



Facultad de Medicina
Departamento de Medicina

Tesis Doctoral

Tratamiento de la Degeneración Macular Asociada
a la Edad en Práctica Clínica Habitual

Jaime Campos Pavón

2014

ÍNDICE

CAPITULO 1:	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1 CONCEPTO DE LA ENFERMEDAD	1
1.2 CLASIFICACIÓN DE LA DMAE:	1
1.3 EPIDEMIOLOGÍA DE LA DMAE	9
1.4 ASPECTOS ANATÓMICOS Y ETIOPATOGÉNICOS DE LA DMAE	11
1.4.1 ESTRUCTURA VASCULAR	13
1.4.2. CÉLULAS FOTORRECEPTORAS	15
1.4.3 MEMBRANA DE BRUCH	16
1.4.4 EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RERINA.....	24
1.4.5 COROIDES	33
1.4.6 DRUSAS, NVC, DEGENERACIÓN DISCIFORME Y ASPECTOS INTEGRADORES SOBRE LA ANATOMÍA Y ETIOPATOGENIA DE LA DMAE	36
1.5 DIAGNÓSTICO DE LA DMAE HÚMEDA.....	43
1.5.1 ANGIOGRAFÍA CON FLUORESCEÍNA: AFG	43
1.5.2 ANGIOGRAFÍA CON VERDE DE INDOCIANINA	43
1.5.3 TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA: OCT.....	44
1.6 OPCIONES TERAPÉUTICAS	52

1.6.1 FOTOCOAGULACIÓN CON LÁSER:	52
1.6.2 CIRUGÍA	52
1.6.3 TERAPIA FOTODINÁMICA (TFD).	52
1.6.4 TRATAMIENTO CON ANTIANGIOGÉNICOS	53
1.6.4.1 PEGAPTANIB DE SODIO (MACUGEN®)	53
1.6.4.2 RANIBIZUMAB (LUCENTIS®):	54
1.6.4.3 BEVACIZUMAB (AVASTIN®):	55
1.6.4.4 AFLIBERCEPT (EYLEAR):	56
CAPÍTULO 2:	57
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	57
2.1 HIPÓTESIS	57
2.2 OBJETIVO PRINCIPAL:	57
2.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS:.....	58
CAPÍTULO 3.	59
MATERIALES Y MÉTODOS	59
3.1 TIPO DE ESTUDIO	59
3.2 PROTOCOLO DE ESTUDIO.....	59
3.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	60
3.3.1 CRITERIO CLÍNICO:	60
3.3.2 CRITERIO IMAGENOLÓGICO	61
3.4 CRITERIO DE EXCLUSIÓN.....	61

3.5 PARÁMETROS MEDIDOS:	62
3.6 ESTADÍSTICA	63
CAPÍTULO 4.....	65
RESULTADOS.....	65
4.1 RESUMEN DEMOGRÁFICO.....	65
4.1.1. POBLACION EN ESTUDIO	65
4.1.2. TIEMPO DE SEGUIMIENTO.....	66
4.2 AGRUPACIÓN DE RESULTADOS.....	67
4.2.1. RESULTADOS GLOBALES	67
4.2.1.1 EVOLUCIÓN AGUDEZA VISUAL.....	67
4.2.1.2 EVOLUCIÓN OCT.....	72
4.2.2. RESULTADOS Y EVOLUCIÓN POR VISITAS.....	73
4.2.2.1 EVOLUCIÓN AGUDEZA VISUAL.....	73
4.2.2.2 EVOLUCIÓN OCT.....	83
4.2.3 RESULTADOS AL AÑO Y A LOS DOS AÑOS DE INICIAR EL TRATAMIENTO	84
4.2.3.1 EVOLUCIÓN AGUDEZA VISUAL.....	84
4.2.3.2 EVOLUCIÓN OCT.....	92
CAPÍTULO 5.....	93
DISCUSIÓN.....	93
5.1 DATOS GLOBALES DE AV Y OCT	97

5.2 DATOS AGRUPADOS POR VISITAS	98
5.3 DATOS AGRUPADOS POR AÑOS.....	99
CAPÍTULO 6.....	105
CONCLUSIONES	105
BIBLIOGRAFIA	107

CAPITULO 1:

MARCO TEÓRICO

1.1 CONCEPTO DE LA ENFERMEDAD

En la actualidad, desde una perspectiva específicamente clínica, no se hallan controversias sobre la definición de la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE), aunque no sucede lo mismo con los aspectos etiopatogénicos, de epidemiología y terapéuticos.

En este sentido, la DMAE se reconoce como una enfermedad ocular que se caracteriza por la aparición de lesiones degenerativas progresivas en el área macular. Al realizar una breve revisión de estudios, la definición de la DMAE debe considerar la cumplimentación de los siguientes aspectos conceptuales básicos⁽¹⁾:

- Es un desorden degenerativo de la mácula (pérdida de fotorreceptores).
- Es una afectación prevalente sobre sujetos de 50 o más años de edad.
- Se relaciona con la formación de drusas, cambios del EPR, lesiones del EPR y la capa coriocapilar, la membrana de Bruch, atrofia geográfica (AG) de la fovea central, neovascularización coroidea (NVC), separación del Epitelio Pigmentario de la Retina (EPR) o cambios de la cicatrización disciforme submacular.
- Representa una enfermedad compleja, heterogénea (variabilidad de síntomas, hallazgos clínicos y la historia natural, así como la afectación de varios tipos de células en la retina) y multifactorial que incluye aspectos tanto genéticos como medioambientales.
- Puede considerarse como un problema de salud pública, dada la mayor esperanza de vida de las personas en general.
- Es la principal causa de ceguera y pérdida de visión severa en el mundo desarrollado en pacientes de más de 50 años.

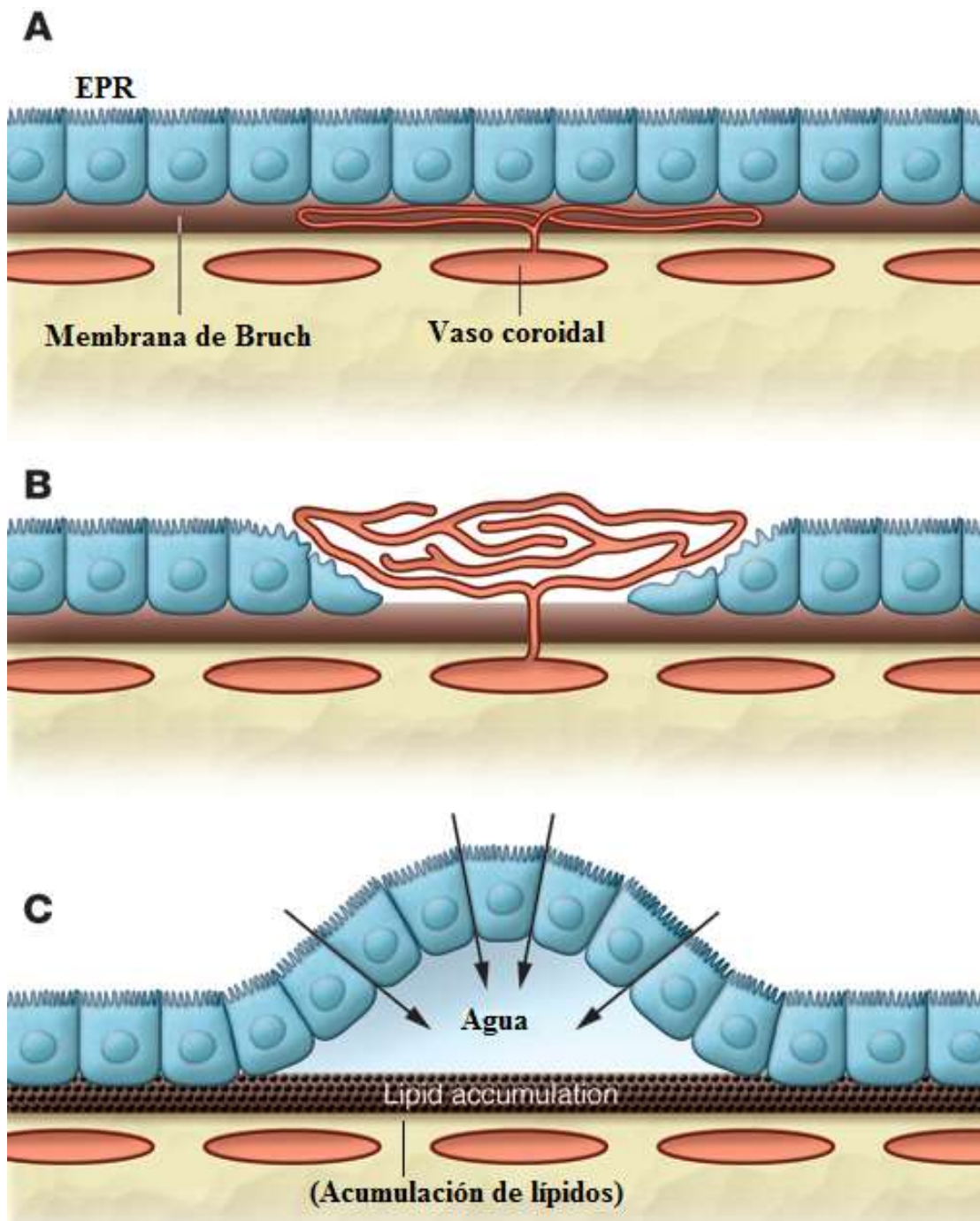
1.2 CLASIFICACIÓN DE LA DMAE:

Desde una perspectiva clínica, la DMAE puede clasificarse en dos tipos: DMAE de etapa temprana y DMAE de etapa tardía. En la DMAE temprana o seca se halla escasa

sintomatología, incluso siendo normal la agudeza visual. Las principales complicaciones se relacionan con el hallazgo de drusas en la membrana de Bruch al analizar el fondo del ojo. Estas drusas varían en distribución y tamaño según cada paciente, aunque los patrones concuerdan al comparar los ojos de un mismo sujeto. Por su parte, también puede presentarse alterada la pigmentación del EPR⁽²⁾.

Por su parte, en la DMAE tardía o húmeda, se hallan 3 formas usuales, todas ellas asociadas con la pérdida de visión central. La forma más común es la NVC, la cual se relaciona con el crecimiento de los vasos sanguíneos de la coriocapilar hacia el interior o a través de la membrana de Bruch. El desprendimiento del EPR es una forma relativamente infrecuente producida por la acumulación de fluido entre el EPR y la membrana de Bruch. Finalmente, se hace referencia a la AG, relacionada con una marcada pérdida de células del EPR y de fotorreceptores. Sobre esta última forma es importante enfatizar, como bien ha podido corroborarse en los anteriores desarrollos anatómicos y etiopatogénicos, que la misma representa el mecanismo por defecto de la DMAE húmeda, las restantes presentaciones correspondiéndose con eventos reactivos durante la evolución de la patología⁽³⁾. En la siguiente figura se presenta una esquematización de las afectaciones propias de la DMAE húmeda.

Figura 1. Lesiones exudativas en la DMAE. (1). NVC con crecimiento de los vasos sanguíneos hacia el interior de la coroides y con posible proliferación dentro de la membrana de Bruch. (2). NVC con crecimiento de los vasos sanguíneos hacia el interior de la coroides y transgresión del EPR para desarrollarse en el espacio subretiniano. (1). Desprendimiento del EPR, observando acumulación de lípidos en la membrana de Bruch, convirtiéndola hidrofóbica. Puesto que el EPR desplaza agua hacia el exterior en la coroides (flechas), las alteraciones de este proceso (obstaculización del movimiento líquido) dan lugar al desprendimiento del EPR.



Fuente: Modificado de Bird AC. Therapeutic targets in age-related macular disease. J Clin Invest. 2010;120(9):3033-41.

No obstante, la DMAE de etapa tardía suele subdividirse en dos grupos principales, el asociado con la AG y el que incluye la NVC. Estas denominaciones suelen referenciarse a

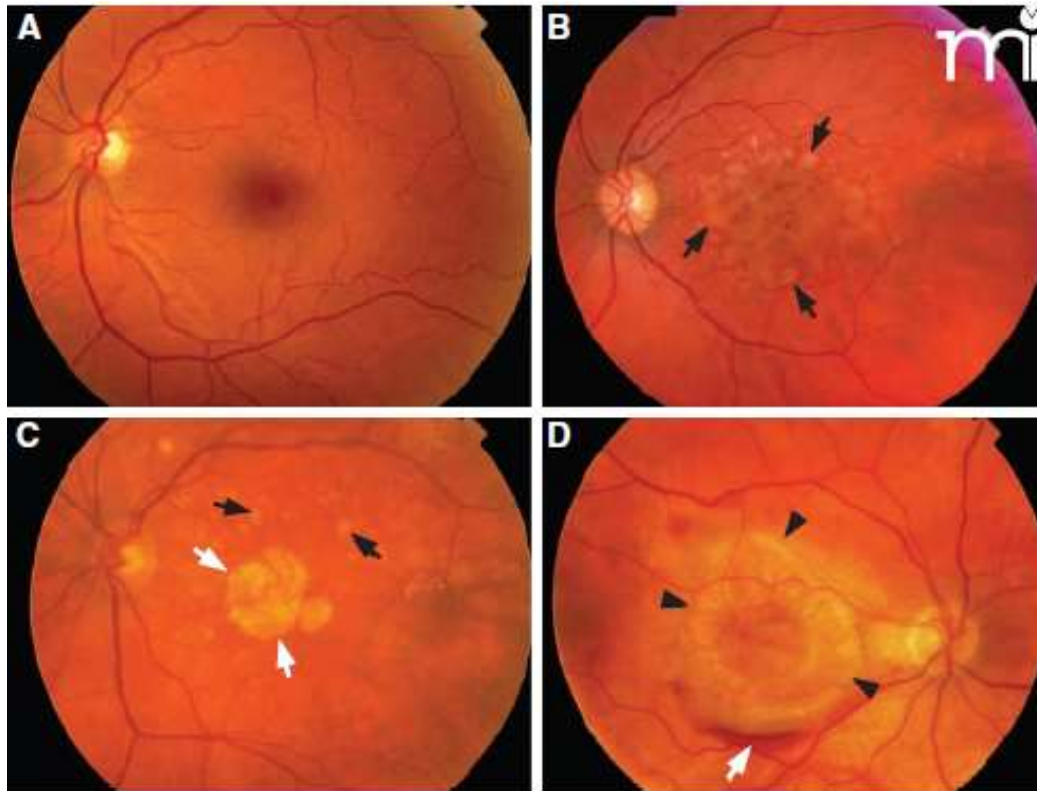
través de otros conceptos⁽⁴⁻¹¹⁾, siendo DMAE seca, no exudativa, atrófica o no neovascular, y DMAE húmeda, exudativa o neovascular, respectivamente⁽¹²⁾.

Chen et al⁽¹³⁾ hacen una distinción importante de la DMAE en función de su evolución, según se puntualiza a continuación:

1. DMAE temprana: se encuentra caracterizada por la presencia de drusas de tamaño mayor que 60 μm e hipopigmentación e/o hiperpigmentación del EPR.
2. DMAE intermedia: se caracteriza por la acumulación de drusas focales o difusas de tamaño mayor que 125 μm e hipopigmentación e/o hiperpigmentación del EPR.
3. DMAE tardía o avanzada: se relaciona con dos subcategorías, la DMAE seca o AG y la DMAE húmeda o neovascular. La primera se caracteriza por un área claramente delineada con atrofia del EPR, que puede medir al menos 175 μm e incluye vasos coroideos visibles. La segunda, asociándose con posibles pérdida de la agudeza visual central, discapacidad visual severa y permanente, y ceguera, involucra alguna/s o todas las siguientes características: membranas neovasculares (MNV) en la subretina, fluido subretiniano (FSR), exudados y/o hemorragias, desprendimiento del EPR, cicatrices subretinianas/intrarretiniana.

En la siguiente figura se presentan ejemplos de estas clasificaciones (primera y segunda), comparándolos con los parámetros normales.

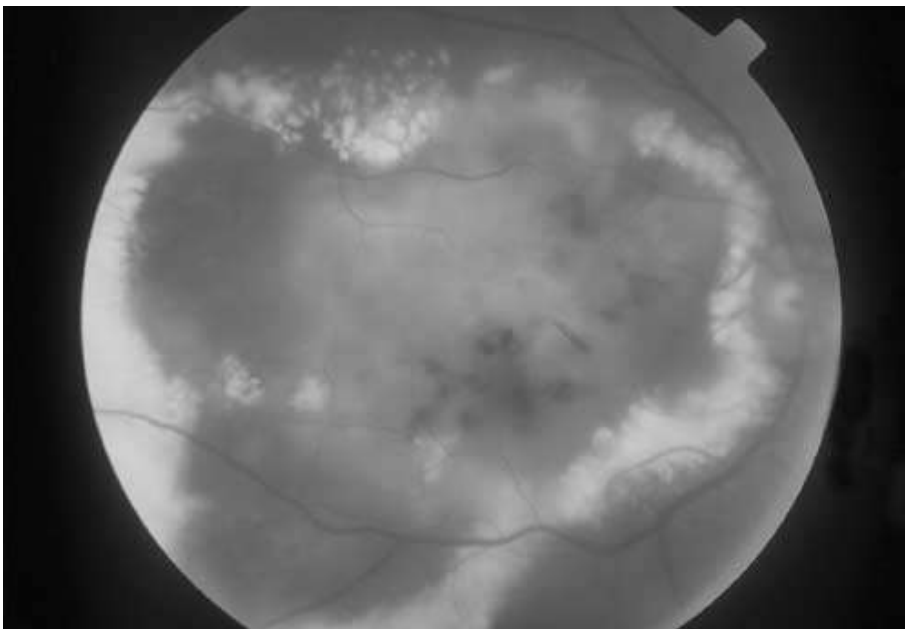
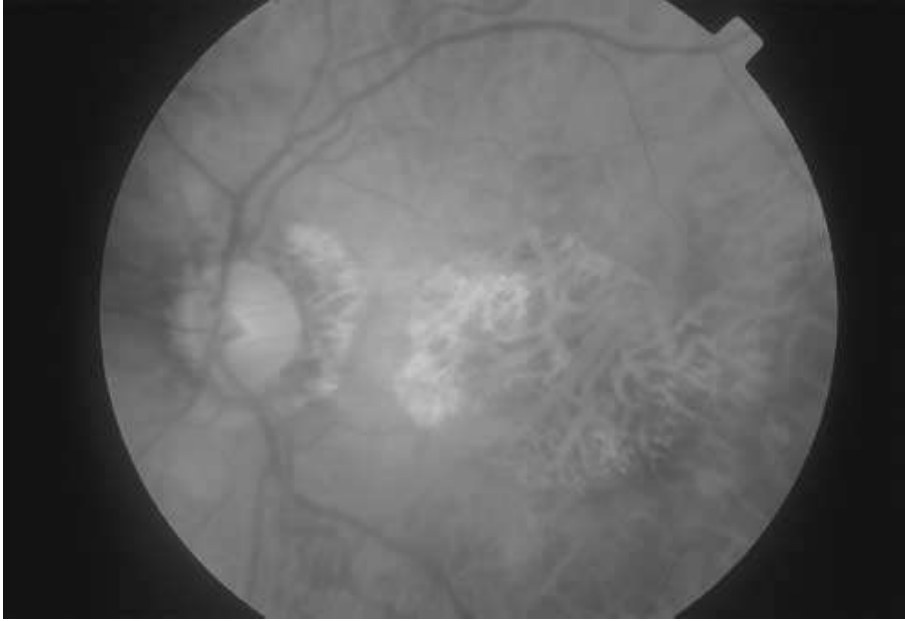
Figura 2. Imágenes del fondo del ojo con diversos tipos de DMAE. (1). Mácula normal. (2). DMAE temprana, observándose drusas blandas confluentes (flechas negras). (1). DMAE seca, observándose drusas blandas (flechas negras) y AG (flechas blancas). (2). DMAE húmeda, observándose hemorragia subretiniana (flechas negras).



Fuente: Extraído de Chen Y, Bedell M, Zhang K. Age-related macular degeneration: genetic and environmental factors of disease. *Mol Interv.* 2010;10(5):271-81.

Browning et al⁽¹⁴⁾ indican que la clasificación de la DMAE en sus formas seca o atrófica y húmeda o neovascular solo representa una alternativa habitual, debiendo considerar los aspectos poligénico y multifenotípico de la patología. La forma seca de la DMAE se caracteriza por atrofia progresiva y lenta del EPR macular y la coroides subyacente, produciendo una desaparición de fotorreceptores como consecuencia. Por su parte, la DMAE húmeda se caracteriza por el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos (a partir de la estimulación por el VEGF) desde el interior de la coroides, hasta el espacio potencial debajo del EPR y la retina, pasando a través de los defectos en la membrana de Bruch; estos nuevos vasos sanguíneos se asocian con exudación masiva de fluido y lípidos, lo que daña determinadamente los fotorreceptores. En la siguiente figura se presentan ejemplos de estas dos formas de la DMAE.

Figura 3. Fotografías del fondo del ojo presentando las formas seca y húmeda de la DMAE. (Arriba). DMAE seca, observándose el área bien demarcada de la retina central, EPR y atrofia coroidea, y la palidez de al esclerótica. (Abajo). DMAE húmeda, observándose una amplia área central de elevación retiniana circundada por hemorragias retinianas y exudados lipídicos.



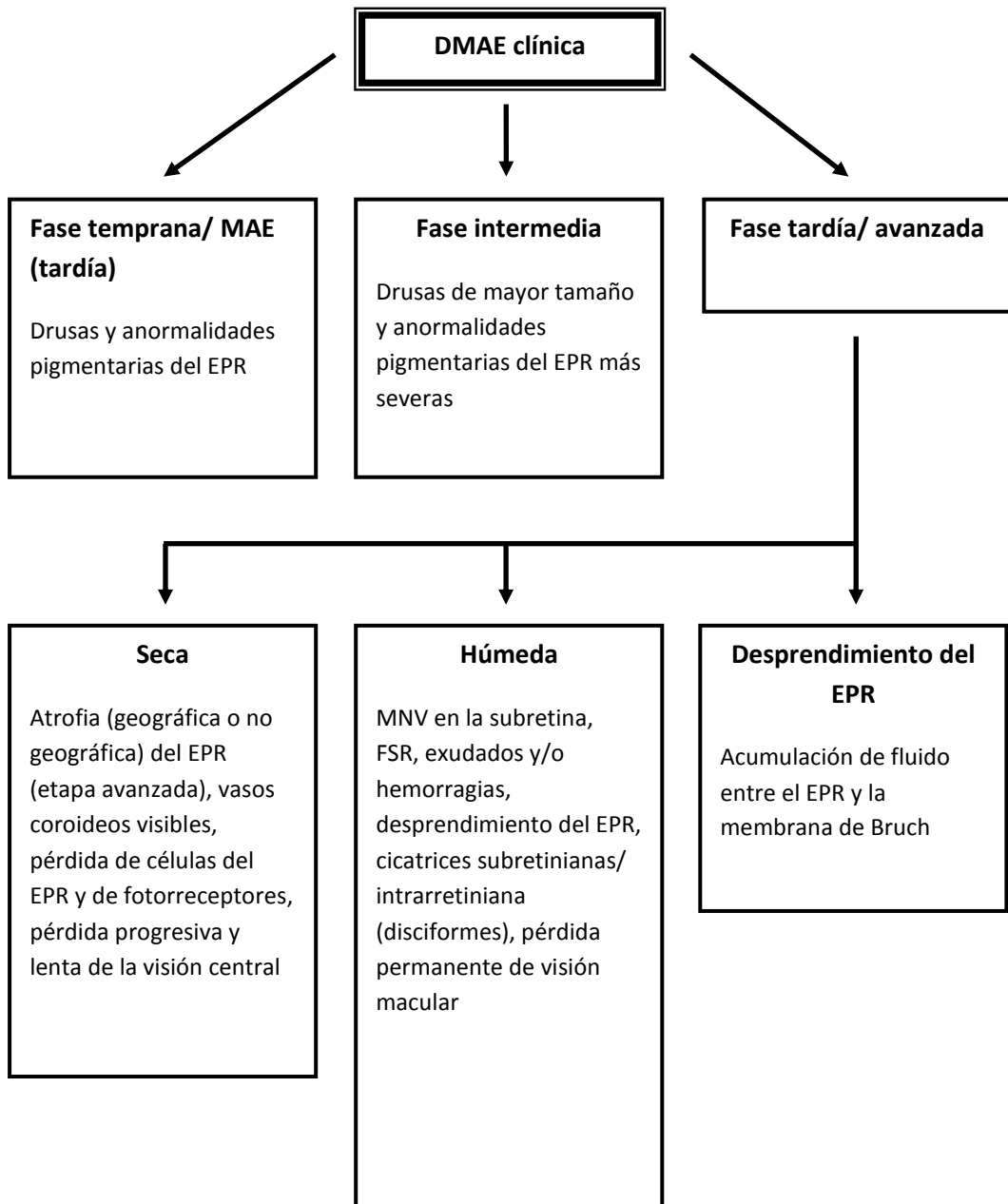
Fuente: Extraído de Browning AC, Amoaku WM, Dua HS. Treatment of age-related macular degeneration. J R Soc Med. 2004;97(4):166-9.

Los autores también indican que la NVC puede graduarse según las variantes clásica, oculta o mixta, ante la Angiografía con Fluoresceína (AFG). Al respecto, Chopdar et al⁽¹⁵⁾ indican que, ante la aplicación de esta técnica diagnóstica, la NVC se identifica como áreas de fuga de fluoresceína, derivando en las formas clásica y oculta. La primera se presenta ante la identificación de bordes nítidos en la hiperfluorescencia, ocurriendo de manera temprana en la fase de tránsito del colorante, con consecuente oscurecimiento de los límites hacia las fases tardías. Por su parte, la NVC oculta se presenta cuando la fuga de fluoresceína desde la coroides es difusa o pobremente definida, aconteciendo de manera tardía en la fase de tránsito del colorante. Finalmente, la NVC mixta refiere a la presentación de las formas clásica y oculta en variables proporciones.

En cuanto a las formas clínicas de la DMAE, estos autores también distinguen entre la DMAE seca o AG y la DMAE húmeda o exudativa. La primera se caracteriza por la acumulación de materiales de desecho en la retina que derivan en drusas, la degeneración y atrofia lentas de las células del EPR, y la pérdida de visión central. Por su parte, la DMAE húmeda se caracteriza por la alteración de la integridad de la membrana de Bruch, siendo consecuente el desarrollo de complejos neovasculares desde la coroides hacia el interior de los espacios subretiniano y del epitelio subpigmentario (NVC); los nuevos vasos poseen fugas que derivan en edema (extravasación de sangre y lípidos), en afectaciones progresivas de la función visual y, finalmente, en cicatrices fibrovasculares densas que comprometen el área macular en su totalidad.

Considerando todos los desarrollos sobre las formas clínicas de la DMAE, en la siguiente figura se representa un esquema taxonómico a modo de resumen de todos los estudios revisados.

Figura 4. Esquema sobre la taxonomía clínica de la DMAE



Fuente: Elaboración propia.

A partir de esta revisión de estudios claramente se interpreta la existencia de una problemática subyacente ante la clasificación clínica de la DMAE: si bien casi la totalidad de los estudios concuerdan en unas u otras características, no sucede lo mismo en lo relacionado con un sistema taxonómico clínico global de la patología, dado que mientras

ciertos autores la comentan bien desarrollada, otros solo hacen mención de las formas seca y húmeda.

1.3 EPIDEMIOLOGÍA DE LA DMAE

Actualmente, y desde una perspectiva general, la DMAE se reconoce como una importante causa de pérdida de visión, unas de las principales de la comorbilidad ocular y como el factor etiológico primario de la discapacidad visual en sujetos femeninos mayores de edad (> 65 años) de los países desarrollados (sobre todo, EE.UU., Reino Unido y Europa en general), relacionándose con el tercer puesto de causalidad sobre dicha discapacidad si se la considera a nivel global^(3, 12, 13, 16-51).

Concomitante con esto último, se reconoce un considerable riesgo de la DMAE sobre la salud pública, con impactos a nivel social y económico no solo sobre los pacientes sino también sobre la sociedad en general, hecho derivado, principalmente, del incremento de la esperanza de vida y de la cantidad de individuos mayores de edad (proporción respecto de la población total)^(3, 13, 52-56). Es más, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁽⁵⁷⁾, se estima que para el año 2020 llegará a 54.000.000 millones el número de sujetos > 60 años con ceguera causada por todas las enfermedades oculares.

Además de la edad, el sexo y la esperanza de vida, factores de riesgo usuales de la DMAE se asocian con aquellos cardiovasculares tradicionales, como lo representan el tabaquismo, la obesidad, los niveles lipídicos y la hipertensión arterial (HTA). Asimismo, la diabetes mellitus (DM) se ha asociado con la incidencia de la DMAE en ciertos estudios. Por su parte, algunas investigaciones han encontrado asociación entre la DMAE y la incidencia de accidente cerebrovascular (ACV), infarto de miocardio (IM), sangrado y mortalidad cardiovascular^(12, 23, 27, 30, 41, 58-63).

En este sentido, en prácticamente todos los estudios se indica una prevalencia de la DMAE asociada con el reconocimiento de la misma como riesgo para la salud pública, la variante húmeda siendo mucho menos frecuente que la seca y, en general, con tendencia a la bilateralidad. Por su parte, la prevalencia de la DMAE se asocia significativamente con sujetos ≥ 65 años, de sexo femenino y de raza blanca no hispánica, hábitos de tabaquismo y los niveles lipídicos. Además, la DMAE puede conllevar cierto riesgo cardiovascular,

representando una de las principales causas de ceguera y de discapacidad visual, concomitante a las cataratas, el glaucoma y la RD. Finalmente, la DMAE se encuentra afectada por diversos factores ajenos a los ya comentados, que van desde pautas dietarias y la actividad física hasta las características socioeconómicas y la exposición a la luz solar.

Para el contexto de España se dispone de muy escasos estudios sobre la prevalencia y epidemiología de la DMAE, ampliando la búsqueda de investigaciones a la base de datos Dialnet⁽¹²⁾. No obstante, se tiende a corroborar las anteriores afirmaciones globales, aunque con tasas similares entre las variantes seca y húmeda de la patología.

Andonegui et al⁽⁶⁴⁾ indican que la DMAE exudativa es menos frecuente que la no exudativa, reconociéndose como principal causa de ceguera en sujetos ≥ 65 años. Por su parte, se identifica la DMAE como un problema de salud pública, hecho que se justifica por dos razones principales: primero, su no detección y abordaje terapéutico tempranos provoca una disminución visual rápida, severa e irreversible; segundo, el incremento de la esperanza de vida y el consecuente estimado crecimiento de la población de mayor edad.

El Spanish Eyes Epidemiological (SEE) Study Group⁽⁶⁵⁾ halló una prevalencia de 3,4% de la DMAE en amplias áreas geográficas de España, dato asociado significativamente con el incremento de la edad: prevalencia de 1,3% para sujetos de 65-74 años y de 8,5% para aquellos ≥ 80 años. Por su parte, se halló una mayor prevalencia de la DMAE neovascular (1,9%), en comparación con la DMAE seca o atrófica (1,5%) (esto es discordante con otros estudios, no obstante, debe hacerse énfasis en la similitud de los valores). Además, se recolectaron datos sobre la maculopatía asociada a la edad (MAE), hallando una prevalencia global de 10,3%, indicador más bajo en comparación con estudios similares.

Sainz-Gómez et al⁽⁶⁶⁾, en un estudio realizado sobre la población urbana ≥ 65 años en Pamplona con ceguera y discapacidad visual bilaterales, halló la DMAE como la tercera principal causa de ceguera (20,9%) (precedida por las cataratas y la miopía patológica) y como la segunda principal causa de discapacidad visual (27,2%) (precedida por las cataratas y seguida por la miopía patológica). Estos datos se correspondieron con prevalencias de 14,9% para la ceguera y de 31,9% para la discapacidad visual, patologías

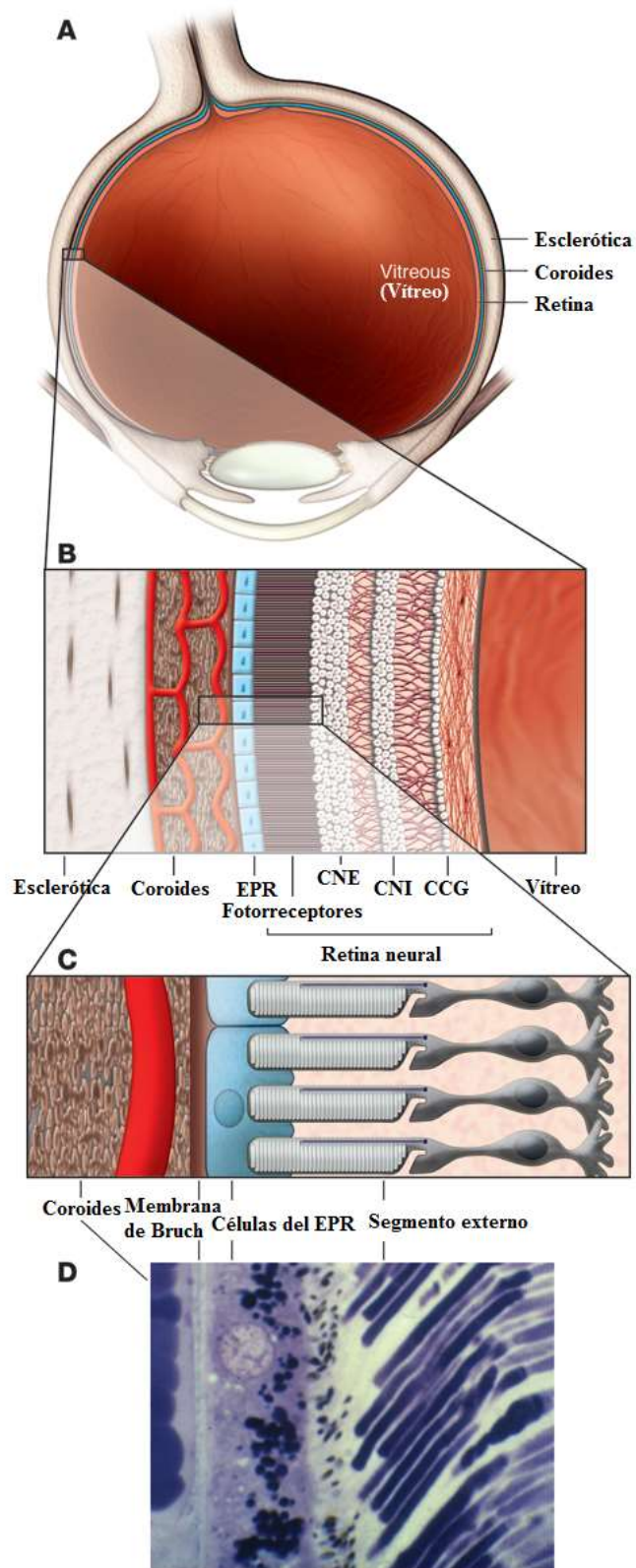
asociadas significativamente con el incremento de la edad (OR=1,05 y OR=1,09, respectivamente).

1.4 ASPECTOS ANATÓMICOS Y ETIOPATOGÉNICOS DE LA DMAE

La DMAE se asocia con alteraciones sobre la estructura vascular, la membrana de Bruch, el EPR, la coroides, los fotorreceptores, la retina sensorial, la fovea central y la cicatrización disciforme, todo lo cual se interpreta, desde las perspectivas anatómica y etiopatogénicas, como la senilidad de la mácula.

Estas estructuras son interdependientes desde un punto de vista metabólico, con un importante intercambio (de dicho carácter) a través de la membrana de Bruch. En la siguiente figura se representan esquemática y morfológicamente las anteriores estructuras, para así contar con un fundamento visual para el entendimiento de la anatomía subyacente a la DMAE.

Figura 5. Anatomía ocular subyacente a la DMAE. (1). Revestimiento retiniano en el interior del ojo. (2). Retina neural y el EPR y la coroides (estas últimas dos externas a la primera); se incluyen la capa neural interna (CNI), la capa nuclear externa (CNE) y la capa de células ganglionares (CCG). (C y D). Diagrama y microscopía, respectivamente, de los tejidos retinianos comprometidos en la DMAE, en los cuales las microvellosidades apicales del EPR interdigitan con las partes distales de los segmentos externos de los fotorreceptores, la coroides ubicándose externamente al EPR y la membrana de Bruch interpuesta entre estos últimos.



Fuente: Modificado de Bird AC. Therapeutic targets in age-related macular disease. J Clin Invest. 2010;120(9):3033-41.

En este sentido, siendo que los preceptos anatómicos y los mecanismos etiopatogénicos reconocidos hoy en día son compartidos desde lo conceptual, en el presente subapartado se tratarán conjuntamente sus caracterizaciones, según las estructuras afectadas ya comentadas.

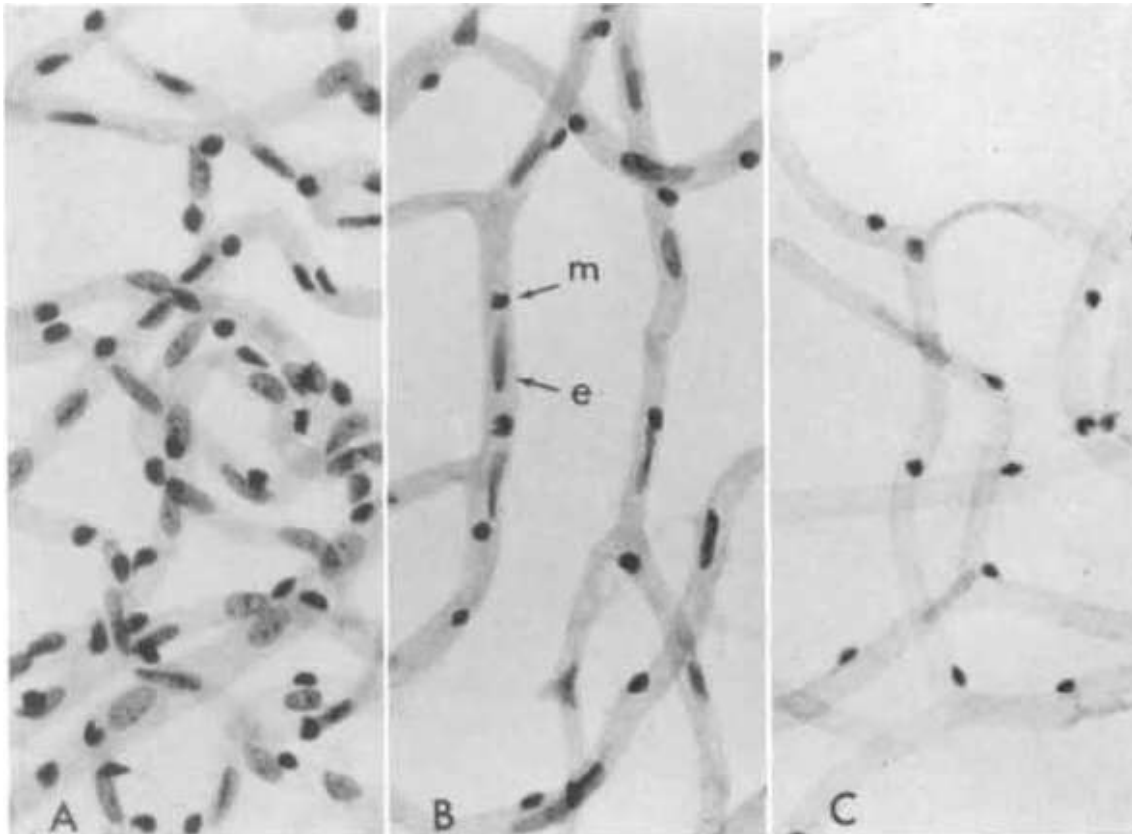
1.4.1 ESTRUCTURA VASCULAR

Considerando que la fovea se nutre de forma parcial a partir de la capa coriocapilar (vasos retinianos con terminación en el anillo perifoveal pero sin llegar al centro), el envejecimiento produce una reducción de la celularidad y un incremento de la pared de los vasos coroideos, en el área submacular debiéndose considerar, además, la presencia de material sudanófilo entre los capilares y la membrana de Bruch⁽⁶⁷⁻⁷²⁾.

Por su parte, el envejecimiento produce una pérdida de células murales (pericitos) y endoteliales, y un mayor espesor de la membrana basal, en los vasos retinianos de la red perifoveal, los segmentos comprometidos pudiendo llegar a ser acelulares por completo⁽⁷³⁻⁷⁵⁾.

Kuwabara y Cogan⁽⁷⁵⁾ claramente indican las afecciones del envejecimiento sobre los capilares retinianos, en la primera década de la vida hallándose una relativa abundancia y sobreposición de los núcleos de las células tanto endoteliales como murales; y con el incremento de la edad, siendo menos numerosos dichos núcleos así como la proporción de las células mencionadas. Estos cambios se observan en la siguiente figura.

Figura 6. Preparados vasculares de retinas normales. (1). Elevada concentración de vasos celulares en niño de 8 años. (2). Espaciado regular de las células endoteliales y de los pericitos en un sujeto de 40 años. (1). Solamente 2 núcleos de células endoteliales y numerosos pericitos en un sujeto de 80 años.



Fuente: Extraído de Kuwabara T, Cogan DG. Retinal vascular patterns. VII. Acellular change. Invest Ophthalmol. 1965;4(6):1049-64.

Nota: m=Células murales o pericitos.

e=Células endoteliales.

En función de estas imágenes, debe hacerse énfasis en el hecho que tales cambios tienen lugar dentro de una perspectiva de capilares normales, es decir, ante el accionar del envejecimiento de las estructuras biológicas implicadas. En este contexto, se parte de las siguientes características estructurales generales de los capilares de la retina normal⁽⁷⁵⁾:

1. Membrana basal gruesa que da lugar a los límites exteriores de los capilares y permite la separación de las células endoteliales y murales.
2. Revestimiento endotelial grueso del lumen.
3. Presencia de pericitos.

Retomando las consecuencias vasculares de etapa avanzada, acelular, (a partir del envejecimiento y agravadas por, por ejemplo, la DMAE), los capilares dañados se asocian con la pérdida de núcleos de las células endoteliales y murales: si bien no se manifiestan capilares totalmente acelulares, los mismos ya no son funcionales como canales de circulación. El tejido retiniano posee una muy reducida capacidad de absorción del tejido muerto, sobre todo de la membrana basal, los restos de los capilares disponiéndose en la localización original y preservándose el patrón normal del plexo durante un largo período de tiempo

1.4.2. CÉLULAS FOTORRECEPTORAS

Los segmentos externos de los fotorreceptores se componen de densos conjuntos de membranas con forma de discos, conteniendo el pigmento que absorbe los fotones de la luz e inician el proceso de la visión.

Se consideran dos clases de células de los fotorreceptores, según son⁽²⁾:

- Conos que median la visión en la luz brillante (visión fotópica).
- Bastones que median la visión en la penumbra (visión escotópica).

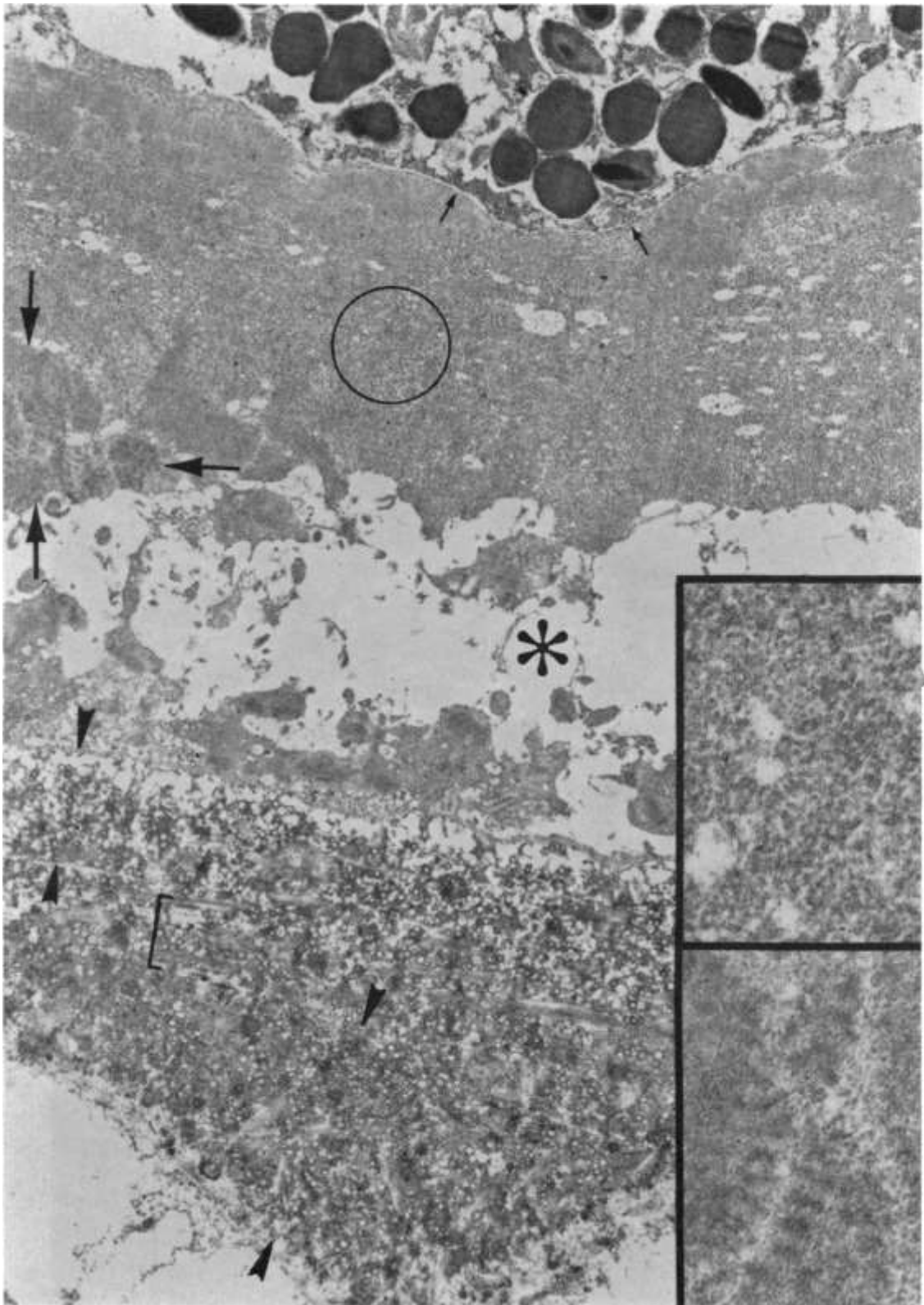
Cada día, la parte distal del segmento exterior de cada célula fotorreceptora es eliminada y fagocitada por el EPR, los fagosomas fusionándose con lisosomas para dar lugar a fagolisomas, las enzimas lisosomales degradando el material en el fagosoma y cierto restante material siendo reciclado y devuelto a los fotorreceptores para formar nuevos discos en los segmentos externos. Por su parte, el material no reciclado se cree que se descarga hacia el exterior dentro de la membrana de Bruch para ser eliminado por la coriocapilar. Además, el material que no es degradado en el EPR da lugar a cuerpos residuales densos en electrones⁽¹²⁾, los que se acumulan en dicha estructura con el pasar del tiempo⁽²⁾.

En relación con esto último, un componente importante de los cuerpos residuales se constituye de combinaciones de todo-trans retinal y etalonamina, la N-retilidena-N-retinil etanolamina (A2-E)⁽¹²⁾, un compuesto autofluorescente y altamente resistente a la degradación⁽⁷⁶⁾. Esta sustancia se incrementa en concentración cuando el envejecimiento toma lugar sobre los discos, adentrándose en las células del EPR durante la fagocitosis y siendo convertida en lipofuscina en el medio ácido del fagolisosoma. Sumado a ello, en presencia de la DMAE estos procesos sufren alteraciones en todas las áreas de la retina, con énfasis en la mácula^(2, 77-79).

1.4.3 MEMBRANA DE BRUCH

En esta membrana, el envejecimiento produce un engrosamiento difuso a partir de las alteraciones de la coriocapilar, con causas específicas en infiltrados de colágeno y membranas basales degeneradas^(70, 80). Por su parte, existe riesgo de calcificación ante el incremento de las fibras de colágeno y elásticas^(81, 82). Esto se presenta en la siguiente figura.

Figura 7. Engrosamiento de la membrana de Bruch con infiltrados de colágeno: la membrana basal del EPR se presenta normal (flechas pequeñas), la capa elástica de la membrana de Bruch (corchete) y las capas externas de colágeno (que parecen internas) se presentan engrosadas por vesículas pequeñas y material denso en electrones (entre las puntas de flechas). Además, se presenta una deposición de abundante material fino fibrilar-granular (círculo y recuadro inferior) y agregados extensos de colágeno (flechas largas y recuadro superior). Se halló división (asterisco) de la nueva capa gruesa entre el EPR y la zona de colágeno interna degenerada de la membrana de Bruch.



Fuente: Extraído de Green WR, Key SN 3rd. Senile macular degeneration: a histopathologic study. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1977;75:180-254.

Desde una perspectiva microscópica, los cambios en la membrana se presentan en dos grupos. Por un lado, aquellos relacionados con la acumulación de material vesicular, granular y filamentoso (el cual comienza aproximadamente a los 20 años en la zona colágena interna), material que contiene cuerpos residuales y segmentos externos sin digerir (derivados del EPR). Por otro lado, cambios en el desarrollo de las fibras de colágeno (incremento del colágeno normal e intermedio y de las fibras similares al colágeno de espaciado largo) y elásticas (aumento de la densidad), a partir de los 40 años, con posibilidad de calcificación⁽⁸³⁾.

Específicamente, Sarks⁽⁸³⁾ indica los siguientes cambios asociados a la edad en la membrana de Bruch:

- Engrosamiento.
- Hialinización⁽¹²⁾.
- Incremento de la positividad periódica ácido Schiff.
- Tinción basófila.

En relación directa con la DMAE, las alteraciones se asocian con la desorganización y engrosamiento de las fibras de colágeno, presentando invaginaciones en los espacios intercapilares coroides⁽⁸⁴⁾. De la misma manera que para el envejecimiento, pueden presentarse fracturas en la membrana dada la degeneración cálcica, siendo potencial la formación de canales para la infiltración de neovasos desde la coriocalpilar^(85, 86).

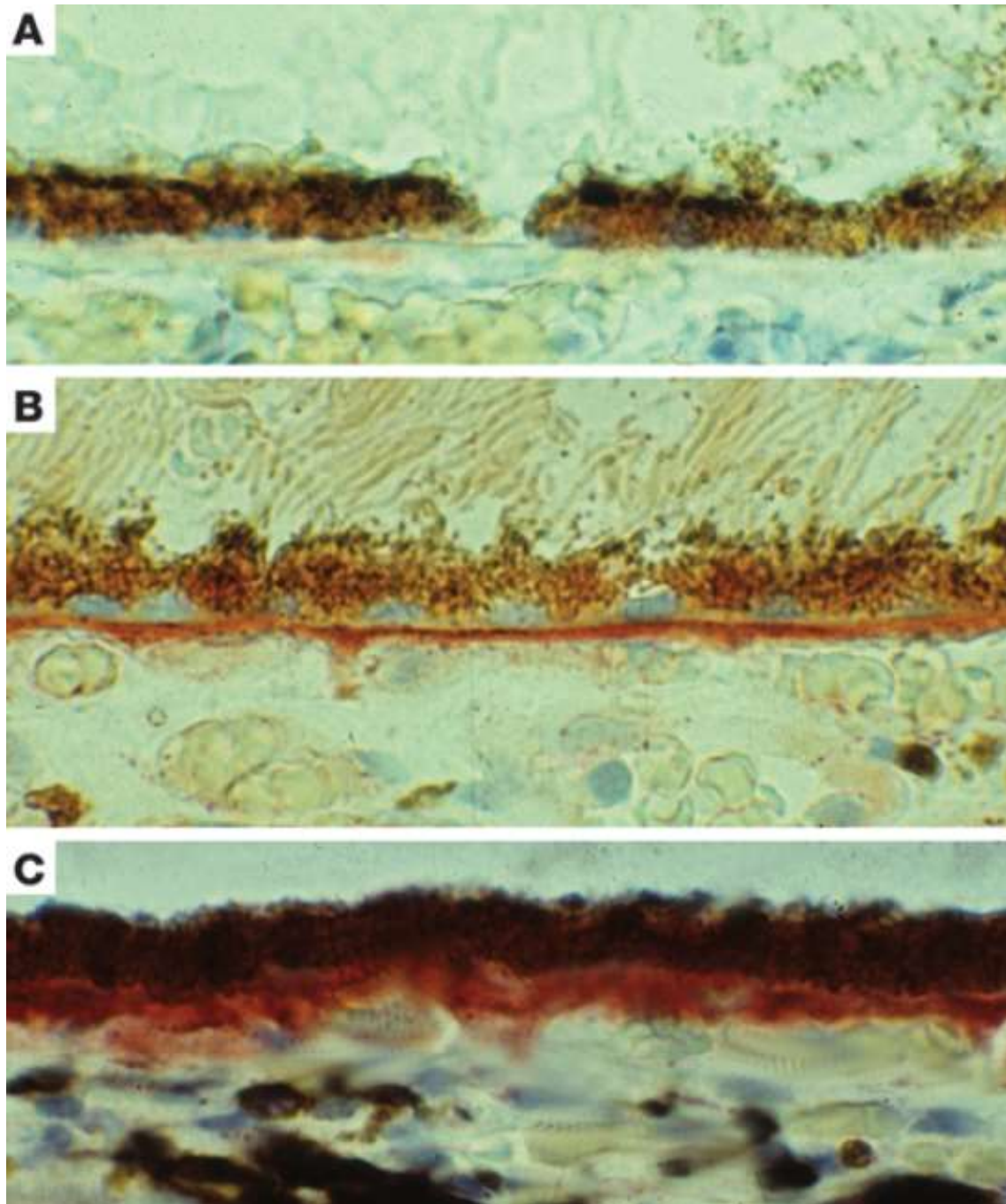
El engrosamiento representa, probablemente, el indicador más explícito de las afectaciones de la DMAE sobre la membrana de Bruch^(2, 87, 88). En su estudio experimental, Okubo et al⁽⁸⁹⁾ se orientaron a evaluar las correlaciones entre la edad, el espesor de la membrana de Bruch, la autofluorescencia del EPR y el contenido de cuerpos residuales de este último. Hallando que el espesor de la membrana de Bruch se incrementó linealmente con la edad y, sobre todo, en función de variaciones considerables dentro de cada grupo de edad y de muestras de ojos, se concluyó que más de la mitad del cambio del espesor podía ser explicado por otros factores a la edad, como aquellos genéticos y medioambientales.

Guymer et al⁽⁹⁰⁾ indican lo mismo. En relación con esto, el engrosamiento es explicado, en parte, por un clearance incompleto del material residual descargado desde el EPR hacia el exterior, ello derivando en la acumulación de depósitos.

El contenido y la potencial influencia de los depósitos sobre la función de la membrana de Bruch engrosada se asocian con la patogénesis del desprendimiento del EPR. Esta asociación se encuentra en actual discusión. Bird y Marshall⁽⁹¹⁾, partiendo del reconocimiento de la existencia de un constante movimiento hacia el exterior de iones (y, por ende, de agua), desde la retina externa hacia la coroides, propusieron que la reducción de la conductividad hidráulica de la membrana de Bruch obstaculizaría tal movimiento, derivando en la acumulación del líquido en el espacio subEPR. Esta situación debe asociarse con el hecho que la membrana de Bruch posee un contenido elevado en lípidos susceptible de aumentar la resistencia al flujo.

Varios estudios corroboraron el anterior planteamiento etiológico. Pauleikhoff et al⁽⁹²⁾ hallaron una acumulación progresiva de lípidos en la membrana de Bruch en relación directa con la edad (considerando grupos de pacientes de 0-30 años, 31-60 años y > 60 años). Además, se hallaron diferencias respecto de los tipos de lípidos, observándose en proporciones similares solo lípidos neutros, solo fosfolípidos y fosfolípidos y lípidos neutros. Por su parte, los depósitos se asociaron con la degeneración progresiva de la arquitectura de la membrana de Bruch, aunque sin incidencia con lípidos particulares. De esta manera, los autores concluyeron que la barrera rica en lípidos de la membrana de Bruch se considera como un factor causal en la DMAE, tanto en la disfunción de fotorreceptores como en el desprendimiento del EPR. En la siguiente figura se demuestra el incremento de los niveles de lípidos en la membrana de Bruch en función directa con la edad.

Figura 8. Incremento de los niveles de lípidos en la membrana de Bruch en función de la edad, mediante tinción con Oil Red O de lípidos en secciones transversales congeladas del ojo. (1). Retina de un paciente de 16 años. (2). Retina de un paciente de 44 años. (1). Retina de un paciente de 86 años.



Fuente: Extraído de Bird AC. Therapeutic targets in age-related macular disease. *J Clin Invest.* 2010;120(9):3033-41.

Holz et al⁽⁹³⁾ desarrollaron un estudio orientado a analizar los depósitos lipídicos en la membrana de Bruch en la mácula y los sitios periféricos, determinando la existencia de diferencias en la distribución regional. Los autores hallaron una mayor cantidad de lípidos en la mácula que en la periferia de la retina, con incrementos en ambos sitios directamente relacionados con la edad. Estos lípidos fueron fosfolípidos, triglicéridos, ácidos grasos y colesterol libre. De esta manera, se concluyó que las lesiones en la DMAE y los depósitos lipídicos en la membrana de Bruch comparten una distribución espacial.

Sheraidah et al⁽⁹⁴⁾ partieron del reconocimiento que la composición química de los depósitos en la membrana de Bruch afecta los resultados clínicos en la DMAE, considerando específicamente que los lípidos neutros pueden derivar en hidrofobicidad y favorecer el desprendimiento del EPR. En su estudio, estos autores hallaron que los extractos lipídicos se incrementan con la edad, aunque la proporción lípidos neutros-fosfolípidos varía de caso en caso, en pacientes de más de 60 años.

Moore et al⁽⁹⁵⁾ desarrollaron un estudio orientado a determinar si las alteraciones en la dinámica de fluidos se asocian con el envejecimiento del complejo membrana de Bruch/coroides, considerando que tales cambios en la mácula pueden asociarse etiológicamente con signos patológicos de la DMAE. Se halló una relación directa entre el flujo a través del complejo membrana de Bruch/coroides y la presión aplicada y la conductividad hidráulica siendo independiente de esta última. Por su parte, dicha conductividad presentó una reducción exponencial en función del incremento de la edad del paciente, con un máximo decrecimiento durante las primeras 4 décadas de vida. Finalmente, los cambios asociados a la edad se presentaron más significativos en la mácula, la conductividad hidráulica reduciéndose a la mitad cada 9,5 años. Por lo tanto, se concluyó que la reducción de la conductividad hidráulica del complejo membrana de Bruch/coroides en función de la edad se asocia con un decrecimiento de la capacidad de intercambio de fluidos entre la coroides y el EPR, esto siendo importante ante el desarrollo de la DMAE.

Siendo un poco más específico sobre esto último, Starita et al⁽⁹⁶⁾ desarrollaron un estudio orientado a determinar la localización de mayor resistencia al flujo de agua a través de la membrana de Bruch. Estudiando los cambios en la conductividad hidráulica en dicha

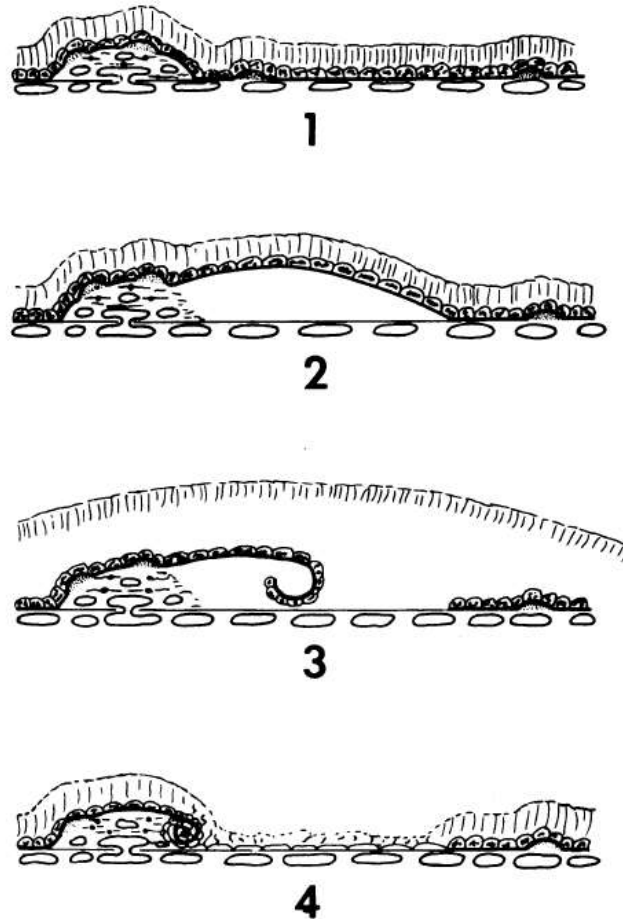
membrana como respuesta a una secuencia de remoción de capas mediante láser excimer en pacientes de 26, 46, 61, 76 y 83 años, se halló una relación de dependencia entre la edad y el número de pulsos de láser destinados vencer la resistencia de la membrana. Por su parte, la pérdida de resistencia se correlacionó significativamente con la remoción de capas internas a la capa de elastina. En este sentido, se concluyó que la capa interna de colágeno se asocia con una mayor resistencia al flujo de líquido entre el EPR y la coroides, los cambios asociados a la edad pudiendo ser factores causales de la reducción de la conductividad hidráulica.

Actualmente, se reconoce que las alteraciones biomecánicas y del espesor de la membrana de Bruch se asocian con determinados resultados clínicos. Al respecto, en su estudio, Pauleikhoff et al⁽⁹⁷⁾ partieron del reconocimiento que la fluorescencia de las drusas durante AGF se asocia con importantes consecuencias pronósticas y patogénicas en la DMAE. Más específicamente, los depósitos con predominio de lípidos neutros son hidrofóbicos, dando lugar a hipofluorescencia, mientras que la presencia de fosfolípidos polares se asocia con hiperfluorescencia. A razón de ello, la investigación de los autores se orientó a identificar los determinantes potenciales de la fluorescencia de las drusas y de la membrana de Bruch en muestras maculares de pacientes de más de 60 años.

Se halló correlación entre un elevado contenido de grasas neutras y la falta tanto de unión a la fluoresceína como de presencia de fibronectina, obteniendo resultados opuestos en las muestras con elevada concentración de fosfolípidos. Se concluyó que los datos aportan parámetros de confirmación sobre los cambios biofísicos en la membrana de Bruch asociados a la edad y sobre la utilidad de la AGF en la caracterización de los depósitos de dicha membrana.

Esto es importante dado que una mayor resistencia al flujo de agua en la membrana de Bruch se asocia con potenciales fisuras del desprendimiento del EPR, los estreses tangenciales en los tejidos desprendidos pudiendo quebrarlos. Al respecto, Gass⁽⁹⁸⁾ indica que la neovascularización del epitelio subpigmentario de la coroides y la separación irregular de la membrana basal de su epitelio pigmentario representan la causa principal de desprendimiento y fisuras en este último. En la siguiente figura se esquematiza el proceso fisiológico implicado en el mecanismo anteriormente descrito.

Figura 9. Fases de desarrollo del desprendimiento seroso y de las fisuras del epitelio pigmentario. (1). NVC oculta. (2). Desprendimiento seroso secundario del epitelio pigmentario y de la membrana basal. (3). Fisura aguda del epitelio pigmentario y desprendimiento retiniano secundario. (4). Desarrollo nuevo de epitelio pigmentario hipopigmentado y re inserción de la retina.



Fuente: Extraído de Gass JD. Pathogenesis of tears of the retinal pigment epithelium. Br J Ophthalmol. 1984;68(8):513-9.

Chuang y Bird⁽⁹⁹⁾ agregan que la membrana de Bruch representa una barrera significativa para el movimiento de los fluidos y que el fluido debajo del epitelio pigmentario desprendido deriva parcial o totalmente de dicho epitelio.

De esta manera, se llega a la hipótesis que los lípidos poseen una influencia considerable sobre las propiedades biofísicas de la membrana de Bruch y que contribuyen a la DMAE.

La acumulación de lípidos conlleva el engrosamiento de la membrana estando acompañada de alteraciones del sistema inmunológico y de presencia de proteínas asociadas (por ejemplo, C3, C5b-C9, β -amiloide, vitronectina) en presencia de DMAE⁽¹⁰⁰⁻¹⁰⁶⁾.

Este engrosamiento de la membrana de Bruch causa impedancia del intercambio metabólico y del movimiento de fluidos, aspectos consustanciales a la patogénesis de la DMAE.

1.4.4 EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RERINA

La acción de envejecimiento sobre el EPR se traduce, concisamente, en el incremento de su altura y en su estrechamiento, elevando así la concentración de gránulos de pigmento. El núcleo se reduce en tamaño y se hace basófilo y el citoplasma acumula de manera gradual lípidos y gránulos^(67, 107, 108).

Por su parte, es potencial la migración de las partículas granulares, formando depósitos en la membrana de Bruch, según se ha desarrollado en el subapartado anterior^(85, 86, 109).

Bhutto y Luttu⁽¹¹⁰⁾, en un estudio bibliográfico actual, se orientaron a analizar las relaciones subyacentes al complejo fotorreceptores/ EPR/ membrana de Bruch/ coriocapilar. Los autores partieron del reconocimiento que existen relaciones simbióticas mutualistas entre los componentes del anterior complejo, siendo que el mismo se presenta con pérdidas sustanciales en la DMAE. No obstante, la afectación primera de dichos componentes depende del tipo de DMAE. Así, se establecieron los siguientes aportes:

- En la DMAE atrófica (aproximadamente 85-90% de los casos), primero se presenta una amplia formación de drusas confluentes e hiperpigmentación (probable disfunción del EPR), pudiendo derivar en AG ante la resorción de dichas drusas e hipopigmentación (pérdida del EPR). La muerte y disfunción de los fotorreceptores y de la coriocapilar se presentan como una consecuencia secundaria a la pérdida del EPR.
- En la DMAEE neovascular (aproximadamente 10-15% de los casos), la pérdida de la vascularización coroidea puede representar el signo inicial, siendo potencial observarse

pérdida de la coriocapilar con la monocapa del EPR intacta (probablemente a causa de la reducción del suministro sanguíneo por estenosis vascular).

Como aspectos subyacentes, los autores indican que durante la DMAE el entorno de la coriocapilar, la membrana basal y los septos intercapilares se corresponde con un medio proinflamatorio con acumulación de componentes complementarios y de moléculas proinflamatorias (por ejemplo, la proteína C reactiva –PCR). Este medio se considera tóxico, en el cual la coriocapilar desaparece o deriva en disfunción, convirtiéndose hipóxico al EPR adyacente. En consecuencia, se producen sustancias angiogénicas (por ejemplo, el factor de crecimiento endotelial vascular –VEGF), derivando en el desarrollo de nuevos vasos desde la coriocapilar: esto produce NVC. Por su parte, la pérdida de la coriocapilar puede estimular la formación de drusas, ante las limitaciones del sistema de eliminación de restos retinianos y de material exocitado. Relacionado con este último proceso, los fotorreceptores mueren a causa de la falta de nutrientes, se filtran componentes séricos a partir de la NVC y tiene lugar la formación de cicatrices.

En este sentido, los autores concluyeron que se pierden las relaciones simbióticas mutualistas entre los componentes del complejo, esto siendo válido para las dos formas analizadas de la DMAE, pérdida que deriva en la disfunción de dichos elementos.

En este punto parece pertinente recordar el carácter heterogéneo de la DMAE, en tanto la inclusión no solo de factores como la edad y las consecuencias orgánicas, sino también de los aspectos genéticos y medioambientales, esto manifestándose, por ejemplo, en las variaciones de la autofluorescencia y de los cuerpos residuales, y en la relación causal entre estos dos aspectos⁽⁸⁹⁾. Más específicamente, algunos hallazgos sugieren que una dieta con alto contenido de vitamina A⁽¹¹¹⁻¹¹³⁾ y el gen ABCA-4^(114, 115) se asociarían con una elevada autofluorescencia.

La importancia de estos hallazgos subyace en la capacidad de registrar la autofluorescencia del EPR in vivo. von Rückmann et al⁽¹¹⁶⁾ utilizaron la técnica de oftalmología láser de barrido (SLO) para registrar la variación de la fluorescencia asociada a la lipofuscina en el EPR, hallando que las características ópticas, de distribución y alteraciones patológicas implican que la fluorescencia deriva necesariamente de la lipofuscina en el EPR. Por otro

lado, la autofluorescencia se presenta elevada en ciertas enfermedades hereditarias, y con bajos niveles en la atrofia retiniana. Así, los autores concluyeron sobre la utilidad de la técnica tanto con fines clínicos como investigativos.

En un estudio que relaciona directamente los hallazgos de la anterior técnica imagenológica con la lipofuscina en el EPR, Delori et al⁽¹¹⁷⁾ se orientaron a caracterizar la autofluorescencia de fondos de ojo en función de su excitación y espectro de emisión, edad, localización retiniana y topografía, y a identificar el fluoróforo dominante entre las capas del fondo ocular. Los autores hallaron una banda amplia de emisión asociada a la fluorescencia del fondo de ojo, entre 500-750 nm, un máximo aproximado de 630 nm y una excitación óptima aproximada de 510 nm. Esta fluorescencia fue mayor a 7-15° de la fovea, asociándose con un mínimo bien definido en tal sitio y con reducciones hacia la periferia. La fluorescencia se incrementó significativamente con la edad. Se halló correlación entre los espectros in vivo y ex vivo sobre el EPR. Finalmente, se observó una fuerte influencia de la absorción ocular media sobre la excitación de onda corta, revelando un adicional pero menor fluoróforo en la fovea. En este sentido, los autores concluyeron que la lipofuscina del EPR es el fluoróforo dominante de la retina.

Por su parte, en relación directa con la DMAE, Lois et al⁽¹¹⁸⁾ desarrollaron un ensayo clínico aleatorizado orientado a describir los patrones de autofluorescencia del fondo de ojo y su cambio en función del tiempo en pacientes con DMAE y elevado riesgo de pérdida de vista.

Sobre 35 ojos (29 pacientes), al momento de inicio del estudio, se identificaron 4 patrones de autofluorescencia: autofluorescencia focal incrementada (18 ojos), autofluorescencia reticular (3), autofluorescencia combinada (focal y reticular) (2) y autofluorescencia homogénea (12). Por su parte, al finalizar el seguimiento la autofluorescencia permaneció sin cambios en el 78% de los casos no tratados y en el 43% de los casos tratados. Solamente en 1 ojo no tratado la autofluorescencia focal incrementada se asoció con niveles de base y no fue detectable hasta la finalización del seguimiento, esto derivando en diferencias significativas respecto de 6 ojos tratados. Por otro lado, solo las drusas blandas foveales grandes (desprendimiento drusenoides del EPR) se correspondió con cambios

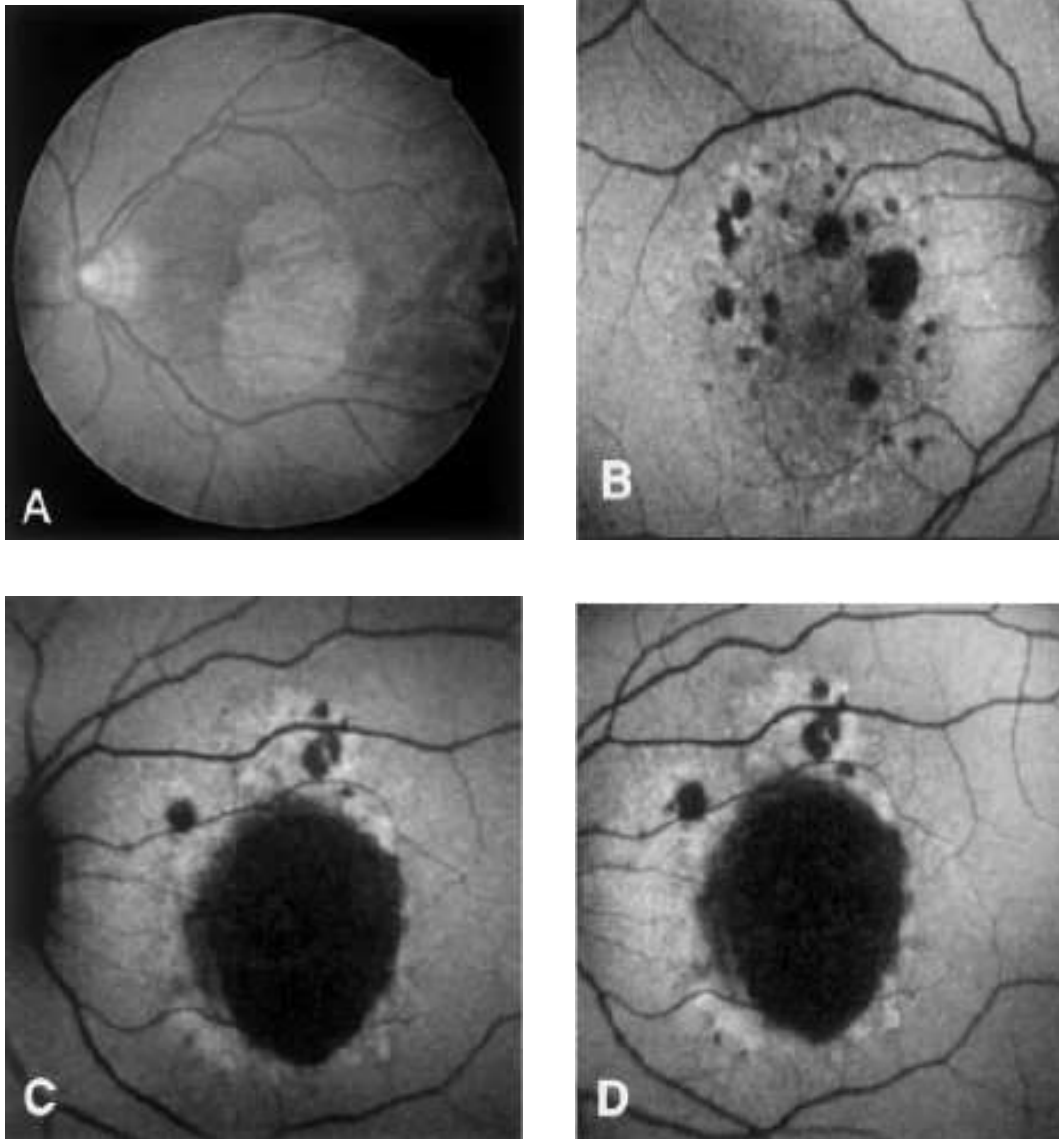
focales en la autofluorescencia, mientras no se hallaron asociaciones entre las drusas blandas pequeñas de cualquier ubicación y los cambios en la autofluorescencia.

En este sentido, los autores concluyeron que la falta de correspondencia entre la distribución de las drusas y la autofluorescencia es indicativa de que tales aspectos representan medidas independientes del envejecimiento en el polo posterior, asimismo pudiéndose afirmar que la distribución de la autofluorescencia es particular en cada paciente.

También resulta importante indicar, de manera relacionada, que las drusas no se presentan como parámetros adecuados de explicación de tales diferencias de distribución, en tanto estas estructuras no presentan autofluorescencia considerable. Por su parte, se ha hallado un patrón simétrico de autofluorescencia en la DMAE temprana bilateral, esto siendo un indicio de que las características de autofluorescencia pueden reflejar la forma patológica, incluyendo las afectaciones genéticas y/o medioambientales⁽²⁾. Asociado a esto, Holz et al⁽¹¹⁹⁾ desarrollaron un estudio in vivo orientado a describir el desarrollo de nueva y la extensión de preexistente atrofia en áreas con niveles anormalmente elevados de autofluorescencia en ojos con AG asociada con DMAE.

Al momento de inicio del estudio, se registró una autofluorescencia incrementada difusa e irregular en el polo posterior en presencia de parches de AG unifocales o multifocales. Dentro de estas áreas se halló desarrollo de nuevos indicios de atrofia y la extensión de los parches, no observándose lo mismo en sitios con autofluorescencia normal. Asimismo, el área total de autofluorescencia anormal se extendió durante el período de seguimiento. Estos resultados se presentan en la siguiente figura.

Figura 10. Autofluorescencia del fondo de ojo. (1). Inicio del estudio, sin evidencia consistente de atrofia consistente. (2). Revisión 1 año posterior, mostrando parches pequeños de atrofia así como la extensión de aquellos preexistentes en el área de autofluorescencia incrementada. (C y D). Revisión al finalizar el seguimiento, observándose incrementos de tamaño de los parches pequeños de atrofia preexistentes y el desarrollo de otros nuevos.



Fuente: Extraído de Holz FG, Bellman C, Staudt S, Schütt F, Völcker HE. Fundus autofluorescence and development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001;42(5):1051-6.

De esta manera, los autores concluyeron que las áreas con incremento de autofluorescencia preceden al desarrollo y extensión de atrofia retiniana externa en ojos con DMAE. Por su parte, considerando que los fluoróforos dominantes son parte de gránulos de lipofuscina de las células del EPR, su acumulación en exceso podría representar un aspecto significativo ante la patogénesis de la AG asociada a DMAE.

Los mecanismos subyacentes mediante los cuales los cambios en el EPR resultan en AG se encuentra en actual discusión. Pueden considerarse los siguientes aportes:

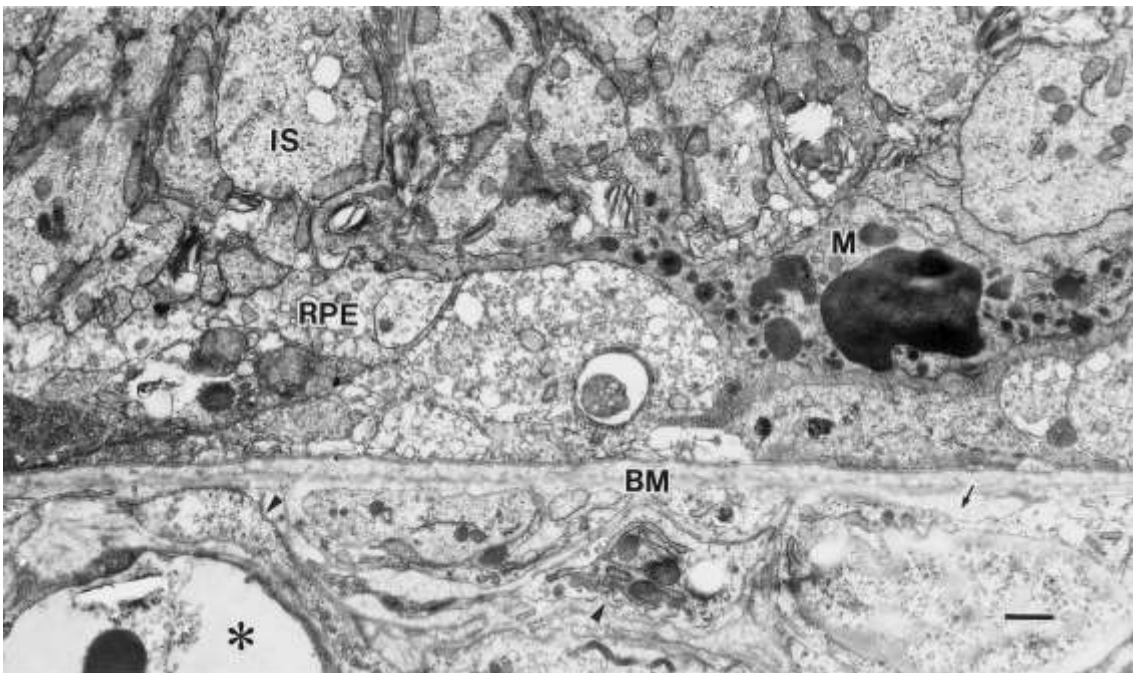
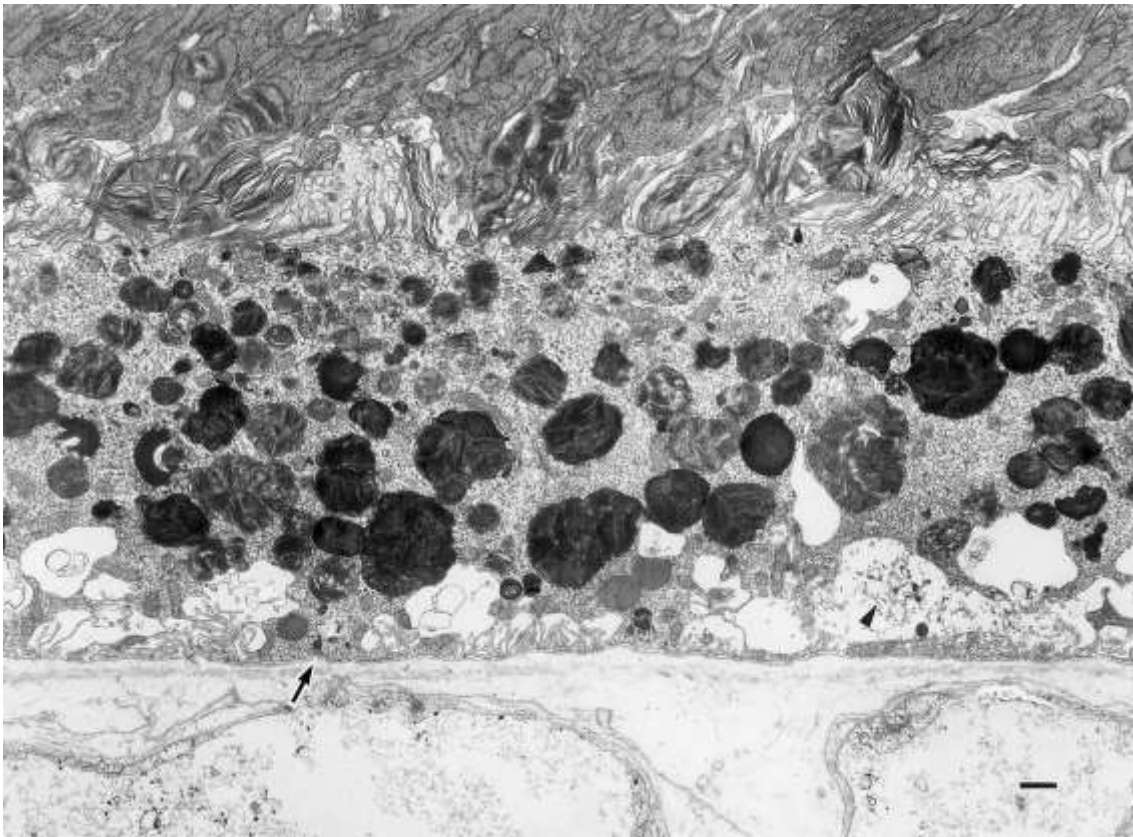
- El volumen citoplasmático ocupado por los cuerpos residuales es susceptible de interferir con el metabolismo celular, los primeros acumulándose en función directa con la edad y las células del EPR macular acumulando gránulos en mayor medida que las células no maculares⁽¹²⁰⁾.
- La lipofuscina como un productor de radicales libres susceptible de causar daño o disfunción celular, ante el incremento con la edad de la fotorreactividad inducida por luz azul de los melanosomas⁽¹²¹⁾.
- Efectos tóxicos de los componentes de la lipofuscina. La A2-E posee propiedades surfactantes sobre las biomembranas, ello pudiendo incrementar el pH intralisosomal al modular la influencia de la bomba de protones lisosomal dependiente de la adenosina trifosfato (ATP), este incremento inhibe la actividad de las hidrolasas lisosomales⁽¹²²⁾.
- La A2-E como causa de filtración lisosomal progresiva. Además, la A2-E como causa de desintegración de la membrana lisosomal, incluso en concentraciones bajas, lo que desencadena mecanismos de disfunción inducida por lipofuscina del EPR in vivo, siendo potencial y secundario el daño mitocondrial⁽¹²³⁾

En todo caso, se sugiere que la lipofuscina reduce la actividad de las enzimas fagolisosomales. Las consecuencias asociadas a esta reducción de la degradación lisosomal en el EPR abarcan diversos aspectos. Okubo et al⁽¹²⁴⁾ desarrollaron un estudio experimental orientado a determinar los cambios estructurales en el EPR y las estructuras circundantes ante la inyección intravítrea de un inhibidor de la proteasa lisosomal (E-64).

Los autores hallaron que una sola inyección del inhibidor produce una acumulación transitoria de cuerpos fagosomales y fagolisosomales en el EPR. En contraposición, la

administración de repetidas inyecciones genera una acumulación progresiva de los anteriores, la alteración de la conformación celular en el EPR, cambios en organelas (por ejemplo, pérdida del retículo endoplasmático liso –REL), acortamiento y pérdida de los segmentos externos de los fotorreceptores (sin cambios dismórficos previos), alteración de los capilares coroideos e invasión de la membrana de Bruch por parte de fibroblastos y pericitos. En la siguiente figura se presentan estas alteraciones.

Figura 11. Alteraciones consecuentes a la reducción de la degradación lisosomal en el EPR. (Arriba). Células de EPR después de un tratamiento de 3 inyecciones diarias de E-64 durante 4 días, observando desorganización de los procesos apicales y de las invaginaciones basales (flecha). Por su parte, el material granular (punta de flecha) se presenta entre la membrana plasmática y la lámina basal. Asimismo, se observa acortamiento o pérdida de los segmentos externos de los fotorreceptores y reducción de la proporción o fenestración de las células endoteliales de la coriocapilar. (Abajo). Células de EPR después de un tratamiento de 3 inyecciones día por medio de E-64 durante 7 días, observando contacto entre los segmentos internos de los fotorreceptores (aquellos que perdieron los segmentos externos) y las células de EPR degeneradas. Se observó una célula macrófaga entre los segmentos internos y la célula de EPR. Los procesos asociados a los pericitos que poseen una lámina basal (punta de flecha) y células no definidas se presentan en la membrana de Bruch. Por su parte, una célula (flecha) parece ser tanto una célula endotelial degenerativa o un pericito. La coriocapilar se presenta con pérdida de la mayor parte de sus fenestraciones.



Fuente: Extraído de Okubo A, Sameshima M, Unoki K, Uehara F, Bird AC. Ultrastructural changes associated with accumulation of inclusion bodies in rat retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(13):4305-12.

Nota: RPE=Epitelio pigmentario retiniano.

IS=Segmento interno.

M=Célula macrófaga.

BM=Membrana de Bruch.

*=Coriocalilar.

En conclusión, el E-64 produce cambios estructurales en la retina externa, desconociéndose los mecanismos subyacentes, pero hipotetizando: alteración física de las organelas, daño celular con consecuente acumulación de A2-E, escasez de material reciclado ante la degradación reducida de fagosomas (indicio de una relación de gran dependencia entre la disponibilidad de productos de degradación fagosomal y la renovación de los segmentos externos de los fotorreceptores, y que la disposición de material plasmático no es suficiente para sostener dicho proceso).

Así, los cambios descritos en el EPR (inhibición de las proteasas lisosomales) probablemente se asocien con la reducción del metabolismo lipídico, disminución de la expresión basolateral del VEGF y pérdida o fenestración de la coriocalilar.

Otra consecuencia asociada a la presencia de lipofuscina se relaciona con el hecho que los productos fotodegradados del fluoróforo activan la cascada complementaria, aspecto importante ante el engrosamiento de la membrana de Bruch. Al respecto Zhou et al⁽¹²⁵⁾ desarrollaron un estudio in vitro orientado a evaluar los eventos disparadores de la cascada complementaria, partiendo del reconocimiento que su activación se relaciona con la patogenia de la DMAE.

Los autores hallaron incrementos de los niveles de la proteína iC3b en el suero normal dispuesto en contacto con EPR conteniendo A2-E e irradiado para generar productos de fotooxidación asociados. La proteína también mostró niveles aumentados en suero incubado con peroxi-A2-E, el dímero todo-trans retinal y formas oxidadas de este último. La sustitución del suero normal con el complemento factor B en suero anuló los

incrementos descritos. Asimismo, la activación de la cascada complementaria fue inhibida ante la adición de la PCR y el inhibidor C3.

De esta forma, los autores concluyeron que los pigmentos bisretinoides de la lipofuscina del EPR, ante la fotoactivación y la escisión, poseen la capacidad para activar la cascada complementaria, dependiendo esto de la vía alternativa y pudiendo regularse por el inhibidor C3. Finalmente, se reconoce que estos sucesos asociados con la desregulación complementaria pueden favorecer la inflamación crónica (por ejemplo, de la membrana de Bruch) y representar factores etiológicos de la DMAE.

Partiendo de estos resultados, puede inferirse que la lipofuscina es susceptible de generar cambios oculares asociados a la edad y considerarse como factor subyacente de la DMAE a través de diversos mecanismos patogénicos.

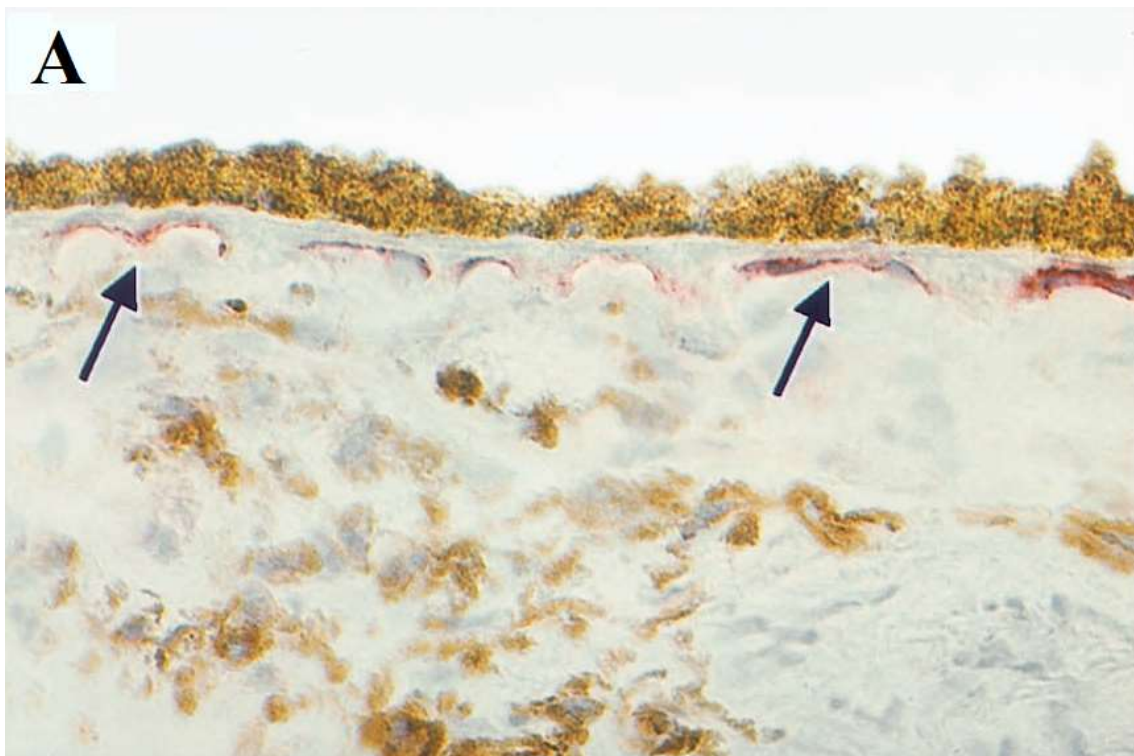
1.4.5 COROIDES

Al igual que en el caso anterior, tampoco se dispone de mucha información sobre los cambios histopatológicos específicos en la coriocalilar en sujetos con DMAE. En individuos jóvenes sanos la coriocalilar está constituida por un complejo sinusoidal que, en presencia de la DMAE, es fenestrado y carece de uniones estrechas, se supone que tal desarrollo se encuentra determinado en parte por la expresión externa del VEGF dada desde el EPR⁽²⁾.

Al respecto, Blaauwgeers et al⁽¹²⁶⁾ desarrollaron un estudio in vitro orientado a analizar la existencia de una secreción polarizada del VEGF a partir del EPR e identificar la ubicación de los receptores de dicho factor de crecimiento en la retina. Es importante mencionar, primero, que los autores partieron del reconocimiento que el EPR mantiene estructural y funcionalmente la coriocalilar en el ojo normal, asimismo estando involucrado en la patogénesis de la NVC asociada en presencia de DMAE, y que el VEGF (producido por las células del EPR) puede estar involucrado en la señalización paracrina entre el anterior epitelio y la coriocalilar. En el estudio se halló que el EPR secreta el VEGF hacia su aspecto basal, localización en la que su receptor KDR (VEGFR-2 -receptor 2 del VEGF) se ubica en el epitelio adyacente de la coriocalilar, indicando cierta función del factor de crecimiento en una relación paracrina y probablemente en conjunción con el receptor Flt-4

(VEGFR-3 -receptor 3 del VEGF) y su ligando. Estos resultados se asocian con la función atrófica del EPR en el mantenimiento de la coriocapilar, y su fenotipo permeable fenestrado, haciendo patente cierto rol del VEGF en la funcionalidad de la retina normal. En contraposición, la alteración de la secreción del VEGF basolateral (por ejemplo, en condiciones de hipoxia o pérdida de polaridad), se asocia con la patogénesis de la NVC (presencia de DMAE). Algunos de estos resultados se presentan en la siguiente figura.

Figura 12. Tinción con PAL-E anticuerpo monoclonal de la inmunoperoxidasa de secciones tisulares congeladas de la coroides, identificando el endotelio fenestrado. (1). Reconocimiento de VEGFR-2. (2). Reconocimiento de VEGFR-3. Las flechas indican la tinción de las estructuras vasculares.





Fuente: Modificado de Blaauwgeers HG, Holtkamp GM, Rutten H, Witmer AN, Koolwijk P, Partanen TA, et al. Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris. Evidence for a trophic paracrine relation. *Am J Pathol.* 1999;155(2):421-8.

Kannan et al⁽¹²⁷⁾ hallaron resultados similares, concluyendo que el estrés oxidativo del EPR a partir del peróxido de hidrógeno de butilo terciario (tBH) regula la secreción tanto del VEGF-A como del VEGF-C, considerando el hallazgo de una mayor secreción al aspecto apical en comparación con aquel basolateral. En consecuencia, esto resulta sustancial ante la patogénesis de la DMAE, en tanto la función del VEGF en la NVC.

Por su parte, considerando otra alternativa a la de individuos jóvenes sanos, en sujetos sin DMAE se observa reducción de la densidad de la coriocapilar en función de la edad. Al respecto, en un estudio ya citado, Ramrattan et al⁽⁸⁸⁾ se orientaron a evaluar cuantitativamente los cambios en la densidad coriocapilar y en el espesor de la membrana de Bruch, la coriocapilar y la coroides sobre 95 máculas histológicamente normales (edades entre 6-100 años) y sobre 25 máculas con DMAE avanzada. Considerando el

período de 10 décadas, para las máculas normales se halló: engrosamiento de la membrana de Bruch (2,0 μm a 4,7 μm), reducción de la densidad coriocapilar en un 45%, reducción del diámetro de la coriocapilar en un 34% (9,8 μm a 6,5 μm) y decrecimiento del espesor de la coroides en un 57% (193,5 μm a 84 μm). Por su parte, para las máculas con DMAE, se hallaron resultados según presencia de depósito laminar basal, AG y cicatrices disciformes, comparación con las máculas normales: reducción de la densidad de la coriocapilar en un 63%, 54% y 43%, respectivamente; reducción del diámetro coriocapilar en un 81%, 73% y 75%, respectivamente; ausencia de cambios para el espesor corioideo. De esta manera, los autores concluyeron que la edad representa un factor importante ante los cambios negativos sobre el espesor de la membrana de Bruch y la densidad coriocapilar, la DMAE asociándose significativamente con las afectaciones sobre la mencionada densidad.

1.4.6 DRUSAS, NVC, DEGENERACIÓN DISCIFORME Y ASPECTOS INTEGRADORES SOBRE LA ANATOMÍA Y ETIOPATOGENIA DE LA DMAE

En este subapartado se desarrollarán brevemente algunos aspectos conceptuales sobre las drusas, la degeneración disciforme y la NVC, estructuras, consecuencias y/o procesos interrelacionados y consecuentes a las alteraciones anatómicas ya presentadas. El desarrollo de estos conceptos permitirá comprender en mayor medida los aspectos integradores sobre la anatomía y etiopatogenia de la DMAE considerados en la actualidad.

Respecto de las drusas, en su variante blanda, pueden conceptualizarse, desde una perspectiva histológica, como elevaciones granulares susceptibles de confluir y crecer considerablemente en tamaño (son similares a desprendimientos serosos del EPR): constituidas por proteínas y lipofuscina, el tamaño se halla en relación con la degeneración del EPR^(84, 86, 128, 129). Por su parte, las drusas duras son consecuencia de un desordenamiento de las células del EPR, en su interior conteniendo vesículas densas, fibras, gránulos, material amorfo, colágeno alterado y, algunas veces, calcio^(82, 84, 129, 130).

Considerando estos dos tipos de drusas, es importante indicar que aquellas blandas tienden a relacionarse con el proceso de NVC, sucediendo lo contrario en las drusas duras^(19, 125, 131).

No obstante, debe considerarse otro tipo de drusas, referenciadas como drusas cuticulares. Siendo que pueden predisponer a la formación de las drusas blandas y duras⁽⁸⁴⁾, las presentes se asocian con un engrosamiento de la membrana basal de las células del EPR, no dependiendo de la edad, sino de patologías hereditarias autosómicas dominantes⁽⁶⁷⁾.

Respecto de la neovascularización, la misma refiere, básicamente, al crecimiento de los vasos sanguíneos hacia el interior de una estructura o a través de ella, haciéndose mención de la NVC cuando tal desarrollo ocurre para los vasos de la coriocapilar en relación a la membrana de Bruch⁽²⁾.

Se sugiere que tal crecimiento de los vasos sanguíneos desde la coroides hacia el interior encuentra causas en el desequilibrio de los factores de crecimiento. Al respecto, Witmer et al⁽¹³²⁾ indican que la sobreexpresión de los VEGF y sus receptores VEGFR-1, VEGFR-2 y VEGFR-3 se asocian con un incremento de la permeabilidad microvascular y angiogénesis en ojos con DMAE (así como en aquellos con retinopatía diabética -RD). Agregan que los VEGF secretados por el epitelio son susceptibles de mediar los signos de supervivencia paracrina vascular para el endotelio adyacente, siendo que la alteración negativa de esta supervivencia en la coroides, así como la sobreexpresión de VEGF-A por el EPR puede derivar en parámetros explicativos de la neovascularización subretiniana en la DMAE.

En correspondencia directa con este desequilibrio deben considerarse las relaciones entre los VEGF y el factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF), siendo que los primeros estimulan el crecimiento y el segundo lo suprime: el EPR expresa o emite los VEGF externamente hacia la coroides y el PEDF internamente hacia la retina neurosensorial⁽¹³³⁾. Por su parte, la neovascularización se asocia con un incremento de los niveles de VEGF y una reducción de aquellos del PEDF. Al respecto, Kvanta et al⁽¹³⁴⁾ indican que los VEGF se asocian con cierto aspecto patogénico en el desarrollo de la NVC (DMAE), así como con cierta función de fibroblastos ante su probable generación en la coroides. Esto se justificó a partir del hallazgo de una elevada expresión del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de los VEGF áreas con considerable respuesta inflamatoria, dicha expresión concentrándose en células similares a fibroblastos; asimismo, ante la observación de la expresión de VEGF en sectores fibrovasculares de las membranas.

Bhutto et al⁽¹³⁵⁾ hallaron, primero indicando que el principal sitio de localización de VEGF y PEDF fue el complejo EPR/ membrana de Bruch/ coriocapilar (incluyendo la lámina basal del EPR, los septos intercapilares y el estroma coroideo), que la más intensa inmunorreactividad del VEGF se observó en los leucocitos dentro de los vasos sanguíneos, la coroides con DMAE presentan una intensidad y patrón similar de VEGF en comparación con los controles. Por su parte, en coroides con DMAE la intensidad asociada a la inmunorreactividad del PEDF se halló significativamente reducida en las células del EPR, la lámina basal de este epitelio, la membrana de Bruch y el estroma coroideo (la mayor intensidad se correspondió con las cicatrices disciformes. Los autores concluyeron que, existiendo un balance crítico entre los dos tipos de factores (el PEDF pudiendo contrarrestar el efecto angiogénico de los VEGF), las alteraciones del mismo son susceptibles de dar lugar a la NVC en presencia de DMAE.

En estudios experimentales sobre ratas, durante la fase de crecimiento de nuevos vasos (desarrollo inducido a través de, por ejemplo, fotocoagulación), se hallan incrementos de la expresión de VEGF pero reducciones de aquella del PEDF. En contraposición directa, durante la resolución espontánea del complejo asociado a dichos vasos, las tendencias de incremento y reducción de los factores se invierten. Estos factores se hallan directamente relacionados con el desarrollo de los procesos de crecimiento y resolución de los nuevos vasos. En este sentido, la naturaleza no vascular (normal) de la membrana de Bruch deriva de la supresión por parte del EPR del desarrollo hacia el interior de los vasos sanguíneos coroides, pudiendo esto asociarse, etiológicamente, a la falta de suministro metabólico plasmático y, a su vez, a la disminución de la difusión a través de la membrana de Bruch engrosada o a los cambios en la coriocapilar^(2, 136-141).

Respecto de la degeneración disciforme, la misma refiere a un proceso complejo que concluye en la formación de tejido cicatricial o placa fibrovascular, este proceso correspondiéndose con la neovascularización a nivel macular. A continuación se sistematiza secuencialmente las instancias procesales involucradas^(67, 82, 84, 86, 142-145).

1. Proliferación de los vasos sanguíneos desde la coriocapilar hacia la membrana de Bruch, atravesando su componente colágeno y extendiéndose por debajo del EPR, o atravesando este epitelio y disponiéndose por debajo de la retina sensorial. La

situación es más probable en casos con deterioro previo del EPR, estando presentes depósitos laminares basales gruesos y drusas blandas confluentes.

2. Sangrado de los vasos coroideos.
3. Extensión lateral de la sangre e introducción en las zonas de la retina que se encuentran debilitadas por los ya comentados depósitos laminares basales y las drusas blandas.

Como otra alternativa, la sangre puede acumularse entre las células del EPR y la retina sensorial extendiéndose en una amplia zona.

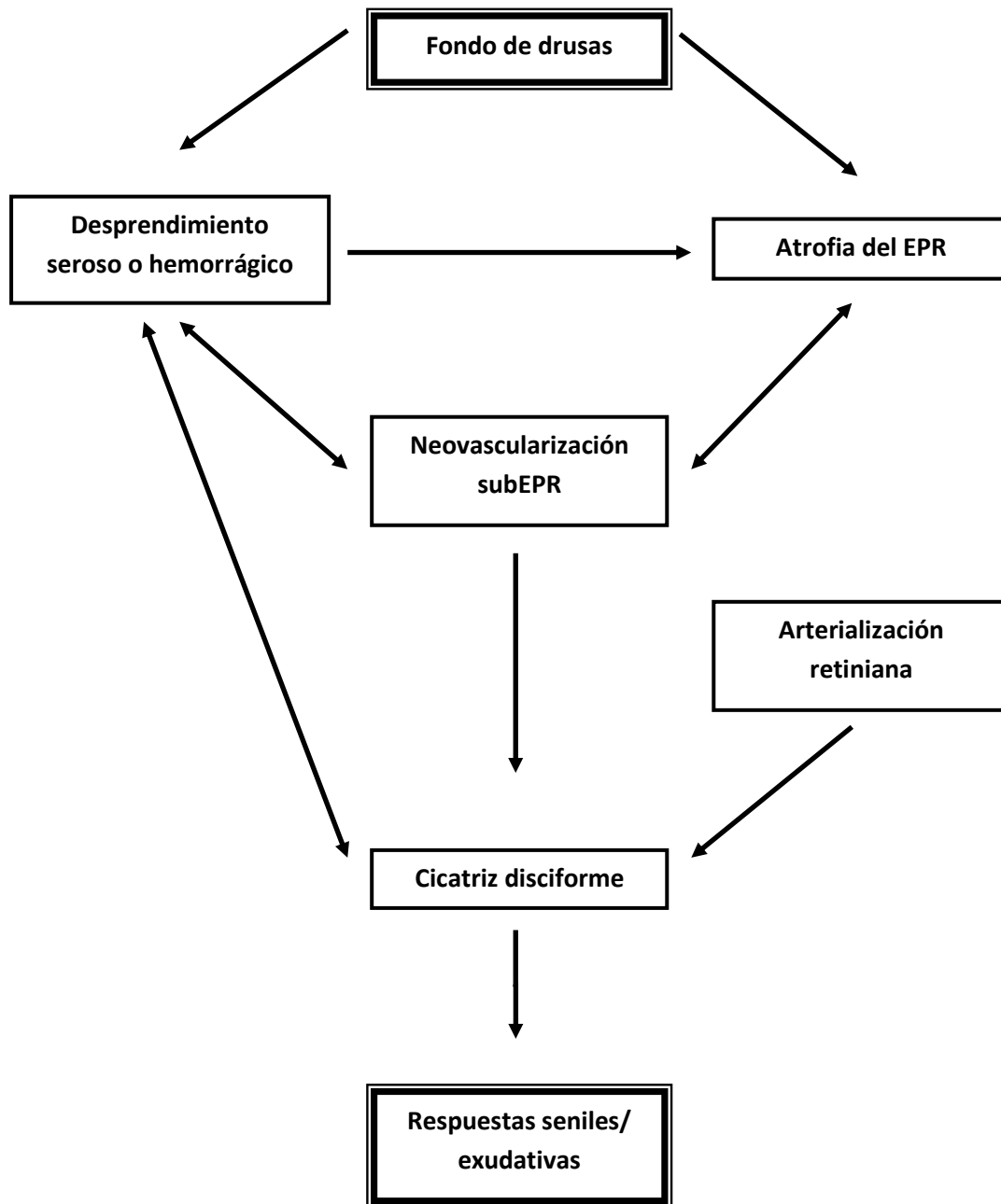
4. En lo relacionado con la extensión lateral de la sangre: desunión entre el EPR y su membrana basal, con consecuente formación de un montículo.

En lo relacionado con la extensión de la sangre en una amplia zona: destrucción rápida de fotorreceptores y del EPR, con pérdida de visión⁽¹²⁾.

5. Estimulación de la proliferación de tejido fibroso.

Considerando estas breves caracterizaciones (drusas, NVC y cicatriz disciforme) y los cambios en las distintas estructuras (anteriores subapartados), se reconoce que la degeneración macular ocurre a través de un proceso multifactorial. La esquematización de este proceso se reproduce en la siguiente figura, tomando como base aquella propuesta por Green y Key⁽⁷⁰⁾, y Gass⁽⁹⁸⁾.

Figura 13. Esquematación del proceso global de la degeneración macular senil.



Fuente: Adaptado de Green WR, Key SN 3rd. Senile macular degeneration: a histopathologic study. Trans Am Ophthalmol Soc. 1977;75:180-254.

En el mecanismo más probable, las personas con drusas y engrosamiento de la membrana de Bruch pueden desarrollar desprendimiento seroso o hemorrágico de la retina y/o del EPR, así como atrofia de este epitelio. Además, esta atrofia suele acontecer acompañada de neovascularización subEPR, este último, a su vez, siendo susceptible de producir los desprendimientos del EPR y/o la retina ya comentados y, consecuentemente, las cicatrices disciformes. Por su parte, en estas lesiones puede tener lugar cierta función vascular de la retina. La nueva vascularización genera fugas con profusión y exudación intrarretiniana o subretiniana con considerable cantidad de material lipídico.

Respecto de la DMAE húmeda valen las siguientes características asociadas a los síntomas y signos:

- Síntomas: asociándose principalmente con pacientes > 50 años, se refiere una disminución súbita de la agudeza visual y una visión deforme de los objetos. Estas consecuencias encuentran causas en la característica particular del tipo de DMAE, es decir, en la exudación de los neovasos coroideos y un levantamiento sensorial (síndrome macular). A diferencia de la DMAE seca, la metamorfopsia representa el síntoma principal de una neovascularización. Por su parte, la disminución de la visión central es muy variable y depende de la localización de los neovasos y de la extensión del desprendimiento del epitelio neurosensorial. Otros síntomas pueden referir a la presencia de estocoma central o paracentral.
- Signos: son diversos, pudiendo mencionar una lesión verde-grisácea posiblemente acompañada de fluido o hemorragia subretiniana, edema retiniano quístico, elevación del EPR asociada al tejido fibrovascular de la neovascularización, visualización de este último signo. Puede existir obstaculización de los signos propios de la neovascularización ante el depósito de la hemorragia en el espacio subretiniano o por debajo del EPR (debiendo aclarar que la misma también puede hallarse en los márgenes de la lesión neovascular), y/o ante el exceso de FSR (que deriva en precipitados lipídicos alrededor de la neovascularización). Valen las siguientes caracterizaciones de los signos particulares de la DMAE húmeda:
- NVC clásica: su identificación, así como la de otras formas de neovascularización, se efectúa a través de la AGF, lo cual resulta de gran importancia dado que las características distintivas se relacionan directamente con los resultados obtenidos

mediante esta metodología. Así, respecto de esta forma, la misma se identifica en fase temprana, con fluorescencia brillante y bien demarcada. No obstante, en fase tardía se observa una fuga progresiva del colorante hacia el espacio subretiniano circundante.

- NVC oculta: se relaciona con dos patrones de fluorescencia, el primero en tanto el desprendimiento fibrovascular del EPR (elevación anormal del epitelio con punteado hiperfluorescente discreto durante los 2 primeros minutos de transición de la fluoresceína. Luego, hacia los 10 minutos, el colorante se muestra persistente y sin extensión. El segundo patrón se relaciona con la fuga tardía a nivel del EPR, de origen indeterminado.
- Vasos nutricios: se identifican como vasos conectados a los capilares que escapan del colorante, observándose como extensiones desde un área previamente tratada con láser. Por lo general, los vasos nutricios de la NVC representan recurrencia o persistencia de la misma.
- Depósito quístico del FSR: representa un área hipofluorescente bien demarcada, un cúmulo de fluido en un espacio con compartimentos. Si bien el líquido se asocia con un patrón quístico, no se corresponde con el edema macular cistoideo (EMC).
- Desgarros y pliegues del EPR: se representan por una hiperfluorescencia temprana, brillante y bien demarcada, conjuntamente con obstaculización de la fluorescencia producto del repliegue del EPR. La hiperfluorescencia comentada se asocia con la contención de fluoresceína dentro de la coriocapilar, con fuga hacia el tejido coroideo y escleral. Además, es frecuente la ausencia de desprendimiento de la retina sensorial sobre el desgarro del EPR y la rápida reabsorción del fluido desde la coroides.
- Hemorragia: puede situarse por debajo del EPR o de la retina sensorial, o pasar a la cavidad vítrea, en este último caso siendo dificultosa la evaluación clínica. Es muy probable el aclaramiento espontáneo de las hemorragias vítreas.
- Cicatriz disciforme: se asocia con el desarrollo de tejido fibroso como consecuencia de la NVC, pudiendo ocupar más del 25% de la lesión. La cicatriz en sí posee forma circular, aspecto variado y se encuentra en función directa de la proporción y localización de la NVC, de la presencia de anastomosis vasculares y de la extensión de la atrofia del EPR.

1.5 DIAGNÓSTICO DE LA DMAE HÚMEDA

Como se hiciera alusión en apartados anteriores, los desarrollos sobre el diagnóstico y tratamiento de la DMAE solamente incluirán su forma clínica húmeda, exudativa o neovascular, en tanto su relación directa con los objetivos del estudio.

Andonegui et al⁽⁶⁴⁾ parten del reconocimiento que la DMAE es una patología compleja que precisa, para su diagnóstico y seguimiento, de otras herramientas a la del examen clásico de la retina, incluyendo principalmente la AGF y la OCT.

1.5.1 ANGIOGRAFÍA CON FLUORESCÉINA: AFG

Su función es la de confirmar el diagnóstico de una NVC en la DMAE húmeda, buscando determinar la necesidad de administrar algún tratamiento y, en caso afirmativo, el más adecuado según necesidades particulares de cada paciente. En el subapartado de Clasificación de la DMAE y sintomatología asociada se dispusieron los diferentes hallazgos en la forma clínica húmeda a partir de la AGF, en base a los desarrollos de Escoto González⁽⁶⁷⁾, aclaración hecha para indicar que tales datos no se repetirán.

1.5.2 ANGIOGRAFÍA CON VERDE DE INDOCIANINA

La angiografía con verde de indocianina (AVI) posee dos diferencias básicas en comparación con la AGF: el uso de luz infrarroja y de un colorante que puede mezclarse con las proteínas séricas. Respecto de la luz infrarroja, la misma es absorbida en un menor grado por el EPR y el xantófilo macular; el colorante puede permanecer por más tiempo en la coriocapilar hacia una más óptima visualización de los vasos. La principal desventaja se asocia con una menor fluorescencia (alrededor del 4% de la proporcionada por la fluoresceína), pese a lo cual se recomienda esta alternativa diagnóstica sobre todo para la NVC oculta o con bordes mal definidos, pero a modo de prueba complementaria⁽⁶⁷⁾.

Yannuzzi⁽¹⁴⁶⁾ desarrolló una revisión bibliográfica orientada a analizar la historia de la AVI y elaborar sugerencias para su uso en la práctica clínica. Se concluyó que la AVI es recomendada para unos pocos desórdenes coriorretinianos, incluyendo ciertas formas de

neovascularización en la DMAE, otras maculopatías neovasculares, coriorretinopatía serosa central crónica, hemangiomas coroideos y la uveítis posterior.

1.5.3 TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA: OCT

De acuerdo con Griñó García-Pardo et al⁽¹⁴⁷⁾, la OCT “... es una técnica de diagnóstico por imagen, que permite obtener imágenes tomográficas de tejidos biológicos con una elevada resolución. Se caracteriza por la realización de cortes transversales micrométricos mediante la luz sobre el tejido a estudiar” (p. 12). Desde una perspectiva general, la OCT posee una gran utilidad en la investigación oftalmológica, hecho que se justifica a partir del gran alcance de la luz sobre las estructuras oculares en los segmentos anterior y posterior, no siendo necesaria la aplicación de transductores (incidencia directa de la luz).

Para el caso específico de la DMAE húmeda, y de acuerdo con Ruiz Moreno⁽¹⁴⁸⁾, la OCT es “... la prueba por excelencia...” (p. 11), permitiendo analizar cuantitativamente los signos de actividad y los aspectos diagnósticos y de efectividad terapéutica; por ejemplo, permite la evaluación de incrementos en el espesor de la retina con presencia de fluido, precediendo en semanas las consecuencias patológicas asociadas (pérdida de agudeza visual, aumento de metamorfopsia).

No obstante, y según indican Griñó García-Pardo et al⁽¹⁴⁹⁾, para el caso específico de la DMAE húmeda, la OCT es una prueba complementaria a la angiografía, con especificidad sobre las neovascularizaciones ocultas, la presencia de fluido subEPR (intra-retiniano y subretiniano), las MNV típicas (presentando un engrosamiento fusiforme y bien delimitado del complejo EPR/ membrana de Bruch/ coriocapilar) y los desprendimientos del EPR (presentando elevaciones redondeadas).

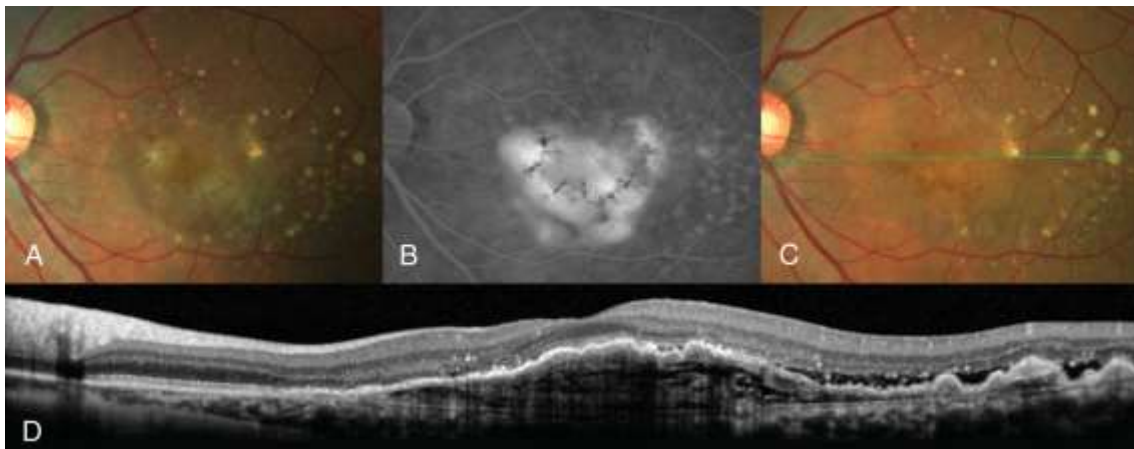
Como punto final a este subapartado, se comentará un sistema taxonómico de la DMAE basado principalmente en los resultados de la OCT, como bien se mencionara anteriormente en el subapartado de clasificación de la patología.

Freund et al⁽¹⁵⁰⁾ propusieron una nueva clasificación de la patología basada en la localización anatómica y en resultados imagenológicos de la AGF, la OCT y, en caso de ser necesario, la AVI. La clasificación puede expresarse según la NVC tipo 1, 2 o 3, siendo

muy importante la conjunción disyuntiva presentada en tanto el incierto origen de la última variante (circulación coroidea o retiniana). Estas formas de NVC pueden presentarse tanto independiente como conjuntamente (lesiones mixtas).

La NVC tipo 1 se presenta debajo de la monocapa del EPR, siendo la forma más común de DMAE^(151, 152). El patrón de este tipo de NVC ante la SD-OCT y AF/AVI se caracteriza por estar localizado en un espacio delimitado inferiormente por residuos hiperreflectante de la membrana de Bruch y, superiormente, por la banda hiperrefelctante del EPR, según se aprecia en la siguiente figura.

Figura 14. Seguimiento de la NVC tipo 1 tratada con anti-VEGF intravítreo. (1). Lesión neovascular subEPR en fotografía de color. (2). Lesión neovascular subEPR en AF. (C y D). Fotografía de color y SD-OCT, respectivamente (la línea verde indica el lugar del escaneo), demostrando una membrana limitante externa intacta (preservación de la CNE en la fóvea central), una banda continua del EPR y la ausencia de espacios quísticos intrarretinianos.



Fuente: Extraído de Freund KB, Zweifel SA, Engelbert M. Do we need a new classification for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration? Retina. 2010;30(9):1333-49.

Si bien la NVC tipo 1 ocurre principalmente en la DMAE, también puede encontrarse en patologías similares como drusas cuticulares⁽¹⁵³⁾ y Malattia Leventinese⁽¹⁵⁴⁾, con anomalías de la membrana de Bruch y el EPR⁽¹⁵⁵⁾, siendo característico la existencia

de material rico en lípidos conteniendo diversos complementos acumulados entre la superficie basal del EPR y la zona colágena interna de la membrana de Bruch, ambos difusamente como depósitos laminares y lineales basales, y focalmente como drusas discretas^(156, 157). Este material es de suma importancia para la NVC tipo 1, considerándose como prerrequisito de la misma, en tanto el patrón de desarrollo asociado prácticamente no se observa en patologías con solo alteraciones focales del complejo EPR/ membrana de Bruch (por ejemplo, coroiditis multifocal, ruptura coroidea), en ojos con miopía y otras entidades con acumulación del material sobre la monocapa del EPR (por ejemplo, pseudoxantoma elástico)⁽¹⁵⁸⁻¹⁶⁰⁾.

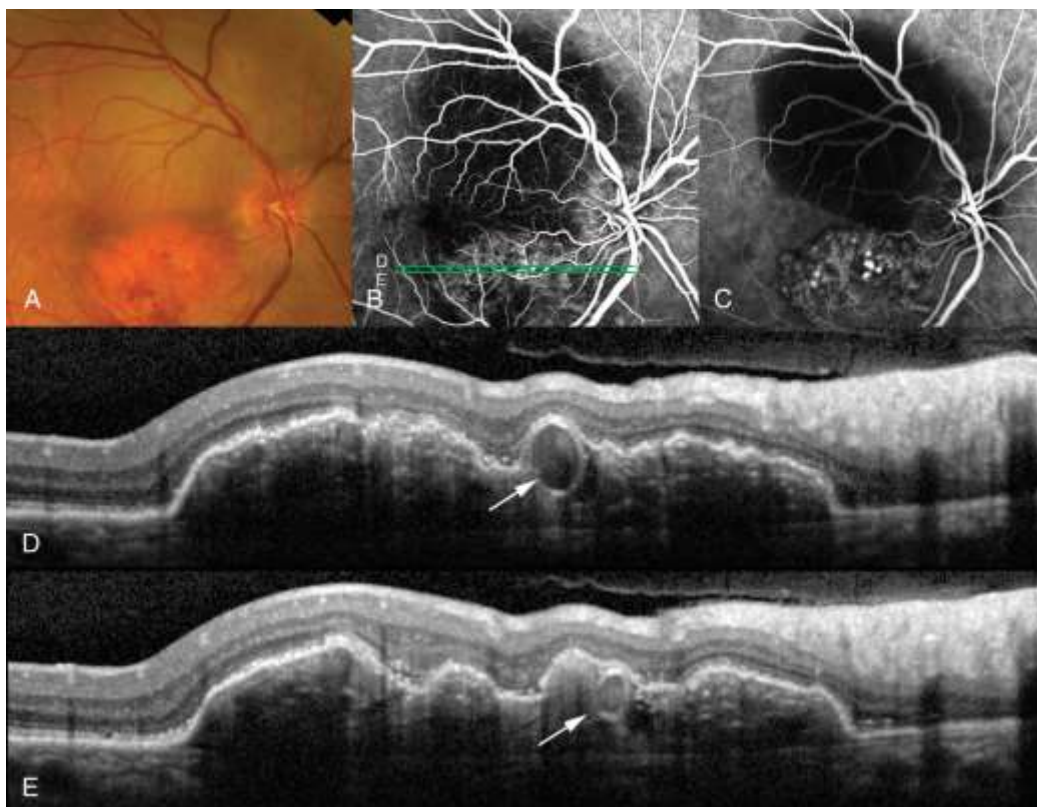
Desde una perspectiva sintomática, la NVC tipo 1 es susceptible de no ser detectada durante años, hecho asociado a la no manifestación de exudación: función visual normal, alargamiento muy lento de los años en función al tiempo. En concordancia con esto último, son importantes las indicaciones de Grossniklaus y Green⁽¹⁶¹⁾, y Engelbert et al⁽¹⁶²⁾, en lo referido a la NVC tipo 1 como mecanismo de compensación de la NVC en tanto la provisión de nutrientes y oxígeno a la retina externa isquémica.

Las manifestaciones clínicas de la NVC tipo 1 son contingentes al desarrollo significativo de exudación, representado principalmente por FSR, como forma opuesta al EMC, este último correspondiéndose con un pronóstico pobre: disfunción del EPR y alteraciones de las uniones que contribuyen a la banda de la membrana limitante externa.

Finalmente, el tejido neovascular maduro asociado a la NVC tipo 1 presenta una respuesta incompleta al tratamiento intravítreo con agentes anti-VEGF, la preservación del tejido mencionado probablemente favoreciendo la provisión de nutrientes a la retina externa⁽¹⁶²⁾. Asociado a esto, Spaide⁽¹⁶³⁾ halló que los vasos propios del patrón de la NVC tipo 1 pueden adherirse a la superficie basal del EPR con este se eleva como consecuencia de la exudación del subEPR. Esto, registrado mediante OCT de imágenes profundas mejoradas, permite detectar el material hiperreflectante debajo de la superficie del EPR elevado: en ojos con NVC tipo 1 puede explicarse la susceptibilidad a lesiones del EPR, la contracción del tejido neovascular pudiendo producir estrés en la monocapa del EPR y dehiscencia.

La VCP se considera como una variante de la NVC tipo 1, así no asociándose etiopatogénicamente a la circulación coroidea sino al tejido de aquella, aunque no originándose directamente desde la vascularización coroidea normal. Tanto desde la SD-OCT como desde la AVI se halla que los componentes de la VCP se localizan entre el EPR y la membrana de Bruch, más que debajo de esta última en la coroides. Al respecto, los pólipos se han hallado justo debajo de la banda del EPR, representando solo una pequeña proporción respecto de la lesión de NVC tipo 1 total. Estos pólipos pueden comenzar a exudar fluido y/o hemorragia con erosión a través del EPR suprayacente. Asimismo, los vasos asociados a la VCP también pueden adherirse a la superficie inferior del EPR, cuando este se eleva a causa de la exudación⁽¹⁵⁰⁾. En la siguiente figura se presenta un ejemplo de VCP.

Figura 15. Ejemplo de VCP. (1). Fotografía de color mostrando lesiones naranjas rojizas en la mácula inferior y un amplio desprendimiento seroso del EPR. (B y C). Anormalidades polipoideas a partir de AF y AVI, respectivamente. (D y E). SD-OCT mostrando las estructuras polipoideas (flechas) debajo del EPR, favoreciendo la hipótesis de su origen desde el complejo de NVC tipo 1.



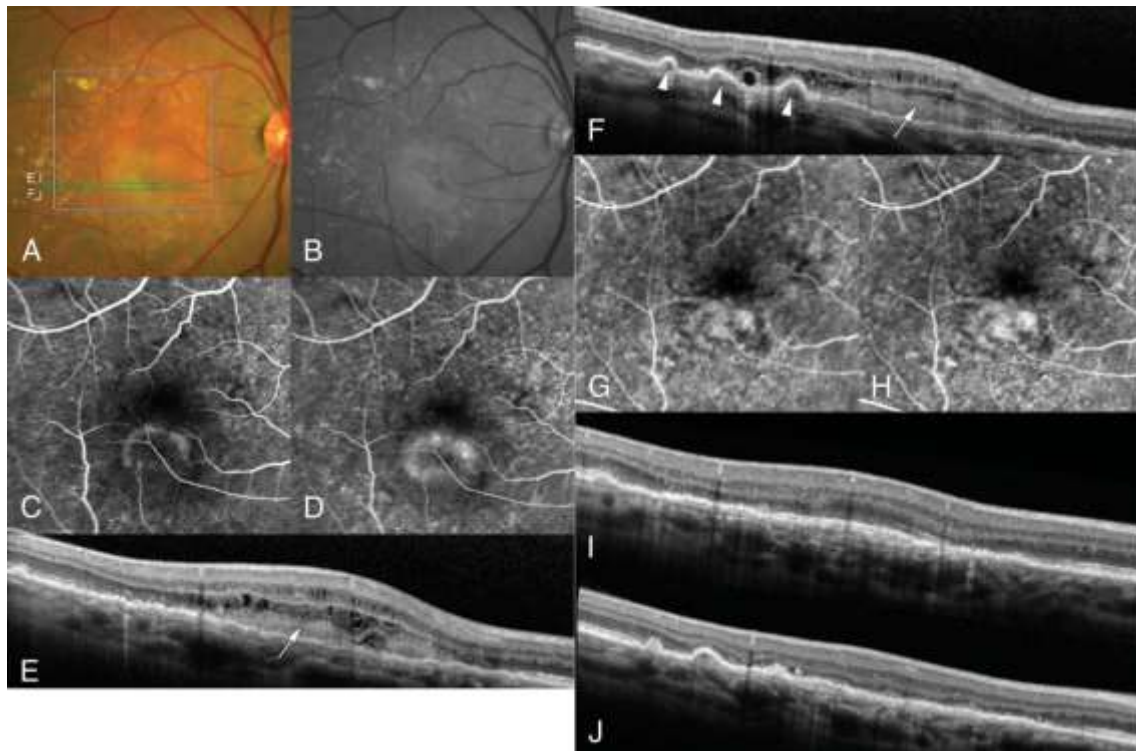
Fuente: Extraído de Freund KB, Zweifel SA, Engelbert M. Do we need a new classification for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration? Retina. 2010;30(9):1333-49.

La VCP se asocia con cierta relevancia clínica ya que en algunos casos se ha observado una respuesta favorable ante el tratamiento anti-VEGF, este hecho posiblemente asociándose a un efecto del fármaco mediado por la reducción de la permeabilidad asociada a esta patología y al EPR suprayacente^(164, 165). Por su parte, en otros casos la respuesta es refractaria, caracterizándose por ojos con función visual pobre^(165, 166).

Prosiguiendo con la clasificación, la NVC tipo 2 refiere a un tejido neovascular que ha penetrado el complejo EPR/ membrana de Bruch y proliferado en el espacio subretiniano sobre la monocapa del EPR (buenas definición y fluorescencia intensa de los vasos ante la AF). En la DMAE húmeda, la NVC tipo 2 con frecuencia se presenta simultáneamente con la de tipo 1, aunque los signos asociados a esta última pueden ser pequeños e indetectables desde las técnicas imagenológicas⁽¹⁶⁷⁾. Por su parte, también se reconoce que los vasos de NVC tipo 2 predominan en otras maculopatías, en las que se halla una afectación menos difusa del complejo EPR/ membrana de Bruch (por ejemplo, miopía con estrías de laca y coroiditis multifocal), y en enfermedades con depósito de material sobre el EPR (por ejemplo, distrofias maculares viteliformes^(160, 168)).

La aplicación simultánea de la SD-OCT y AF/AVI permite localizar los vasos de la NVC tipo 2 sobre la banda del EPR y debajo de los segmentos externos del fotorreceptor, la desorganización de la unión suprayacente segmento externo/ segmento interno con frecuente estando acompañada por espacios quísticos intrarretinianos. Además, en los vasos de NVC tipo 2 se halla predominio del fluido intrarretiniano, en comparación con el fluido subretiniano, según se muestra en la siguiente figura.

Figura 16. NVC tipo 2. (A). Fotografía de color mostrando la apariencia típica “gris sucia” de los vasos de NVC tipo 2. (B). Fotografía con filtro rojo mostrando hemorragia asociada. (C y D). AF de fase de tránsito temprana y tardía, respectivamente, mostrando el patrón diáfano de hiperfluorescencia temprana con fuga tardía que caracteriza a los vasos de NVC tipo 2. (E y F). SD-OCT mostrando una capa de material hiperreflectante (flechas) en el espacio subretinal de los vasos, con aparente NVC tipo 1 (cabezas de flecha. Asimismo, se aprecia la acumulación principal de líquido intrarretinal. (G y H). AF de fase de tránsito temprana y tardía, respectivamente, con ausencia de fuga del pigmento 2 semanas postinyección de ranibizumab intravítreo. (I y J). SD-OCT mostrando cierta involución de la lesión neovascular 2 semanas postinyección de ranibizumab.



Fuente: Freund KB, Zweifel SA, Engelbert M. Do we need a new classification for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration? *Retina*. 2010;30(9):1333-49.

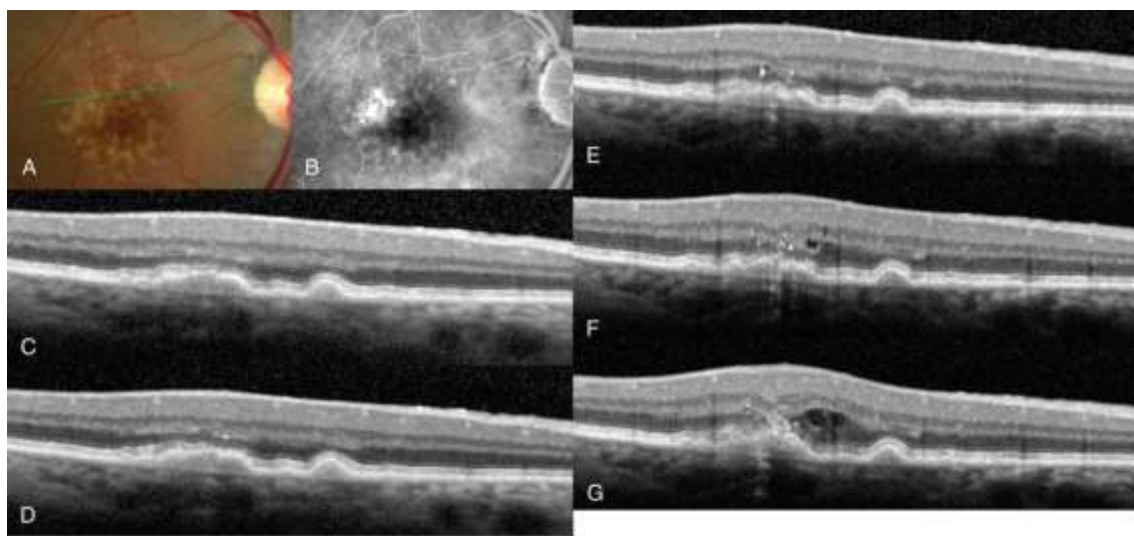
Por su parte, los vasos de evolución temprana se presentan muy sensibles al tratamiento anti-VEGF, las lesiones de NVC tipo 2 pareciendo convertirse en aquellas de tipo 1 y el EPR adyacente proliferando sobre los vasos en recuperación. En relación a los vasos

maduros y de mayor tamaño, las afectaciones se muestran como una banda hiperreflectante (fibrosis subretiniana) sobre el EPR con significativo menor espesor y desorganización de los fotorreceptores (disrupción de la unión segmento externo/ segmento interno, pérdida de la membrana limitante externa y menor espesor de la capa nuclear externa).

Finalmente, la NVC tipo 3 refiere a la NVC intrarretiniana, siendo un nuevo concepto propuesto por Freund et al⁽¹⁵⁰⁾, referida como RAP. Si bien autores como Kuhn et al⁽¹⁶⁹⁾ y Slakter et al⁽¹⁷⁰⁾ han referido (a partir de estudios angiográficos) una prevalencia del 10-15% de la NVC tipo 3 en nuevos casos de DMAE húmeda, Freund et al⁽¹⁵⁰⁾ refieren valores mayores y una elevada frecuencia de bilateralidad, al combinar tales técnicas con la OCT.

Estos últimos autores, a su vez, consideran que la NVC tipo 3 puede tener origen en la anastomosis retino-coroidea, incluyendo síntomas como hemorragias intrarretinianas y edema macular quístico. Particularmente, los estudios a partir de la SD-OCT permiten identificar una pérdida significativa de fotorreceptores, con consecuente proximidad de la vascularización retiniana profunda respecto del EPR suprayacente, la membrana de Bruch y la coriocapilar. La respuesta angiogénica acontece sobre depósitos laminares y focales drusa/ basal, la pérdida o erosión del EPR y de un adecuado medio angiogénico permitiendo a las circulaciones retiniana y coroidea emerger como anastomosis retino-coroidea. En efecto, las lesiones nunca se originan dentro de la zona foveal avascular⁽¹⁵⁰⁾. Este proceso se representa en la siguiente figura.

Figura 17. Evolución de la NVC tipo 3. (1). Fotografía de color mostrando la apariencia clínica de una lesión neovascular tipo 3 temprana. (2). AF con fase de recirculación mostrando el patrón típico de estas lesiones: tinción de drusas e hiperfluorescencia intrarretiniana pobremente definida. (C-G). SD-OCT mostrando, desde la última imagen hasta la primera (G-C), primera detección de exudación, 6 semanas antes de G, 12 semanas antes de G, 18 semanas antes de G y 24 semanas antes de G. Estas imágenes permiten indicar el desarrollo de la NVC tipo 3 en un área de la retina externa atrofiada que se ha vuelto próxima a la vascularización retiniana profunda. Además, el material hiperreflexivo se asocia con espacios quísticos intrarretinianos (anastomosis retino-coroidea).



Fuente: Extraído de Freund KB, Zweifel SA, Engelbert M. Do we need a new classification for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration? *Retina*. 2010;30(9):1333-49.

La NVC tipo 3 de evolución temprana es considerablemente sensible al tratamiento con anti-VEGF, incluso pudiéndose observar una completa regresión de la lesión tras una sola inyección. Los resultados visuales (presumibles dado que las lesiones tienen lugar en áreas son pérdida considerable de fotorreceptores) se correlacionan con la proximidad de la lesión al centro foveal. No obstante, los vasos de NVC tipo 3 maduros se vuelven resistentes al tratamiento anti-VEGF dada una mayor estabilidad de la anastomosis retino-coroidea⁽¹⁷¹⁻¹⁷³⁾.

1.6 OPCIONES TERAPÉUTICAS

1.6.1 FOTOCOAGULACIÓN CON LÁSER:

Podremos emplearla según los resultados del MPS en lesiones clásicas bien delimitadas de localización extrafoveal y yuxtafoveal (MPS). Debemos ser conscientes del alto grado de recidivas (cerca del 50%) y del riesgo de escotoma irreversible, por lo que, a pesar de que no existen datos científicos del resultado del empleo de inyecciones intravítreas de antiangiogénicos en lesiones yuxtafoveolares, muchos autores prefieren esta modalidad terapéutica.⁽¹⁷⁴⁻¹⁷⁶⁾

También podríamos considerar esta modalidad de tratamiento en las lesiones peripapilares⁽¹⁷⁷⁾ y en el tratamiento de la VCPI⁽¹⁷⁸⁾ y en los RAPs⁽¹⁷⁹⁾ en los cuales puede usarse con o sin inyección de triamcinolona intravítrea asociada⁽¹⁸⁰⁾.

1.6.2 CIRUGÍA

La vitrectomía ha ido reduciendo de forma progresiva sus indicaciones en esta enfermedad. En este momento, las más frecuentes son la hemorragia submacular masiva como complicación de la forma exudativa⁽¹⁸¹⁾, y algunas membranas neovasculares yuxtapapilares cuya extensión no afecte la zona avascular foveal.⁽¹⁸²⁾

1.6.3 TERAPIA FOTODINÁMICA (TFD).

El empleo del verteporfín (Visudyne®) combinado con su estimulación laser de longitud de onda roja permite mejorar la evolución natural de las lesiones subfoveales con componente clásico mayor del 50% de la lesión y diámetro total de la lesión inferior a 5.400 micras.

La activación de la verteporfina con láser no térmico en el área macular donde se encuentra la MNV desencadena procesos que conducen a la apoptosis⁽¹⁸³⁾ altera los lípidos de las membranas celulares del endotelio, desencadena la agregación plaquetaria y la trombosis junto con un aumento de permeabilidad vascular, la estasis sanguínea y la hipoxia tisular.⁽¹⁸⁴⁾

Hay que tener en cuenta que una vez estabilizada la neovascularización, ésta ya no respondería al tratamiento anti-VEGF ⁽¹⁸⁵⁾. Este hecho explicaría el beneficio añadido de asociar TFD para destruir la arquitectura de los diferentes componentes de la membrana neovascular que no responden al anti-VEGF.

En estas situaciones el resultado que cabe esperar es una pérdida de visión ⁽¹⁸⁶⁾, por lo que frente a los resultados obtenidos con nuevas opciones terapéuticas no debe considerarse hoy en día como tratamiento de primera elección y solo lo consideraremos ante la imposibilidad de la aplicación del tratamiento intravítreo antiangiogénico.

1.6.4 TRATAMIENTO CON ANTIANGIOGÉNICOS

Como se ha comentado previamente la neovascularización coroidea (NVC) es el paradigma de la DMAE exudativa ⁽¹⁸⁷⁾, que es producida principalmente por el VEGF como respuesta a la isquemia o a otros factores ⁽¹⁸⁸⁾. Estos hallazgos han permitido desarrollar un tratamiento farmacológico con preparados de anti-factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

En la actualidad podemos disponer de las siguientes posibilidades:

1.6.4.1 PEGAPTANIB DE SODIO (MACUGEN®)

Fue el primer fármaco anti-VEGF que obtuvo la indicación para el tratamiento de la DMAE neovascular. Fue aprobado por FDA el 20 de diciembre de 2004 y posteriormente por la European Medicines Agency (EMA) el 31 enero de 2006. La molécula fue desarrollada por Eyetech (Nueva York, Estados Unidos) y comercializada en todo el mundo por Pfizer.

Se trata de un conjugado covalente de un oligonucleótido de ARN de 28 bases unidas a dos cadenas de polietilenglicol ramificadas de 20 kD de peso molecular que favorecen su efectividad al prolongar su semivida. Es una proteína «apta» (aptámero) que se une específicamente a la isoforma 165 del VEGF, bloqueándolo y previniendo su interacción con los receptores de superficie de las células endoteliales. ⁽¹⁸⁹⁾ Su peso molecular es de 50 kD y su osmolaridad, de 280 a 360 mOsm/kg, con pH de 6,7. ⁽¹⁹⁰⁾

Al ser una molécula aptámera, «adecuada a la zona», tiene una elevada afinidad y selectividad, y no es inmunogénica ni tóxica.

Una vez entra en el humor vítreo, es degradada enzimáticamente por las nucleasas intraoculares, las fracciones glucídicas aumentan la semivida del producto y actúan selectivamente frente al VEGF 165, evitando la unión de éste con sus receptores VEGFR 1 y 2 ⁽¹⁹¹⁾. Tiene una semivida de 8 a 14 días consiguiendo una dosis plasmática de 80 µg/ml, y se elimina por la orina.

Se debe evitar su inyección en embarazadas y en tiempo de lactancia. No suele presentar otros efectos adversos que los propios a la inyección intravítrea. ⁽¹⁹²⁾ Se presenta en jeringuillas monodosis precargadas y para adaptar a agujas de 30 gauge, de 0,3 mg/0,1 ml. Es estable a 2-8 °C. Se recomienda su inyección intravítrea cada 6 semanas durante un período aún no bien determinado.

1.6.4.2 RANIBIZUMAB (LUCENTIS®):

Fármaco sintetizado por Genentech (San Francisco, California, Estados Unidos) y comercializado fuera de Estados Unidos por Novartis. Fue aprobado por la FDA el 30 de junio de 2006 y por la EMEA el 22 de enero de 2007 para indicación exclusiva en DMAE húmeda. El ranibizumab (Ru-Fab V2) es un fragmento del anticuerpo monoclonal recombinante humanizado anti-VEGF con un peso molecular de 48 kD (el anticuerpo entero tiene 148 kD), lo que le hace tener mayor penetración retiniana y actuar en enfermedades que afectan a las capas externas de la retina y la coroides. Bloquea todas las isoformas del VEGF factor A (VEGF-A) implicadas en el proceso de la neovascularización (angiogénesis). Tiene una afinidad 5-10 veces más alta que el bevacizumab.

Una vez inyectado en el vítreo se une a isoformas de VEGF-A generadas por corte y empalme alternativo del ARNA, VEGF121 y VEGF165, así como al producto biológicamente activo derivado de la escisión proteolítica de dichas isoformas, el VEGF110. La unión del ranibizumab al VEGF-A impide la interacción de este último con sus receptores VEGFR-1 y VEGFR-2 en la superficie de las células endoteliales. La unión del VEGF y el tamaño relativamente menor del fragmento Fab con respecto al del anticuerpo íntegro facilita la penetración de la molécula en la retina. Después de la administración intravítrea, las concentraciones séricas de ranibizumab son generalmente bajas. La concentración máxima (C_{máx}) suele ser inferior a la concentración necesaria para inhibir la actividad biológica de VEGF un 50% (11-27 ng/ml, determinada en un ensayo de proliferación celular in vitro). La C_{máx} fue proporcional a la dosis en el intervalo de dosis de 0,05 a 1,0 mg/ojo.

Los análisis de farmacocinética poblacional y la desaparición de ranibizumab del suero en los pacientes tratados con la dosis de 0,3 mg indican que la semivida de eliminación vítrea de ranibizumab es de unos 10 días en promedio.

La exposición sérica a ranibizumab es unas 90.000 veces menor que la exposición intravítrea al fármaco⁽¹⁹³⁾.

Su presentación farmacéutica se acompaña de una aguja-filtro estéril para la extracción del producto que evita la entrada de cuerpos extraños. Es estable a 2-8 °C en indicación exclusiva para DMAE húmeda. Su dosificación es de 0,5 mg/0,05 ml cada 4 semanas. Su semivida en el vítreo es de 6 a 9 días. No se aconseja su uso en embarazadas y lactantes.

1.6.4.3 BEVACIZUMAB (AVASTIN®):

Producido por Genentech Inc/Roche, fue aprobado por la FDA el 26 de febrero de 2004 para su uso exclusivo en el cáncer metastásico colorrectal para ser asociado al 5-fluorouracilo y al ácido polínico. La EMEA aceptó su uso el 12 de enero de 2005.

Es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1, anticuerpo de especificidad única resultante de un solo clon de células plasmáticas. Se ha sintetizado para inhibir la vascularización de los procesos de crecimiento tumoral. Está disponible en viales de 100 y 400 mg en concentraciones de 25 mg/ml.

Debe mantenerse a 2-8 °C y evitar la exposición a la luz. Es un líquido transparente con pH de 6,2. Rosenfeld et al, de la Universidad de Miami, observaron que algunos pacientes con cáncer y DMAE concomitante tratados con Avastin® sistémico experimentaron mejoría de su agudeza visual. Basados en esta observación y para obviar los efectos secundarios sistémicos asociados a la administración intravenosa de Avastin®, decidieron inyectar el fármaco directamente en el vítreo. Los resultados preliminares fueron muy satisfactorios, lo que avaló el uso intravítreo del fármaco entre los oftalmólogos de todo el mundo⁽¹⁹⁴⁾. No obstante, cabe recordar que hasta la fecha la inyección intraocular de Avastin® no está aprobada por las autoridades sanitarias.

El peso molecular de bevacizumab es de 148 kD, tres veces mayor que ranibizumab, lo que teóricamente puede comprometer su penetración en las capas de la retina. Al igual que ranibizumab, es capaz de inhibir todas las isoformas biológicamente activas del VEGF-A. Sus dosis pueden variar desde 1,25 mg en 0,05 ml a 2,5 mg en 0,1 ml, obtenidas directamente desde el vial de Avastin® de 100 mg en 4 ml (25 mg/ml). Su semivida es de 4,3 días y mantiene concentraciones de 10 µg/ml a los 10 días⁽¹⁹⁵⁾

1.6.4.4 AFLIBERCEPT (EYLEAR):

Es una proteína recombinante constituida por el fragmento cristalizable (Fc) de la inmunoglobulina humana (Ig) G1 fusionado con dominios extracelulares humanos de VEGFR1 y VEGFR2. Se crea usando "traps" tecnología desarrollada en Regeneron Pharmaceuticals, Inc., en el que se fusionan partes de dos receptores junto con una región constante de inmunoglobulina para crear un receptor señuelo soluble que tiene mayor afinidad de unión a sus ligandos afines de los receptores individuales así mismos⁽¹⁹⁶⁾. La construcción del ARNm de VEGF Trap consta de secuencias que codifican la secuencia de señal de VEGFR1, fusionadas con el dominio de tipo Ig 2 de VEGFR1, que se fusiona con el dominio de Ig 3 de VEGFR2, que a su vez se fusiona con el dominio Fc de la IgG1. No hay secuencias que intervienen en esta construcción de fusión. La proteína VEGF Trap se expresa entonces como una proteína secretada por el ovario de hámster chino (CHO), células K1 con la secuencia señal eliminado. La molécula de proteína final es una glicoproteína dimérica con un peso molecular de la proteína de 97 kDa y contiene ~ 15% de glicosilación para un peso molecular total de 115 kDa.⁽¹⁹⁷⁾

La preparación final de VEGF Trap-Eye implica ultra purificación de la molécula de VEGF Trap por una combinación de técnicas filtración y técnicas cromatográficas, que se sigue de la titulación VEGF Trap en una solución tampón que es compatible con los tejidos oculares.

En cuanto al farmacodinámica VEGF Trap tiene una afinidad significativamente mayor para el VEGF-A (Kd 0,5-1 pmol / L)^(198, 199) que otros anticuerpos monoclonales anti-VEGF. Tiene una mayor afinidad para el ligando de VEGF incluso que los receptores de VEGF naturales presentes en los vasos y se une al VEGF en una razón de 1: 1 . Además de unirse a todas las isoformas de VEGF-A, VEGF Trap también se une a VEGF-B y PlGF.^(176, 200, 201)

Aflibercept (VEGF Trap-Eye) está disponible como solución acuosa, libre de conservantes, estéril, en un vial de vidrio de un solo uso diseñado para administrar 0,05 ml.

La dosis recomendada de VEGF Trap-Eye para DMAE neovascular, según la aprobación de la FDA, es de 2 mg cada 4 semanas durante las primeras 12 semanas, seguidos de 2 mg cada 8 semanas. VEGF Trap-Eye se puede administrar con una frecuencia que 2 mg cada 4 semanas.^(202, 203)

CAPÍTULO 2: HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

Tanto los resultado de los ensayos clínicos como las guías actuales de tratamiento de la DMAE exudativa recomiendan administrar tres inyecciones intravítreas mensuales consecutivas de antiangiogénicos y posteriormente monitorizar mensualmente al paciente y retratarlo en función de la evolución clínica⁽²⁰⁴⁾. Estas recomendaciones son difícilmente asumibles en el sistema público de salud con los medios disponibles en la actualidad. Ante esta situación, hemos pretendido analizar si los resultados de esta estrategia terapéutica en el contexto de la práctica clínica habitual son similares con los de los ensayos clínicos.

Nos planteamos que la realidad de los resultados obtenidos en el seguimiento y tratamiento de la DMAE en el entorno de un hospital terciario español fueran diferentes a los conseguidos en los ensayos clínicos de registro de fármacos para el manejo de la enfermedad. Se plantea que los protocolos aplicados en el manejo de estos enfermos sean diferentes en el entorno hospitalario de nuestro medio a los seguidos en el contexto de estudios monitorizados con objetivos de calidad para agencias del medicamento.

De acuerdo con esta hipótesis nos planteamos investigar en una población de 188 ojos con diagnóstico de DMAE exudativa y atendidos en un servicio de oftalmología de un hospital universitario por el grupo de especialistas expertos en el manejo de la enfermedad los siguientes objetivos

2.2 OBJETIVO PRINCIPAL:

Conocer la evolución de los hallazgos en la tomografía de coherencia óptica (OCT), y agudeza visual (AV) en pacientes diagnosticados de Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) en su forma exudativa tratados según práctica clínica habitual, con un mínimo de evolución de 3 meses.

2.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS:

- Caracterizar el manejo y tratamiento de los pacientes con DMAE en la práctica clínica de un hospital universitario terciario español (número de inyecciones y de visitas de seguimiento, agudeza visual por visitas, procedimientos diagnósticos utilizados y medidas terapéuticas establecidas)
- Analizar la evolución de la OCT y AV de los pacientes a lo largo del seguimiento
- Determinar efectos secundarios relevantes derivados del tratamiento

CAPÍTULO 3.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio observacional retrospectivo y unicéntrico, en pacientes con DMAE Húmeda, diagnosticados entre 2007 y 2012 tratados según práctica clínica habitual y con un mínimo de seguimiento de tres meses.

3.2 PROTOCOLO DE ESTUDIO

Se recogieron los datos demográficos básicos del paciente, las pruebas diagnósticas realizadas a los pacientes con DMAE Húmeda (tomografía de coherencia óptica (OCT) y agudeza visual (AV), el tratamiento recibido, seguimiento clínico con análisis de la respuesta terapéutica y los efectos secundarios sistémicos y locales

Se analizó de forma específica el protocolo terapéutico seguido para cada enfermo con cuantificación de la administración de fármacos antiangiogénicos, secuencia de empleo y criterios para su uso.

Los criterios de retratamiento con antiangiogénicos intraoculares fueron:

- Pérdida de una línea de visión
- Presencia de fluido en la OCT
- Aparición de nueva hemorragia en la retinografía
- Signos de actividad de la NVC en la angiografía con fluoresceína.

La técnica empleada para el tratamiento se hizo acorde con las publicadas por la Sociedad Española de Retina¹⁴⁸ en sus guías de práctica clínica bien sea en quirófano o en el antequirófano. Dichas guías establecen que el tratamiento intravítreo puede ser realizado en la consulta, sala de curas o quirófano. Tal y como recomiendan las guías la técnica de tratamiento se resume en:

Uso de material estéril: blefaróstato, marcado, hemosteta y aguja de 30G.

- Lavado de superficie ocular y de los párpados con povidona yodada al 5 y al 10% respectivamente.
- Anestésico tópico
- Antibiótico tópico de amplio espectro tras la inyección

La secuencia del tratamiento consiste en:

- Dilatación de la pupila
- Aplicación de anestésico tópico, povidona yodada y antibiótico de amplio espectro.
- Aplicación de blefaróstato.
- Medición del lugar de la inyección a 3.5 mm del limbo corneal en pacientes fáquicos y 4 mm en pseudofáquicos.
- Inserción de la aguja
- Administración de antibiótico de amplio espectro
- Comprobación del fondo de ojo.

3.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los pacientes diagnosticados de Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) en su forma exudativa atendidos en el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario 12 de Octubre, según los criterios diagnósticos de la Sociedad Española de Vítreo y Retina publicados en el 2009.

Los criterios de diagnóstico fueron:

3.3.1 CRITERIO CLÍNICO:

Pérdida brusca y progresiva de agudeza visual, escotoma central, dificultad para la lectura, metamorfopsias, fotopsias en el contexto de paciente que se acompaña en el examen de fondo de ojo de:

- Desprendimiento de retina exudativo
- Desprendimiento seroso del epitelio pigmentario de la retina
- Hemorragia intrarretiniana
- Hemorragia subretiniana

- Hemorragia sub-EPR

3.3.2 CRITERIO IMAGENOLÓGICO

Las pruebas de imagen ya han sido comentadas en la introducción. Para este estudio las que hemos utilizado han sido:

- Angiografía con fluoresceína
- Tomografía de coherencia óptica

3.4 CRITERIO DE EXCLUSIÓN

- Tratamiento previo con terapia fotodinámica con verteporfina, radioterapia de haz externo o termoterapia transpupilar en el ojo del estudio.
- El tratamiento con la terapia fotodinámica con verteporfina en el ojo no estudiado en menos de 7 días
- Tratamiento previo con drogas intravítreas (por ejemplo, la inyección intravítrea de corticosteroides o dispositivo de liberación lenta) en el ojo en estudio.
- Fotocoagulación focal subfoveal con láser en el ojo del estudio.
- Fotocoagulación láser (yuxtafoveal o extrafoveal) en el ojo de estudio con menos de un 1 mes de antelación
- Historia de la vitrectomía en el ojo del estudio.
- Hemorragia subretiniana en el ojo de estudio que implica a la fóvea
- Neovascularización coroidea en cualquiera de los ojos debido a otras causas, tales como la histoplasmosis ocular, traumas, o miopía patológica.
- Inflamación intraocular activa en el ojo del estudio.
- Hemorragia vítrea actual en el ojo del estudio.
- Historia de la uveítis autoinmune idiopática en cualquier ojo.
- Glaucoma no controlado en el ojo de estudio (que se define como una presión intraocular de 30 mmHg o más a pesar del tratamiento con medicamentos contra el glaucoma.
- Las mujeres premenopáusicas que no utilicen métodos anticonceptivos adecuados.

- Antecedentes de otra enfermedad, disfunción metabólica o hallazgo en el examen físico o de laboratorio que den una sospecha razonable de una enfermedad o condición que contraindica el uso de un fármaco en investigación o que puedan afectar a la interpretación de los resultados del estudio o exponer a los sujetos a un alto riesgo de complicaciones.
- Antecedentes de alergia a la fluoresceína, no susceptible de tratamiento con difenhidramina.
- Incapacidad para obtener fotografías del fondo de ojo o angiografía con fluoresceína de calidad suficiente para ser analizado y calificado

3.5 PARÁMETROS MEDIDOS:

Puesto que el estudio tiene como objetivo evaluar los resultados del tratamiento antiangiogénico en la práctica clínica habitual es necesario hacer las siguientes consideraciones:

Para la exploración de la AV se utilizó la escala de Snellen situada a seis metros. En los estudios habitualmente se coloca a cuatro metros. Pero esto implicaría un sesgo en estudio que no queremos tener para no modificar el método habitual de exploración en la consulta.

La prueba consiste en identificar correctamente las letras en una gráfica conocida como gráfica de Snellen o tabla de Snellen. Solo se utilizan nueve letras que son C, D, E, F, L, O, P, T y la Z. Las letras tienen un tamaño decreciente dependiendo del nivel en que se encuentran. La identificación de un nivel inferior a 2/10 significa ceguera, uno de 10/20 es el mínimo exigido para obtener el carnet o licencia de conducir en varios países y un nivel 20/20 es la visión normal. Los valores de agudeza visual se expresan como una fracción entre la distancia a la que se realizar la observación y la distancia a la que el detalle del test subtendería un ángulo de 1 minuto. En España utilizamos habitualmente esta escala aunque existen otras más usadas en los ensayos clínicos. Pero hemos elegido esta porque es la más utilizada en la práctica clínica. Por otro lado existen tablas de equivalencia para otras escalas por lo que llegado el caso se podrían utilizar para comparar resultados. No lo hemos hecho con la intención de no aumentar el posible sesgo. Añadido a esto en España dentro de la escala de Snellen es más habitual utilizar los datos

en decimales que en dividendo. De este modo usamos visión de 0.1 para referirnos al 20/200 o a la unidad para referirnos al valor 20/20.

Cuando dividimos a los pacientes por grupos según mejora, no se modifica o empeora su visión nos referimos a lo utilizado en las consultas. Por lo tanto la mejoría implica que el paciente es capaz de leer, al menos, una línea de visión más respecto a la exploración previa. Empeorar quiere decir que pierden al menos una línea y no se modifica es que la visión se encuentra en la misma línea. En los ensayos clínicos se considera no perder visión a no perder más de tres líneas de visión. De la misma manera que se suele expresar la mejoría en porcentajes de pacientes que ganan más de 15 letras lo que equivale a tres líneas de visión.

La OCT empleada es de la que disponemos en el Servicio de Oftalmología del Hospital 12 de Octubre. El modelo utilizado hasta el final de la recogida de datos es el modelo Topcon TD-OCT 3D OCT 1000. El espesor medio macular está determinado en el mm central de la fovea.

3.6 ESTADÍSTICA

Los métodos estadísticos utilizados para el análisis fueron la prueba de U de Mann-Whitney, la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba de Wilcoxon del programa estadístico Spss 18.

La prueba de los rangos con signo de Wilcoxon es una prueba no paramétrica para comparar la media de dos muestras relacionadas y determinar si existen diferencias entre ellas. Se utiliza como alternativa a la prueba t de Student cuando no se puede suponer la normalidad de dichas muestras. Debe su nombre a Frank Wilcoxon, que la publicó en 1945.

Se utiliza cuando la variable subyacente es continua pero no se presupone ningún tipo de distribución particular.

En ocasiones, esta prueba se usa para comparar las diferencias entre dos muestras de datos tomados antes y después del tratamiento, cuyo valor central se espera que sea cero. Las

diferencias iguales a cero son eliminadas y el valor absoluto de las desviaciones con respecto al valor central son ordenadas de menor a mayor. A los datos idénticos se les asigna el lugar medio en la serie. La suma de los rangos se hace por separado para los signos positivos y los negativos. S representa la menor de esas dos sumas. Comparamos S con el valor proporcionado por las tablas estadísticas al efecto para determinar si rechazamos o no la hipótesis nula, según el nivel de significación elegido.

La prueba U de Mann-Whitney es una prueba no paramétrica aplicada a dos muestras independientes. Es, de hecho, la versión no paramétrica de la habitual prueba t de Student.

La prueba de Kruskal-Wallis es un método no paramétrico para probar si un grupo de datos proviene de la misma población. Intuitivamente, es idéntico al ANOVA con los datos reemplazados por categorías. Es una extensión de la prueba de la U de Mann-Whitney para 3 o más grupos.

Ya que es una prueba no paramétrica, la prueba de Kruskal-Wallis no asume normalidad en los datos, en oposición al tradicional ANOVA. Sí asume, bajo la hipótesis nula, que los datos vienen de la misma distribución. Una forma común en que se viola este supuesto es con datos heterocedásticos.

CAPÍTULO 4.

RESULTADOS

4.1 RESUMEN DEMOGRÁFICO

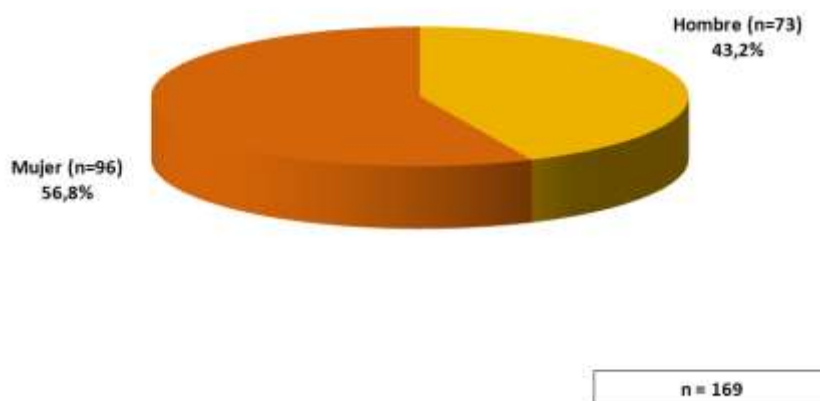
4.1.1. POBLACION EN ESTUDIO

Se incluyeron un total de 188 ojos de 169 pacientes que fueron visitados por 4 investigadores.

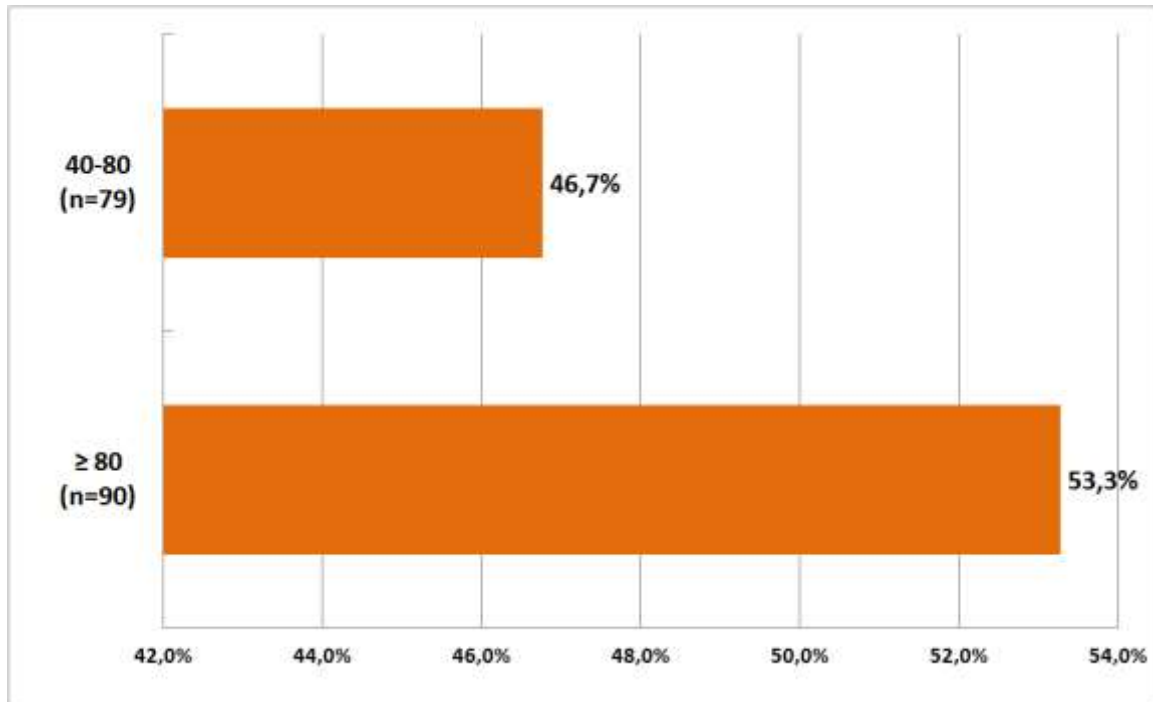
Participaron 96 mujeres (56,8%) y 73 hombres (43,2%). La edad media de los pacientes fue de 79,6 años (DT=7,7), siendo la media en mujeres de 79,0 años (DT=8,4) y en hombres de 80,3 años (DT=6,9). No se observaron diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba U de Mann-Whitney. En cuanto a la distribución por edad, el grupo mayoritario fue el de pacientes de 80 o más años con un 53,3%, mientras que los menores de 80 años supusieron un 46,7% de pacientes.

Atendiendo al ojo en estudio, 19 de los pacientes fueron tratados de ambos ojos, y se analizaron 99 ojos izquierdos (52,7%) y 89 ojos derechos (47,3%).

Distribución por género



Distribución de la edad de los pacientes



4.1.2. TIEMPO DE SEGUIMIENTO

El tiempo de seguimiento medio de cada ojo fue de 1,7 años (DT=1,0), con un tiempo mínimo de 3 meses y máximo de 4,5 años.

El investigador DC1 siguió 84 ojos, el investigador DC2 27 ojos, el investigador DC3 28 ojos, y el investigador DC4 49 ojos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los tiempos de seguimiento según el investigador: el investigador DC1 un tiempo de 1,4 años (DT=0,7), el investigador DC2 un tiempo de 2,0 años (DT=1,1), el investigador DC3 un tiempo de 1,6 años (DT=1,3) y el investigador DC4 un tiempo de 1,9 años (DT=1,1).

4.2 AGRUPACIÓN DE RESULTADOS

Los datos recogidos de AV y espesor macular fueron agrupados en tres categorías para facilitar su análisis y comparación con los de otros estudios y ensayos clínicos. De esta manera se establecieron tres niveles de análisis de los resultados

- Resultados de forma global
- Resultados y evolución por visitas. En este apartado se organizaron los datos de tal manera que la visita de inicio coincidiese con el primer dato de la historia clínica del paciente con independencia de la fecha en la que se hiciese.
- Resultados al año y a los dos años de iniciar el tratamiento. Tanto los ensayos clínicos como los estudios poblacionales organizan los resultados al año y a los dos años de iniciar el tratamiento. En ambos casos las visitas se hacen todos los meses. En nuestro caso (como en la práctica clínica habitual) es necesario hacer este análisis por separado del número de visitas ya que los pacientes no son revisados todos los meses. De modo que la visita 12 no coincide con la visita al año de la de inicio.

4.2.1. RESULTADOS GLOBALES

4.2.1.1 EVOLUCIÓN AGUDEZA VISUAL

A modo de fotografía general de la situación de los pacientes del Servicio se hizo un primer análisis de todos los datos recogidos de la historia clínica de los pacientes.

Se analizó la AV conjunta reportada a lo largo del estudio, desde 2.007 a diciembre de 2.012. Se observó una mejoría inicial que se mantiene hasta mayo de 2.011 cuando comienza a declinar. Se estudiaron las diferencias en AV respecto a la reportada en enero de 2.009, encontrándose diferencias estadísticamente significativas en enero de 2.011, en marzo de 2.011 y junio de 2.011 según la prueba de Wilcoxon.

Durante el mismo periodo se observó un incremento en el número de visitas realizadas por los 4 investigadores en conjunto.

Se analizó la mejoría de la AV calculando la diferencia entre la primera y última visita disponible de cada ojo (independientemente del número de visitas o inyecciones realizadas y del tiempo de seguimiento). Se observó que un 28,7% gana AV, un 22,3% no pierde AV y un 48,9% pierden AV.

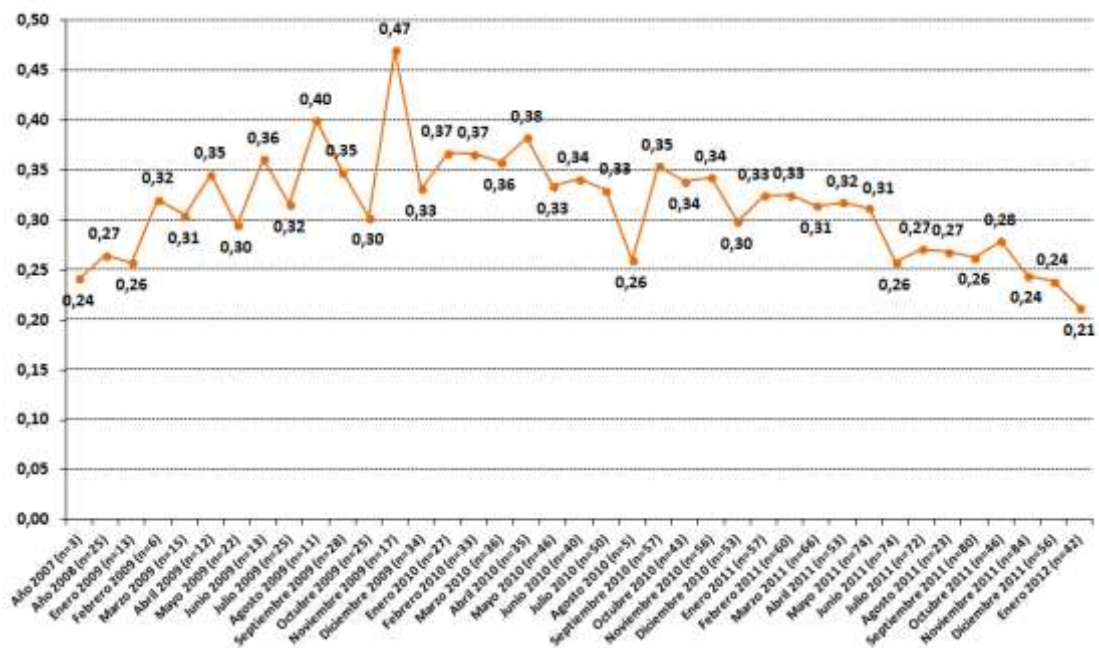
Se observó un ligero descenso en la AV, la media de cambio en la AV fue de -0,03 (IC95%: -0,06; 0,00).

Se estudió la correlación entre AV inicial y final, observándose una asociación positiva (coeficiente de 0,4204 estadísticamente significativo).

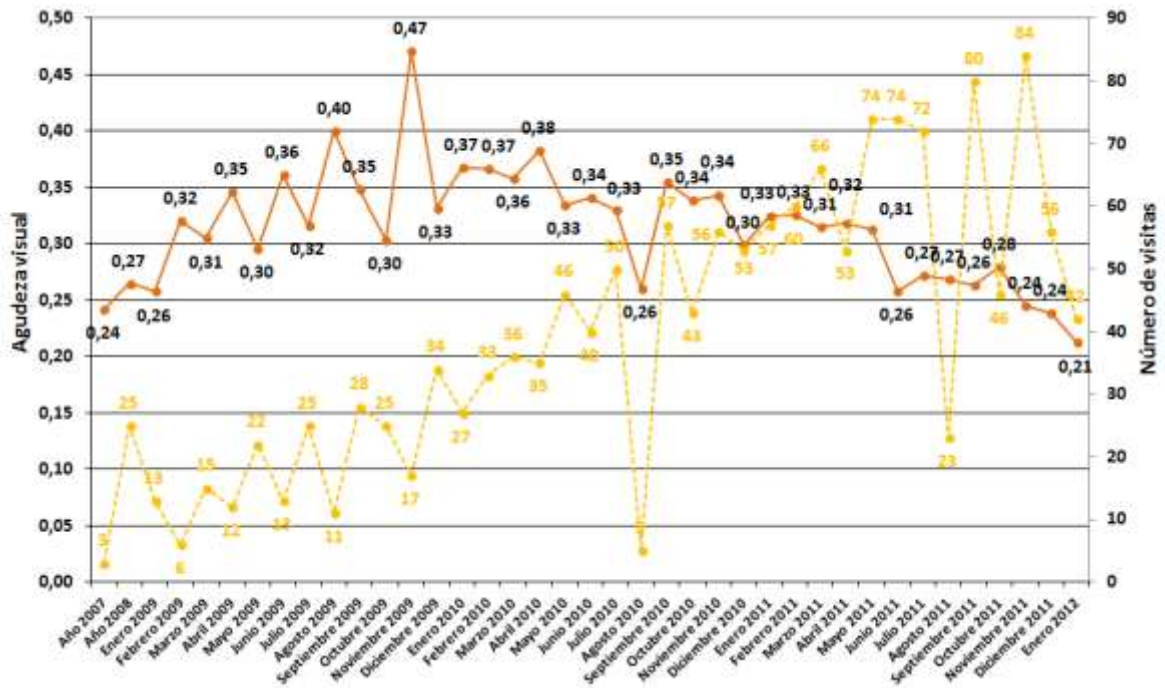
No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el cambio en AV según ojo en estudio ni según sexo.

En la siguiente figura se muestra la evolución de la Agudeza Visual de todos los ojos analizados en estudio.

Figura 1. Evolución de la Agudeza Visual



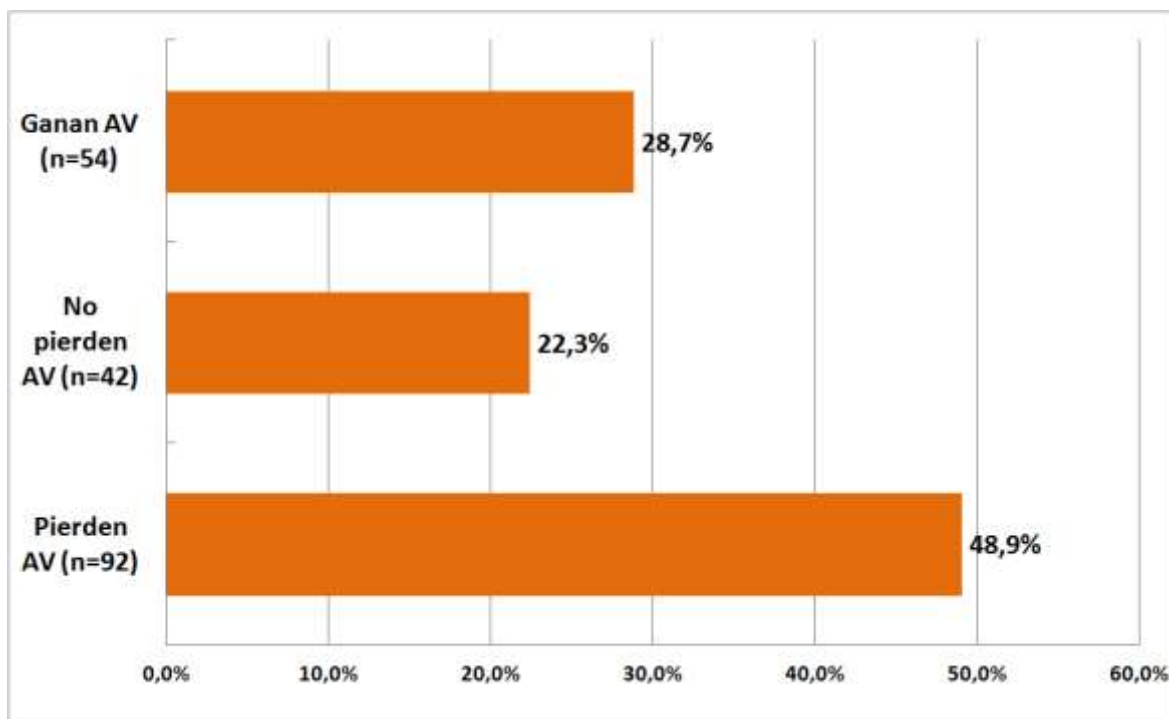
Evolución de la Agudeza Visual (con visitas)



Para calcular la mejoría de la AV, se tuvo en cuenta los datos de la AV de la primera y última visita de cada paciente. Asimismo se asumió 0,075 para “cuenta-dedos” y 0,025 para “movimiento de manos”.

Se observó que el 28,7% de los ojos tratados ganaban AV a fin de seguimiento.

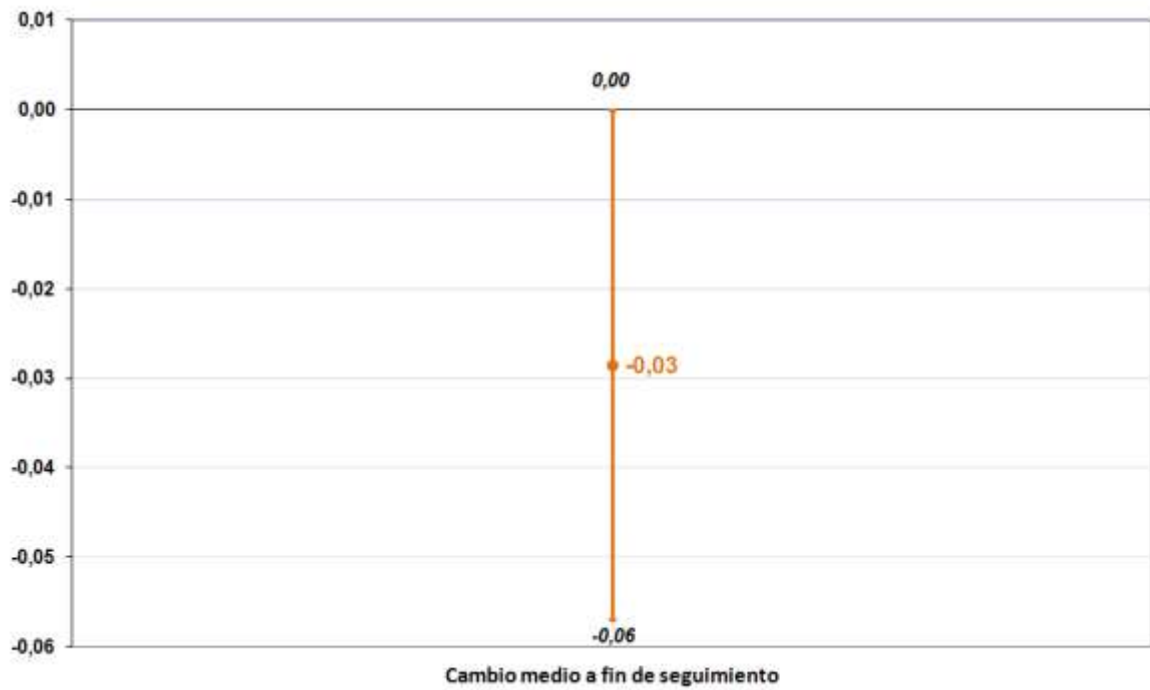
Figura 2. Mejoría de la agudeza visual a fin de seguimiento



Se calculó el cambio de la AV a fin de seguimiento, calculado como la diferencia (valores finales – valores basales). De este modo se obtuvieron valores negativos para los descensos y valores positivos para los aumentos.

En la siguiente figura se muestra la media de cambio en la AV, la cual fue de -0,03 (IC95%: -0,06; 0,00) a fin de seguimiento. Por tanto, se observó un descenso de AV de -0.03.

Figura 3. Cambio medio de la AV a fin de seguimiento



Se observó una asociación positiva entre la agudeza visual inicial y la agudeza visual final.

Tabla 1. Correlación entre agudeza visual inicial y final

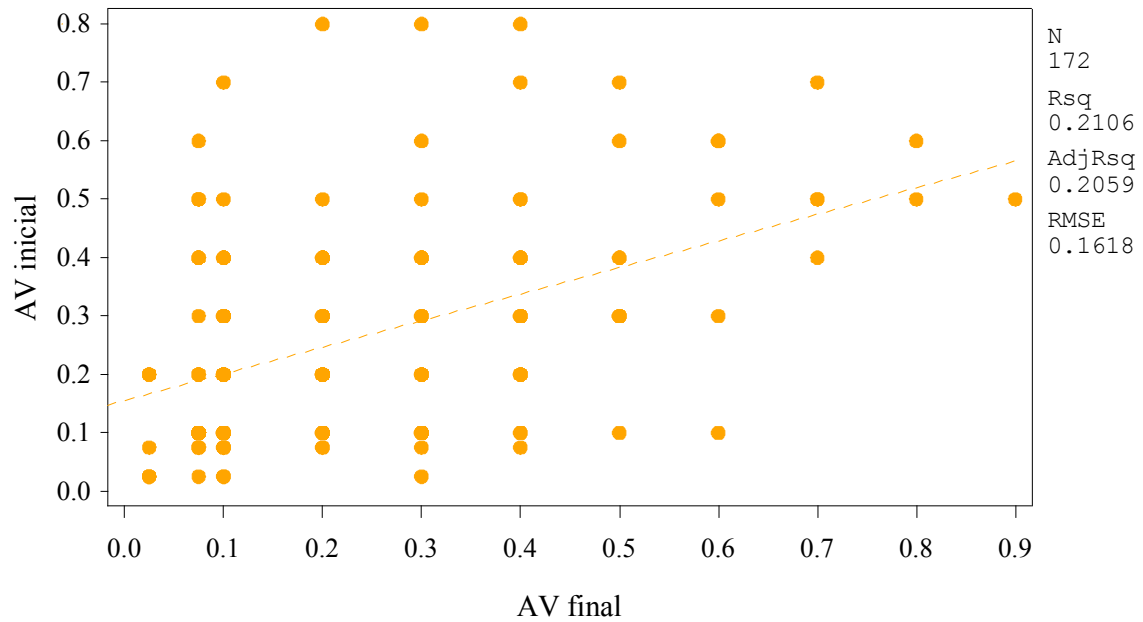
	n	AV final
	Coef.	0,4204
AV inicial	Sig.	<0,0001
	n	172

Coef. = Coeficiente de correlación Spearman (bivariante)

Sig = Nivel de significación del test de correlación de Spearman

n = Número de pacientes

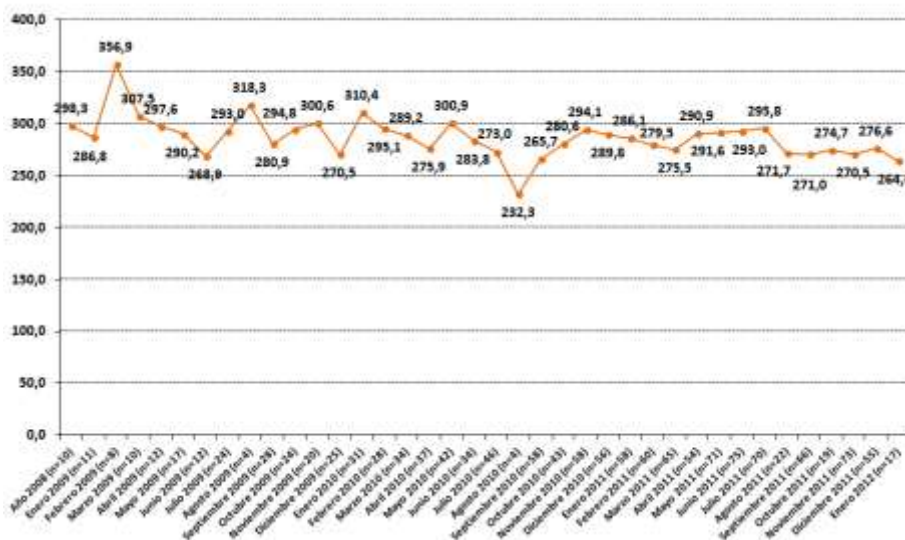
Figura 4. Correlación entre agudeza visual inicial y final



4.2.1.2 EVOLUCIÓN OCT

En la siguiente figura se muestra la evolución de la OCT tratamiento de todos los ojos analizados en estudio. No se observaron diferencias significativas en ninguna visita (prueba de Wilcoxon respecto visita de Enero de 2009; $p > 0,05$).

Figura 5. Evolución de la OCT



4.2.2. RESULTADOS Y EVOLUCIÓN POR VISITAS

4.2.2.1 EVOLUCIÓN AGUDEZA VISUAL

Se analizó la AV según las visitas de seguimiento realizadas. Se estudió tanto asumiendo un cuenta dedos (Cd) de 0,075 y un movimiento de manos (MM) de 0,025, como sin tener en cuenta estos valores. En ambos casos, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la AV en las visitas 2, 3 y 4 respecto a la visita 1 (inicial). Teniendo en cuenta Cd y MM, la AV fue de 0,35 en la visita 2, de 0,34 en la visita 3 y de 0,33 en la visita 4; siendo de 0,27 en la visita 1. Sin tener en cuenta Cd ni MM, los resultados fueron los siguientes: 0,37 en visita 2, 0,36 en visita 3 y 0,35 en visita 4 vs 0,29 en la visita 1.

Asimismo, se estudiaron las diferencias entre investigadores, resultando éstas estadísticamente significativas según prueba de Kruskal-Wallis en las visitas 2 y 3. En la visita 2 la AV de DC1 fue de 0,40, de DC2 de 0,38, de DC3 0,24 y de DC4 0,31. En la visita 3 la AV de DC1 fue de 0,38, de DC2 de 0,36, de DC3 0,23 y de DC4 0,30.

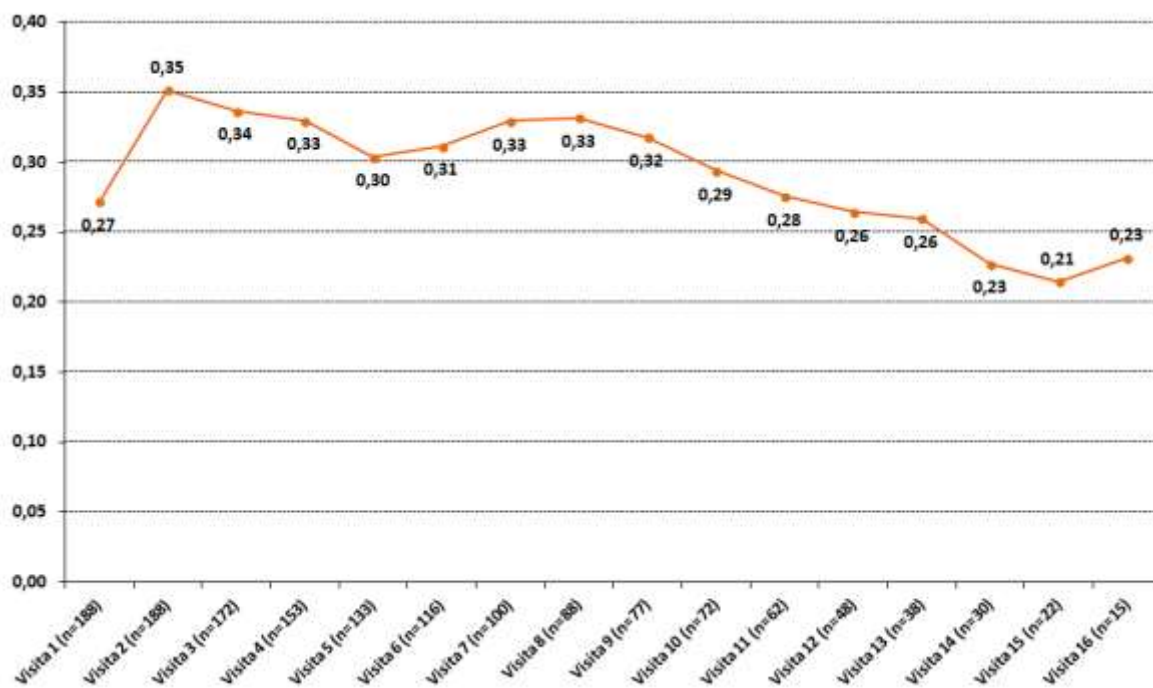
En cuanto a la mejoría de AV, un 31,9% ganan AV, un 24,5% no pierden AV y 43,6% pierden AV. La media de cambio en la AV fue de -0,03 (IC95%: -0,060;

-0,002). Se estudió la correlación entre AV inicial y final, observándose una asociación positiva (coeficiente de 0,4501 estadísticamente significativo).

La correlación entre AV inicial y final según el cambio en AV fue positiva para todas las categorías: ganan AV, no pierden AV y pierden AV siendo el coeficiente 0,8687, 1,000 y 0,5965 respectivamente y significativos en los 3 casos del test de correlación de Spearman.

En la siguiente figura se muestra la evolución de la Agudeza Visual de todos los ojos analizados en estudio.

Evolución de la Agudeza Visual



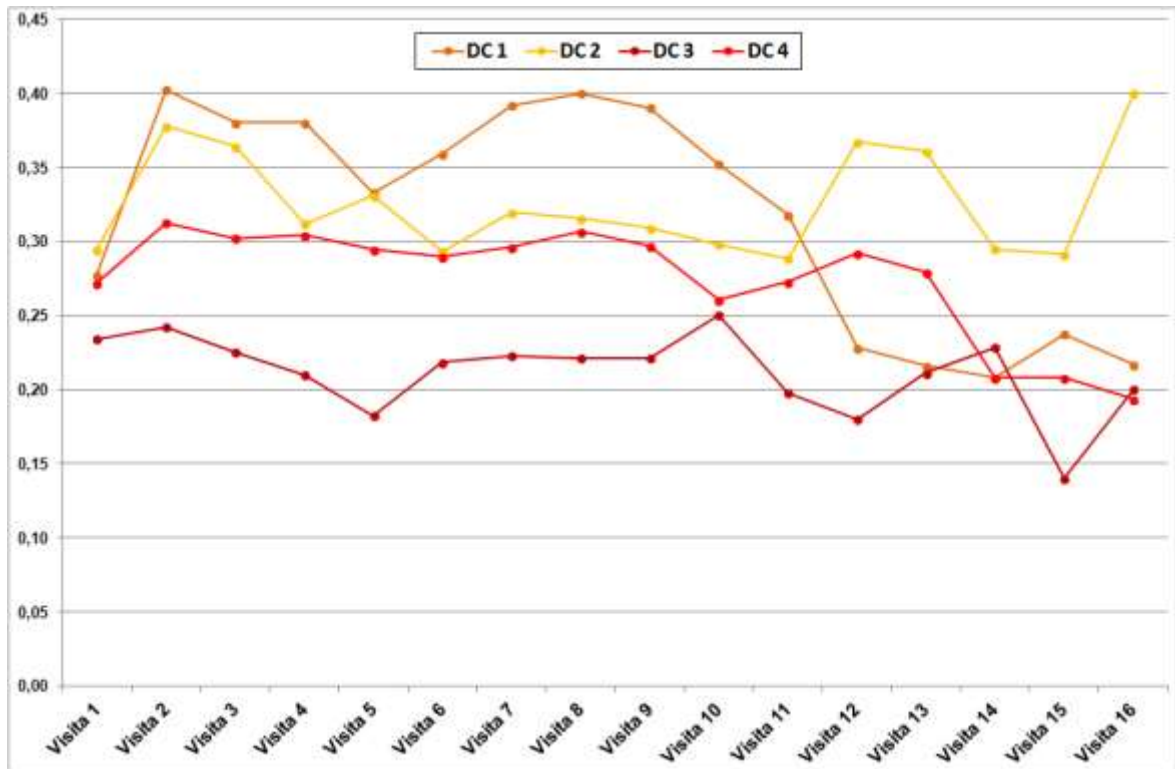
Se han realizado las siguientes asunciones en el cálculo de la evolución de la AV: Cuenta dedos (Cd) = 0,075 y movimiento manos (MM) = 0,025. Solamente se observaron diferencias significativas en la visitas 2, 3 y 4 (prueba de Wilcoxon respecto visita 1; $p < 0,05$).

Tabla 2: Evolución de la Agudeza Visual

	n	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
Agudeza Visual							
Visita 1	188	0,27	0,19	0,20	0,03	1,00	-
Visita 2	188	0,35	0,22	0,30	0,03	1,00	<0,0001
Visita 3	172	0,34	0,22	0,30	0,03	1,00	<0,0001
Visita 4	153	0,33	0,23	0,30	0,03	1,00	0,0018
Visita 5	133	0,30	0,21	0,30	0,03	1,00	0,1815
Visita 6	116	0,31	0,20	0,30	0,08	1,00	0,1391
Visita 7	100	0,33	0,20	0,30	0,08	0,80	0,0652
Visita 8	88	0,33	0,21	0,30	0,08	0,90	0,2564
Visita 9	77	0,32	0,20	0,30	0,08	0,80	0,4446
Visita 10	72	0,29	0,18	0,30	0,08	0,80	0,9026
Visita 11	62	0,28	0,19	0,30	0,08	0,80	0,5647
Visita 12	48	0,26	0,20	0,20	0,08	0,90	0,6809
Visita 13	38	0,26	0,20	0,20	0,03	0,90	0,9238
Visita 14	30	0,23	0,18	0,20	0,08	0,80	0,4150
Visita 15	22	0,21	0,19	0,15	0,08	0,80	0,5152
Visita 16	15	0,23	0,17	0,20	0,08	0,60	0,5566
Visita 17	8	0,15	0,11	0,10	0,08	0,40	0,3438

¹ prueba de Wilcoxon respecto a los datos de la visita 1

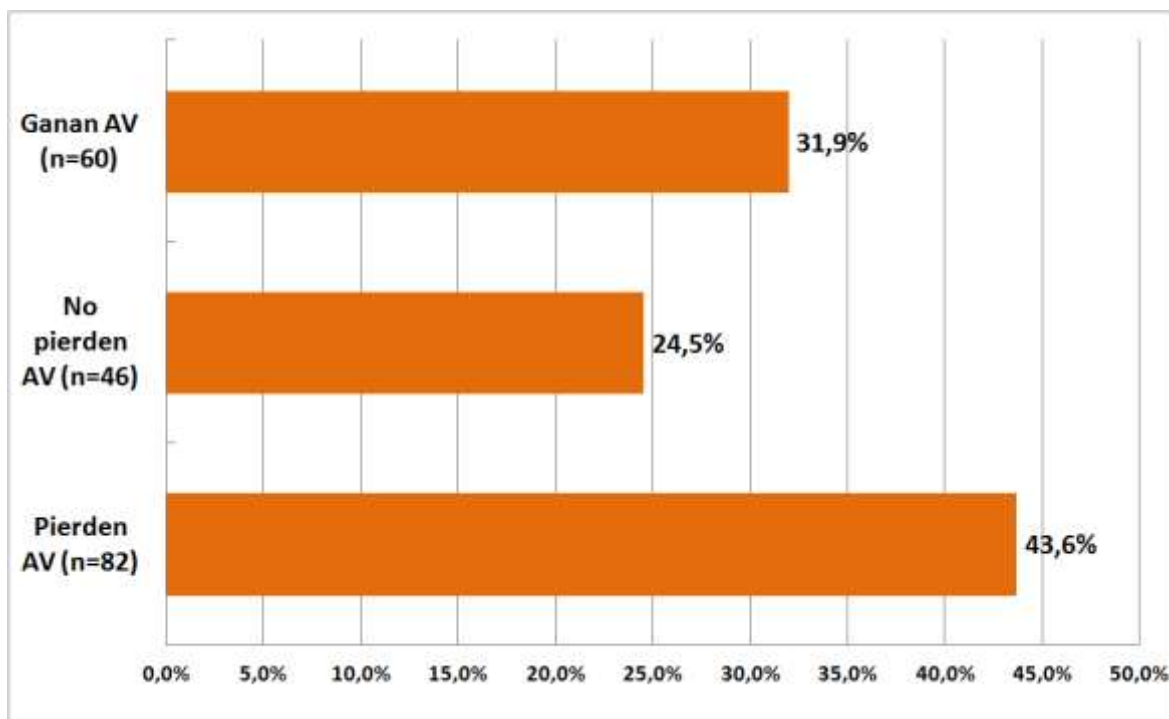
Figura 6. Evolución de la Agudeza Visual según investigador



Para calcular la mejoría de la AV, se tuvo en cuenta los datos de la AV de la primera y última visita de cada paciente. Asimismo se asumió 0,075 para “cuenta-dedos” y 0,025 para “movimiento de manos”.

Se observó que el 31,9% de los ojos tratados ganaban AV a fin de seguimiento.

Figura 7. Mejoría de la agudeza visual a fin de seguimiento



Se calculó el cambio de la AV a fin de seguimiento, calculado como la diferencia (valores finales – valores basales). De este modo se obtuvieron valores negativos para los descensos y valores positivos para los aumentos.

En la siguiente figura se muestra la media de cambio en la AV, la cual fue de -0,03 (IC95%: -0,060; -0,002) a fin de seguimiento. Por tanto, se observó un descenso de AV de -0.03.

Cambio medio de la AV a fin de seguimiento



Se observó una asociación positiva entre la agudeza visual inicial y la agudeza visual final.

Tabla 3: Correlación entre agudeza visual inicial y final

	n	AV final
	Coef.	0,4501
AV inicial	Sig.	<0,0001
	n	188

Coef. = Coeficiente de correlación Spearman (bivariante)

Sig = Nivel de significación del test de correlación de Spearman

n = Número de pacientes

Correlación entre agudeza visual inicial y final

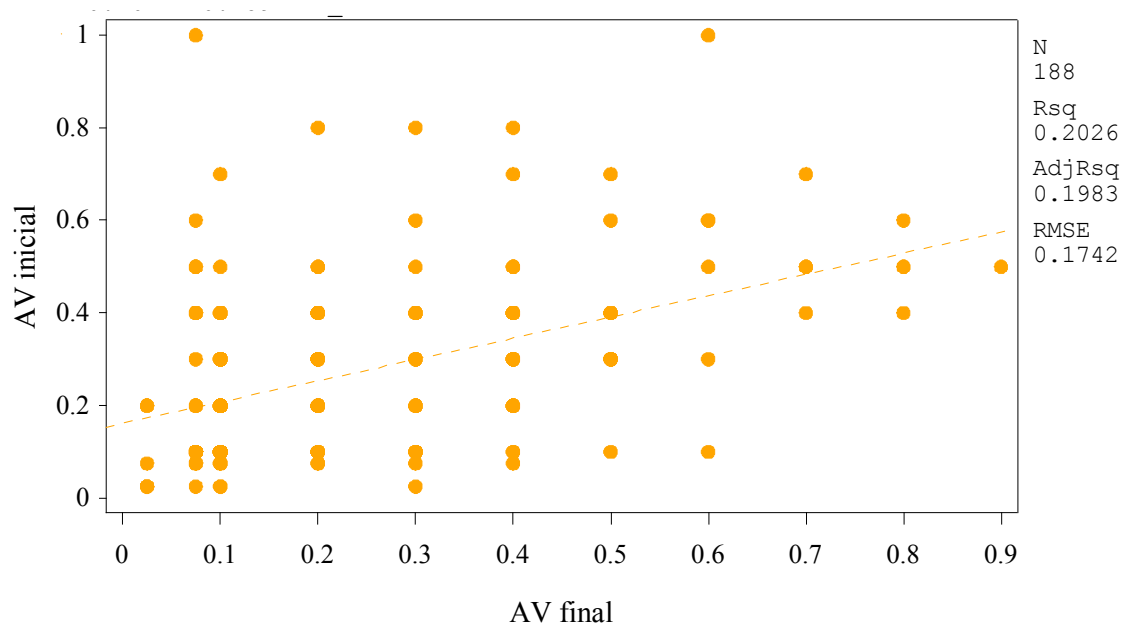


Tabla 4: Correlación entre agudeza visual inicial y final según cambio en la AV

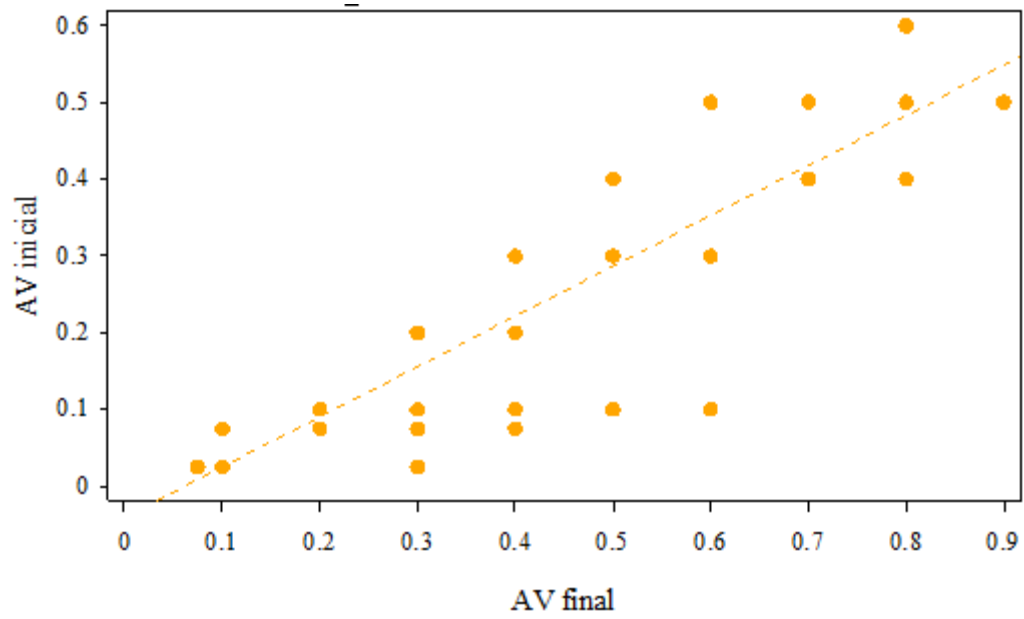
		AV final		
n		Ganan AV	No pierden AV	Pierden AV
AV inicial	Coef.	0,8687	1,0000	0,5965
	Sig.	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	n	60	46	82

Coef. = Coeficiente de correlación Spearman (bivariante)

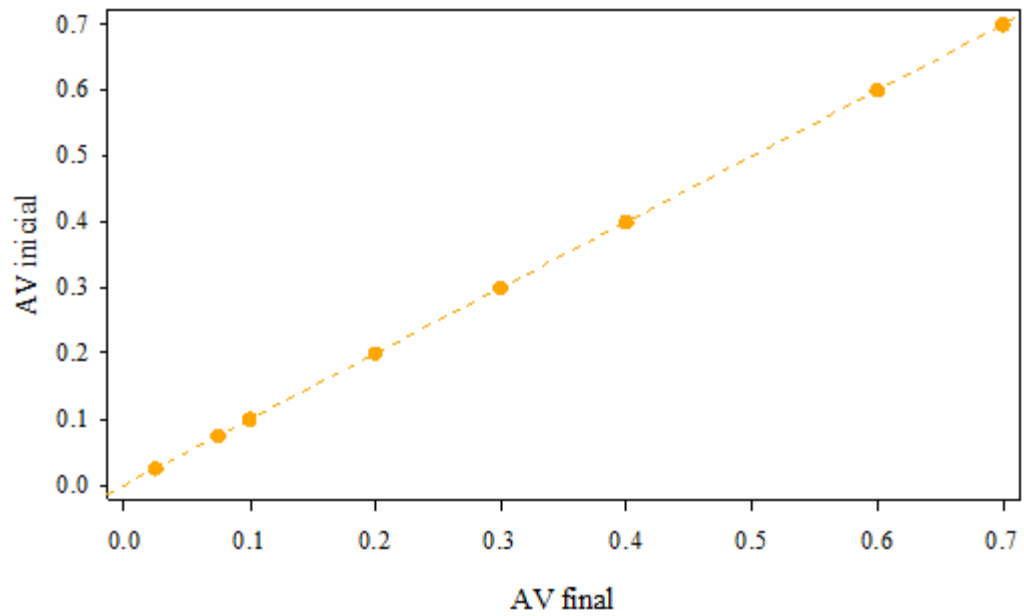
Sig = Nivel de significación del test de correlación de Spearman

n = Número de pacientes

Correlación entre agudeza visual inicial y final (Ganan AV)



Correlación entre agudeza visual inicial y final (No pierden AV)



Correlación entre agudeza visual inicial y final (Pierden AV)

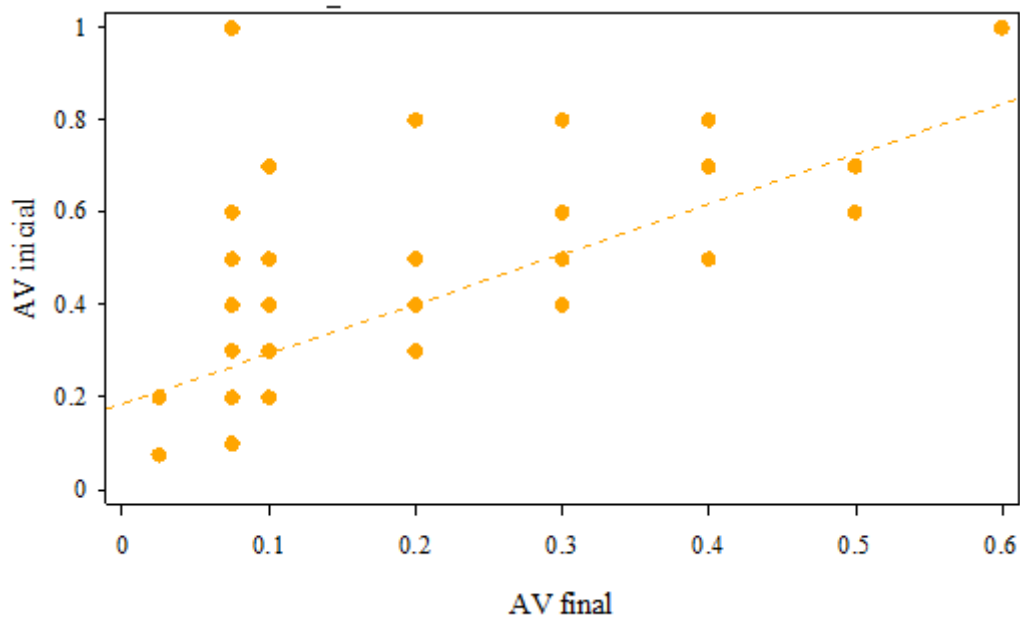


Tabla 5: Correlación entre agudeza visual inicial y final (Ganan o no pierden AV)

	n	AV final
	Coef.	0,8310
AV inicial	Sig.	<0,0001
	n	106

Coef. = Coeficiente de correlación Spearman (bivariante)

Sig = Nivel de significación del test de correlación de Spearman

n = Número de pacientes

Un diagrama de dispersión con datos de AV inicial vs AV final es indicativo de la posible relación lineal entre las AVs inicial y final.

Se puede sospechar entonces que a mayor AV inicial mayor será el valor de la AV final.

El coeficiente de correlación entre AV inicial y final estimará esta relación lineal.

El coeficiente de correlación puede tomar valores de -1 a 1, siendo:

- 1 es una relación positiva perfecta (a mayor AV inicial, mayor AV final)
- 0 indica que no existe relación lineal
- -1 es una relación negativa perfecta (a mayor AV inicial, menor AV final)

Se observa que las variables están correlacionadas positivamente. El coeficiente de correlación es de 0,8310 y esta correlación es significativa al nivel $<0,0001$. Es decir, la correlación es positiva (próxima a 1) y estadísticamente significativa.

Figura 8. Correlación entre agudeza visual inicial y final (Ganan o no pierden AV)

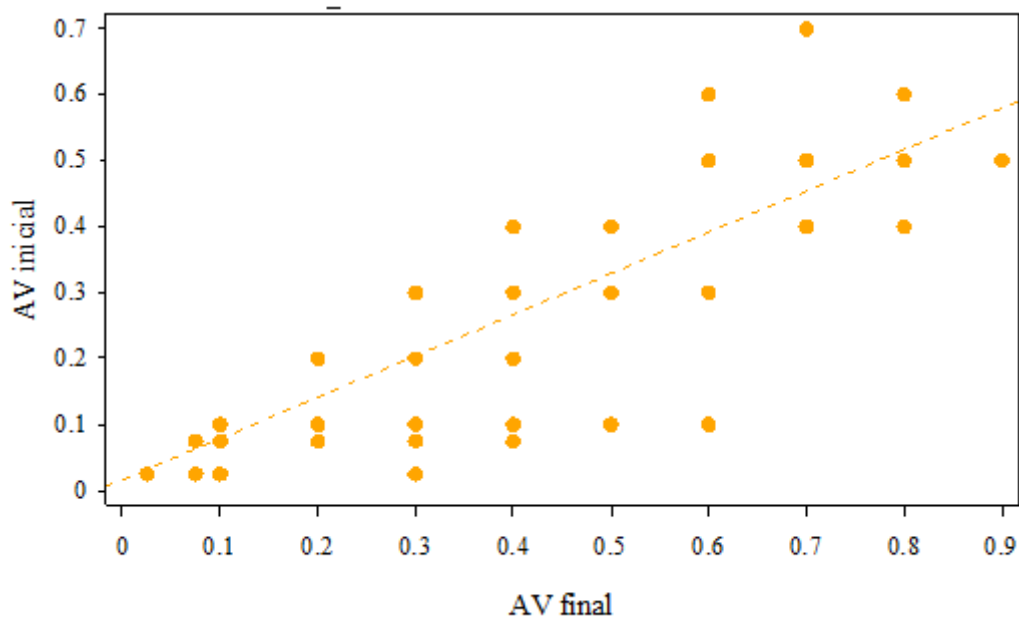


Tabla 6: Cambio en la AV según variables de interés

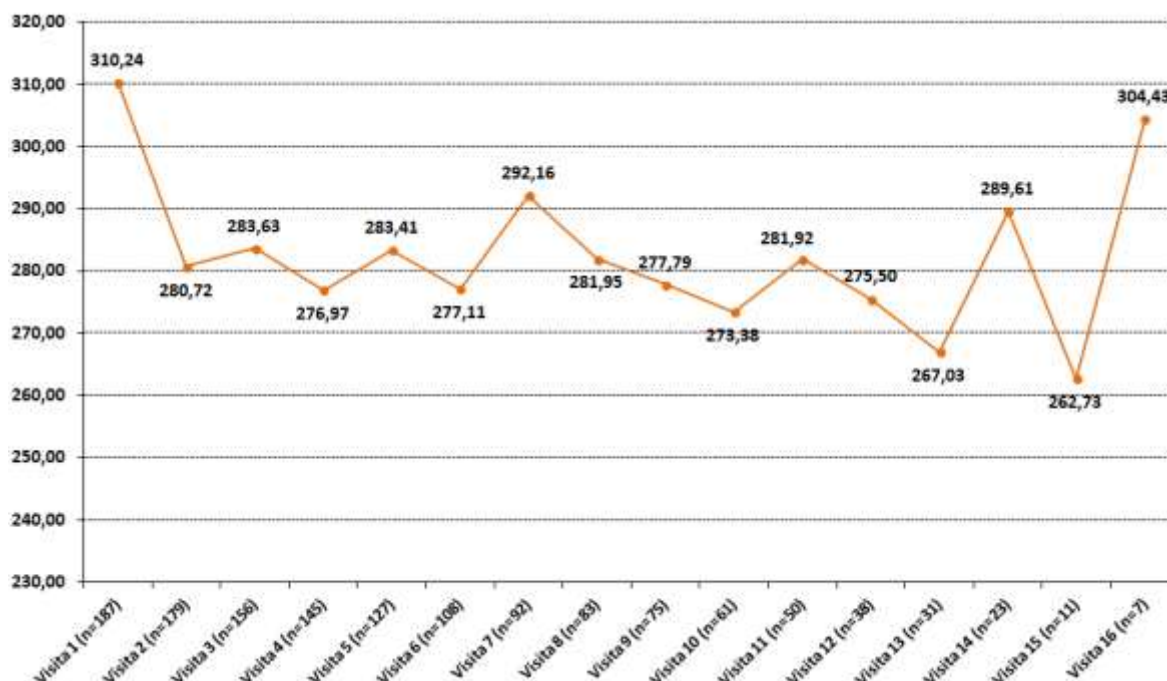
	N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
AV inicial	188	0,272	0,19	0,20	0,03	1,00	<0,0001
Ganan AV	60	0,213	0,15	0,20	0,03	0,60	
No pierden AV	46	0,202	0,16	0,10	0,03	0,70	
Pierden AV	82	0,355	0,21	0,30	0,08	1,00 ²	
<hr/>							
Inyecciones totales	188	5,2	2,4	5,0	1,0	13,0	0,0335
Ganan AV	60	5,7	2,3	5,5	3,0	12,0	
No pierden AV	46	4,6	2,2	4,0	1,0	12,0	
Pierden AV	82	5,2	2,6	5,0	1,0	13,0	
<hr/>							
Edad	188	79,6	7,6	80,0	44,0	94,0	0,1170
Ganan AV	60	78,1	8,7	79,0	44,0	93,0	
No pierden AV	46	81,0	7,1	82,0	59,0	93,0	
Pierden AV	82	79,8	6,9	81,0	46,0	94,0	

¹ prueba de Kruskal-Wallis

4.2.2.2 EVOLUCIÓN OCT

En la siguiente figura se muestra la evolución de la OCT de todos los ojos analizados en estudio. Se analizó la OCT según las visitas de seguimiento realizadas. La mayoría de visitas presentaban una mejoría en OCT respecto a la visita 1 que resultaba estadísticamente significativa según la prueba de Wilcoxon. No se observaron diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Kruskal-Wallis de OCT basal según los pacientes ganaran, no perdieran o perdieran AV.

Figura 9. Evolución de la OCT



4.2.3 RESULTADOS AL AÑO Y A LOS DOS AÑOS DE INICIAR EL TRATAMIENTO

4.2.3.1 EVOLUCIÓN AGUDEZA VISUAL

Se analizó la evolución en AV tras 1 y 2 años de seguimiento, la AV inicial fue de 0,29 (DT=0,19), a 1 año de 0,34 (DT=0,21) y a 2 años de 0,30 (DT=0,20). Respecto a la visita inicial la AV tras 1 año de seguimiento fue estadísticamente significativa según prueba de Wilcoxon.

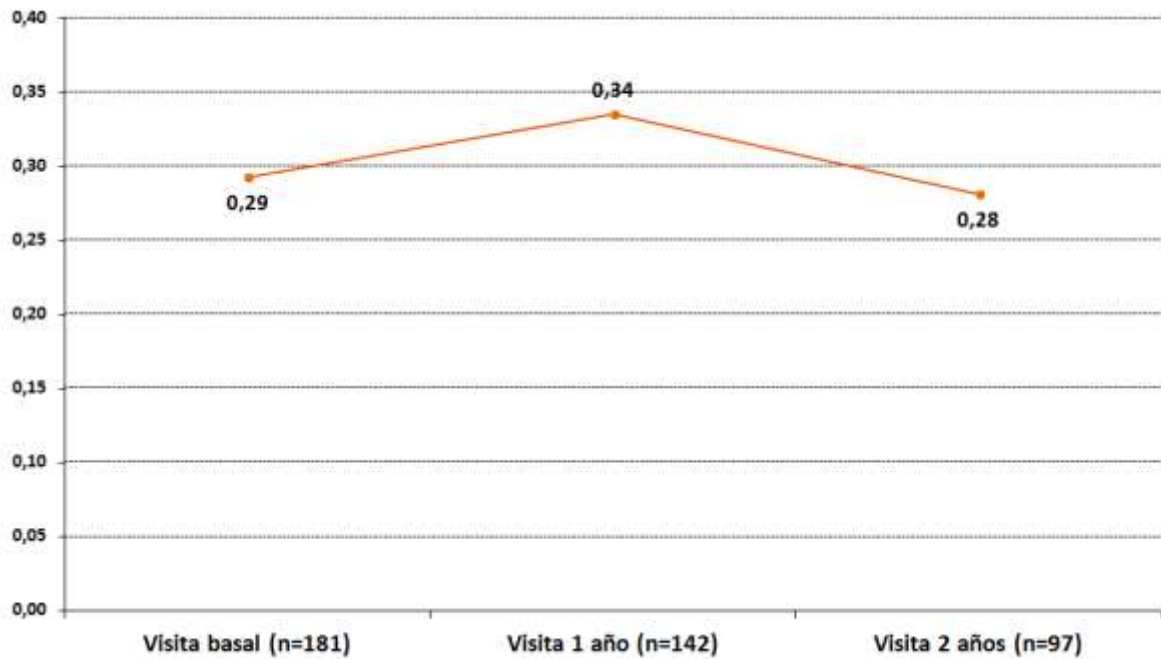
También se estudiaron las diferencias entre investigadores sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Kruskal-Wallis.

La mejoría tras 1 año de seguimiento fue de un 40,5% de pacientes que ganan AV, un 29,0% no pierden AV y un 30,5% pierden AV. La media de cambio en la AV fue de 0,03 (IC95%: 0,00; 0,067).

El número de inyecciones totales al año de seguimiento entre grupos de pacientes que ganan AV, no pierden AV y pierden AV no presentaron diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Kruskal-Wallis.

En la siguiente figura se muestra la evolución de la Agudeza Visual de todos los ojos analizados en estudio.

Evolución de la Agudeza Visual



Solamente se observaron diferencias significativas en la visitas al año de seguimiento (prueba de Wilcoxon respecto visita basal; $p < 0,05$).

Tabla 7: Evolución de la Agudeza Visual (sin “CD” ni “MM”)

Agudeza Visual	n	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
Visita basal	181	0,29	0,19	0,20	0,10	1,00	-
Visita 1 año	142	0,34	0,21	0,30	0,10	1,00	0,0306
Visita 2 años	97	0,28	0,20	0,20	0,10	0,90	0,0543

¹ prueba de Wilcoxon respecto a los datos de la visita 1

En la siguiente figura se muestra la evolución de la Agudeza Visual de todos los ojos analizados en estudio en función del investigador participante.

Figura 10. Evolución de la Agudeza Visual según investigador

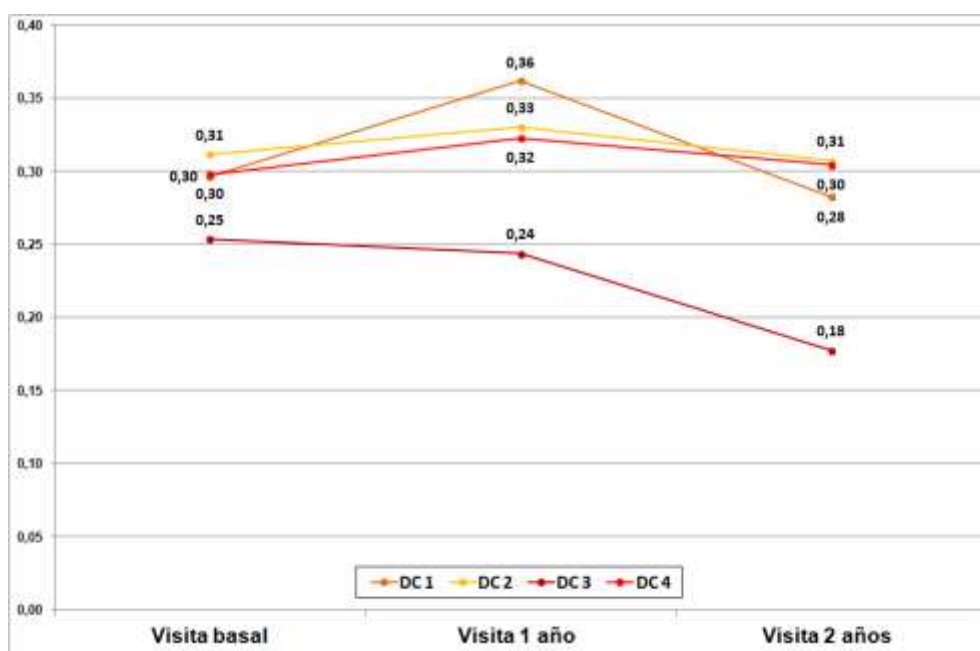


Tabla 8: Evolución de la Agudeza Visual según investigador

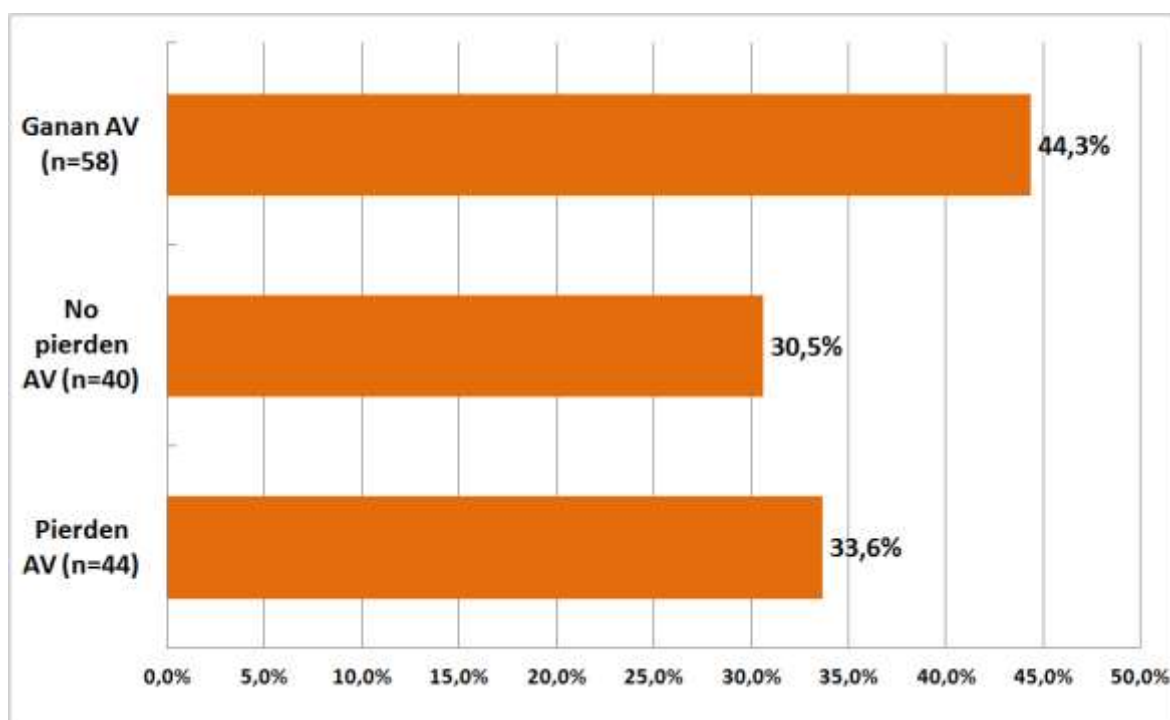
	DC 1			DC 2			DC 3			DC 4			p ²
	n	Media (DT)	p ¹	n	Media (DT)	p ¹	n	Media (DT)	p ¹	n	Media (DT)	p ¹	
Basal	82	0,3 (0,2)	-	26	0,3 (0,2)	-	26	0,3 (0,2)	-	47	0,3 (0,2)	-	0,6129
Año 1	75	0,4 (0,2)	0,0352	20	0,3 (0,2)	0,6086	16	0,2 (0,2)	0,5137	31	0,3(0,2)	0,2052	0,2494
Año 2	51	0,3 (0,2)	0,0651	14	0,3 (0,2)	0,5039	9	0,2 (0,1)	0,3281	23	0,3 (0,2)	0,7716	0,4102

¹ prueba de Wilcoxon respecto a los datos de la visita 1

² prueba de Kruskal-Wallis entre investigadores en cada visita

Para calcular la mejoría de la AV tras 1 año de seguimiento, se tuvo en cuenta los datos de la AV de la visita basal y visita al año de cada paciente. Se observó que el 44,3% de los ojos tratados ganaban AV a fin de seguimiento.

Figura 11. Mejoría de la agudeza visual tras 1 año de seguimiento



Se calculó el cambio de la AV a fin de seguimiento, calculado como la diferencia (valores finales – valores basales). De este modo se obtuvieron valores negativos para los descensos y valores positivos para los aumentos.

En la siguiente figura se muestra la media de cambio en la AV, la cual fue de 0,03 (IC95%: 0,002; 0,066) al año de seguimiento. Por tanto, se observó un aumento de AV de 0.03.

Tabla 9: Cambio AV al año de seguimiento

	n	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo
Cambio AV al año de seguimiento	142	0,034	0,19	0,00	-0,50	0,70
Ganan AV	58	0,218	0,12	0,20	0,10	0,70
Pierden AV	44	-0,177	0,09	-0,15	-0,50	-0,10

Figura 12. Cambio medio de la AV tras 1 año de seguimiento

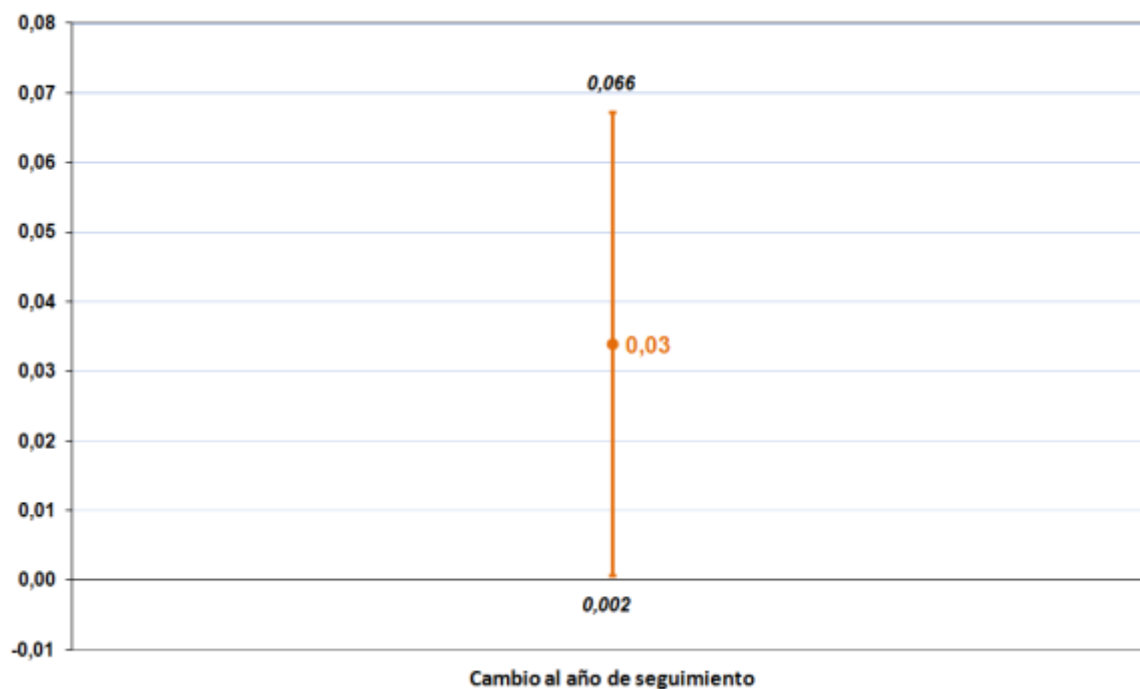


Tabla 10: Inyecciones totales al año de seguimiento según cambio de AV

	n	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
Inyecciones totales al año de seguimiento	132	4,2	1,2	4,0	1,0	7,0	0,7148
Ganan AV	53	4,1	1,1	4,0	1,0	6,0	
No pierden AV	35	4,1	1,2	4,0	2,0	7,0	
Pierden AV	44	4,3	1,3	4,0	1,0	7,0	

1 prueba de Kruskal-Wallis

Tabla 11: Inyecciones totales según investigador

	n	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
Inyecciones totales al año de seguimiento	132	4,2	1,2	4,0	1,0	7,0	0,2075
DC 1	70	4,2	1,2	4,0	1,0	7,0	
DC 2	17	3,9	1,1	4,0	3,0	6,0	
DC 3	16	4,7	1,4	5,0	2,0	7,0	
DC 4	29	4,1	1,0	4,0	3,0	7,0	
Inyecciones totales al segundo año de seguimiento	84	4,8	2,3	4,5	1,0	10,0	0,0007
DC 1	40	3,9	2,2	3,0	1,0	9,0	
DC 2	13	4,9	2,0	4,0	3,0	10,0	
DC 3	8	7,3	1,9	7,5	4,0	10,0	
DC 4	23	5,4	2,1	5,0	1,0	10,0	

¹ prueba de Kruskal-Wallis

Tabla 12: Visitas totales según investigador

	N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
Visitas totales al año de seguimiento	142	5,1	1,5	5,0	1,0	9,0	0,0001
DC 1	75	5,7	1,2	6,0	2,0	9,0	
DC 2	20	4,3	1,4	4,0	1,0	6,0	
DC 3	16	5,1	1,5	5,0	2,0	8,0	
DC 4	31	4,5	1,6	5,0	2,0	8,0	
Visitas totales al segundo año de seguimiento	97	10,3	3,2	11,0	3,0	18,0	0,0148
DC 1	51	11,1	1,9	11,0	7,0	14,0	
DC 2	14	8,9	4,3	8,0	4,0	18,0	
DC 3	9	10,9	4,6	13,0	3,0	17,0	
DC 4	23	8,9	3,4	8,0	3,0	16,0	

¹ prueba de Kruskal-Wallis

Nota: Se consideró visita cada medida de AV que presentaba el paciente

Existen diferencias estadísticamente significativas entre investigadores en cuanto al número de visitas. Así el investigador 1 realiza más visitas que el 2 y que el 4.

Tabla 13: Visitas al año y al segundo año de seguimiento

	N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
Visitas totales al año de seguimiento							0,0003
DC 1	75	5,7	1,2	6,0	2,0	9,0	
DC 2	20	4,3	1,4	4,0	1,0	6,0	
Visitas totales al segundo año de seguimiento							0,0234
DC 1	51	11,1	1,9	11,0	7,0	14,0	
DC 2	14	8,9	4,3	8,0	4,0	18,0	
Visitas totales al año de seguimiento							0,1484
DC 1	75	5,7	1,2	6,0	2,0	9,0	
DC 3	16	5,1	1,5	5,0	2,0	8,0	
Visitas totales al segundo año de seguimiento							0,6549
DC 1	51	11,1	1,9	11,0	7,0	14,0	
DC 3	9	10,9	4,6	13,0	3,0	17,0	
Visitas totales al año de seguimiento							0,0008
DC 1	75	5,7	1,2	6,0	2,0	9,0	
DC 4	31	4,5	1,6	5,0	2,0	8,0	
Visitas totales al segundo año de seguimiento							0,0057
DC 1	51	11,1	1,9	11,0	7,0	14,0	
DC 4	23	8,9	3,4	8,0	3,0	16,0	

¹ prueba U de Mann-Whitney

Nota: Se consideró visita cada medida de AV que presentaba el paciente

4.2.3.2 EVOLUCIÓN OCT

Se analizó la evolución en OCT tras 1 y 2 años de seguimiento, la OCT inicial fue de 310,24 (DT=76,16), a 1 año de 271,68 (DT=68,67) y a 2 años de 278,71 (DT=81,05). Respecto a la visita inicial la OCT tras 1 año y tras 2 años de seguimiento fueron estadísticamente significativa según prueba de Wilcoxon.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Kruskal-Wallis de OCT basal según los pacientes ganaran, no perdieran o perdieran AV.

Tabla 14: Evolución de la OCT

	n	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
OCT							
Visita basal	187	310,24	76,16	296,00	160,00	584,00	-
Visita 1 año	106	271,68	68,67	261,00	73,00	486,00	<0,0001
Visita 2 años	48	278,71	81,05	268,50	116,00	481,00	0,0161

¹ prueba de Wilcoxon respecto a los datos de la visita 1

Tabla 15: OCT basal según cambio de AV

	n	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	p ¹
OCT basal	187	310,2	76,2	296,0	160,0	584,0	0,9963
Ganan AV	58	308,9	76,7	292,5	160,0	545,0	
No pierden AV	39	305,5	73,0	304,0	183,0	522,0	
Pierden AV	44	309,0	77,2	294,5	198,0	584,0	

¹ prueba de Kruskal-Wallis

CAPÍTULO 5.

DISCUSIÓN

En la actualidad, desde una perspectiva específicamente clínica, no se hallan controversias sobre la definición de la DMAE, aunque no ha sucedido lo mismo con los aspectos etiopatogénicos, de epidemiología y terapéuticos.

En este sentido, la DMAE se reconoce como una enfermedad ocular que se caracteriza por la aparición de lesiones degenerativas progresivas en el área macular. ⁽¹⁾

Afecta prevalente a sujetos de 50 o más años de edad. Se relaciona con la formación de drusas, cambios del EPR, lesiones del EPR y la capa coriocapilar de la coroides, la membrana de Bruch, AG de la fovea central, NVC, separación del EPR o cambios de la cicatrización disciforme submacular. Por sus características etiopatogénicas representa una enfermedad compleja, heterogénea (variabilidad de síntomas, hallazgos clínicos y la historia natural, así como la afectación de varios tipos de células en la retina) y multifactorial que incluye aspectos tanto genéticos como medioambientales. Es la principal causa de ceguera y pérdida de visión severa en algunos países ⁽¹⁾.

Según un estudio en Dinamarca basado en registros entre el 2000 a 2010, se encontró que la incidencia anual de la ceguera legal de DMAE en Dinamarca en personas de 50 años o más se redujo a la mitad. La mayor parte de la disminución se produjo después de 2006, coincidiendo así con la introducción a gran escala de la inyección intravítrea de los anti-VEGF.

La incidencia de DMAE en Dinamarca ⁽²¹²⁾ es en gran parte comparable a lo que se ha encontrado en los Estados Unidos, ⁽³⁸⁾ Australia, ⁽²¹³⁾ y Europa del Norte ⁽²¹⁴⁾, donde se han hecho estudios de base poblacional y se ha encontrado que la prevalencia y la incidencia de DMAE ha disminuido durante la reciente década.. Esto puede reflejar los cambios en el estilo de vida, la salud general, y las condiciones modificables, como la hipertensión arterial y los malos hábitos dietéticos. Esta disminución no es de tal magnitud, como para poder explicar un la reducción a la mitad de la incidencia de ceguera legal de DMAE en una década. .Por lo tanto, la incidencia de ceguera legal de DMAE se redujo a la mitad de

la línea basal de incidencia en este periodo de tiempo. La mayor parte de la reducción se produjo después de la introducción de los anti-VEFG en 2006 ⁽²¹²⁾.

Actualmente, y desde una perspectiva general, la DMAE se reconoce como una importante causa de pérdida de visión, unas de las principales de la comorbilidad ocular y como el factor etiológico primario de la discapacidad visual en sujetos femeninos mayores de edad (> 65 años) de los países desarrollados (sobre todo, EE.UU., Reino Unido y Europa en general), relacionándose con el tercer puesto de causalidad sobre dicha discapacidad si se la considera a nivel global^(3, 12, 13, 16-22, 24-32, 34, 35, 37, 39-43, 45, 46, 48, 51). Por lo que puede considerarse como un problema de salud pública, dada la mayor esperanza de vida de las personas en general. Es más, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁽⁵⁷⁾, se estima que para el año 2020 llegará a 54 millones de personas el número de sujetos > 60 años con ceguera causada por todas las enfermedades oculares.

Desde una perspectiva clínica, la DMAE puede clasificarse en dos tipos: DMAE de etapa temprana y DMAE de etapa tardía. En la DMAE temprana o seca se halla escasa sintomatología, incluso siendo normal la agudeza visual. Las principales complicaciones se relacionan con el hallazgo de drusas en la membrana de Bruch, al analizar el fondo del ojo. Estas drusas varían en distribución y tamaño según cada paciente, aunque los patrones concuerdan al comparar los ojos de un mismo sujeto. Por su parte, también puede presentarse alterada la pigmentación del EPR¹⁵.

Por otro lado, en la DMAE tardía o húmeda, se hallan 3 formas usuales, todas ellas asociadas con la pérdida de visión central. La forma más común es la NVC, la cual se relaciona con el crecimiento de los vasos sanguíneos de la coriocapilar hacia el interior o a través de la membrana de Bruch. Otra forma es el desprendimiento del EPR, una forma relativamente infrecuente, asociándose con la acumulación de fluido entre el EPR y la membrana de Bruch.

Finalmente, se hace referencia a la AG, relacionada con una marcada pérdida de células del EPR y de fotorreceptores. Sobre esta última forma es importante enfatizar, como bien ha podido corroborarse en los anteriores desarrollos anatómicos y etiopatogénicos, que la misma representa el mecanismo por defecto de la DMAE húmeda, las restantes

presentaciones correspondiéndose con eventos reactivos durante la evolución de la patología⁽²⁾

Para el contexto de España se dispone de muy escasos estudios sobre la prevalencia y epidemiología de la DMAE, ampliando la búsqueda de investigaciones a la base de datos Dialnet2. No obstante, se tiende a corroborar las anteriores afirmaciones globales, aunque con tasas similares entre las variantes seca y húmeda de la patología

El Spanish Eyes Epidemiological (SEE) Study Group⁽⁶⁵⁾ halló una prevalencia de 3,4% de la DMAE en amplias áreas geográficas de España, dato asociado significativamente con el incremento de la edad: prevalencia de 1,3% para sujetos de 65-74 años y de 8,5% para aquellos ≥ 80 años. Por su parte, se halló una mayor prevalencia de la DMAE neovascular (1,9%), en comparación con la DMAE seca o atrófica (1,5%) (Esto es discordante con otros estudios, no obstante, debe hacerse énfasis en la similitud de los valores). Además, se recolectaron datos sobre la maculopatía asociada a la edad (MAE), hallando una prevalencia global de 10,3%, indicador más bajo en comparación con estudios similares.

Sainz-Gómez et al⁽⁶⁶⁾, en un estudio realizado sobre la población urbana ≥ 65 años en Pamplona con ceguera y discapacidad visual bilaterales, halló la DMAE como la tercera principal causa de ceguera (20,9%) (precedida por las cataratas y la miopía patológica) y como la segunda principal causa de discapacidad visual (27,2%) (precedida por las cataratas y seguida por la miopía patológica). Estos datos se correspondieron con prevalencias de 14,9% para la ceguera y de 31,9% para la discapacidad visual, patologías asociadas significativamente con el incremento de la edad (OR=1,05 y OR=1,09, respectivamente).

En nuestro estudio se incluyeron un total de 169 pacientes, 188 ojos, con DMAE de tipo exudativo. De ellos 96 (56,8%) eran mujeres y 73 (43,2%) eran hombres. La edad media, de los 169 pacientes analizados, fue de 79,6 años (desviación típica (DT)=7,7). La media de edad fue mayor entre los hombres 80,3 (DT=6,9) años frente a 79 (DT= 8,4) años en mujeres. En cuanto a la distribución por edad, el grupo mayoritario fue el de pacientes con 80 años o más, representando el 53,3% de la muestra, mientras que el grupo de pacientes de entre 40 y 80 representó el 46,7%. No diferencias estadísticamente significativas.

Comparando nuestros datos con los de los ensayos clínicos y estudios encontramos que la media de edad de nuestros pacientes es algo mayor (75 frente a 80). No consideramos que esta diferencia tenga consecuencias en los resultados. Pero es recomendable señalar el hecho de la edad tan elevada de la población a la que atendemos. La distribución por sexos no presenta diferencia a la de otros estudios.

Centrándonos en el tratamiento de la DMAE, debemos mencionar la revolución ocasionada por la introducción de los antiangiogénicos que comenzó con el Pegaptanib de sodio (Macugen®) que fue el primer fármaco anti-VEGF que obtuvo la indicación para el tratamiento de la DMAE neovascular. Fue aprobado por FDA el 20 de diciembre de 2004 y desde entonces la forma de enfocar esta enfermedad es distinta. Posteriormente apareció Ranibizumab (Lucentis) y los ensayos clínicos que demostraban la eficacia y seguridad clínica del Ranibizumab. Se trata de los ensayos clínicos aleatorizados MARINA, ANCHOR y PIER^(3, 12) de 2 años de duración. En los dos primeros el esquema de tratamiento era de dosis fija mensual. Siguiendo esta pauta los pacientes ganaron entre 7 y 10 letras. Además el 95% perdían menos de 15 letras. Es importante recordar que los pacientes tratados con placebo perdían 15 letras al cabo de dos años de tratamiento. El tercero de los ensayos exploró una dosis trimestral con resultados inferiores a los previos ya que la visión de los pacientes cayó a los valores de inicio antes del tratamiento. En el estudio SUSTAIN demostró una ganancia media de 3,6 letras cuando tras revisar a los pacientes mensualmente cumplían criterios de actividad de la enfermedad. Esta pauta de tratamiento es la que ha adquirido mayor consenso entre los oftalmólogos. En cualquier caso todas estas estrategias requieren un seguimiento mensual del paciente, lo cual puede ser considerado incompatible con la práctica clínica habitual. Desde el 2011 se han popularizado dos nuevas pautas de tratamiento. Una que intenta anticiparse a la actividad de la enfermedad conocida como “Treat and Extend”. Y otra más conservadora que trata a los pacientes en caso de actividad a la vez que alarga progresivamente las vistas bautizada por sus autores como “Wait and Extend”. En ambos casos se obtienen resultados de AV menores a las conseguidas en los ensayos clínicos pero disminuyendo el número de visitas.

El servicio de oftalmología del Hospital 12 de Octubre, no cuenta con protocolo unificado de manejo de DMAE. La ausencia de un protocolo terapéutico común puede explicarse

por diferentes razones. En parte, la falta de guías clínicas propuestas por agencias o sociedades científicas puede ser una causa. También es una realidad objetiva que las agendas asistenciales de los oftalmólogos de un servicio en el sistema nacional de salud son variables, con número de enfermos y con complejidades de patologías diferentes que provocan diversidad en la disponibilidad de seguimiento de los pacientes. Sin embargo, como se objetiva en nuestros resultados el empleo de los agentes antigangigénicos intraoculares en la DMAE exudativa es un hecho compartido por los cuatro investigadores analizados en nuestro estudio.

El tiempo medio de seguimiento de cada ojo fue de 1,7 años (DT=10) con un mínimo de 3 meses y un máximo de 4,5 años. También se desglosaron los resultados según la práctica de cuatro investigadores. El investigador 1 (DC1) siguió 84 ojos, el investigador 2 (DC2) 27 ojos, el 3 (DC3) 28 ojos y el investigador 4 (DC4) 49 ojos. El tratamiento realizado fue una dosis de carga en el 76,6% de los ojo de tres inyecciones de antiVEGF consecutivas y separadas por un mes. Los datos fueron registrados por investigador y por año de seguimiento. Con la intención de ser lo más representativos de la práctica clínica habitual, se consideró mejoría de AV la ganancia de 1 línea de visión en la escala de Snellen colocada a 6 metro y pérdida de AV a la disminución de 1 línea de visión en dicha escala.

5.1 DATOS GLOBALES DE AV Y OCT

En este estudio se analizó la AV conjunta de toda la población asistida descrita en el periodo comprendido entre enero de 2.007 y diciembre de 2.012. En global se observó una mejoría inicial que se mantiene hasta mayo de 2.011 cuando comienza a declinar. Se estudiaron las diferencias en AV respecto a la descrita en enero de 2.009, encontrándose diferencias estadísticamente significativas en enero de 2.011, en marzo de 2.011 y junio de 2.011.

Durante el mismo periodo se observó un incremento en el número de visitas realizadas por los 4 investigadores en conjunto. Se analizó la mejoría de la AV calculando la diferencia entre la primera y última visita disponible de cada ojo (independientemente del número de visitas o inyecciones realizadas y del tiempo de seguimiento). Se observó que un 28,7% gana AV, un 22,3% no pierde AV y un 48,9% pierden AV. Se observó un ligero descenso

en la AV, la media de cambio en la AV fue de -0,03 (IC95%: -0,06; 0,00). Se estudió la correlación entre AV inicial y final, observándose una asociación positiva (coeficiente de 0,4204 estadísticamente significativo). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el cambio en AV según ojo en estudio ni según sexo. Ante estos datos es interesarse valorar cómo el aumento del número de visitas coincide con la pérdida de la ganancia de AV observada al principio. Durante los primeros años de implantación del tratamiento antiangiogénico en nuestro hospital observamos que la AV de los pacientes mejoró. Pero este cambio no se mantuvo a lo largo del tiempo con vuelta a los valores de inicio. El espesor medio macular medido mediante OCT observó una mejoría inicial que si se mantiene en el tiempo. Esto nos indica que la mejoría anatómica no se acompaña de una funcional. Esto puede deberse a que el hecho de que la enfermedad esté activa en el periodo entre visitas provoca un daño funcional irreversible a pesar de la mejoría anatómica.

5.2 DATOS AGRUPADOS POR VISITAS

Se analizó la AV según las visitas de seguimiento realizadas observándose diferencias estadísticamente significativas en la AV en las visitas 2, 3 y 4 respecto a la visita 1 (inicial). La AV media fue de 0,35 en la visita 2, de 0,34 en la visita 3 y de 0,33 en la visita 4; siendo de 0,27 en la visita 1. Asimismo, se estudiaron las diferencias entre investigadores, resultando estas estadísticamente significativas según prueba de Kruskal-Wallis en las visitas 2 y 3. En la visita 2 la AV de DC1 fue de 0,40, de DC2 de 0,38, de DC3 0,24 y de DC4 0,31. En la visita 3 la AV de DC1 fue de 0,38, de DC2 de 0,36, de DC3 0,23 y de DC4 0,30. La media de cambio en la AV fue de 0,03. Se estudió la correlación entre AV inicial y final, observándose una asociación positiva (coeficiente de 0,4501 estadísticamente significativo). La correlación entre AV inicial y final según el cambio en AV fue positiva para todas las categorías: ganan AV, no pierden AV y pierden AV siendo el coeficiente 0,8687, 1,000 y 0,5965 respectivamente y significativos en los 3 casos del test de correlación de Spearman.

Comparando estos datos con los de los estudios observamos que en todos los casos se produce una ganancia de la AV tras la dosis de carga. En el caso de los ensayos esta ganancia es de unas 7 letras de media. En nuestro caso los pacientes pasan de 0.27 a 0.35.

Es complejo comparar ambos datos pero en la escala utilizada en los ensayos equivaldría a una línea y media de visión medida a cuatro metros. En nuestro caso equivaldría a una línea de visión pero colocándola a seis metros. De nuevo observamos que esta ganancia inicial no somos capaces de mantenerla en el tiempo. Con las sucesivas visitas y a pesar del tratamiento los pacientes vuelven a valores iniciales. En cualquier caso y como mencionamos con anterioridad lo que no ocurre es la pérdida que observamos en los ensayos en los grupos tratados con placebo.

5.3 DATOS AGRUPADOS POR AÑOS

Puesto que a diferencia de los ensayos clínicos las visitas no eran mensuales, se analizó la evolución en AV tras 1 y 2 años de seguimiento. La AV inicial fue de 0,29 (DT=0,19), a 1 año de 0,34 (DT=0,21) y a 2 años de 0,30 (DT=0,20). Respecto a la visita inicial la AV tras 1 año de seguimiento fue estadísticamente significativa según prueba de Wilcoxon. La media de cambio en la AV fue de 0,03 (IC95%: 0,00; 0,067). Agrupados, un 40,5% de pacientes ganan AV, un 29,0% no pierden AV y un 30,5% pierden AV. Durante el segundo año estos datos cambian y el porcentaje de pacientes que pierden visión es mayor. Un 31,9% ganan AV, un 24,5% no pierden AV y 43,6% pierden AV. La media de cambio en la AV fue de -0,3.

Es muy interesante en este punto comparar estos datos con los del ensayo PIER. En el análisis de los diferentes grupos de este ensayo tras la mejoría de AV inicial los investigadores comunicaron que el 60% de los pacientes mantenían ese incremento. Un 20% volvía a los valores iniciales y un 20% perdía lo ganado al año de seguimiento. Estos datos son similares a los nuestros teniendo en cuenta que nuestros criterios de ganancia y pérdida de visión son más estrictos.

El número de medio de inyecciones fue de 4,2 y 4,8 de media durante el primer y segundo año respectivamente. Todos los investigadores hicieron menos visitas y pusieron menos inyecciones en el año dos respecto al uno. El número de inyecciones totales al año de seguimiento entre grupos de pacientes que ganan AV, no pierden AV y pierden AV no presentaron diferencias estadísticamente significativas según la prueba deKruskal-Wallis.

El número medio de visitas fue de 5.1 durante el primer año y de 10.3 al final del segundo. Según el investigador se observaron diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Kruskal-Wallis en el número de visitas. Así el investigador 1 realiza más visitas que el 2 y que el 4. Esto es lo que puede justificar los mejores resultados del investigador 1 con respecto a los demás. Sería por lo tanto compatible con lo observado en los ensayos clínicos donde observamos que cuanto mayor es el número de revisiones los resultados son mejores.

Se analizó la evolución en OCT tras 1 y 2 años de seguimiento, la OCT inicial fue de 310,24 (DT=76,16), a 1 año de 271,68 (DT=68,67) y a 2 años de 278,71 (DT=81,05). Respecto a la visita inicial la OCT tras 1 año y tras 2 años de seguimiento fueron estadísticamente significativas según prueba de Wilcoxon. No se observaron diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Kruskal-Wallis de OCT basal según los pacientes ganaran, no perdieran o perdieran AV.

Es difícil atribuir el por qué se presentan las diferentes de nuestros pacientes ante un mismo tratamiento. Se cree que la variabilidad genética, presente incluso dentro de una misma población, tiene influencia. Actualmente se reconoce que la DMAE posee un significativo componente genético.^(10, 13, 215-218)

Los estudios asociados a los factores genéticos de la DMAE indican una gran variabilidad de genes involucrados, en el pasado mencionando, por ejemplo, ABCA4, ELOVL4, FIBL-6, APOE y SOD2 dada la superposición de características clínicas consecuentes con la DMAE^(219, 220). No obstante, hoy en día se reconoce que tales genes no son responsables de la avanzada y compleja fisiopatología de la DMAE, pese a que incluso ciertas mutaciones de ellos pueden contribuir con determinadas manifestaciones clínicas de la patología⁽¹⁰⁾.

Estudios recientes han hallado una asociación significativa entre la variante Y402H del factor H del complemento (CFH), la misma explicando cerca del 50% de los casos con DAME, esta observación representando la primera relación causa-efecto entre la anomalía de un solo gen y la patogénesis de la enfermedad⁽²²¹⁻²²⁸⁾. Además se encuentra en actual estudio el análisis de la asociación con el gen ARMS2/LOC387715⁽²²⁹⁻²³³⁾.

Brantley et al⁽²³⁴⁾ han demostrado mejorías de la agudeza visual en solo el 10,5% de los pacientes homocigóticos para el genotipo CC CFH Y402H tratados con bevacizumab, y del 53,7% en aquellos con los genotipos TC y TT CFH, incluso hallando empeoramientos del indicador de visión en los primeros. Por su parte, los pacientes con el genotipo LOC387715 no presentaron afectaciones significativas sobre la respuesta al tratamiento. Lee et al⁽²³⁵⁾ hallaron resultados similares en su estudio retrospectivo sobre pacientes con DMAE húmeda, indicando que aquellos con el genotipo CC CFH requirieron más inyecciones de ranibizumab a lo largo de 9 meses de seguimiento, en comparación con los individuos que presentaron otras variantes genéticas.

El único estudio de práctica clínica habitual que pudimos encontrar en la literatura es el estudio LUMIERE, el cual está diseñado con dos brazos, el retrospectivo a 1 año y el prospectivo a 5 años, que se está llevando actualmente a cabo. En el estudio LUMIERE de práctica clínica habitual se valoraron 551 pacientes con DMAE exudativa, su punto principal de estudio fue la AV final. A 218 de los pacientes les trataron con dosis de carga según práctica clínica habitual, y a 264 esperaron para tratarles. Fueron evaluados una media de 8,6 veces, les inyectaron una media de 5,1 inyecciones de antiVEGF y les retrataron cuando la OCT, angiofluoresceingrafía o la AV empeoraron. La ganancia fue de 3,2 letras en 12 meses. Los que fueron evaluados y tratados sin esperas y retratados según el empeoramiento de las pruebas ganaron más AV que los que esperaron para el tratamiento. Esto también se refleja en el resto de estudios sobre DMAE y frecuencia de tratamiento. Comparando este con nuestro estudio el número de inyecciones de AntiVEGF es algo superior en el caso de LUMIERE (5,1 frente a 4,5) con una ligera mejoría de la AV en ambos casos. En cuanto al número de visitas es superior en el caso de LUMIERE (8,6 frente a 5,1 en el primer año) probablemente debido a que en nuestro servicio los pacientes en la mayor parte de los casos tras la visita inicial no son revisados hasta el cuarto mes, ya que no revisamos a los pacientes mensualmente durante la dosis de carga.

Ante estos datos sería conveniente establecer estrategias de seguimiento de estos pacientes que permitan mantener la mejoría de AV que se observa tras la dosis de carga y durante el primer año cuando los protocolos de seguimiento son lo más similares a los de los ensayos clínicos. Cuando esta actitud se relaja debido a la presión asistencial los protocolos muestran una clara inferioridad en sus resultados respecto los mostrados en los ensayos.

También se hace necesario hacer análisis estadísticos y críticos de nuestra práctica clínica diaria con la intención de conocer de forma fehaciente el resultado de la inversión económica.

Tomado en conjunto, el manejo terapéutico de la DMAE en la práctica clínica habitual no se ajusta al protocolo de los estudios de aprobación del fármaco pero se consigue el control de la enfermedad en la mitad de los pacientes durante al menos cinco años. Además a los dos años de seguimiento los resultados obtenidos en ambos entornos asistenciales son similares. Es necesario seguir avanzando en la identificación de los respondedores e introducir nuevas opciones terapéuticas en los que no vayan a responder al tratamiento biológico con anit-VEGF.

Añadido a esto merece la pena hacer alguna reflexión sobre cuestiones de índole presupuestario. No es el objetivo de este trabajo y por lo tanto es una mera opinión personal del autor a raíz de los datos obtenidos y de la experiencia clínica de estos años. Tenemos que partir de la base que nos encontramos ante una enfermedad crónica. El tratamiento del que disponemos en la actualidad no es curativo. Esta premisa es necesario asumirla para poder organizar de forma eficiente los recursos materiales y humanos de los que disponemos.

Como hemos podido comprobar en el presente estudio el número de consultas ha crecido de forma exponencial desde el 2007. Al incrementarse el número de visitas y aparecer el tratamiento antiangiogénico también se han incrementado el número de procedimientos. Merece la pena recordar que la inyección intravítrea requiere una sala y unas condiciones de esterilidad que garanticen la seguridad del procedimiento. Todo esto ha conducido al aumento del gasto farmacéutico mientras que el capítulo de personal no se ha modificado. Más bien en el último año se ha reducido. Con datos del Servicio de Farmacia de nuestro hospital el incremento del gasto por parte del Servicio de Oftalmología se ha multiplicado por siete.

No es solo una cuestión de gasto de farmacia. El número de pacientes revisados también se incrementa. Como se ha explicado anteriormente son pacientes a los que difícilmente se les da el alta hospitalaria. Hasta hace unos años estos pacientes estaban abocados a la ceguera

legal. Pero ahora son atendidos por los mismos recursos humanos que hace siete años. El número de pruebas realizadas también se incrementa ya que al menos todos ellos requieren una OCT por cada visita y en la mayoría de los casos una AFG.

Por lo tanto es necesario hacer un esfuerzo en la gestión eficiente de todos estos recursos. Más si tenemos en cuenta la situación económica actual. Desde nuestro punto de vista sería necesario e imprescindible contar con el consenso de los profesionales clínicos. Sin su opinión cualquier medida tomada por los responsables en la gestión no logrará adecuar las mismas a los estándares de calidad. Algunas medidas se podrían tomar sin incrementar más el gasto pero harían más eficiente la actividad. El simple hecho de que el médico pueda consultar la OCT desde su propio ordenador de la consulta por medio de la historia clínica informatizada mejora mucho la dinámica de las consultas. Otra medida a reflexionar es establecer unas indicaciones claras y de consenso sobre el tratamiento de esta patología. No se ha establecido un límite de AV en el cual dejemos de tratar a los pacientes. Sabemos que con AV muy bajas las ganancias de visión son casi inexistentes. Este tipo de decisiones deberían estar estandarizadas como ocurre con otras patologías. En el extremo opuesto están los pacientes que tienen buenas AV. Como ha quedado plasmado en nuestro trabajo, los pacientes que tienen buenas AV tienen mejores resultados funcionales. Por lo tanto es casi una obligación establecer estrategias de diagnóstico precoz.

Por último las nuevas perspectivas terapéuticas van encaminadas a reducir el número de tratamientos y de visitas. Es clara la necesidad de seguir estas líneas de investigación. Pero estas mejoras en los fármacos deben ir siempre acompañadas de una mejora en la formación de los profesionales. Cuanto mejor formados estén mejor será el aprovechamiento de todos los recursos de los que disponemos.

CAPÍTULO 6.

CONCLUSIONES

De este análisis de los resultados del tratamiento de la DMAE exudativa en la práctica clínica habitual en un hospital universitario. Se concluye que

1. La AV al inicio del tratamiento es un factor pronóstico esencial para el resultado obtenido a su finalización con independencia de si el paciente gana, mantiene o pierde visión.
2. Como grupo, los pacientes muestran una mejora de la AV al final del primer año de tratamiento que se pierde a los 24 meses volviendo a los valores iniciales.
3. A los tres meses del inicio del tratamiento se consigue en los pacientes la disminución del espesor macular que posteriormente permanece estable a lo largo del periodo de seguimiento. Esta mejoría de un parámetro anatómico relevante de la mácula no se asocia a una repercusión funcional mantenida.
4. A nivel de población se objetiva un progresivo aumento de los pacientes con inadecuada o pérdida de respuesta al fármaco que al finalizar el primer año se sitúa en un tercio de los casos y después de cinco años en la mitad de los tratados.
5. Se consigue que tras cinco años de tratamiento la mitad de los enfermos mantengan o incluso mejoren la AV con respecto a del inicio.
6. Se observa una tendencia a la asociación entre los resultados funcionales obtenidos a los dos años de tratamiento y el número de visitas realizadas por el facultativo sin que sea necesario un aumento en el número de administraciones del agente terapéutico.
7. La seguridad del tratamiento en las condiciones clínicas estudiadas es similar al descrito y aprobado por las agencias de evaluación terapéutica.

Por lo tanto nuestra Hipótesis establecida sobre los resultados obtenidos en el seguimiento y tratamiento de la DMAE en el entorno de un hospital terciario español fueran diferentes a los conseguidos en los ensayos clínicos de registro de fármacos para el manejo de la enfermedad, podemos elevarla a categoría de Tesis concluyendo que, tomado en conjunto, el manejo terapéutico de la DMAE en la práctica clínica habitual no se ajusta

al protocolo de los estudios de aprobación del fármaco pero se consigue el control de la enfermedad en la mitad de los pacientes durante al menos cinco años. Además a los dos años de seguimiento los resultados obtenidos en ambos entornos asistenciales son similares.

BIBLIOGRAFIA

1. Malek G, Cousins SW. Is our current clinical classification of AMD up to the job? The British journal of ophthalmology. 2006 Sep;90(9):1080-1. PubMed PMID: 16929056. Pubmed Central PMCID: 1857396.
2. Bird AC. Therapeutic targets in age-related macular disease. The Journal of clinical investigation. 2010 Sep;120(9):3033-41. PubMed PMID: 20811159. Pubmed Central PMCID: 2929720.
3. Liutkeviciene R, Lesauskaite V, Asmoniene V, Zaliuniene D, Jasinskas V. Factors determining age-related macular degeneration: a current view. Medicina. 2010;46(2):89-94. PubMed PMID: 20440081.
4. Antoniak K, Bienias W, Nowak JZ. [Age-related macular degeneration--a complex genetic disease]. Klinika oczna. 2008;110(4-6):211-8. PubMed PMID: 18655465. Zwyrodnienie plamki zwiazane z wiekiem (AMD)--choroba o wieloczynnikowym podlozu genetycznym.
5. Benyelles N, Soubrane G. [Age-related macular degeneration]. La Revue du praticien. 2006 Jun 15;56(11):1194-201. PubMed PMID: 16903520. La degenerescence maculaire liee a l'age.
6. Drobek-Slowik M, Karczewicz D, Safrano K. [Eye's risk factors in age-related macular degeneration (AMD). Part I]. Klinika oczna. 2008;110(1-3):40-3. PubMed PMID: 18669082. Oczne czynniki ryzyka zwyrodnienia plamki zwiazanego z wiekiem (AMD). Czesc I.
7. Drobek-Slowik M, Karczewicz D, Safranow K. [Eye's risk factors in age-related macular degeneration (AMD). Part II]. Klinika oczna. 2008;110(1-3):44-9. PubMed PMID: 18669083. Oczne czynniki ryzyka zwyrodnienia plamki zwiazanego z wiekiem (AMD). Czesc II.
8. Korner-Stiefbold U. [Age-related macular degeneration (AMD)--therapeutic possibilities and new approaches]. Therapeutische Umschau Revue therapeutique.

- 2001 Jan;58(1):28-35. PubMed PMID: 11217484. Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD)--therapeutische Möglichkeiten und neue Ansätze.
9. La Heij EC, Liem AT, Hendrikse F. [Age-related macular degeneration; therapeutic options]. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*. 2001 Jul 21;145(29):1390-7. PubMed PMID: 11494688. Leef tijdsgebonden maculadegeneratie; mogelijke therapieën.
 10. Nowak JZ. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy. *Pharmacological reports* : PR. 2006 May-Jun;58(3):353-63. PubMed PMID: 16845209.
 11. Ondes F, Yilmaz G, Acar MA, Unlu N, Kocaoglan H, Arsan AK. Role of the vitreous in age-related macular degeneration. *Japanese journal of ophthalmology*. 2000 Jan-Feb;44(1):91-3. PubMed PMID: 10698032.
 12. Hu CC, Ho JD, Lin HC. Neovascular age-related macular degeneration and the risk of stroke: a 5-year population-based follow-up study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2010 Apr;41(4):613-7. PubMed PMID: 20150546.
 13. Chen Y, Bedell M, Zhang K. Age-related macular degeneration: genetic and environmental factors of disease. *Molecular interventions*. 2010 Oct;10(5):271-81. PubMed PMID: 21045241. Pubmed Central PMCID: 3002218.
 14. Browning AC, Amoaku WM, Dua HS. Treatment of age-related macular degeneration. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2004 Apr;97(4):166-9. PubMed PMID: 15056736. Pubmed Central PMCID: 1079352.
 15. Chopdar A, Chakravarthy U, Verma D. Age related macular degeneration. *Bmj*. 2003 Mar 1;326(7387):485-8. PubMed PMID: 12609947. Pubmed Central PMCID: 1125371.
 16. Attebo K, Mitchell P, Smith W. Visual acuity and the causes of visual loss in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1996 Mar;103(3):357-64. PubMed PMID: 8600410.

17. Bailey RN, Indian RW, Zhang X, Geiss LS, Duenas MR, Saaddine JB, et al. Visual impairment and eye care among older adults - five States, 2005. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2006 Dec 15;55(49):1321-5. PubMed PMID: 17167393.
18. Bamashmus MA, Matlhaga B, Dutton GN. Causes of blindness and visual impairment in the West of Scotland. *Eye*. 2004 Mar;18(3):257-61. PubMed PMID: 15004574.
19. Bressler NM. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2004 Apr 21;291(15):1900-1. PubMed PMID: 15108691.
20. Buch H, Nielsen NV, Vinding T, Jensen GB, Prause JU, la Cour M. 14-year incidence, progression, and visual morbidity of age-related maculopathy: the Copenhagen City Eye Study. *Ophthalmology*. 2005 May;112(5):787-98. PubMed PMID: 15878058.
21. Buch H, Vinding T, La Cour M, Nielsen NV. The prevalence and causes of bilateral and unilateral blindness in an elderly urban Danish population. The Copenhagen City Eye Study. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. 2001 Oct;79(5):441-9. PubMed PMID: 11594976.
22. Bunce C, Xing W, Wormald R. Causes of blind and partial sight certifications in England and Wales: April 2007-March 2008. *Eye*. 2010 Nov;24(11):1692-9. PubMed PMID: 20847749.
23. Caban-Martinez AJ, Davila EP, Lam BL, Dubovy SR, McCollister KE, Fleming LE, et al. Age-related macular degeneration and smoking cessation advice by eye care providers: a pilot study. *Preventing chronic disease*. 2011 Nov;8(6):A147. PubMed PMID: 22005640. Pubmed Central PMCID: 3221586.

24. Centers for Disease C, Prevention. Eye-care utilization among women aged > or =40 years with eye diseases--19 states, 2006-2008. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2010 May 21;59(19):588-91. PubMed PMID: 20489682.
25. Choi JK, Lym YL, Moon JW, Shin HJ, Cho B. Diabetes mellitus and early age-related macular degeneration. *Archives of ophthalmology*. 2011 Feb;129(2):196-9. PubMed PMID: 21320966.
26. Christen WG, Glynn RJ, Chew EY, Buring JE. Vitamin E and age-related macular degeneration in a randomized trial of women. *Ophthalmology*. 2010 Jun;117(6):1163-8. PubMed PMID: 20153900. Pubmed Central PMCID: 2881167.
27. Coleman AL, Seitzman RL, Cummings SR, Yu F, Cauley JA, Ensrud KE, et al. The association of smoking and alcohol use with age-related macular degeneration in the oldest old: the Study of Osteoporotic Fractures. *American journal of ophthalmology*. 2010 Jan;149(1):160-9. PubMed PMID: 19796757. Pubmed Central PMCID: 3068844.
28. Congdon N, O'Colmain B, Klaver CC, Klein R, Munoz B, Friedman DS, et al. Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Archives of ophthalmology*. 2004 Apr;122(4):477-85. PubMed PMID: 15078664.
29. Cooper RL. Blind registrations in Western Australia: a five-year study. *Australian and New Zealand journal of ophthalmology*. 1990 Nov;18(4):421-6. PubMed PMID: 2076292.
30. Curtis LH, Hammill BG, Schulman KA, Cousins SW. Risks of mortality, myocardial infarction, bleeding, and stroke associated with therapies for age-related macular degeneration. *Archives of ophthalmology*. 2010 Oct;128(10):1273-9. PubMed PMID: 20937996.
31. de Fine Olivarius N, Siersma V, Almind GJ, Nielsen NV. Prevalence and progression of visual impairment in patients newly diagnosed with clinical type 2

- diabetes: a 6-year follow up study. *BMC public health*. 2011;11:80. PubMed PMID: 21294871. Pubmed Central PMCID: 3045948.
32. Ferris FL, 3rd, Fine SL, Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Archives of ophthalmology*. 1984 Nov;102(11):1640-2. PubMed PMID: 6208888.
 33. Fraser-Bell S, Choudhury F, Klein R, Azen S, Varma R, Los Angeles Latino Eye Study G. Ocular risk factors for age-related macular degeneration: the Los Angeles Latino Eye Study. *American journal of ophthalmology*. 2010 May;149(5):735-40. PubMed PMID: 20138605. Pubmed Central PMCID: 2856762.
 34. Friedman DS, O'Colmain BJ, Munoz B, Tomany SC, McCarty C, de Jong PT, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Archives of ophthalmology*. 2004 Apr;122(4):564-72. PubMed PMID: 15078675.
 35. Ghafour IM, Allan D, Foulds WS. Common causes of blindness and visual handicap in the west of Scotland. *The British journal of ophthalmology*. 1983 Apr;67(4):209-13. PubMed PMID: 6830738. Pubmed Central PMCID: 1040020.
 36. Hageman GS, Gehrs K, Lejnine S, Bansal AT, Deangelis MM, Guymer RH, et al. Clinical validation of a genetic model to estimate the risk of developing choroidal neovascular age-related macular degeneration. *Human genomics*. 2011 Jul;5(5):420-40. PubMed PMID: 21807600. Pubmed Central PMCID: 3525964.
 37. Hsu WM, Cheng CY, Liu JH, Tsai SY, Chou P. Prevalence and causes of visual impairment in an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology*. 2004 Jan;111(1):62-9. PubMed PMID: 14711715.
 38. Klein R, Chou CF, Klein BE, Zhang X, Meuer SM, Saaddine JB. Prevalence of age-related macular degeneration in the US population. *Archives of ophthalmology*. 2011 Jan;129(1):75-80. PubMed PMID: 21220632.

39. Klein R, Klein BE, Lee KE, Cruickshanks KJ, Gangnon RE. Changes in visual acuity in a population over a 15-year period: the Beaver Dam Eye Study. *American journal of ophthalmology*. 2006 Oct;142(4):539-49. PubMed PMID: 17011842.
40. Klein R, Klein BE, Linton KL. Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 1992 Jun;99(6):933-43. PubMed PMID: 1630784.
41. Klein R, Knudtson MD, Klein BE, Wong TY, Cotch MF, Barr G. Emphysema, airflow limitation, and early age-related macular degeneration. *Archives of ophthalmology*. 2010 Apr;128(4):472-7. PubMed PMID: 20385944. Pubmed Central PMCID: 2855157.
42. Klein R, Peto T, Bird A, Vannewkirk MR. The epidemiology of age-related macular degeneration. *American journal of ophthalmology*. 2004 Mar;137(3):486-95. PubMed PMID: 15013873.
43. Klein R, Wang Q, Klein BE, Moss SE, Meuer SM. The relationship of age-related maculopathy, cataract, and glaucoma to visual acuity. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1995 Jan;36(1):182-91. PubMed PMID: 7822146.
44. Kocur I, Resnikoff S. Visual impairment and blindness in Europe and their prevention. *The British journal of ophthalmology*. 2002 Jul;86(7):716-22. PubMed PMID: 12084735. Pubmed Central PMCID: 1771203.
45. Nwosu SN. Age-related macular degeneration in Onitsha, Nigeria. *Nigerian journal of clinical practice*. 2011 Jul-Sep;14(3):327-31. PubMed PMID: 22037079.
46. Owen CG, Jarrar Z, Wormald R, Cook DG, Fletcher AE, Rudnicka AR. The estimated prevalence and incidence of late stage age related macular degeneration in the UK. *The British journal of ophthalmology*. 2012 May;96(5):752-6. PubMed PMID: 22329913. Pubmed Central PMCID: 3329633.

47. Prokofyeva E, Zrenner E. Epidemiology of major eye diseases leading to blindness in Europe: a literature review. *Ophthalmic research*. 2012;47(4):171-88. PubMed PMID: 22123077.
48. Rosenberg T, Klie F. Current trends in newly registered blindness in Denmark. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. 1996 Aug;74(4):395-8. PubMed PMID: 8883558.
49. Ryskulova A, Turczyn K, Makuc DM, Cotch MF, Klein RJ, Janiszewski R. Self-reported age-related eye diseases and visual impairment in the United States: results of the 2002 national health interview survey. *American journal of public health*. 2008 Mar;98(3):454-61. PubMed PMID: 18235074. Pubmed Central PMCID: 2253577.
50. Stein JD, Vanderbeek BL, Talwar N, Nan B, Musch DC, Zacks DN. Rates of nonexudative and exudative age-related macular degeneration among Asian American ethnic groups. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2011 Aug;52(9):6842-8. PubMed PMID: 21778274. Pubmed Central PMCID: 3176030.
51. Vingerling JR, Dielemans I, Hofman A, Grobbee DE, Hijmering M, Kramer CF, et al. The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. *Ophthalmology*. 1995 Feb;102(2):205-10. PubMed PMID: 7862408.
52. Frick KD, Gower EW, Kempen JH, Wolff JL. Economic impact of visual impairment and blindness in the United States. *Archives of ophthalmology*. 2007 Apr;125(4):544-50. PubMed PMID: 17420375.
53. Leske MC, Wu SY, Nemesure B, Hennis A, Barbados Eye Studies G. Causes of visual loss and their risk factors: an incidence summary from the Barbados Eye Studies. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*. 2010 Apr;27(4):259-67. PubMed PMID: 20512228.

54. Rein DB, Zhang P, Wirth KE, Lee PP, Hoerger TJ, McCall N, et al. The economic burden of major adult visual disorders in the United States. *Archives of ophthalmology*. 2006 Dec;124(12):1754-60. PubMed PMID: 17159036.
55. Spencer C, Frick K, Gower EW, Kempen JH, Wolff JL. Disparities in access to medical care for individuals with vision impairment. *Ophthalmic epidemiology*. 2009 Sep-Oct;16(5):281-8. PubMed PMID: 19874107.
56. Wong EY, Chou SL, Lamoureux EL, Keeffe JE. Personal costs of visual impairment by different eye diseases and severity of visual loss. *Ophthalmic epidemiology*. 2008 Sep-Oct;15(5):339-44. PubMed PMID: 18850471.
57. Vision 2020: the cataract challenge. *Community eye health / International Centre for Eye Health*. 2000;13(34):17-9. PubMed PMID: 17491949. Pubmed Central PMCID: 1705965.
58. Clemons TE, Milton RC, Klein R, Seddon JM, Ferris FL, 3rd, Age-Related Eye Disease Study Research G. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology*. 2005 Apr;112(4):533-9. PubMed PMID: 15808240. Pubmed Central PMCID: 1513667.
59. Klein R, Klein BE, Linton KL, DeMets DL. The Beaver Dam Eye Study: the relation of age-related maculopathy to smoking. *American journal of epidemiology*. 1993 Jan 15;137(2):190-200. PubMed PMID: 8452123.
60. Schmidt S, Haines JL, Postel EA, Agarwal A, Kwan SY, Gilbert JR, et al. Joint effects of smoking history and APOE genotypes in age-related macular degeneration. *Molecular vision*. 2005;11:941-9. PubMed PMID: 16288198.
61. Seddon JM, Reynolds R, Maller J, Fagerness JA, Daly MJ, Rosner B. Prediction model for prevalence and incidence of advanced age-related macular degeneration based on genetic, demographic, and environmental variables. *Investigative*

- ophthalmology & visual science. 2009 May;50(5):2044-53. PubMed PMID: 19117936. Pubmed Central PMCID: 3772781.
62. Tan JS, Mitchell P, Kifley A, Flood V, Smith W, Wang JJ. Smoking and the long-term incidence of age-related macular degeneration: the Blue Mountains Eye Study. *Archives of ophthalmology*. 2007 Aug;125(8):1089-95. PubMed PMID: 17698756.
 63. Zhang X, Kahende J, Fan AZ, Barker L, Thompson TJ, Mokdad AH, et al. Smoking and visual impairment among older adults with age-related eye diseases. *Preventing chronic disease*. 2011 Jul;8(4):A84. PubMed PMID: 21672408. Pubmed Central PMCID: 3136979.
 64. Andonegui J, Serrano L, Eguzkiza A. [eOphthalmology: current state and future tendencies]. *Anales del sistema sanitario de Navarra*. 2010 Jan-Apr;33(1):79-91. PubMed PMID: 20463774. eOftalmologia: estado actual y tendencias futuras.
 65. Spanish Eyes Epidemiological Study G. Prevalence of age-related macular degeneration in Spain. *The British journal of ophthalmology*. 2011 Jul;95(7):931-6. PubMed PMID: 21216795.
 66. Sainz-Gomez C, Fernandez-Robredo P, Salinas-Alaman A, Montanes JM, Escudero Berasategui JM, Guillen-Grima F, et al. Prevalence and causes of bilateral blindness and visual impairment among institutionalized elderly people in Pamplona, Spain. *European journal of ophthalmology*. 2010 Mar-Apr;20(2):442-50. PubMed PMID: 20213621.
 67. Escoto González R. Eficacia de la termoterapia transpupilar en la degeneración macular asociada a la edad [Tesis Doctoral]: Universitat Autònoma de Barcelona; 2006.
 68. Friedman E, Smith TR. Macular Diseases: Senile Changes of the Choriocapillaris of the Posterior Pole. *Transactions - American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology*. 1965 Jul-Aug;69:652-61. PubMed PMID: 14345770.

69. Glavan, II, Tacorian D. [The macula in degenerative and senescent vascular retinopathy. Therapeutic results]. Revista de chirurgie, oncologie, radiologie, o r l, oftalmologie, stomatologie Oftalmologie. 1980 Apr-Jun;24(2):125-8. PubMed PMID: 6449043. Macula in retinopatia vasculara, degenerativa si de senescenta. Rezultate terapeutice.
70. Green WR, Key SN, 3rd. Senile macular degeneration: a histopathologic study. Transactions of the American Ophthalmological Society. 1977;75:180-254. PubMed PMID: 613523. Pubmed Central PMCID: 1311549.
71. Triviño Casado ARS, JM. Anatomofisiología de la coroides. Barcelona: Edika Med; 1989 1989.
72. Wale R. Retinal senescence. Progress in Retinal Research 1986.
73. Cogan DG. Development and Senescence of the Human Retinal Vasculature. Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom. 1963;83:465-89. PubMed PMID: 14123166.
74. Hogan MJ, Alvarado J. Studies on the human macula. IV. Aging changes in Bruch's membrane. Archives of ophthalmology. 1967 Mar;77(3):410-20. PubMed PMID: 6019564.
75. Kuwabara T, Cogan DG. Retinal vascular patterns. VII. Acellular change. Investigative ophthalmology. 1965 Dec;4(6):1049-64. PubMed PMID: 5848760.
76. Leys A, Vanrenterghem Y, Van Damme B, Snyers B, Pirson Y, Leys M. Fundus changes in membranoproliferative glomerulonephritis type II. A fluorescein angiographic study of 23 patients. Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie. 1991;229(5):406-10. PubMed PMID: 1937071.
77. Appel GB, Cook HT, Hageman G, Jennette JC, Kashgarian M, Kirschfink M, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis type II (dense deposit disease): an

- update. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2005 May;16(5):1392-403. PubMed PMID: 15800116.
78. Leys A, Vanrenterghem Y, Van Damme B, Snyers B, Pirson Y, Leys M. Sequential observation of fundus changes in patients with long standing membranoproliferative glomerulonephritis type II (MPGN type II). *European journal of ophthalmology*. 1991 Jan-Mar;1(1):17-22. PubMed PMID: 1821193.
 79. Michielsen B, Leys A, Van Damme B, Missotten L. Fundus changes in chronic membranoproliferative glomerulonephritis type II. *Documenta ophthalmologica Advances in ophthalmology*. 1990;76(3):219-29. PubMed PMID: 2103524.
 80. Green WR. *Clinicopathologic studies of senile macular degeneration*. DH N, editor. New York: Masson; 1980.
 81. Hoshino M, Mizuno K, Ichikawa H. Aging alterations of retina and choroid of Japanese: light microscopic study of macular region of 176 eyes. *Japanese journal of ophthalmology*. 1984;28(1):89-102. PubMed PMID: 6748364.
 82. Sarks S. Changes in the region of the choriocapillaris in ageing and degeneration. *Excerpta Medica ICS*. 1979;1(450):324-41.
 83. Sarks SH. Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *The British journal of ophthalmology*. 1976 May;60(5):324-41. PubMed PMID: 952802. Pubmed Central PMCID: 1042725.
 84. RHB G. *The ageing macula and disciform degeneration*. RHB G, editor. Londres: Butterworths; 1991.
 85. Eagle RC, Jr. Mechanisms of maculopathy. *Ophthalmology*. 1984 Jun;91(6):613-25. PubMed PMID: 6205340.
 86. Young RW. Pathophysiology of age-related macular degeneration. *Survey of ophthalmology*. 1987 Mar-Apr;31(5):291-306. PubMed PMID: 3299827.

87. Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, et al. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Survey of ophthalmology*. 1995 Mar-Apr;39(5):367-74. PubMed PMID: 7604360.
88. Ramrattan RS, van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, Mulder PG, de Jong PT. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1994 May;35(6):2857-64. PubMed PMID: 8188481.
89. Okubo A, Rosa RH, Jr., Bunce CV, Alexander RA, Fan JT, Bird AC, et al. The relationships of age changes in retinal pigment epithelium and Bruch's membrane. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1999 Feb;40(2):443-9. PubMed PMID: 9950604.
90. Guymer R, Luthert P, Bird A. Changes in Bruch's membrane and related structures with age. *Progress in retinal and eye research*. 1999 Jan;18(1):59-90. PubMed PMID: 9920499.
91. Bird AC, Marshall J. Retinal pigment epithelial detachments in the elderly. *Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom*. 1986;105 (Pt 6):674-82. PubMed PMID: 3310342.
92. Pauleikhoff D, Harper CA, Marshall J, Bird AC. Aging changes in Bruch's membrane. A histochemical and morphologic study. *Ophthalmology*. 1990 Feb;97(2):171-8. PubMed PMID: 1691475.
93. Holz FG, Sheridah G, Pauleikhoff D, Bird AC. Analysis of lipid deposits extracted from human macular and peripheral Bruch's membrane. *Archives of ophthalmology*. 1994 Mar;112(3):402-6. PubMed PMID: 8129668.

94. Sheraidah G, Steinmetz R, Maguire J, Pauleikhoff D, Marshall J, Bird AC. Correlation between lipids extracted from Bruch's membrane and age. *Ophthalmology*. 1993 Jan;100(1):47-51. PubMed PMID: 8433826.
95. Moore DJ, Hussain AA, Marshall J. Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1995 Jun;36(7):1290-7. PubMed PMID: 7775106.
96. Starita C, Hussain AA, Patmore A, Marshall J. Localization of the site of major resistance to fluid transport in Bruch's membrane. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1997 Mar;38(3):762-7. PubMed PMID: 9071230.
97. Pauleikhoff D, Zuels S, Sheraidah GS, Marshall J, Wessing A, Bird AC. Correlation between biochemical composition and fluorescein binding of deposits in Bruch's membrane. *Ophthalmology*. 1992 Oct;99(10):1548-53. PubMed PMID: 1454321.
98. Gass JD. Pathogenesis of tears of the retinal pigment epithelium. *The British journal of ophthalmology*. 1984 Aug;68(8):513-9. PubMed PMID: 6204685. Pubmed Central PMCID: 1040403.
99. Chuang EL, Bird AC. The pathogenesis of tears of the retinal pigment epithelium. *American journal of ophthalmology*. 1988 Mar 15;105(3):285-90. PubMed PMID: 2449819.
100. Anderson DH, Talaga KC, Rivest AJ, Barron E, Hageman GS, Johnson LV. Characterization of beta amyloid assemblies in drusen: the deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Experimental eye research*. 2004 Feb;78(2):243-56. PubMed PMID: 14729357.
101. Hageman GS, Luthert PJ, Victor Chong NH, Johnson LV, Anderson DH, Mullins RF. An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-

- related macular degeneration. *Progress in retinal and eye research*. 2001 Nov;20(6):705-32. PubMed PMID: 11587915.
102. Hageman GS, Mullins RF, Russell SR, Johnson LV, Anderson DH. Vitronectin is a constituent of ocular drusen and the vitronectin gene is expressed in human retinal pigmented epithelial cells. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1999 Mar;13(3):477-84. PubMed PMID: 10064614.
 103. Isas JM, Luibl V, Johnson LV, Kaye R, Wetzel R, Glabe CG, et al. Soluble and mature amyloid fibrils in drusen deposits. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2010 Mar;51(3):1304-10. PubMed PMID: 19892876. Pubmed Central PMCID: 2840723.
 104. Johnson LV, Leitner WP, Rivest AJ, Staples MK, Radeke MJ, Anderson DH. The Alzheimer's A beta -peptide is deposited at sites of complement activation in pathologic deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002 Sep 3;99(18):11830-5. PubMed PMID: 12189211. Pubmed Central PMCID: 129354.
 105. Wasmuth S, Lueck K, Baehler H, Lommatzsch A, Pauleikhoff D. Increased vitronectin production by complement-stimulated human retinal pigment epithelial cells. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2009 Nov;50(11):5304-9. PubMed PMID: 19407013.
 106. Yoshida T, Ohno-Matsui K, Ichinose S, Sato T, Iwata N, Saido TC, et al. The potential role of amyloid beta in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *The Journal of clinical investigation*. 2005 Oct;115(10):2793-800. PubMed PMID: 16167083. Pubmed Central PMCID: 1201663.
 107. Friedman E, Ts'o MO. The retinal pigment epithelium. II. Histologic changes associated with age. *Archives of ophthalmology*. 1968 Mar;79(3):315-20. PubMed PMID: 5640854.

108. Green WR. Retina. WH S, editor. Filadelfia: WB Saunders Company; 1985. 589-1291 p.
109. Hogan MJ. Role of the retinal pigment epithelium in macular disease. Transactions - American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology. 1972 Jan-Feb;76(1):64-80. PubMed PMID: 5024602.
110. Bhutto I, Lutty G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex. Molecular aspects of medicine. 2012 Aug;33(4):295-317. PubMed PMID: 22542780. Pubmed Central PMCID: 3392421.
111. Bjornsson OM, Syrdalen P, Bird AC, Peto T, Kinge B. The prevalence of age-related maculopathy (ARM) in an urban Norwegian population: the Oslo Macular study. Acta ophthalmologica Scandinavica. 2006 Oct;84(5):636-41. PubMed PMID: 16965494.
112. Jonasson F, Arnarsson A, Sasaki H, Peto T, Sasaki K, Bird AC. The prevalence of age-related maculopathy in iceland: Reykjavik eye study. Archives of ophthalmology. 2003 Mar;121(3):379-85. PubMed PMID: 12617709.
113. Katz ML, Norberg M. Influence of dietary vitamin A on autofluorescence of leupeptin-induced inclusions in the retinal pigment epithelium. Experimental eye research. 1992 Feb;54(2):239-46. PubMed PMID: 1559552.
114. Mata NL, Weng J, Travis GH. Biosynthesis of a major lipofuscin fluorophore in mice and humans with ABCR-mediated retinal and macular degeneration. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2000 Jun 20;97(13):7154-9. PubMed PMID: 10852960. Pubmed Central PMCID: 16515.
115. Steinmetz RL, Garner A, Maguire JI, Bird AC. Histopathology of incipient fundus flavimaculatus. Ophthalmology. 1991 Jun;98(6):953-6. PubMed PMID: 1866150.

116. von Ruckmann A, Fitzke FW, Bird AC. Distribution of fundus autofluorescence with a scanning laser ophthalmoscope. *The British journal of ophthalmology*. 1995 May;79(5):407-12. PubMed PMID: 7612549. Pubmed Central PMCID: 505125.
117. Delori FC, Dorey CK, Staurenghi G, Arend O, Goger DG, Weiter JJ. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1995 Mar;36(3):718-29. PubMed PMID: 7890502.
118. Lois N, Owens SL, Coco R, Hopkins J, Fitzke FW, Bird AC. Fundus autofluorescence in patients with age-related macular degeneration and high risk of visual loss. *American journal of ophthalmology*. 2002 Mar;133(3):341-9. PubMed PMID: 11860971.
119. Holz FG, Bellman C, Staudt S, Schutt F, Volcker HE. Fundus autofluorescence and development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2001 Apr;42(5):1051-6. PubMed PMID: 11274085.
120. Feeney-Burns L, Eldred GE. The fate of the phagosome: conversion to 'age pigment' and impact in human retinal pigment epithelium. *Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom*. 1983;103 (Pt 4):416-21. PubMed PMID: 6589859.
121. Rozanowska M, Korytowski W, Rozanowski B, Skumatz C, Boulton ME, Burke JM, et al. Photoreactivity of aged human RPE melanosomes: a comparison with lipofuscin. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2002 Jul;43(7):2088-96. PubMed PMID: 12091401.
122. Holz FG, Schutt F, Kopitz J, Eldred GE, Kruse FE, Volcker HE, et al. Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1999 Mar;40(3):737-43. PubMed PMID: 10067978.

123. Schutt F, Bergmann M, Holz FG, Kopitz J. Isolation of intact lysosomes from human RPE cells and effects of A2-E on the integrity of the lysosomal and other cellular membranes. *Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. 2002 Dec;240(12):983-8. PubMed PMID: 12483320.
124. Okubo A, Sameshima M, Unoki K, Uehara F, Bird AC. Ultrastructural changes associated with accumulation of inclusion bodies in rat retinal pigment epithelium. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2000 Dec;41(13):4305-12. PubMed PMID: 11095631.
125. Zhou J, Kim SR, Westlund BS, Sparrow JR. Complement activation by bisretinoid constituents of RPE lipofuscin. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2009 Mar;50(3):1392-9. PubMed PMID: 19029031. Pubmed Central PMCID: 2669319.
126. Blaauwgeers HG, Holtkamp GM, Rutten H, Witmer AN, Koolwijk P, Partanen TA, et al. Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris. Evidence for a trophic paracrine relation. *The American journal of pathology*. 1999 Aug;155(2):421-8. PubMed PMID: 10433935. Pubmed Central PMCID: 1866848.
127. Kannan R, Zhang N, Sreekumar PG, Spee CK, Rodriguez A, Barron E, et al. Stimulation of apical and basolateral VEGF-A and VEGF-C secretion by oxidative stress in polarized retinal pigment epithelial cells. *Molecular vision*. 2006;12:1649-59. PubMed PMID: 17200665.
128. Farkas TG. Drusen of the retinal pigment epithelium. *Survey of ophthalmology*. 1971;16:75-87.
129. Farkas TG, Krill AE, Sylvester VM, Archer D. Familial and secondary drusen: histologic and functional correlations. *Transactions - American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology*. 1971 Mar-Apr;75(2):333-43. PubMed PMID: 4104207.

130. Burns RP, Feeney-Burns L. Clinico-morphologic correlations of drusen of Bruch's membrane. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. 1980;78:206-25. PubMed PMID: 6167054. Pubmed Central PMCID: 1312140.
131. Killingsworth MC, Sarks JP, Sarks SH. Macrophages related to Bruch's membrane in age-related macular degeneration. *Eye*. 1990;4 (Pt 4):613-21. PubMed PMID: 2226993.
132. Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Progress in retinal and eye research*. 2003 Jan;22(1):1-29. PubMed PMID: 12597922.
133. Maminishkis A, Chen S, Jalickee S, Banzon T, Shi G, Wang FE, et al. Confluent monolayers of cultured human fetal retinal pigment epithelium exhibit morphology and physiology of native tissue. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2006 Aug;47(8):3612-24. PubMed PMID: 16877436. Pubmed Central PMCID: 1904392.
134. Kvanta A, Algvere PV, Berglin L, Seregard S. Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1996 Aug;37(9):1929-34. PubMed PMID: 8759365.
135. Bhutto IA, McLeod DS, Hasegawa T, Kim SY, Merges C, Tong P, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in aged human choroid and eyes with age-related macular degeneration. *Experimental eye research*. 2006 Jan;82(1):99-110. PubMed PMID: 16019000.
136. Miller H, Miller B, Ishibashi T, Ryan SJ. Pathogenesis of laser-induced choroidal subretinal neovascularization. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1990 May;31(5):899-908. PubMed PMID: 1692312.
137. Ogata N, Wada M, Otsuji T, Jo N, Tombran-Tink J, Matsumura M. Expression of pigment epithelium-derived factor in normal adult rat eye and experimental

- choroidal neovascularization. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2002 Apr;43(4):1168-75. PubMed PMID: 11923262.
138. Renno RZ, Youssri AI, Michaud N, Gragoudas ES, Miller JW. Expression of pigment epithelium-derived factor in experimental choroidal neovascularization. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2002 May;43(5):1574-80. PubMed PMID: 11980876.
139. Shi XH, He SZ, Zhao SH. [Expression and signification of pigment epithelium-derived factor in experimental choroidal neovascularization of rat]. [*Zhonghua yan ke za zhi*] Chinese journal of ophthalmology. 2004 Jun;40(6):404-8. PubMed PMID: 15312607.
140. Wada M, Ogata N, Otsuji T, Uyama M. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor (KDR/flk-1) mRNA in experimental choroidal neovascularization. *Current eye research*. 1999 Mar;18(3):203-13. PubMed PMID: 10342375.
141. Yamagishi K, Ohkuma H, Itagaki T, Katoh N, Takahashi K, Uyama M. [Implication of retinal pigment epithelium on experimental subretinal neovascularization in the developmental stage]. *Nippon Ganka Gakkai zasshi*. 1988 Oct;92(10):1629-36. PubMed PMID: 2463748.
142. Gass JD. Pathogenesis of disciform detachment of the neuroepithelium. *American journal of ophthalmology*. 1967 Mar;63(3):Suppl:1-139. PubMed PMID: 6019308.
143. Green WR, McDonnell PJ, Yeo JH. Pathologic features of senile macular degeneration. *Ophthalmology*. 1985 May;92(5):615-27. PubMed PMID: 2409504.
144. Klein R, Lewis RA, Meyers SM, Myers FL. Subretinal neovascularization associated with fundus flavimaculatus. *Archives of ophthalmology*. 1978 Nov;96(11):2054-7. PubMed PMID: 718494.

145. Sarks SH. Council Lecture. Drusen and their relationship to senile macular degeneration. *Australian journal of ophthalmology*. 1980 May;8(2):117-30. PubMed PMID: 6160841.
146. Yannuzzi LA. Indocyanine green angiography: a perspective on use in the clinical setting. *American journal of ophthalmology*. 2011 May;151(5):745-51 e1. PubMed PMID: 21501704.
147. Griño García-Pardo C, Lugo Quintás F, León M, Ligeró S, Ruiz-Moreno JM, Montero Moreno J. Tomografía de Coherencia óptica (OCT). Funcionamiento y utilidad en patología macular (I). *Gaceta Optica*. 2008;427:12-4.
148. Ruiz-Moreno JM, Arias-Barquet L, Armada-Maresca F, Boixadera-Espax A, Garcia-Layana A, Gomez-Ulla-de-Irazazabal F, et al. [Guidelines of clinical practice of the SERV: treatment of exudative age-related macular degeneration (AMD)]. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 2009 Jul;84(7):333-44. PubMed PMID: 19658051. Guías de practica clinica de la SERV: tratamiento de la degeneracion macular asociada a la edad (DMAE) exudativa.
149. Griño García-Pardo C, Lugo Quintás F, León M, Ligeró S, Ruiz-Moreno JM, Montero Moreno J. Tomografía de Coherencia Optica (OCT). Funcionamiento y utilidad en patología macular (III). *Gaceta Optica*. 2008;429:12-5.
150. Freund KB, Zweifel SA, Engelbert M. Do we need a new classification for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration? *Retina*. 2010 Oct;30(9):1333-49. PubMed PMID: 20924258.
151. Gass JD. Biomicroscopic and histopathologic considerations regarding the feasibility of surgical excision of subfoveal neovascular membranes. *American journal of ophthalmology*. 1994 Sep 15;118(3):285-98. PubMed PMID: 7521987.
152. Grossniklaus HE, Gass JD. Clinicopathologic correlations of surgically excised type 1 and type 2 submacular choroidal neovascular membranes. *American journal of ophthalmology*. 1998 Jul;126(1):59-69. PubMed PMID: 9683150.

153. Russell SR, Mullins RF, Schneider BL, Hageman GS. Location, substructure, and composition of basal laminar drusen compared with drusen associated with aging and age-related macular degeneration. *American journal of ophthalmology*. 2000 Feb;129(2):205-14. PubMed PMID: 10682974.
154. Souied EH, Leveziel N, Letien V, Darmon J, Coscas G, Soubrane G. Optical coherent tomography features of malattia leventinese. *American journal of ophthalmology*. 2006 Feb;141(2):404-7. PubMed PMID: 16458713.
155. Booi JC, Baas DC, Beisekeeva J, Gorgels TG, Bergen AA. The dynamic nature of Bruch's membrane. *Progress in retinal and eye research*. 2010 Jan;29(1):1-18. PubMed PMID: 19747980.
156. Anderson DH, Radeke MJ, Gallo NB, Chapin EA, Johnson PT, Curletti CR, et al. The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited. *Progress in retinal and eye research*. 2010 Mar;29(2):95-112. PubMed PMID: 19961953. Pubmed Central PMCID: 3641842.
157. Green WR, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies. The 1992 Lorenz E. Zimmerman Lecture. *Ophthalmology*. 1993 Oct;100(10):1519-35. PubMed PMID: 7692366.
158. Chang LK, Spaide RF, Brue C, Freund KB, Klancnik JM, Jr., Slakter JS. Bevacizumab treatment for subfoveal choroidal neovascularization from causes other than age-related macular degeneration. *Archives of ophthalmology*. 2008 Jul;126(7):941-5. PubMed PMID: 18625940.
159. Bhatnagar P, Freund KB, Spaide RF, Klancnik JM, Jr., Cooney MJ, Ho I, et al. Intravitreal bevacizumab for the management of choroidal neovascularization in pseudoxanthoma elasticum. *Retina*. 2007 Sep;27(7):897-902. PubMed PMID: 17891014.

160. Zweifel SA, Imamura Y, Freund KB, Spaide RF. Multimodal fundus imaging of pseudoxanthoma elasticum. *Retina*. 2011 Mar;31(3):482-91. PubMed PMID: 20966826.
161. Grossniklaus HE, Green WR. Choroidal neovascularization. *American journal of ophthalmology*. 2004 Mar;137(3):496-503. PubMed PMID: 15013874.
162. Engelbert M, Zweifel SA, Freund KB. Long-term follow-up for type 1 (subretinal pigment epithelium) neovascularization using a modified "treat and extend" dosing regimen of intravitreal antivascular endothelial growth factor therapy. *Retina*. 2010 Oct;30(9):1368-75. PubMed PMID: 20517175.
163. Spaide RF. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of retinal pigment epithelial detachment in age-related macular degeneration. *American journal of ophthalmology*. 2009 Apr;147(4):644-52. PubMed PMID: 19152869.
164. Yannuzzi LA, Sorenson J, Spaide RF, Lipson B. Idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy (IPCV). *Retina*. 1990;10(1):1-8. PubMed PMID: 1693009.
165. Cho M, Barbazetto IA, Freund KB. Refractory neovascular age-related macular degeneration secondary to polypoidal choroidal vasculopathy. *American journal of ophthalmology*. 2009 Jul;148(1):70-8 e1. PubMed PMID: 19403115.
166. Spaide RF, Leys A, Herrmann-Delemazure B, Stalmans P, Tittl M, Yannuzzi LA, et al. Radiation-associated choroidal neovascuopathy. *Ophthalmology*. 1999 Dec;106(12):2254-60. PubMed PMID: 10599654.
167. Freund KB, Yannuzzi LA, Sorenson JA. Age-related macular degeneration and choroidal neovascularization. *American journal of ophthalmology*. 1993 Jun 15;115(6):786-91. PubMed PMID: 7685148.
168. Zweifel SA, Spaide RF, Curcio CA, Malek G, Imamura Y. Reticular pseudodrusen are subretinal drusenoid deposits. *Ophthalmology*. 2010 Feb;117(2):303-12 e1. PubMed PMID: 19815280.

169. Kuhn D, Meunier I, Soubrane G, Coscas G. Imaging of chorioretinal anastomoses in vascularized retinal pigment epithelium detachments. *Archives of ophthalmology*. 1995 Nov;113(11):1392-8. PubMed PMID: 7487600.
170. Slakter JS, Yannuzzi LA, Schneider U, Sorenson JA, Ciardella A, Guyer DR, et al. Retinal choroidal anastomoses and occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2000 Apr;107(4):742-53; discussion 53-4. PubMed PMID: 10768338.
171. Freund KB, Ho IV, Barbazetto IA, Koizumi H, Laud K, Ferrara D, et al. Type 3 neovascularization: the expanded spectrum of retinal angiomatous proliferation. *Retina*. 2008 Feb;28(2):201-11. PubMed PMID: 18301024.
172. Freund KB, Klais CM, Eandi CM, Ober MD, Goldberg DE, Sorenson JA, et al. Sequenced combined intravitreal triamcinolone and indocyanine green angiography-guided photodynamic therapy for retinal angiomatous proliferation. *Archives of ophthalmology*. 2006 Apr;124(4):487-92. PubMed PMID: 16606873.
173. Engelbert M, Zweifel SA, Freund KB. "Treat and extend" dosing of intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy for type 3 neovascularization/retinal angiomatous proliferation. *Retina*. 2009 Nov-Dec;29(10):1424-31. PubMed PMID: 19898180.
174. Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy. Five-year results from randomized clinical trials. Macular Photocoagulation Study Group. *Archives of ophthalmology*. 1991 Aug;109(8):1109-14. PubMed PMID: 1714270.
175. Argon green vs krypton red laser photocoagulation for extrafoveal choroidal neovascularization. One-year results in ocular histoplasmosis. The Canadian Ophthalmology Study Group. *Archives of ophthalmology*. 1994 Sep;112(9):1166-73. PubMed PMID: 7522003.
176. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. Macular Photocoagulation

- Study Group. Archives of ophthalmology. 1991 Sep;109(9):1220-31. PubMed PMID: 1718250.
177. Bhatt NS, Al-Shirawi NM, Diamond JG. Krypton laser photocoagulation of peripapillary choroidal neovascular membrane. Ophthalmic surgery and lasers. 1999 Jan;30(1):56-8. PubMed PMID: 9923495.
 178. Lai TY, Chan WM, Lam DS. Laser photocoagulation of indocyanine green angiographically identified feeder vessels to idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy. American journal of ophthalmology. 2004 Oct;138(4):693-4; author reply 4. PubMed PMID: 15488830.
 179. Johnson TM, Glaser BM. Focal laser ablation of retinal angiomatous proliferation. Retina. 2006 Sep;26(7):765-72. PubMed PMID: 16963849.
 180. Roth DB, Scott IU, Gloth JM, Green SN, Yarian DL, Wheatley M. Micropulsed laser photocoagulation and intravitreal triamcinolone acetonide injection for the treatment of retinal angiomatous proliferation. Retina. 2007 Nov-Dec;27(9):1201-4. PubMed PMID: 18046225.
 181. Merrill PT, LoRusso FJ, Lomeo MD, Saxe SJ, Khan MM, Lambert HM. Surgical removal of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. Ophthalmology. 1999 Apr;106(4):782-9. PubMed PMID: 10201603.
 182. Kokame GT, Yamaoka S. Subretinal surgery for peripapillary subretinal neovascular membranes. Retina. 2005 Jul-Aug;25(5):564-9. PubMed PMID: 16077351.
 183. Granville DJ, Jiang H, McManus BM, Hunt DW. Fas ligand and TRAIL augment the effect of photodynamic therapy on the induction of apoptosis in JURKAT cells. International immunopharmacology. 2001 Sep;1(9-10):1831-40. PubMed PMID: 11562074.
 184. Fingar VH. Vascular effects of photodynamic therapy. Journal of clinical laser medicine & surgery. 1996 Oct;14(5):323-8. PubMed PMID: 9612199.

185. Benjamin LE, Golijanin D, Itin A, Pode D, Keshet E. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *The Journal of clinical investigation*. 1999 Jan;103(2):159-65. PubMed PMID: 9916127. Pubmed Central PMCID: 407882.
186. Kaiser PK, TAP S. Five-year results of verteporfin therapy for subfoveal CNV due to AMD: third year of an open-label extension of the TAP investigation. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003:1099.
187. Campochiaro PA. Retinal and choroidal neovascularization. *Journal of cellular physiology*. 2000 Sep;184(3):301-10. PubMed PMID: 10911360.
188. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical science*. 2005 Sep;109(3):227-41. PubMed PMID: 16104843.
189. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET, Jr., Feinsod M, Guyer DR, Group VISiONCT. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *The New England journal of medicine*. 2004 Dec 30;351(27):2805-16. PubMed PMID: 15625332.
190. Bañuelos J, Garcia M, Gil P, Arias A. Farmacología ocular. Ponencia Oficial. LXXXIII de la Sociedad Española de Oftalmología 2007.
191. Ruckman J, Green LS, Beeson J, Waugh S, Gillette WL, Henninger DD, et al. 2'-Fluoropyrimidine RNA-based aptamers to the 165-amino acid form of vascular endothelial growth factor (VEGF165). Inhibition of receptor binding and VEGF-induced vascular permeability through interactions requiring the exon 7-encoded domain. *The Journal of biological chemistry*. 1998 Aug 7;273(32):20556-67. PubMed PMID: 9685413.
192. Jager RD, Aiello LP, Patel SC, Cunningham ET, Jr. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. *Retina*. 2004 Oct;24(5):676-98. PubMed PMID: 15492621.

193. Gaudreault J, Fei D, Beyer JC, Ryan A, Rangell L, Shiu V, et al. Pharmacokinetics and retinal distribution of ranibizumab, a humanized antibody fragment directed against VEGF-A, following intravitreal administration in rabbits. *Retina*. 2007 Nov-Dec;27(9):1260-6. PubMed PMID: 18046235.
194. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic surgery, lasers & imaging : the official journal of the International Society for Imaging in the Eye*. 2005 Jul-Aug;36(4):331-5. PubMed PMID: 16156152.
195. Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, Pulido JS, Singh RJ. Pharmacokinetics of intravitreal bevacizumab (Avastin). *Ophthalmology*. 2007 May;114(5):855-9. PubMed PMID: 17467524.
196. Economides AN, Carpenter LR, Rudge JS, Wong V, Koehler-Stec EM, Hartnett C, et al. Cytokine traps: multi-component, high-affinity blockers of cytokine action. *Nature medicine*. 2003 Jan;9(1):47-52. PubMed PMID: 12483208.
197. Pharmaceuticals R. Investigator's brochure VEGF Trap Intravitreal Administration. 2005.
198. C Q. Aflibercept (AVE0005): an alternative strategy for inhibiting tumour angiogenesis by vascular endothelial growth factors. *Expert Opin Biol Ther*. 2009;263-71.
199. Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, et al. VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002 Aug 20;99(17):11393-8. PubMed PMID: 12177445. Pubmed Central PMCID: 123267.
200. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and

- angiogenesis. *The American journal of pathology*. 1995 May;146(5):1029-39. PubMed PMID: 7538264. Pubmed Central PMCID: 1869291.
201. Pharmaceuticals R. VEGF Trap-Eye (aflibercept ophthalmic solution). In: Document B, editor. 2011.
 202. Regeneron announces FDA approval of EYLEA (aflibercept) injection for the treatment of wet age-related macular degeneration 2011. Available from: <http://newsroom.regeneron.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=625771>.
 203. Highlights of prescribing information: EYLEA (afilbercept) injection for intravitreal injection initial U.S. Approval 2011. Available from: <http://www.regeneron.com/Eylea/eylea-fpi.pdf>.
 204. Mitchell P, Korobelnik JF, Lanzetta P, Holz FG, Prunte C, Schmidt-Erfurth U, et al. Ranibizumab (Lucentis) in neovascular age-related macular degeneration: evidence from clinical trials. *The British journal of ophthalmology*. 2010 Jan;94(1):2-13. PubMed PMID: 19443462.
 205. Recurrent choroidal neovascularization after argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy. Macular Photocoagulation Study Group. *Archives of ophthalmology*. 1986 Apr;104(4):503-12. PubMed PMID: 2420315.
 206. Subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration. Guidelines for evaluation and treatment in the macular photocoagulation study. Macular Photocoagulation Study Group. *Archives of ophthalmology*. 1991 Sep;109(9):1242-57. PubMed PMID: 1718252.
 207. Laser photocoagulation of subfoveal recurrent neovascular lesions in age-related macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. Macular Photocoagulation Study Group. *Archives of ophthalmology*. 1991 Sep;109(9):1232-41. PubMed PMID: 1718251.
 208. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions of age-related macular degeneration. Updated findings from two clinical trials. Macular Photocoagulation

- Study Group. Archives of ophthalmology. 1993 Sep;111(9):1200-9. PubMed PMID: 7689827.
209. Bressler NM, Frost LA, Bressler SB, Murphy RP, Fine SL. Natural course of poorly defined choroidal neovascularization associated with macular degeneration. Archives of ophthalmology. 1988 Nov;106(11):1537-42. PubMed PMID: 2461191.
210. Bressler SB, Silva JC, Bressler NM, Alexander J, Green WR. Clinicopathologic correlation of occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. 1992. Retina. 2005 Jul-Aug;25(5 Suppl):827-32. PubMed PMID: 16049367.
211. Stanga PE, Lim JJ, Hamilton P. Indocyanine green angiography in chorioretinal diseases: indications and interpretation: an evidence-based update. Ophthalmology. 2003 Jan;110(1):15-21; quiz 2-3. PubMed PMID: 12511340.
212. Bloch SB, Larsen M, Munch IC. Incidence of legal blindness from age-related macular degeneration in denmark: year 2000 to 2010. American journal of ophthalmology. 2012 Feb;153(2):209-13 e2. PubMed PMID: 22264944.
213. Klein R, Klein BE, Moss SE, Linton KL. The Beaver Dam Eye Study. Retinopathy in adults with newly discovered and previously diagnosed diabetes mellitus. Ophthalmology. 1992 Jan;99(1):58-62. PubMed PMID: 1741141.
214. Smith W, Mitchell P, Leeder SR. Smoking and age-related maculopathy. The Blue Mountains Eye Study. Archives of ophthalmology. 1996 Dec;114(12):1518-23. PubMed PMID: 8953988.
215. De Jong PT, Klaver CC, Wolfs RC, Assink JJ, Hofman A. Familial aggregation of age-related maculopathy. American journal of ophthalmology. 1997 Dec;124(6):862-3. PubMed PMID: 9402844.
216. Heiba IM, Elston RC, Klein BE, Klein R. Sibling correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. Genetic epidemiology. 1994;11(1):51-67. PubMed PMID: 8013888.

217. Klaver CC, Wolfs RC, Assink JJ, van Duijn CM, Hofman A, de Jong PT. Genetic risk of age-related maculopathy. Population-based familial aggregation study. *Archives of ophthalmology*. 1998 Dec;116(12):1646-51. PubMed PMID: 9869796.
218. Seddon JM, Ajani UA, Mitchell BD. Familial aggregation of age-related maculopathy. *American journal of ophthalmology*. 1997 Feb;123(2):199-206. PubMed PMID: 9186125.
219. Traboulsi EI. The challenges and surprises of studying the genetics of age-related macular degeneration. *American journal of ophthalmology*. 2005 May;139(5):908-11. PubMed PMID: 15860299.
220. Tuo J, Bojanowski CM, Chan CC. Genetic factors of age-related macular degeneration. *Progress in retinal and eye research*. 2004 Mar;23(2):229-49. PubMed PMID: 15094132. Pubmed Central PMCID: 1950336.
221. Bok D. Evidence for an inflammatory process in age-related macular degeneration gains new support. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005 May 17;102(20):7053-4. PubMed PMID: 15886281. Pubmed Central PMCID: 1129150.
222. Conley YP, Thalamuthu A, Jakobsdottir J, Weeks DE, Mah T, Ferrell RE, et al. Candidate gene analysis suggests a role for fatty acid biosynthesis and regulation of the complement system in the etiology of age-related maculopathy. *Human molecular genetics*. 2005 Jul 15;14(14):1991-2002. PubMed PMID: 15930014.
223. Edwards AO, Ritter R, 3rd, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science*. 2005 Apr 15;308(5720):421-4. PubMed PMID: 15761121.
224. Hageman GS, Anderson DH, Johnson LV, Hancox LS, Taiber AJ, Hardisty LI, et al. A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005 May

- 17;102(20):7227-32. PubMed PMID: 15870199. Pubmed Central PMCID: 1088171.
225. Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, et al. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science*. 2005 Apr 15;308(5720):419-21. PubMed PMID: 15761120.
226. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science*. 2005 Apr 15;308(5720):385-9. PubMed PMID: 15761122. Pubmed Central PMCID: 1512523.
227. Kuehn BM. Gene discovery provides clues to cause of age-related macular degeneration. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2005 Apr 20;293(15):1841-5. PubMed PMID: 15840844.
228. Zarepari S, Branham KE, Li M, Shah S, Klein RJ, Ott J, et al. Strong association of the Y402H variant in complement factor H at 1q32 with susceptibility to age-related macular degeneration. *American journal of human genetics*. 2005 Jul;77(1):149-53. PubMed PMID: 15895326. Pubmed Central PMCID: 1226187.
229. Leveziel N, Puche N, Richard F, Somner JE, Zerbib J, Bastuji-Garin S, et al. Genotypic influences on severity of exudative age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2010 May;51(5):2620-5. PubMed PMID: 20042647.
230. Leveziel N, Souied EH, Richard F, Barbu V, Zourdani A, Morineau G, et al. PLEKHA1-LOC387715-HTRA1 polymorphisms and exudative age-related macular degeneration in the French population. *Molecular vision*. 2007;13:2153-9. PubMed PMID: 18079691.
231. Lu F, Hu J, Zhao P, Lin Y, Yang Y, Liu X, et al. HTRA1 variant increases risk to neovascular age-related macular degeneration in Chinese population. *Vision research*. 2007 Nov;47(24):3120-3. PubMed PMID: 17904186.

232. Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, Keilhauer CN, Lichtner P, Meitinger T, et al. Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Human molecular genetics*. 2005 Nov 1;14(21):3227-36. PubMed PMID: 16174643.
233. Yang Z, Camp NJ, Sun H, Tong Z, Gibbs D, Cameron DJ, et al. A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science*. 2006 Nov 10;314(5801):992-3. PubMed PMID: 17053109.
234. Brantley MA, Jr., Fang AM, King JM, Tewari A, Kymes SM, Shiels A. Association of complement factor H and LOC387715 genotypes with response of exudative age-related macular degeneration to intravitreal bevacizumab. *Ophthalmology*. 2007 Dec;114(12):2168-73. PubMed PMID: 18054635.
235. Lee AY, Raya AK, Kymes SM, Shiels A, Brantley MA, Jr. Pharmacogenetics of complement factor H (Y402H) and treatment of exudative age-related macular degeneration with ranibizumab. *The British journal of ophthalmology*. 2009 May;93(5):610-3. PubMed PMID: 19091853. Pubmed Central PMCID: 3490485.