med (Plovdiv).* 2011 Apr-Jun; 53(2):44-50.

- 142- **Paine SK, Sen A, Choudhuri S, Mondal LK, Chowdhury IH, Basu A, Mukherjee A, Bhattacharya B.** Association of tumor necrosis factor α , interleukin 6, and interleukin 10 promoter polymorphism with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetic subjects. *Retina*. 2012 Jun; 32(6):1197-203.
- 143- **Arimura N, Otsuka H, Yamakiri K, Sonoda Y, Nakao S, Noda Y, Hashiguchi T, Maruyama I, Sakamoto T.** Vitreous mediators after intravitreal bevacizumab or triamcinolone acetonide in eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2009 May; 116(5):921-6.
- 144- **Chen H, Wen F, Zhang X, Su SB.** Expression of T-helper-associated cytokines in patients with type 2 diabetes mellitus with retinopathy. *Mol Vis*. 2012; 18:219-26.
- 145- **Ozturk BT, Bozkurt B, Kerimoglu H, Okka M, Kamis U, Gunduz K.** Effect of serum cytokines and VEGF levels on diabetic retinopathy and macular thickness. *Mol Vis*. 2009 Sep 19; 15:1906-14.
- 146- **Maier R, Weger M, Haller-Schober EM, El-Shabrawi Y, Wedrich A, Theisl A, Aigner R, Barth A, Haas A.** Multiplex bead analysis of vitreous and serum concentrations of inflammatory and proangiogenic factors in diabetic patients. *Mol Vis*. 2008 Mar 27; 14:637-43.
- 147- **Demircan N, Safran BG, Soyulu M, Ozcan AA, Sizmaz S.** Determination of vitreous interleukin-1 (IL-1) and tumour necrosis

factor (TNF) levels in proliferative diabetic retinopathy. *Eye (Lond)*. 2006 Dec; 20(12):1366-9.

148- **Suzuki Y, Nakazawa M, Suzuki K, Yamazaki H, Miyagawa Y.** Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in diabetic retinopathy and central retinal vein occlusion. *Jpn J Ophthalmol*. 2011 May; 55(3):256-63.

149- **Yoshimura T, Sonoda KH, Sugahara M, Mochizuki Y, Enaida H, Oshima Y, Ueno A, Hata Y, Yoshida H, Ishibashi T.** Comprehensive analysis of inflammatory immune mediators in vitreoretinal diseases. *PLoS One*. 2009 Dec 4; 4(12):e8158.

150- **Kauffmann DJ, van Meurs JC, Mertens DA, Peperkamp E, Master C, Gerritsen ME.** Cytokines in vitreous humor: interleukin-6 is elevated in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994 Mar; 35(3):900-6.

151- **Gustavsson C, Agardh CD, Agardh E.** Profile of intraocular tumour necrosis factor- α and interleukin-6 in diabetic subjects with different degrees of diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2013 Aug; 91(5):445-52.

152- **Pinazo-Durán B, Vivar-Llopis P. y cols.** Mecanismos celulares y moleculares de la retinopatía diabética. Revisión del grupo de Valencia sobre retinopatía diabética (EVRD). *Annals Oft*; 21,4 oct-dic 2013.

- 153- **Adamiec-Mroczek J, Oficjalska-Młyńczak J.** Assessment of selected adhesion molecule and proinflammatory cytokine levels in the vitreous body of patients with type 2 diabetes--role of the inflammatory-immune process in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008 Dec; 246(12):1665-70.
- 154- **Lee JH, Lee W, Kwon OH, Kim JH, Kwon OW, Kim KH, Lim JB.** Cytokine profile of peripheral blood in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic retinopathy. *Ann Clin Lab Sci.* 2008 Autumn; 38(4):361-7.
- 155- **Gverović Antunica A, Karaman K, Znaor L, Sapunar A, Buško V, Puzović V.** IL-12 concentrations in the aqueous humor and serum of diabetic retinopathy patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2012 Jun; 250(6):815-21.
- 156- **Ma Y, Tao Y, Lu Q, Jiang YR.** Intraocular expression of serum amyloid and interleukin-6 in proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 2011 Oct; 152(4):678-685.
- 157- **Rangasamy S, McGuire PG, Das A.** Diabetic retinopathy and inflammation: novel therapeutic targets. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2012 Jan; 19(1):52-9.
- 158- **Simó-Servat O, Hernández C, Simó R.** Usefulness of the vitreous fluid analysis in the translational research of diabetic retinopathy. *Mediators Inflamm.* 2012 Sep17; Review.

- 159- **Tang J, Kern TS.** Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2011 Sep; 30(5):343-58.
- 160- **Un Jäger , Kuchroo VK . Jäger A , Kuchroo VK.** Effector and regulatory T-cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation. *Scand J Immunol.* 2010 Sep; 72(3):173-84.
- 161- **Shen X, Xu G.** Role of IL-1beta on the glutamine synthetase in retinal Müller cells under high glucose conditions. *Curr Eye Res.* 2009 Sep; 34(9):727-36.
- 162- **Shen X, Zhong Y, Xie B, Cheng Y, Jiao Q.** Pigment epithelium derived factor as an anti-inflammatory factor against decrease of glutamine synthetase expression in retinal Müller cells under high glucose conditions. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010 Aug; 248(8):1127-36.
- 163- **Winkler G, Dworak O, Salomon F, Speer G, Cseh K.** Increased interleukin-12 plasma concentration in both, insulin dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998; 4:488.
- 164- **Zorena K, Mysliwska J, Mysliwiec M, Balcerska A, lipowski P Raczynska k.** Interleukin-12 as an anti-angiogenic mediator in type 1 diabetic children *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab* 2007 13: 27-31.
- 165- **Ohara K, Funatsu H, Kitano S, Hori S, Yamashita H.** The role of cytokines in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* 2001 Apr; 105(4):213-7.

- 166- **Liu Y, Biarnés Costa M, Gerhardinger C.** IL-1 β is upregulated in the diabetic retina and retinal vessels: cell-specific effect of high glucose and IL-1 β autostimulation. *PLoS One*. 2012; 7(5):e36949.
- 167- **Zhou J, Wang S, Xia X.** Role of intravitreal inflammatory cytokines and angiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res*. 2012 May; 37(5):416-20.
- 168- **Yuuki T, Kanda T, Kimura Y, Kotajima N, Tamura J, Kobayashi I, Kishi S.** Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. *J Diabetes Complications*. 2001 Sep-Oct; 15(5):257-9.
- 169- **Murugeswari P, Shukla D, Rajendran A, Kim R, Namperumalsamy P, Muthukkaruppan V.** Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and Eales' disease. *Retina*. 2008 Jun; 28(6):817-24.
- 170- **Funatsu H, Noma H, Mimura T, Eguchi S, Hori S.** Association of vitreous inflammatory factors with diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2009 Jan; 116(1):73-9.
- 171- **Bromberg-White JL, Glazer L, Downer R, Furge K, Boguslawski E, Duesbery N.** Identification of VEGF-Independent Cytokines in Proliferative Diabetic Retinopathy Vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Oct 3; 54(10):6472-80.
- 172- **Mocan MC, Kadayifcilar S, Eldem B.** Elevated intravitreal interleukin-6 levels in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Can J Ophthalmol*. 2006 Dec; 41(6):747-52.

- 173- **Graves DT, Kayal RA.** Diabetic complications and dysregulated innate immunity. *Front Biosci.* 2008 Jan 1; 13:1227-39. Review.
- 174- **dell'Omo R, Semeraro F, Bamonte G, Cifariello F, Romano MR, Costagliola C.** Vitreous mediators in retinal hypoxic diseases. *Mediators Inflamm.* 2013 Jan 10. Review.
- 175- **Nadeem A, Javaid K, Sami W, Zafar A, Jahan S, Zaman S, Nagi A.** Inverse relationship of serum IL-17 with type-II diabetes retinopathy. *Clin Lab.* 2013; 59(11-12):1311-7.
- 176- **Ongkosuwito J. V., Feron E. F.** Analysis of immunoregulatory cytokines in ocular fluid samples from patients with uveitis. *Investig Ophthalmology and Visual Science*, 1998, 39, 2659-2665.
- 177- **Johnsen-Soriano S, Sancho-Tello M, Arnal E, Navea A, Cervera E, Bosch-Morell F, Miranda M, Javier Romero F.** IL-2 and IFN-gamma in the retina of diabetic rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010 Jul; 248(7):985-90.
- 178- **Nakamura Y, Yoshida T, Yamamoto M, Matsuura Y, Nakano K, Kondo M.** Increased concentration of pentosidine, an advanced glycation end product, and interleukin-6 in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2003 Aug; 61 (2): 93-101.
- 179- **Adamis AP, Berman AJ.** Immunological mechanisms in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Semin Immunopathol.* 2008 Apr; 30 (2): 65-84. Review.

- 180- **Umazume K, Usui Y, Wakabayashi Y, Okunuki Y, Kezuka T, Goto H.** Effects of soluble CD14 and cytokine levels on diabetic macular edema and visual acuity. *Retina*. 2013 May; 33(5):1020.
- 181- **Funk M, Schmidinger G, Maar N, Bolz M, Benesch T, Zlabinger GJ, Schmidt- Erfurth UM.** Angiogenic and inflammatory markers in the intraocular fluid of eyes with diabetic macular edema and influence of therapy with bevacizumab. *Retina*. 2010 Oct; 30(9):1412-9.
- 182- **Klein BE, Klein R, Howard KP, Lee KE.** Cross-sectional associations of blood elements, clotting factors, nephropathy, and retinal outcomes in long duration type 1 diabetes. *Ophthalmic Epidemiol*. 2012 Jun; 19(3):120-6.
- 183- **Klein BE, Knudtson MD, Tsai MY, Klein R.** The relation of markers of inflammation and endothelial dysfunction to the prevalence and progression of diabetic retinopathy: Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 2009 Sep; 127(9):1175-82.
- 184- **Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Myśliwska J, Lipowski P, Raczynska K.** [The assessment of the correlation between vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor (TNF-alpha), interleukin 6 (IL-6), glycaemic control (HbA1c) and the development of the diabetic retinopathy in children with diabetes mellitus type 1]. *Klin Oczna*. 2007; 109(4-6):150-4. [ABSTRACT]
- 185- **Chacón MR, Vendrell J, Miranda M, Ceperuelo-Mallafré V, Megía A, Gutiérrrez C, Fernández-Real JM, Richart C, Garcia-España A.** Different TNF- α expression elicited by glucose in monocytes from type 2 diabetes mellitus pacientes. *Arteriosclerosis*. 2007 Oct; 194(2):e18-25.

- 186- **Kallmann BA, Lampeter EF, Hanifi-Moghaddam P, Hawa M, Leslie RD, Kolb H.** Cytokine secretion patterns in twins discordant for Type I diabetes. *Diabetologia*. 1999 Sep; 42(9):1080-5.
- 187- **Berman MA, Sandborg CI, Wang Z, Imfeld KL, Zaldivar F Jr, Dadufalza V, Buckingham BA.** Decreased IL-4 production in new onset type I insulin-dependent diabetes mellitus. *J Immunol*. 1996 Nov 15; 157(10):4690-6.
- 188- **Schlott NC, Hanifi-Moghaddam P, Goebel C, Shatavi SV, Flohé S, Kolb H, Rothe H.** Serum IFN-gamma and IL-10 levels are associated with disease progression in non-obese diabetic mice. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002 Jan-Feb; 18(1):64-70.
- 189- **Nagai N, Ito Y, Okamoto N, Shimomura Y, Okamura H.** Changes in interleukin 18 in the retinas of Otsuka long-evans Tokushima fatty rats, a model of human type 2 diabetes. *J Oleo Sci*. 2013; 62(7):513-23.

