CONCENTRACIÓN DE ERITROPOYETINA EN EL VÍTREO DE PACIENTES CON RETINOPATÍA DIABÉTICA PROLIFERANTE

ERYTHROPOIETIN CONCENTRATIONS IN THE VITREOUS BODY FROM PATIENTS WITH PROLIFERATIVE DIABETIC RETINOPATHY

ASENSIO-SÁNCHEZ VM¹, GÓMEZ-RAMÍREZ V², MORALES-GÓMEZ I²

RESUMEN

Objetivo: Determinar los niveles de eritropoyetina (Epo) en el vítreo de pacientes con retinopatía diabética proliferante (RDP).

Material y método: Mediante vitrectomía vía pars plana, se recogieron muestras no diluidas de vítreo de 44 pacientes sin antecedentes de cirugía vítrea o intraocular previa, que fueron divididos en dos grupos: A (n=24) pacientes con RDP y B (n=20) pacientes con desprendimiento de retina, membrana premacular y agujero macular.

La concentración de Epo se determinó mediante radioinmunoensayo.

Resultados: La concentración vítrea de Epo en el grupo A fue 512 mU/mL (rango 120-880) y en el grupo B fue 25,1 mU/ml (rango 5,2-201) ($p < 0,001$).

Conclusiones: Estos resultados demuestran que la concentración vítrea de Epo está más elevada en los pacientes con RDP en comparación con el grupo control.

Palabras clave: Diabetes, hipoxia, neuroprotección, angiogénesis, eritropoyetina, retinopatía diabética proliferante.

ABSTRACT

Objective: To measure erythropoietin (Epo) levels in the vitreous body from patients with proliferative diabetic retinopathy (PDR).

Patients and methods: Undiluted vitreous samples were obtained from 44 patients who had not undergone prior vitreous or intraocular surgery. Patients were divided into two groups: A (n= 24) patients with PDR and B (n= 20) patients with retinal detachment, preretinal macular membranes and macular holes.

Epo was determined using radioimmunoassay.

Results: Epo vitreous concentration in group A was 512 mU/mL (range 120-880) and in group B was 25.1 mU/mL (range 5.2-201) ($p < 0.001$).

Conclusions: These results show that the concentration of Epo in the vitreous body was significantly higher in patients with PDR than in the control group (*Arch Soc Esp Oftalmol* 2008; 83: 169-172).

Key words: Diabetes, hypoxia, neuroprotection, angiogenesis, erythropoietin, proliferative diabetic retinopathy.

Recibido: 16/3/07. Aceptado: 17/1/08.

Hospital General. Medina del Campo. Valladolid. España.

¹ Doctor en Medicina.

² Licenciado en Medicina.

Correspondencia:

V.M. Asensio Sánchez

Hospital General Servicio Castellano-Leonés de Salud

Servicio de Oftalmología

Medina del Campo (Valladolid)

España

E-mail: vasensio@hmdc.sacyl.es

INTRODUCCIÓN

En 1989 se descubrió y clonó el factor de crecimiento vasculo-endotelial (VEGF) clave en el desarrollo de la neovascularización retiniana (1). Los estudios han demostrado correlación entre los niveles de VEGF y gravedad de la retinopatía diabética proliferante (RDP), así como un descenso de sus niveles después de un tratamiento con éxito de la RDP (2). La inhibición del VEGF no se asocia a regresión total de la neovascularización retiniana secundaria a RDP, por lo que otros factores angiogénicos son liberados en los pacientes diabéticos (3,4). Recientemente se ha relacionado a la eritropoyetina con enfermedades retinianas isquémicas como la RDP (5,6). El objeto de este trabajo es determinar los niveles vítreos de Epo en pacientes con RDP en comparación con pacientes no diabéticos.

SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación y Docencia de nuestro hospital. Los pacientes se reclutaron de la consulta de retina. Se estudiaron 44 ojos de 44 pacientes que se clasificaron en dos grupos: grupo A con RDP (n= 24) y grupo B con patología vítreo-retiniana no diabética (n= 20) (tabla I y II).

Los criterios de inclusión para los pacientes del grupo A fueron:

- Aceptar participar en el estudio con firma del consentimiento informado.
- Diabetes mellitus tratada por médico de atención primaria, internista o endocrinólogo.

Tabla I. Características del grupo A (n=24)

Edad, años (DE)	60,8 DE 12,4
Sexo (V/M)	17/7
HgbA1c%	8,5 DE 1,2
Duración de Diabetes, años	14,6 DE 7,8
RDP Ac/Qu	16/8

V: varón; M: mujer; HgbA1c: Hemoglobina glicosilada; RDP Ac/Qu: Retinopatía diabética proliferante Activa/Quiescente; DE: desviación estándar.

Tabla II. Características del grupo B (n=20)

Edad, años (DE)	68,7 DE 11,7
Sexo (V/M)	8/12
DdR	12
AM	5
MpR	3

V: varón; M: mujer; DdR: desprendimiento de retina; AM: agujero macular; MpR: membrana pre-retiniana; DE: desviación estándar.

— Diagnóstico de RDP, clasificada como activa (mayor componente vascular) o quiescente (mayor componente fibroso) (2,3).

— Poder acceder a su historial clínico.

Los criterios de inclusión para los pacientes del grupo B fueron:

— Aceptar participar en el estudio con firma del consentimiento informado.

— No diagnóstico de diabetes mellitus con curva de glucemia normal.

— Poder acceder a su historial clínico.

Los criterios de exclusión eran los pacientes con vitrectomía previa, glaucoma y otros procesos vasculares. También se desecharon aquellas muestras con sangrado.

Después de realizar tres esclerotomías y de colocar la cánula de infusión, se introdujo el vitreotomo en el cuerpo vítreo central, obteniéndose una muestra no diluida entre 0,3-0,5 mL en una jeringa, procediéndose después a abrir la infusión y realizar la vitrectomía 20G o 25G. Las muestras se enviaron al laboratorio de bioquímica, donde se congelaron a -80°C hasta el análisis. La determinación de los niveles de Epo se realizó con radioinmunoensayo.

Estudio estadístico: los datos individuales se estudiaron según el análisis global de Kruskal-Wallis, y cuando los valores resultaron estadísticamente significativos ($p<0,05$) se realizó un estudio comparativo individual con el test no paramétrico de Mann-Whitney. Todos los datos se procesaron estadísticamente mediante el programa SPSS 10.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc, Chicago, USA).

RESULTADOS

La media de Epo en vítreo de los pacientes del grupo A fue 512 mU/mL (rango entre 120 y 880) y en los pacientes del grupo B fue 25,1 mU/mL (rango entre 5,2 y 201) ($p<0,001$). Los pacientes del grupo A con RDP activa tenían unos niveles vítreos de 462 mU/mL (rango entre 350 y 880) y los niveles del grupo A con RDP quiescente eran de 248 mU/mL (rango entre 120 y 260) ($p<0,001$).

DISCUSIÓN

La función de los tejidos depende de un adecuado aporte de oxígeno por los vasos. La hipoxia induce mecanismos de adaptación a nivel local y

sistémico que son controlados por factores hipoxia-inducibles como el VEGF y la Epo, entre otros (6). La Epo es una glucoproteína multifuncional cuya concentración en los tejidos es regulada por la hipoxia (8-10) y que estimula la formación de glóbulos rojos aumentando su proliferación y diferenciación y evitando la apoptosis de los precursores de los eritrocitos (10,11). El mayor estímulo que regula la producción de eritropoyetina es la hipoxia (12,13). El cerebro y la retina tienen un sistema paracrino de producción de Epo y sus receptores, sugiriendo que la Epo protege a las neuronas de apoptosis por daño isquémico (9-13). La Epo también muestra actividad angiogénica estimulando la proliferación y migración de las células endoteliales (14). La Epo aumenta en situaciones de hipoxia por un mecanismo celular idéntico al del VEGF, incluido el factor hipoxia inducible (15,16). En este trabajo se estudió la eritropoyetina en el vítreo de pacientes con retinopatía diabética proliferante y en pacientes sin retinopatía diabética, los niveles de Epo en el vítreo fueron significativamente más elevados en los pacientes con RDP que en los pacientes no diabéticos. Además, los valores de Epo en los pacientes con RDP activa fueron significativamente mayores que en los pacientes con RDP quiescente (3). Con análisis de regresión múltiple, Watanabe et al (3) determinaron que la Epo era un factor angiogénico independiente del VEGF en pacientes con RDP y que su acción está más fuertemente asociada con la RDP que el VEGF. No encontraron correlación significativa entre los niveles de eritropoyetina en el vítreo y en el plasma. Hernández et al (17) en 12 pacientes con RDP encontraron concentraciones vítreas de Epo 30 veces superiores a las del suero, por lo que parece claro que la Epo se produce localmente en la retina. La Epo es un factor angiogénico retiniano potente independiente del VEGF y que es capaz de estimular la angiogénesis retiniana en la retinopatía diabética proliferante (3). Otras evidencias apoyan el papel de la Epo en la RDP. La Epo en el vítreo de pacientes con RDP estimula la proliferación de las células endoteliales retinianas de forma dosis dependiente (18,19). El bloqueo de la Epo inhibe el crecimiento celular tan eficientemente como el del VEGF, sugiriendo que la Epo tiene una potencia angiogénica equivalente a la del VEGF en pacientes con RDP. Aunque el VEGF es el mediador fundamental de la angiogénesis retiniana, en ciertos pacientes su bloqueo es insuficiente para prevenir la neovascularización (3,4), por lo que

otros factores angiogénicos como la Epo deben considerarse en la fisiopatología de la RDP.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004; 25: 581-611.
2. Aiello LP, Avery RL, Arring PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994; 331: 1480-1487.
3. Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, Kurimoto M, Kiryu J, Kita M, et al. Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2005; 353: 782-792.
4. Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, et al. Intravitreal bevacizumab (avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 2006; 113: 1695-1705.
5. Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, Takagi H, Chen H, Riddle L, et al. Supresion of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 10457-10461.
6. Inomata Y, Hirata A, Takahashi E, Kawaji T, Fukushima M, Tanihara H. Elevated erythropoietin in vitreous with ischemic retinal diseases. *Neuroreport* 2004; 15: 877-879.
7. Katsura Y, Okano T, Matsuno K, Osako M, Kure M, Watanabe T, et al. Erythropoietin is highly elevated in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2005; 28: 2252-2254.
8. Masuda S, Nagao M, Takahata K, Konishi Y, Gallyas F Jr, Tabira T, et al. Functional erythropoietin receptor of the cells with neural characteristics: comparison with receptor properties of erythroid cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 11208-11216.
9. Morishita E, Masuda S, Nagao M, Yasuda Y, Sasaki R. Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death. *Neuroscience* 1997; 76: 105-116.
10. Krantz SB. Erythropoietin. *Blood* 1991; 77: 419-434.
11. Jelkmann W. Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol Rev* 1992; 72: 449-489.
12. Ruscher K, Freyer D, Karsch M, Isaev N, Megow D, Sawitzki B, et al. Erythropoietin is a paracrine mediator of ischemic tolerance in the brain: evidence from an in vitro model. *J Neurosci* 2000; 22: 10291-10301.
13. Masuda S, Okano M, Yamagishi K, Nagao M, Ueda M, Sasaki R. A novel site of erythropoietin production: oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes. *J Biol Chem* 1994; 269: 19488-19493.
14. Anagnostou A, Liu Z, Steiner M, et al. Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 3974-3978.
15. Rondon IJ, MacMillan LA, Beckman BS, et al. Hypoxia up-regulates the activity of a novel erythropoietin mRNA binding protein. *J Biol Chem* 1991; 266: 16594-16598.

16. Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 5447-5454.
17. Hernández C, Fonollosa A, García-Ramírez M, Higuera M, Catalán R, Miralles A, et al. Erythropoietin is expressed in the human retina and it is highly elevated in the vitreous fluid of patients with diabetic macular edema. *Diabetes Care* 2006; 29: 2028-2033.
18. Chow J, Ogunshola O, Fan SY, Li Y, Ment LR, Madri JA. Astrocyte-derived VEGF mediates survival and tube stabilization of hypoxic brain microvascular endothelial cells in vitro. *Brain Res Dev Brain Res* 2001; 130: 123-132.
19. Ashley RA, Dubuque SH, Dvorak B, Woodward SS, Williams SK, Kling PJ. Erythropoietin stimulates vasculogenesis in neonatal rat mesenteric microvascular endothelial cells. *Pediatr Res* 2002; 51: 472-478.