



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

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

Marc Figueras Roca

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

The background of the cover is a microscopic image of retinal cells, showing a network of interconnected cells with distinct nuclei and cytoplasm. The image is overlaid with a semi-transparent teal color, which is darker at the bottom where the text is located. The overall appearance is that of a scientific or medical document.

Tesi Doctoral

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

Marc Figueras Roca

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

TESI DOCTORAL

Marc Figueras Roca

dirigida per:
Alfredo Adán Civera



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Universitat de Barcelona
Facultat de Medicina

2018

AGRAÏMENTS

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

Edoardo Jäger, 1855-56

Primera descripció històrica de l'edema macular diabètic

ÍNDEX

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

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

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

LLISTAT DE FIGURES

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

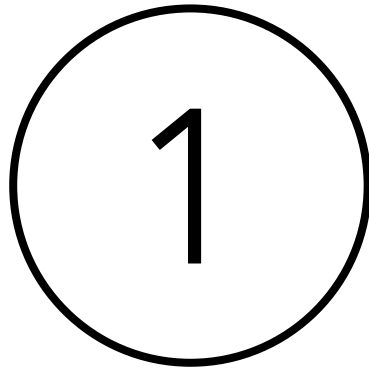
LLISTAT DE TAULES

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

GLOSSARI

(Sigles i abreviacions més emprades)

AFCA: angiografia fluoresceínica retinal de camp ampli
AGF: angiografia fluoresceínica retinal
Angio-OCT: angiografia retinal per tomografia de coherència òptica
AV: agudesa visual
BHR: barrera hemato-retinal
DM: Diabetis Mellitus
DM2: Diabetis Mellitus tipus 2
DSR: despreniment serós retinal
EMD: edema macular diabètic
EDR: engruiximent difús retinal
EMQ: edema macular quístic
EPR: epiteli pigmentari de la retina
GCS: gruix central subfoveal
HbA_{1c}: hemoglobina glicada A_{1c}
HTA: hipertensió arterial
IL: interleucina
IQR: rang interquartílic
IRMA: anomalia vascular intraretinal
IRP: isquèmia retinal perifèrica
MAVC: millor agudesa visual corregida
MEM: membrana epirretinal macular
NV: neovasos retinals
OCT: tomografia de coherència òptica
RD: retinopatia diabètica
RDNP: retinopatia diabètica no proliferativa
RDP: retinopatia diabètica proliferativa
RNS: retina neurosensorial
ROS: radical lliure d'oxigen
VEGF: factor de creixement vascular endotelial
VM: volum macular
ZAF: zona avascular foveal



INTRODUCCIÓ

INTRODUCCIÓ

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

I. Epidemiologia

L'epidemiologia de l'EMD està estretament relacionada amb la de la RD en tant que l'EMD és una complicació sobreafegida als pacients afectes de RD, que n'és, per tant, el seu substrat base. La RD és la complicació microvascular més freqüent de la DM i la principal causa global de ceguesa en la població de 20-64 anys (edat laboral) en el món desenvolupat.[2] A Alemanya, per exemple, és responsable de fins al 15% de casos de ceguesa legal.[3] En general, s'estima que la prevalença de RD en la població amb DM pot arribar al 30%, xifra que es correlaciona amb la prevalença general estimada de RD en la població europea, que és del 3-4%. [2, 3] Tanmateix, aquesta distribució no és constant, sinó que augmenta amb el temps d'evolució de la DM i l'edat del pacient. Per exemple, en el debut d'un pacient DM tipus 1 no acostuma a diagnosticar-se RD, però al cap de 7 anys fins a un 50% poden presentar aquesta malaltia, magnitud que pot augmentar fins al 95% amb més de 20 anys d'evolució de la DM. Per altra banda, s'ha de diferenciar aquesta situació de la dels pacients amb DM tipus 2, ja que fins a un terç poden presentar RD en el moment del diagnòstic, prevalença que augmenta al 60% amb més de 20 anys de duració de la malaltia.[4] Aquest fet diferencial entre DM tipus 1 i 2 en la presentació de RD en el moment del diagnòstic de DM es creu relacionada amb la major implicació multifactorial en el desenvolupament de la DM tipus 2 i, normalment, amb l'existència d'un temps desconegut anterior al debut clínic però amb afectació orgànica ja incipient d'aquests pacients diabètics.

Així doncs, l'epidemiologia de l'EMD comparteix línies generals amb la de la RD per si mateixa tal com s'ha comentat. En general, la prevalença d'EMD en els pacients diabètics varia entre el 6.8%-14% segons les dades publicades.[5-7] Tanmateix, no tots els pacients amb EMD presenten una afectació simptomàtica en la forma de pèrdua d'agudes visual, que tot i això, s'ha reportat en fins a un 2.5% de la totalitat dels diabètics.[8] Per altra banda, la història natural de l'EMD pot evolucionar a pèrdua significativa d'agudes visual en fins al 50% dels pacients afectes en una projecció a dos anys.[8] En aquest context doncs, la principal causa de disminució d'agudes visual en els pacients amb RD en el món desenvolupat és precisament l'EMD. En relació amb l'aparició de l'EMD, s'ha estimat una incidència anual global d'EMD en els pacients amb DM del 0.37%, xifra que pot arribar al 29% en el càlcul acumulat a 25 anys.[9] Curiosament, la incidència d'EMD sembla ser superior en la DM tipus 2, ja que les sèries epidemiològiques actuals reporten incidències anuals del 2-2.5% per aquests pacients.[10, 11] De la mateixa manera que en la RD sense EMD, la duració de la DM és un factor determinant en el coneixement de la prevalença d'aquesta complicació. Així doncs, a tall d'exemple, en la DM tipus 2, la forma més prevalent de DM, aproximadament l'1-3% poden presentar EMD després de 5 anys del diagnòstic

de la DM; tanmateix, aquesta proporció augmenta notablement amb la duració de la malaltia, amb prevalences reportades que varien del 5-28% 20 anys després del diagnòstic.[12, 13]

II. Factors de risc

De la mateixa manera que en el coneixement epidemiològic, els factors de risc per desenvolupar EMD estan estretament relacionats amb els propis de la RD. En aquesta línia, l'existència de grans estudis poblacionals històrics com el *Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy* (WESDR)[14] va permetre identificar els principals factors de risc pel desenvolupament de RD: hiperglucèmia, hipertensió arterial, microalbuminúria i embaràs. Altres possibles factors de risc són més controvertits, com l'hiperlipèmia, el sedentarisme, les hormones sexuals, l'hàbit tabàquic, la raça i certs tipus d'antígens HLA-DR. Alguns d'aquests factors de risc són propis també de l'EMD però cal remarcar que, en general, el coneixement en relació amb aquesta entitat no és tan detallat com en el cas de la RD en si mateixa.

En primer lloc, un important factor de risc per l'EMD és, lògicament, la gravetat de la RD de base. Tot i que l'EMD té un caràcter diferenciat i es pot presentar en qual-sevol estadi de RD, formes més greus de RD poden associar freqüentment EMD. Tanmateix, ambdues afectacions comparteixen factors de risc i, per tant aquesta relació parteix d'un clar biaix de base.

Pel que respecta a l'hiperglucèmia crònica com a factor de risc, s'ha determinat un punt de tall d'hemoglobina glicada A_{1c} (HbA_{1c}) del 6.5% a partir del qual augmenta significativament el risc de presentar RD.[15] Així i tot, aquest punt no és tant clar en relació al desenvolupament d'EMD. Per una banda, aquelles persones amb DM i menors xifres d' HbA_{1c} tenen menys risc de presentar EMD i, si el pateixen, gaudeixen de millor pronòstic visual i anatòmic que aquelles persones amb majors xifres d'hiperglucèmia crònica.[16, 17] Per altra banda però, existeixen avui dia resultats contradictoris en els estudis actuals pel que fa al supòsit que una disminució de l' HbA_{1c} , un cop present l'EMD, pugui millorar l'expressió clínica del mateix i la resposta al tractament. [16, 17]

Paral·lelament, la nefropatia diabètica és, com la RD, una manifestació de la microangiopatia diabètica. D'aquesta manera, la seva expressió clínica en forma de microalbuminúria és un factor de risc conegut, com s'ha comentat, de RD. Tanmateix, aquesta relació de risc no és tan clara en relació amb l'EMD. Alguns estudis publicats

no han reportat una associació entre la microalbuminúria i l'EMD tot i que si s'ha descrit certa associació entre aquesta complicació ocular i la insuficiència renal [18-21]; tot i això, s'ha de valorar que el supòsit d'insuficiència renal pot estar influenciat per molts factors diferents que poden emascarar la relació amb l'EMD en aquest punt.

A propòsit de la hipertensió arterial (HTA), estudis poblacionals com el *United Kingdom Prospective Diabetes Study Group* (UKPDSG) [22] han demostrat la seva associació a la RD com a factor de risc. Resultats d'altres estudis com el *Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes* (ACCORD) no van suportar inicialment aquest plantejament però investigacions més recents semblen reforçar una evidència moderada del benefici de la reducció de la pressió arterial en la progressió de la RD. Tanmateix, no hi ha una evidència clara que la HTA pugui influir directament sobre la presència d'EMD més enllà del pes específic de la mateixa RD. Una situació similar s'ha reportat referent a l'embaràs, també un factor de risc conegut de progressió de la RD [23, 24] però amb resultats no clars referents a l'EMD.

Finalment, la hiperlipèmia és actualment un tret metabòlic controvertit en relació amb la seva caracterització com a factor de risc de RD i EMD. Alguns autors han descrit associacions de risc en aquesta línia [25] i d'altres no [26]. Tot i això, bona part de la controvèrsia en aquest punt es basa en el fet que els conceptes sobre aquest risc es van originar principalment a partir dels resultats d'estudis que van reportar, per una banda, menor necessitat de tractament làser de la RD i l'EMD,[27] i, per altra banda, major disminució de l'EMD en pacients tractats amb hipolipemians (fenofibrat).[28] Globalment però aquesta associació és epidemiològicament discutida i no es recomana clarament tal intervenció per l'EMD aïllat,[29] sens perjudici de la indicació pròpia dels hipolipemians pel risc cardiovascular *per se* de cada subjecte.

III. Etiopatogènia

El procés fisiopatològic de l'EMD és divers i complex. A partir d'un esdeveniment anatòmic base en la RD com és l'afectació progressiva de la integritat i funció dels capil·lars retinals, es construeix un conjunt de fenòmens cel·lulars i moleculars que expliquen el desenvolupament de l'EMD. Així doncs, la comprensió exacta de la seva fisiopatologia és encara majoritàriament desconeguda i està lluny de ser explicada per un únic mecanisme. Per tant, a partir de la interdependència dels actes patològics, ha de ser entesa i abordada des d'un punt de vista eminentment multifactorial. [30-33]

Mecanismes fisiopatològics generals

Com s'ha comentat anteriorment, la microangiopatia present en la RD es caracteritza per canvis en la permeabilitat i perfusió dels vasos sanguinis que ocasionen alteracions estructurals dels mateixos així com extravasació de líquid i soluts des de l'espai vascular a l'extravascular. Els canvis estructurals de la circulació retinal expliquen l'aparició, en primera instància, dels microaneurismes i, en fases més evolucionades (proliferants), els neovasos retinals. Tanmateix, són els fenòmens d'augment de la permeabilitat vascular, amb la consegüent difusió de substàncies al parènquima retinal, els principals valedors de la instauració de l'EMD.

Des del punt de vista histològic, l'estructura primera i més important implicada en els esdeveniments associats a l'aparició de l'EMD és la barrera hematorretinal (BHR). Aquest complex cel·lular està format, per una banda, per les unions fortes (*tight junctions*) entre l'endoteli dels capil·lars retinals i les seves cèl·lules gials associades (astròcits i cèl·lules de Müller), formant així la BHR interna; per altra banda, les unions estretes (*zonula occludens*) entre les cèl·lules de l'epiteli pigmentari de la retina (EPR) conformen la BHR externa. La BHR indemne compartimenta el parènquima retinal separant els elements vasculars de la retina neurosensorial (RNS), tanmateix, quan aquesta s'afecta pels fenòmens patològics propis de la RD ocasiona extravasació i difusió de líquids i soluts i, per tant, aparició d'EMD si les àrees lesives es localitzen topogràficament a la màcula. [32-35]

Per a començar, es creu que l'inici d'aquests fenòmens patològics radica en l'estat crònic d'hiperglucèmia dels pacients amb DM com a causant de la disfunció endotelial dels vasos retinals, principalment, els capil·lars. En conseqüència, diferents agents apareixen i són part dels mecanismes implicats en aquesta disfunció, com per exemple la sobrerregulació de les vies de senyalització de la proteïna cinasa C (PKC), l'augment del flux de la via dels poliols, l'acumulació de productes finals de glicosilació enzimàtica avançada (AGE), l'alteració del sistema regulador renina-angiotensina-aldosterona i les alteracions hemodinàmiques i reològiques del sistema vascular capil·lar retinal.[31, 32] Avui en dia aquest camp fisiopatològic ha estat àmpliament estudiat i nous efectors han estat descrits, d'un major detall, fins i tot en l'àmbit molecular, majoritàriament implicats en la resposta inflammatòria local. És el cas de citocines i quimiocines, estrès oxidatiu induït per la peroxidació lipídica i la producció de radicals lliures d'oxigen (ROS), activació de microglia retinal associada a la mort cel·lular per apoptosi i angiogènesi modulada per factors de creixement. [31-34]

Així doncs, basant-se en aquests i altres efectors, les alteracions metabòliques induïdes per la hiperglucèmia de llarga evolució causen lesió endotelial crònica amb alteració de la funció cel·lular i reclutament de leucòcits circulants. [32-35] Els capil·lars retinals alterats pateixen per tant un engruiximent difús del mateix vas, així com de la seva làmina basal, fet que indueix alteracions en les molècules d'adhesió intercel·lular (*intercellular adhesion molecule*, ICAM; *vascular cell adhesion molecule*, VCAM) del mateix endoteli. Aquest fenomen ocasiona disfunció de les *tight junctions* de la BHR interna i, per tant, extravasació del component intravascular a la RNS de les zones afectades [33] que, al seu temps, també condueix a l'alteració en la composició i funció de la matriu extracel·lular ocasionant en conseqüència hipòxia cel·lular local. És en aquest procés de resposta induïda per la inflamació local on s'inicia la secreció d'altres mediadors proinflamatoris, interleucines i factors de creixement. [33] Al mateix temps, la situació d'hipòxia tissular promou fenòmens d'estrès oxidatiu mitjançant la disfunció dels mecanismes de desintoxicació mitocondrial així com la peroxidació lipídica mitocondrial i, per tant, acumulant en última instància ROS en el citoplasma cel·lular. Aquests agents són alhora responsables d'activar vies de senyalització promotores de l'apoptosi. [36-38]

Inflamació i estrès oxidatiu en l'edema macular diabètic

El paper de la inflamació en la patogènia de l'EMD és un dels camps de coneixement que més s'ha estudiat els darrers anys. El fenomen conegut com a leucòstasi, és a dir, el procediment d'adhesió leucocitària en la paret de l'endoteli capil·lar, augmenta directament la permeabilitat dels vasos i potencia el mateix dany endotelial preexistent mitjançant la inducció d'interleucines i radicals lliures. [33] A més a més, una de les principals proteïnes presents en les *tight junctions* de la BHR interna, l'occludina, es veu fosforilada en augment per la mateixa inflamació, [31-33] resultant així en una desestructuració i disfunció d'aquests complexos proteïcs amb el consegüent augment de la permeabilitat capil·lar. Per altra banda, alguns mediadors proinflamatoris de fase inicial com el factor de necrosi tumoral alfa (TNF- α) i la interleucina (IL)-6 també promouen la pròpia leucòstasi. [31-33] Ambdues molècules són alhora capaces d'estimular l'expressió d'un potent inductor de la permeabilitat vascular, el factor de creixement vascular endotelial (VEGF). A més a més, el VEGF és un actor clau, ja que no només forma part del conjunt de reaccions inflamatòries i de permeabilitat de l'EMD sinó que la seva expressió va estretament lligada als fenòmens d'isquèmia tissular associada a la RD per ella mateixa i és, per tant, un principal actor en la relació entre l'EMD i la gravetat de la RD. Paral·lelament, el factor de transcripció nuclear kappa beta (NF- $\kappa\beta$), a més a més d'induir la síntesi d'altres proteïnes proinflamatòries, augmenta, en l'entorn diabètic, la producció de l'enzim òxid nítric sintasa (iNOS), que

representa un important efector implicat en l'augment de la permeabilitat vascular. Pel que fa a aquest enzim, el seu producte és un potent agent vasodilatador i permeabilitzant que, en excés, genera addicionalment radicals lliures i, a més a més, s'associa a la sobreexpressió del mateix VEGF en algunes cèl·lules, com les de Müller.[37]

Acompanyant els mecanismes inflamatoris locals, la formació de ROS és un altre mecanisme patogènic clau en l'EMD pels efectes nocius que ocasionen en els vasos i teixits retinals. La hiperglucèmia crònica propicia, sobretot a escala mitocondrial, la peroxidació lipídica de les membranes cel·lulars, amb la consegüent formació de ROS (oxigen i nitrogen lliures). Aquests actors causen directament fragmentació de les proteïnes cel·lulars, entrecreuant i agregació d'aminoàcids, canvis en l'estructura terciària dels lípids de les membranes i, principalment, alteracions estructurals i mutacions genètiques; [36-38] a més a més, aquestes alteracions es localitzen no només en el mateix endoteli vascular sinó també a la retina neurosensorial. En conjunt, aquests efectors poden coincidir en l'activació de vies de mort cel·lular, com l'apoptosi i necrosi, tant en l'àmbit endotelial com en el de fotoreceptors retinals, ja que són grups cel·lulars altament sensibles a canvis en l'homeòstasi retinal.[38]

Activació glial i edema macular diabètic

L'afectació neurològica que acompanya en paral·lel a les vasculopaties retinals com, sobretot, la RD és actualment un punt discursiu amb notable evidència.[36, 37] Des del punt de vista histològic, el pes neurològic de la retina està format per les cèl·lules de Müller, astròcits i microglia, que sovint es coneixen en grup com a "glia". En conjunt, s'ha demostrat la seva afectació morfològica i funcional tant en fases inicials com tardanes de la RD. A propòsit de la glia, s'ha reportat que quan s'activa metabòlicament en la retina de pacients diabètics es localitza, precisament, en les regions de dany vascular. [36-38] Pel que respecta les cèl·lules de Müller, aquestes actuen com a mantenidores de l'homeòstasi de la RNS, per exemple, mitjançant canals específics de potassi de forma similar als teixits del sistema nerviós central;[36, 37] per tant, l'alteració de la seva funció sembla ser cabdal per l'aparició i manteniment d'edema tissular. Per altra banda, l'activació glial pot accentuar i retroalimentar la mateixa resposta inflamatòria local, ja sigui directament a través de la secreció paracrina de molècules precursoras proinflamatòries, com a través del mateix enzim iNOS.

Evidència *in vivo* de mediadors

El rol dels diferents mediadors moleculars de la RD i l'EMD ha pogut ser estudiat clínicament els últims anys gràcies a la generalització de les tècniques de quantifica-

ció molecular. És el cas, per exemple, de les tècniques *multiplex*, capaces de realitzar diferents determinacions, inclosos immunoassajos, a partir de coloracions fluorescents que, gràcies a l'excitació lumínica, detecten i quantifiquen les dianes moleculars disponibles en el preparat comercial. Així doncs, a partir de mostres biològiques de pacients amb DM s'ha objectivat i comparat nivells de diferents mediadors implicats en la fisiopatologia de la RD i l'EMD. Per aquestes complicacions oculars es disposa doncs de dades referents principalment a sèrum (plasma obtingut per centrifugació de mostra sanguínia de vena perifèrica), humor aquós i humor vitri. Aquestes últimes impliquen però punció ocular de la cambra anterior o posterior, respectivament i, per tant, certs riscos sobreafegits.

En referència amb el sèrum com a mostra biològica analitzada, i en relació a la RD, aquesta s'ha associat a majors nivells sèrics de diferents citocines, quimiocines i factors de creixement i/o angiogènesi com la interleucina IL-1 β , IL-6, IL-8, proteïna quimioattractant de monòcits (MCP-1), TNF- α i VEGF.[39-41] Així doncs, s'han correlacionat els nivells sèrics d'IL-1 β , TNF- α i VEGF amb la presència i gravetat de la pròpia RD. A més a més, s'han reportat majors nivells en sang perifèrica de MCP-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α i VEGF en els pacients amb la presentació més greu de la RD, la proliferativa.[40-43] Per altra banda, interessantment, s'ha reportat fins i tot una associació entre els nivells sèrics de TNF- α i VEGF amb els de l'HbA_{1c} [40] Nogensmenys, els nivells sèrics basals de TNF- α s'han postulat fins i tot no només com a possibles predictors de la incidència de RD[44] sinó de progressió d'altres complicacions vasculars de la DM.[45, 46] Finalment cal remarcar que encara que hi ha estudis aparents al respecte, no hi ha resultats comparatius que hagin investigat diferenciadament l'EMD de la RD. Tot i que *Kocabora et al* [47] va reportar l'associació d'alts nivells sèrics de TNF- α a la presència d'EMD, el grup a comparar estava format per pacients sans no diabètics i, per tant, no es podia descartar que les diferències descrites es poguessin atribuir a la mateixa RD dels pacients amb EMD i no a l'EMD *per se*. Per altra banda, *Shimizu et al* [42] va descriure l'associació del nivell sèric d'IL-6 amb la presència d'EMD, tanmateix, no es disposava d'un grup control clar sense maculopatia sinó que la totalitat de la mostra d'estudi la formaven pacients amb RD amb exsudats lipídics als quals es caracteritzava la presència d'EMD.

Per altra banda, en una relació més indirecte de la mostra en qüestió amb el plasma sanguini, s'han reportat estudis en llàgrima que han descrit augment en els nivells de MCP-1 i proteïna induïda per l'interferó gamma (IP)-10 en els diabètics amb RD i sense RD [48] així com s'ha publicat, per exemple, una associació entre la gravetat de la RD i els nivells de TNF- α en llàgrima. [49]

A propòsit del coneixement d'estudis realitzats en mostres biològiques pròpiament intraoculars, com l'humor aquós o vitri, existeixen més resultats publicats. L'accessibilitat al mitjà intraocular dels pacients amb RD i/o EMD que necessiten intervencionisme (cirurgia de cataracta, cirurgia de vitrètica o injecció intravítrea) facilita que se'n pugui obtenir mostra biològica sense riscos sobreafegits al mateix procés quirúrgic i, per tant, existeixen múltiples estudis reportats al respecte. L'humor vitri és el mitjà intraocular de més proximitat a la retina i per tant els seus resultats són els més valuosos quant a coneixement fisiopatològic. En aquest sentit, s'ha reportat per exemple un augment en els nivells d'IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IP-10, MCP-1, proteïna inflammatòria de macròfags (MIP)-1 β , factor de creixement derivat de plaquetes (PDGF) i VEGF quan s'associa RD [50] i, en la mateixa línia, uns majors nivells vitris d'IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- α i VEGF en la RD proliferativa.[51, 52] Aquest fenomen s'ha descrit fins i tot en el punt de correlacionar els nivells vitris elevats d'IL-8 amb la pèrdua visual de la RD.[53] Finalment, també s'ha reportat una major concentració vitrea de proteïna lligant de lipopolisacàrid i CD14 soluble en els pacients amb RD proliferativa, considerant així aquestes molècules com a part important de la resposta immune innata que es desencadena en el dany inflamatori de la RD proliferativa.[54]

Així doncs, degut a la importància de les mostres vitries, aquestes són de gran significació per l'etiopatogènia de l'EMD en els estudis realitzats diferencialment amb aquest fenomen. Tanmateix, els pacients amb EMD difícilment necessiten de cirurgia de la cambra vitrea i per tant, els estudis al respecte són més limitats. En aquest sentit, s'ha descrit una associació entre els nivells vitris de VEGF, ICAM-1, IL-6, MCP-1 i factor derivat de l'epiteli pigmentari (PEDF) amb la presència i gravetat de l'EMD.[39, 55]

Amb referència a la mostra biològica més emprada per al coneixement dels mediadors inflamatoris i de la permeabilitat intraocular en els casos de RD i/o EMD, aquesta és, sense cap ombra de dubte, l'humor aquós. Tot i restar més lluny anatòmicament de la localització d'aquesta patologia que l'humor vitri, avui en dia es disposa d'amplis resultats al respecte que reforcen la seva validesa en aquesta línia. La seva obtenció com a tal és més senzilla que la mostra vitrea, ja que es pot realitzar associada a altres procediments com la cirurgia de cataracta o injecció intravítrea o, fins i tot, en la mateixa làmpada de fenedura en la visita oftalmològica. A propòsit dels resultats publicats en RD, per exemple, s'ha descrit un augment en la concentració en humor aquós d'interferó gamma (IFN- γ), IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, MCP-1, MIP-1 β , IP-10 i VEGF en els pacients que presenten aquesta complicació de la DM. [56, 57] A més a més, s'ha associat aquest alt nivell de MCP-1, IP-10 i IL-8 als pacients amb RD no proliferativa greu, fenomen que dona suport a la participació de la inflamació local intraocular en el desenvolupament de la RD proliferativa. [58]

En referència amb l'EMD, per altra banda, s'han publicat diferents resultats en estudis realitzats amb aquesta complicació diferenciadament. D'aquesta manera, s'ha descrit un augment en els nivells en humor aquós d'ICAM-1, IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1, PDGF i VEGF en els subjectes amb EMD en comparació amb els que no en presenten. [59-62] En aquesta línia, fins i tot s'ha reportat una correlació positiva entre les xifres d'IL-6 en humor aquós i l'engruiximent macular. [63] Tanmateix, alguns resultats revesteixen més controvèrsia, ja que, per exemple, en referència a la IL-10 i IL-12, els seus nivells s'han descrit oposadament incrementats o disminuïts segons les sèries, i no només en la caracterització de l'EMD sinó també en la RD *per se*; el conegut paper més immunomodulador que no directament proinflamatori d'ambdós mediadors pot parcialment explicar aquest punt. [57, 60, 62]

Finalment, el paper dels mediadors inflamatoris i de la permeabilitat no està només objectivat en estudis descriptius de tall transversal sinó que hi ha reportats interessants resultats en relació amb intervencionisme. És a dir, analitzant els canvis en les xifres d'aquestes molècules quan s'injecta algun agent intraocular pel tractament de la patologia. Així doncs, al mateix temps que s'observa la millora clínica d'aquesta i, per tant, es pot proposar un paper dels citats mediadors en la patologia tractada. En aquesta línia, lògicament, hi ha diferents resultats publicats sobre l'acció dels fàrmacs intravítrics destinats al tractament de l'EMD en relació a la concentració de mediadors abans i després de la injecció. D'aquesta manera, els agents anti-VEGF Bevacizumab (Avastin®; Genentech Inc., San Francisco, CA, USA) i Ranibizumab (Lucentis®; Genentech Inc., San Francisco, CA, USA) han reportat disminuir els nivells de VEGF en humor aquós sense afectar els nivells d'altres mediadors com IL-6, IL-8, IP-10 i MCP-1. [64-66] Per altra banda, els fàrmacs esteroidals presenten un mecanisme d'acció més ampli, a diferència dels agents anti-VEGF que només actuen sobre l'eix d'aquest factor de creixement. Així doncs, s'ha reportat com l'acetònid de triamcinolona disminueix els nivells d'IL-6, IP-10, MCP-1 i PDGF en humor aquós. [64] Per últim, en aquesta línia, l'implant intravítric de dexametasona (Ozurdex®; Allergan, Inc., Irvine, CA, USA) disminueix els nivells aquosos d'*insulin-like growth factor binding protein* (IGFBP)-1, IGFBP-3, prolactina, metal·loproteïnasa de matriu (MMP)-9, VEGF de glàndula endocrina (EG-VEGF), endostatina, angiopoietina-2, persepina, MIP-1, trombospondina (THSP)-2, factor de creixement dels hepatòcits (HGF), IL-8 i C-X-C *motif ligand* (CXCL)-16. [67]

IV. Presentació clínica i diagnòstic

L'EMD és una entitat patològica amb diversos símptomes i signes associats, alguns d'ells comuns amb altres afectacions oftalmològiques i d'altres altament específics del mateix EMD. El símptoma més freqüent d'aquesta malaltia, en tant que afecta la part de la retina responsable de la visió fina (màcula) és la disminució d'agudesesa visual, és a dir, presència de visió borrosa. Aquest símptoma tradueix la pèrdua de capacitat visual discriminativa en diferents angles de resolució i es mesura mitjançant l'exploració visual més comuna, les cartes de visió en distància. Altres símptomes més infreqüents de l'EMD són: metamorfòpsia (visió ondulada), present sobretot quan associa altra patologia retinal com ara tracció vitrimacular o membrana epirretinal macular (MEM); i escotoma (manca de visió, visió negra, en un punt concret), que sol relacionar-se amb EMD crònic amb dany irreversible a la retina.

Els símptomes de l'EMD tenen un recorregut limitat, tanmateix, els signes d'aquesta entitat són més variats i, a més a més, específics. Tot i això, les manifestacions clíniques i anatòmiques d'aquesta malaltia es troben exclusivament al fons d'ull, la retina, i, per tant, per tal d'observar-les es necessiten sempre exploracions complementàries. Tot seguit en comentarem les més emprades, (Figura 1) com són la biomicroscòpia indirecta, la retinografia, l'angiografia fluoresceínica retinal (AGF), la tomografia per coherència òptica (OCT) i l'angiografia per OCT (Angio-OCT).

Biomicroscòpia indirecta

Mitjançant la utilització de lents condensadores i sota dilatació pupil·lar (col·liris midriàtics) hom és capaç d'observar el fons d'ull a través de la làmpada de fenedura o del casc de biomicroscòpia. Així doncs, es visualitza indirectament el fons d'ull i les seves característiques, mantenint a més a més, la tridimensionalitat de les imatges. D'aquesta manera es poden observar diferents signes de l'EMD, especialment l'engruiximent retinal, que només es pot apreciar si es manté la percepció de la profunditat; tot i això, aquesta capacitat s'ha vist actualment superada per les noves exploracions complementàries. Tot seguit comentarem els signes retinals objectivables mitjançant aquesta tècnica.

En primer lloc, els microaneurismes són la primera i bàsica manifestació oftalmoscòpica de la RD i, per tant, també de l'EMD quan es concentren en l'àrea macular. Representen dilatacions vasculars saculars (sobretot capil·lars venosos) que s'originen degut a les alteracions de la paret vascular i la pèrdua de pericits. S'observen com a petites taques vermelles arrodonides intrarretinals al fons d'ull. A partir de les

alteracions reològiques i de la paret vascular que s'hi donen, es produeix dany a la BHR interna amb extravasació de plasma (edema), sang (hemorràgies) i macromolècules (exsudats lipídics).

Tot seguit, les hemorràgies intrarretinals són també un freqüent signe de RD i EMD. Es produeixen per l'alteració en la permeabilitat vascular i ruptura de microaneurismes i es localitzen més freqüentment a la màcula i àrea circumdant de les arcades vasculares. L'augment en el nombre i distribució tradueix més gravetat de la RD [68] així com pot relacionar-se a àrees d'isquèmia parenquimatososa. Per altra banda, les hemorràgies també es poden presentar preretinals, és a dir, a la cavitat vítria (hemorràgia vítria), i s'identifiquen per la presència de nivells de sang davant la retina o flotant a l'interior de l'ull fins al punt màxim de, per exemple, bloquejar completament la visió del fons d'ull. Les hemorràgies vítries ocasionen gran pèrdua d'agudes visual i es troben en el context de RD proliferatives amb creixement neovascular que pot coincidir, tot i no influir directament, en alguns pacients amb EMD.

Així mateix, els exsudats lipídics, o exsudats durs, solen presentar-se agrupats en l'àrea macular. Es produeixen per l'acumulació de lípids i lipoproteïnes extravasades. A més a més, es defineix com exsudació circinada si presenta un microaneurisma central, o conjunt d'ells, responsable de l'extravasació. La magnitud en la presència d'exsudats, tot i que no es correlaciona amb l'estadi de RD, té una relació directa amb la gravetat de l'EMD.[68, 69]

Finalment, altres signes propis de la RD però més infreqüentment associats a l'EMD són els exsudats cotonosos (tous), les dilatacions segmentàries venoses, les anomalies intraretinals vasculares (*IRMA*), els neovasos, les traccions vitrimaculars i les membranes epirretinals. Els exsudats tous són sectors isquèmics i edematosos del parènquima retinal que s'observen blancs pel bloqueig de la imatge roja coroidal que fa el mateix edema. Les *IRMA* representen remodelacions vasculares en el plà tissular de la membrana limitant interna i es podrien considerar com a estadis previs al desenvolupament de neovasos, que tradueixen, al seu temps, un creixement de vasos nous que emana del parènquima retinal cap a la cavitat vítria.[70, 71] Per últim, el creixement cel·lular fibrogliàl en la superfície retinal pot presentar-se clínicament com una membrana epirretinal quan es distribueix sobre la màcula (també coneguda com a màcula en cel·lofana) o com a tracció vitriretinal quan s'objectiven tractes fibrosos des del cos vitri a la mateixa superfície retinal.

A partir de la descripció d'aquest conjunt de signes s'ha generat una classificació de l'EMD així com de la RD. En relació a l'EMD, s'hi ha postulat la diferenciació entre els

casos focals i difusos.[72] Els primers són aquells on l'origen de l'edema és clar en relació a la zona de la qual s'extravasa fluid, per exemple, en un exsudat circinat; alguns autors parlen per exemple també de casos multifocals quan coincideixen diferents focalitats. Per altra banda, els casos difusos són aquells on no es pot objectivar un punt original de l'edema sinó que es descriu un engruiximent general (difús) de la màcula. Una altra classificació de l'EMD es fonamenta en els paràmetres clàssics de caràcter clínicament significatiu del mateix:[69] engruiximent retinal a 500 µm de la fòvea (punt central de la màcula); exsudats durs a 500 µm de la fòvea amb engruiximent retinal adjacent; engruiximent retinal superior o igual al diàmetre de la papil·la òptica dins un diàmetre de papil·la òptica des de la fòvea. Actualment però, ambdues classificacions de l'EMD han quedat majoritàriament en desús per l'adveniment i extensió, com es tractarà pròximament, de l'OCT i la teràpia intravítrea.

En darrer lloc, aquests signes també formen part de la classificació de la RD, que, a diferència de l'anteriorment explicitada per l'EMD, sí que és de referència actualment en el camp del maneig clínic de la RD.[68] Així doncs, es defineix, de forma esquemàtica, la RD segons la gravetat en proliferativa (més greu) si presenta neovasos o hemorràgies vítries d'origen neovascular, o no proliferativa (menys greu) si no presenta aquests signes. Al seu torn, la RD no proliferativa es classifica en: lleu, si s'objectiven microaneurismes o hemorràgies intrarretinals aïllades; moderada, si presenta hemorràgies intrarretinals disperses sense ocupar els quatre quadrants retinals o dilatacions segmentàries venoses en un quadrant retinal; greu, si es descriuen hemorràgies en els quatre quadrants retinals, dilatacions segmentàries venoses en dos o més quadrants retinals, o presència d'IRMA.

Retinografia

L'observació mitjançant biomicroscòpia indirecta del fons d'ull dels signes de l'EMD presenta alguns inconvenients en tant que és una tècnica manual, els resultats de la qual no són emmagatzemables i, per tant, amb dificultats importants de sistematització per a estudis poblacional i de cribratge. Així doncs, disposar d'imatges retinals de forma objectiva i reproduïble ha estat un punt clau de l'Oftalmologia, punt que es va solucionar, inicialment, amb la fotografia retinal (retinografia). D'aquesta manera, mitjançant l'aplicació de tècniques fotogràfiques simples, hom obté imatges de la retina en format digital. Els aparells de retinografia es caracteritzen per necessitar o no de la dilatació pupil·lar farmacològica per obtenir imatges de qualitat així com per l'amplitud de camp intraocular que poden abastar en una sola fotografia, disposant els aparells clàssics de fins a 45° de camp usualment. Així i tot, importants nous avenços tecnològics han evolucionat aquests dispositius, sobretot basant-se en

l'augment de l'àrea retinal abastable: la tecnologia de l'aparell Optomap (Optos PLC, Dunfermline, Scotland, UK), per exemple, és capaç d'abastar fins a 200° de camp en una sola retinografia.

El principal valor actualment de la retinografia és, més enllà de la pràctica clínica del dia a dia, el seu paper en la telemedicina. Així doncs, l'alta càrrega assistencial de la DM i les seves complicacions oculars, juntament amb l'ampliació de la cobertura tecnològica en l'era digital, ha propiciat l'aparició d'iniciatives de medicina a distància. D'aquesta manera, s'obtenen de forma protocol·litzada retinografies periòdiques del fons d'ull dels pacients diabètics, amb la posterior validació dels seus resultats sense necessitat d'una visita oftalmològica completa. La congruència de les troballes en aquestes retinografies amb els signes descrits mitjançant biomicroscòpia amb lent de fons d'ull és alta i, per tant, homologable.[73] Així doncs, personal tècnic realitza les fotografies i personal mèdic entrenat, normalment metges de família, en valoren els resultats. Aquells casos amb un nivell de patologia significatiu, ja sigui EMD o RD, així com aquells casos dubtosos o amb impossibilitat d'obtenció d'imatge són derivats a l'oftalmòleg. Aquestes mesures optimitzadores han demostrat àmpliament la seva relació de cost-efectivitat [73] i fins i tot alguns autors han postulat el seu protagonisme en, per exemple, canviar en 10 anys la primera causa de ceguesa en el Regne Unit de la RD a les retinopaties hereditàries. [74]

El principal desavantatge de la retinografia és la limitació a les dues dimensions de l'espai, és a dir, la manca de profunditat que brinda la tridimensionalitat. Així doncs, engruiximents de petites àrees retinals, si no s'associen de signes acompanyants com ara exsudats lipídics, poden passar desapercibuts. Aquestes dificultats són, precisament, de gran importància en la correcta detecció de l'EMD. Altres exploracions complementàries com l'AGF i l'OCT, com veurem a continuació, no presenten aquestes limitacions i són, per tant, molt més eficaces en l'estudi de l'EMD.

Angiografia fluoresceínica retinal

Mitjançant l'utilització de contrast endovenós i filtres específics, ja fa més de 50 anys que es va generalitzar la tècnica d'imatge de l'angiografia fluoresceínica retinal (AGF) com a eina clau en el maneig de la RD i l'EMD. [3, 75] Aquesta tècnica es basa en la injecció intravenosa de fluoresceïna sòdica, que presenta un pic màxim d'absorció de llum 490 nm i que, en ser excitada amb llum blava, emet llum verd-groguenca amb una longitud d'ona de 520-530 nm que, amb el filtre adequat, és recollida pel sistema fotogràfic. La fluoresceïna s'uneix majoritàriament a proteïnes plasmàtiques i en condicions normals de no existència de dany vascular no travessa les BHR i, per

tant, no s'extravasa. D'aquesta manera, mitjançant l'AGF s'obtenen imatges de la distribució de la fluoresceïna en l'arbre vascular retinal. Si hi ha patologia dels vasos i de la permeabilitat tissular, com ara en la RD i l'EMD, es detectaran fàcilment els microaneurismes així com l'extravasació de plasma sanguini als teixits, àrees isquèmiques i d'oclusió capil·lar i creixement neovascular. Les principals contraindicacions d'aquesta exploració són la insuficiència renal, en tant que el contrast s'elimina per aquesta via, així com l'al·lèrgia a la fluoresceïna. Pel que respecta a l'amplitud de camp de fotografia, de forma homònima a la retinografia, també es disposa d'AGF de camp ampli (AFCA) que pot arribar als 200° d'àrea retinal.

A propòsit dels beneficis de l'AGF, aquest són especialment d'importància en alguns casos de RD però, en el camp de l'EMD, la seva utilitat és més limitada. Tanmateix, és capaç de detectar l'alteració de la permeabilitat i formació de quists maculars mitjançant un patró angiogràfic característic (petaloide). A més a més, ha estat la base per a la classificació de l'EMD en focal o difús, [72] així com és clau en la definició i guia de les àrees de tractament làser en els estudis clàssics de l'EMD. [69] Per altra banda, l'objectivació d'àrees d'isquèmia en la part central de la màcula (fòvea), que usualment revesteix mal pronòstic visual, es detecta generalment, de fet, fins fa poc temps de forma exclusiva, mitjançant aquesta tècnica i es coneix com el signe d'augment de la zona avascular foveal (ZAF). [76] Finalment, la disponibilitat de les tècniques d'ACFA ha permès estudiar de forma detallada i simultània la perfusió retinal perifèrica i les alteracions maculars com l'EMD; d'aquesta manera, per exemple, s'ha associat la presència d'àrees d'isquèmia perifèrica al desenvolupament d'EMD, teoritzant-se, fins i tot, una possible relació mitjançant el VEGF, que seria produït en excés a les àrees isquèmiques repercutint així en l'alteració de la permeabilitat a nivell macular. [77]

Tomografia de coherència òptica

Si una tècnica d'imatge ha revolucionat l'Oftalmologia els últims 20 anys, aquesta ha estat, sense cap mena de dubte, la tomografia de coherència òptica (OCT). Aquesta exploració es basa en la reflectivitat òptica de la retina quan és exposada a un feix de llum (en una modalitat d'escombratge); la resposta tissular d'interferometria de coherència és reconstruïda informàticament obtenint així imatges estructurals d'alta resolució. De fet, les reproduccions gràfiques que se n'obtenen permeten reconèixer detalls de l'arquitectura tissular de forma quasi anàloga a un tall histològic. A més a més, en els últims anys, la tècnica en si ha evolucionat ràpidament, des de les configuracions en domini-temps inicial a les posteriors en domini-espectral i finalment les *swept-source*, amb un augment progressiu de la resolució d'imatge que pot arribar fins i tot al micròmetre. Finalment, el nou desenvolupament en el *software* de tractament

d'imatge permet obtenir reconstruccions tridimensionals així com dades quantificables de paràmetres varis com engruiximents, volums i superfícies i, a més a més, comparar-les amb patrons de normalitat per edat i gènere.

La innocuïtat de la tècnica, és a dir, el fet de restar lliure d'efectes secundaris, així com l'alta reproductibilitat d'aquesta, han afavorit la seva extensió per tots els departaments d'Oftalmologia i és avui en dia una eina bàsica per aquesta especialitat. En relació a la seva aplicabilitat, l'obtenció d'imatges es pot dirigir a diferents parts de l'ull, com ara la còrnia, l'iris, el nervi òptic i la retina; en aquesta última, l'àrea més estudiada és, amb diferència, la màcula. Les imatges d'OCT macular permeten obtenir talls tissulars i reconstruccions volumètriques (cubs) del conjunt de la màcula, i estudiar-ne la patologia en forma d'edema, hemorràgies, exsudats i/o traccions vitri-maculars. És per tant l'exploració complementària *princeps* per a l'estudi de l'EMD.

En aquest sentit, l'OCT macular és un mètode exploratori més sensible que la mateixa biomicroscòpia indirecta per a la detecció d'EMD asimptomàtic extrafoveal, [78, 79] fet que ha demostrat ser un bon predictor de la seva progressió cap a la fòvea i, per tant, d'aparició de clínica. [80] Aquesta característica ha propiciat les iniciatives en favor d'utilitzar l'OCT macular com a mètode de cribratge d'EMD per telemedicina partint dels seus millors resultats al respecte; [74] tanmateix, no substitueix la retinografia quant a la detecció de RD, ja que l'OCT macular no abasta una gran àrea en contraposició als fotomuntatges de retinografies seriades. Tot i això, la seva utilitat en el diagnòstic i maneig de l'EMD, així com en el de totes les maculopaties retinals, és indiscutible sobretot perquè permet seguir evolutivament els canvis de les diferents alteracions maculars, com l'edema, en funció dels tractaments aplicats.

En relació amb la informació que l'OCT macular proporciona, sobretot en el camp de l'EMD, hom pot classificar-la en quantitativa i qualitativa. Els resultats quantitius depenen dels programes de *software* de les diferents cases comercials que fabriquen els aparells disponibles però existeixen igualment alguns punts en comú: la mesura del gruix foveal central entre la capa més interna de la retina (límit amb el vitri) i la més externa (límit amb l'epiteli pigmentari de la retina) és la dada més emprada i un bon reflex de l'entitat de l'EMD; la superfície i el volum del cub macular reconstruït, per exemple, són altres dades quantitatives també disponibles. A més a més, la disponibilitat de mesures manuals ha permès estudiar quantitativament altres paràmetres, com, per exemple, el gruix de la coroide en aquells casos en què s'obté suficient senyal d'imatge. En aquest sentit els resultats són contradictoris pel que respecta a si l'EMD s'associa clínicament a coroides més o menys engruixides en comparació als casos sense EMD. [81-85]

Per altra banda, les imatges en seccions també ofereixen informació qualitativa que no necessita del processament del fabricant, existint així, per exemple, diferents patrons discriminatius d'OCT macular en EMD.[86, 87] L'engruiximent difús retinal (EDR) és el patró més freqüent i s'objectiva com un augment en el gruix macular amb hiporreflectivitat difusa de la retina i una localització edematosa del fluid entre les capes nuclear interna i plexiforme externa. L'edema macular quístic (EMQ) se sol localitzar en les capes nuclear interna i plexiforme externa i es caracteritza per la seva configuració en quists com espais ben localitzats, hiporreflectants i homogenis tot i que, a vegades, poden presentar distribucions amb hiperreflectivitat heterogènia interna. Les imatges d'EMQ tenen la contrapartida en les imatges petaloides clàssiques de l'AGF, mantenint una relació inversament proporcional quant a la reflectivitat per OCT dels espais quístics i l'exsudació de contrast en la AGF. [88] Finalment, el despreniment serós retinal (DSR) és un patró edematós que es caracteritza pel cúmul de fluid sota la retina neurosensorial produint la separació d'aquesta de l'epiteli pigmentari de la retina. Cal remarcar també que els tres patrons qualitius principals d'EMD (EDR, EMQ i DSR) no són incompatibles i, de fet, sovint s'associen en diverses combinacions en un mateix cas.

L'OCT macular també possibilita la detecció d'altra informació qualitativa com és la detecció de membranes fibroglials i proliferacions a les capes més internes de la retina. Aquests casos també poden acompanyar fluid retinal en qualsevol de les formes anteriors. Aquestes troballes poden a més a més associar-se a formes proliferatives greus de RD amb afectació traccional macular (arribant per exemple al despreniment de retina traccional). En conjunt però, i a diferència de les formes d'EMD que no presenten aquests signes, són casos que poden ser tributaris de cirurgia vitriritinal. Per altra banda, altres signes qualitius de l'EMD són la presència de punts focals amb augment de la reflectivitat i que tradueixen les imatges obtingudes per biomicroscòpia indirecta: en funció de la morfologia, es poden diferenciar exsudats durs, exsudats tous, hemorràgies o punts hiperreflectius intrarretinals (PHI). Aquests últims són d'importància, ja que alguns autors han teoritzat sobre l'origen inflamatori dels mateixos i que, per tant, els PHI podrien ser la traducció gràfica d'agregats de glia activada presents diferencialment en l'EMD. [57, 62, 89]

Angiografia retinal per tomografia de coherència òptica

L'angiografia retinal per tomografia de coherència òptica (Angio-OCT) és una exploració d'imatge de nova aparició que permet la visualització de la vascularització retinal i coroidal sense necessitat de contrast endovenós. [90] De fet, aquesta tècnica no és més que una evolució de processament informàtic de les dades que s'obtenen

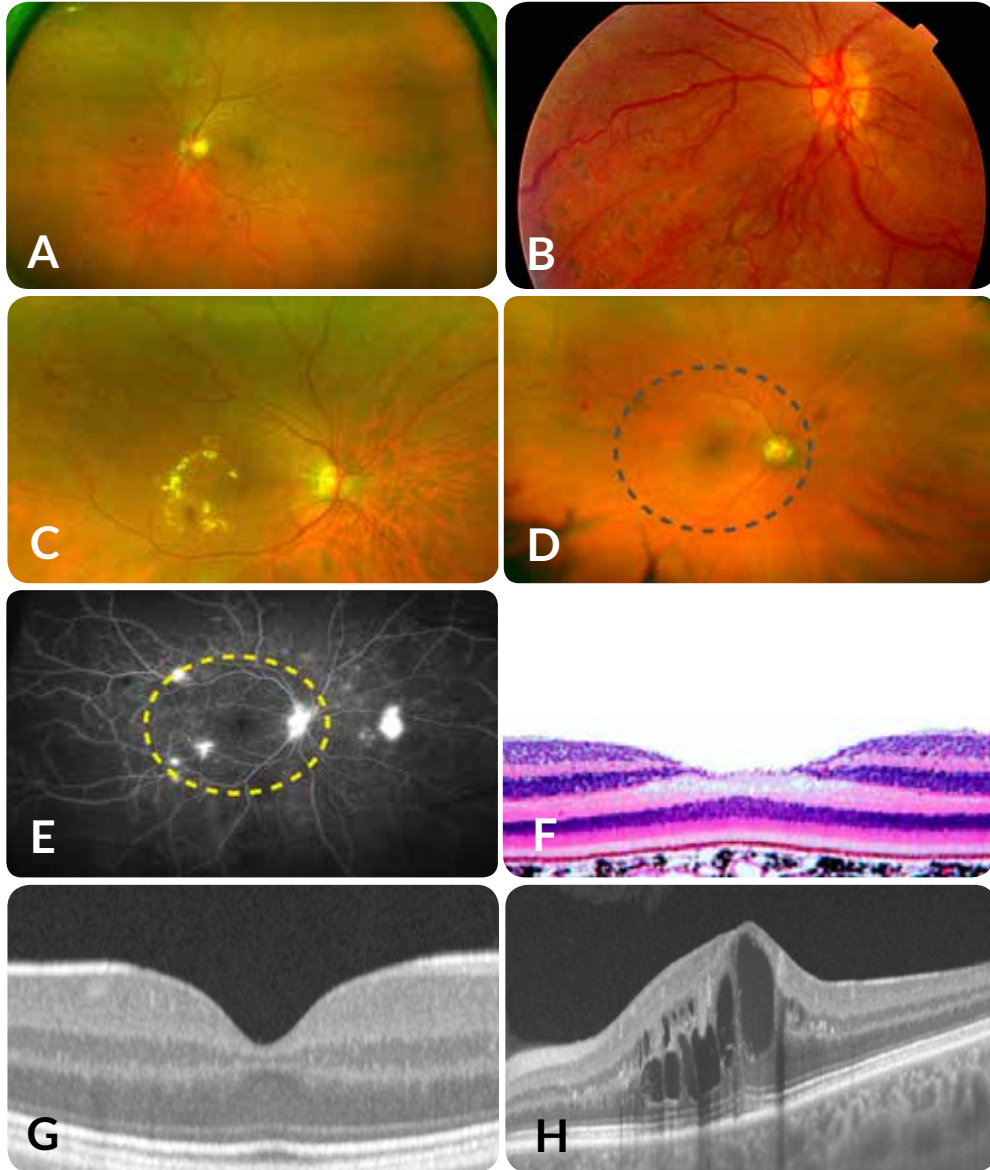
de la OCT convencional. D'aquesta manera, i de forma molt esquemàtica, la tecnologia d'Angio-OCT parteix de la premissa que els únics elements mòbils en la retina són els eritròcits endovasculars per, basant-se en la detecció del seu moviment, construir l'arbre vascular tissular. Així doncs, a partir del càlcul de les diferències d'amplitud de senyal que originen diferents talls tomogràfics consecutius d'una mateixa secció, es genera un contrast gràfic que distingeix les cèl·lules circulants de la resta de teixits (estàtics). [91] Aquest senyal d'intensitat variable depèn de la velocitat circulatòria i es tradueix en imatges de reflectivitat modulable (a més velocitat, més reflectivitat) que acaben dibuixant el conjunt vascular de cada àrea escanejada. Des de la seva aparició l'any 2006 la tecnologia Angio-OCT i els seus algorismes de processament han evolucionat ràpidament perfeccionant el detall de cada imatge. [92]

Tot i la similitud en resultats amb l'AGF, ambdues tècniques presenten diferències remarcables entre elles. A primera vista, l'Angio-OCT no necessita contrast endovenós i per tant resta lliure de qualsevol efecte secundari. Essent així una exploració innòcua, és altament repetible i reproduïble i es pot estendre sense problemes en la pràctica clínica per al seguiment de diferents patologies vasculares. A més a més, en tant que detecta la circulació únicament, és capaç de delimitar de forma precisa els elements vasculares sense cap alteració per elements no vasculares. Finalment, la capacitat de processament gràfic de l'Angio-OCT permet obtenir imatges a diferents profunditats dins l'àrea a estudi i amb correspondència amb la histologia retinal i coroidal, delimitant, per exemple, el plexe vascular superficial, vascular profund i coriocapil·lar; en la mateixa línia permet disposar de reconstruccions volumètriques tridimensionals de la vasculatura. En contraposició, l'AGF només obté una imatge en dues dimensions que és el resultat de la superposició de tota l'emissió de contrast captada en la fotografia. Tanmateix, no tot són avantatges en aquesta tècnica de recent aparició. En tant que l'Angio-OCT treballa sobre la circulació vascular, només és capaç de detectar perfusió dels vasos però no és capaç de detectar isquèmia tissular ni difusió extravascular, ja que són fenòmens que s'esdevenen fora dels vasos i no impliquen directament als eritròcits. Ambdós conceptes, tot i això, sí que són detectables per l'AGF, que és capaç d'apreciar isquèmia retinal i difusió de plasma, punts molt importants, per exemple, per a la identificació de neovasos retinals això com per a l'estudi de l'EMD. Finalment, l'aparició de sistemes fotogràfics de camp ampli ha permès a l'AGF abastar la pràctica totalitat de la superfície retinal i, per contra, l'Angio-OCT, en tant que presonera de la tecnologia OCT, manté actualment la seva àrea d'influència en la màcula i les seves proximitats, necessitant muntatges fotogràfics amb diferents preses i la col·laboració del pacient examinat per augmentar l'àrea d'estudi. Tanmateix, aquest últim punt és merament tècnic i és d'esperar que en pocs anys l'àrea retinal analitzable per aquesta tècnica sigui homologable a la dels sistemes retinogràfics de camp ampli.

En relació amb la informació diagnòstica que aporta l'Angio-OCT en el camp de l'EMD, aquesta es basa en la detecció d'anomalies anatòmiques en la vasculatura macular. D'aquesta manera, l'Angio-OCT permet detectar fàcilment microaneurismes, anomalies microvasculars retinals (IRMA), neovasos, àrees d'absència de perfusió capil·lar, així com delimitar l'augment i distorsió de la zona avascular foveal (ZAF). [93, 94] La caracterització dels microaneurismes, IRMA i neovasos pot ser de gran utilitat en el seguiment i maneig del pacient amb RD aïllada però, en el cas de l'EMD, la seva utilitat és més limitada. [95, 96] Tanmateix, la capacitat per caracteritzar la falta de perfusió capil·lar i alteració de la ZAF si són de gran valor en el context de l'EMD, ja que ambdós fenòmens tradueixen isquèmia macular, de forma anàloga a la descrita en l'AGF, i, per tant, pitjor pronòstic funcional.[97] A més a més, la magnitud de l'alteració d'aquests dos ítems s'ha reportat en relació directa amb la gravetat de la mateixa RD. Per altra banda, els casos d'EMD que cursen amb patrons d'edema quístic poden comportar imatges hiporelectives artificioses a l'Angio-OCT de forma similar a la mateixa falta de perfusió; resta encara en discussió la raó física d'aquesta imatge, ja sigui pel desplaçament mecànic dels vasos retinals pel quist com per a la isquèmia vascular *per se* que comporta. [98]

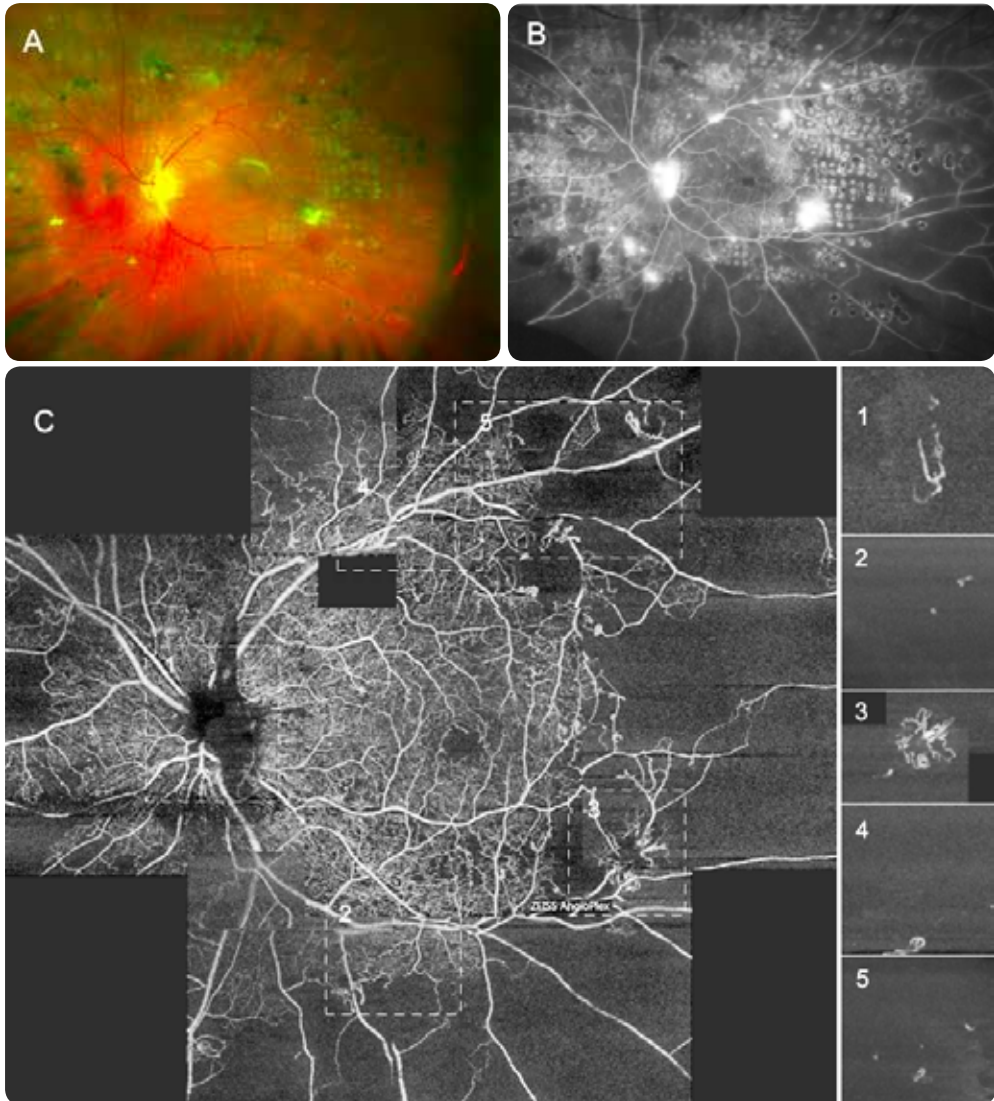
En resum, l'exploració de la circulació retinal i coroidal per Angio-OCT és una tècnica d'imatge que, en conjunt, està cridada a quotes molt importants de protagonisme en l'Oftalmologia moderna. Tot i això, actualment encara està a les beceroles quant al seu desenvolupament tècnic i informàtic i, per tant, és d'esperar una gran evolució en el seu coneixement i aplicabilitat en els pròxims anys.

Figura 1. Elements diagnòstics en edema macular diabètic



A, retinografia de retinopatia diabètica (RD) no proliferativa moderada; B, retinografia de RD proliferativa; C, retinografia d'edema macular diabètic (EMD); exploracions de camp ampli de retinografia (D) i angiografia fluoresceínica (E) de RD proliferativa, en línia de punts detallat el camp d'exploració en sistema no de camp ampli; F, tall histològic macular a nivell foveal; G, imatge per tomografia de coherència òptica (OCT) macular de l'àrea foveal; H, OCT d'EMD.

Figura 2. Angiografia per tomografia de coherència òptica



A, retinografia de camp ampli d'un cas de retinopatia diabètica en curs de panretinofotocoagulació; B, angiografia fluoresceïnica de camp ampli del mateix cas on s'objectiven múltiples neovasos actius i marcada isquèmia perifèrica; C, composició d'imatges d'angiografia per tomografia de coherència òptica (Angio-OCT) de la xarxa vascular del mateix cas, amb correspondència als sectors 1-2-3-4-5.

V. Tractament

El tractament de l'EMD ha anat clàssicament de la mà del propi de la RD en tant que es considerava aquesta primera entitat com una mera acompanyant de la segona. Tanmateix, avui en dia, l'EMD s'ha erigit com un element patològic amb un cos diagnòstic i terapèutic propi gràcies als avenços tecnològics i farmacològics al respecte així com a la creixent importància epidemiològica mundial de la maculopatia diabètica. Cal remarcar que la primera línia d'intervenció en l'EMD és, precisament, el control dels factors de risc metabòlic que l'ocasionen. Aquest punt ja ha estat comentat en apartats previs i resta només recordar que alguns casos de maculopatia diabètica sense afectació d'agudes visual significativa poden evolucionar favorablement només amb la millora del control glucèmic del pacient. Tot i això, els límits d'afectació de l'EMD en els quals no plantejar tractament directament són encara objecte de discussió. En qualsevol cas, a grans trets i més enllà del bon control metabòlic, el tractament intervencionista de l'EMD es pot dividir en teràpia làser, teràpia farmacològica i cirurgia endoocular.

El tractament de l'EMD mitjançant fotocoagulació retinal té el seu origen en, com molts altres aspectes de l'afectació ocular per la DM, l'estudi ETDRS. [69] La base física de la fotocoagulació és l'efecte causat pel canvi d'energia lumínica del làser a tèrmica un cop estimulat l'epiteli pigmentari de la retina, ocasionant la desnaturalització proteica i alteració tissular local. D'aquesta manera es creu que s'aconsegueix inactivar les fases proliferatives de la RD, ja que es destrueix el parènquima isquèmic productor, per exemple, de VEGF, al mateix temps que s'afavoreix una recirculació dels vasos retinals cap a les zones indemnes. En el camp de l'EMD, l'estudi ETDRS va definir el concepte d'edema macular diabètic clínicament significatiu (descriu anteriorment) com aquell tributari de fotocoagulació retinal macular. La teràpia làser es realitza sobre un aparellatge de làmpada de fenedura al que, un cop visible el fons d'ull mitjançant biomicroscòpia indirecte a través de lent de contacte, s'hi dirigeix el làser connectat. Mitjançant l'aplicació del làser, conegut com a focal, sobre les àrees de microaneurismes funcionants (circinats) causants d'edema s'aconsegueix la seva inactivació i reducció del fluid extravasat. Quan l'afectació de la màcula era difusa, es tendia a la realització de laser reixeta, és a dir, un patró fix de làser focal al llarg de la màcula. En conjunt però la tècnica no permet, usualment, guanyar visió sinó protegir de la pèrdua d'agudes visual. Els efectes secundaris principals de l'aplicació làser macular són l'aparició de cicatrius tissulars per l'excés d'energia tèrmica alliberada i, per tant, escotomes resultants. Per aquesta raó el tractament làser macular no es pot realitzar en la fòvea i, com més propera sigui la zona de tractament a aquesta, més risc hi ha d'aparició d'escotomes. Aquestes limitacions es van reduir significativament

amb l'aparició de noves fonts i pautes de tractament làser, com el làser subllindar i el làser de micropols, que permeten realitzar la teràpia amb un risc molt menor, sinó inexistent, d'aparició de cicatrius i escotomes. [99, 100] Tanmateix, el coneixement dels efectes secundaris i, sobretot, la poca eficàcia quant a guany visual, ha propiciat que aquest tractament hagi estat àmpliament superat actualment per la teràpia farmacològica intraocular.

L'adveniment del tractament farmacològic intraocular ha estat, juntament i de forma paral·lela a l'aparició de l'OCT, la clau de volta de l'Oftalmologia dels últims anys i l'EMD no n'ha estat excepció. L'administració de fàrmacs a l'interior de l'òrgan visual, concretament, a la cambra vítria, ha esdevingut una prestació molt comuna i realitzada eficientment de forma ambulatoria. Molt breument, consisteix, prèvia asèpsia amb povidona iodada al 5% en fons de sac ocular i anestèsia tòpica, en la injecció transescleral d'un volum determinat de fàrmac (normalment 0.05mL) a 3.5-4mm del limbe esclerocorneal a través d'una agulla de 30-32 gauge usualment. D'aquesta manera el fàrmac a nivell intravitri actua sobre les seves dianes terapèutiques intraoculars habilitant la resposta clínica de l'EMD. A grans trets actualment es disposa de dues grans famílies de fàrmacs intravitris en aquest sentit, els inhibidors de l'eix del VEGF i els esteroides.

En relació amb els inhibidors del VEGF, aquests abasten una sèrie de molècules, concretament, anticossos, que bloquegen l'acció d'aquest factor de permeabilitat clau, com s'ha explicat prèviament, en l'etiopatogènia de l'EMD i la RD. Tot i que actualment hi ha una miríada d'agents en estudi, ara com ara només tres són de pràctica clínica habitual: bevacizumab (Avastin®; anticòs quimèric murí) d'ús *off label*, ranibizumab (Lucentis®; anticòs monoclonal humanitzat) i aflibercept (Eylea®; proteïna de fusió recombinant). [101] En conjunt la seva acció es basa en el bloqueig directe del VEGF, amb una diana d'isofoma i afinitat d'unió diferent en funció del fàrmac. Tots ells han demostrat àmpliament la seva eficàcia en preservació de l'agudesia visual i fins i tot la seva millora, representant així un tractament molt superior a la teràpia làser macular. [102-104] Els efectes secundaris d'aquests fàrmacs són molt limitats a escala ocular però resta més discutida la seva afectació sistèmica; estudis experimentals han demostrat que els fàrmacs anti-VEGF administrats intraocularment disminueixen els nivells sistèmics d'aquest factor [105] i, per tant, l'eventual aparició d'efectes secundaris cardiovasculars i/o ictals és un punt controvertit actualment tot i que la evidència recent sembla anar en contra d'aquesta associació. [102-104] Els tractaments a partir d'agents anti-VEGF abracen diferents règims posològics que, en general, són objecte de discussió actual en relació a la millor eficiència en el maneig de l'EMD. Tanmateix però, usualment encara es necessiten múltiples injeccions, amb una periodicitat que pot arribar a ser mensual, al llarg del temps per al correcte maneig de l'EMD. [101]

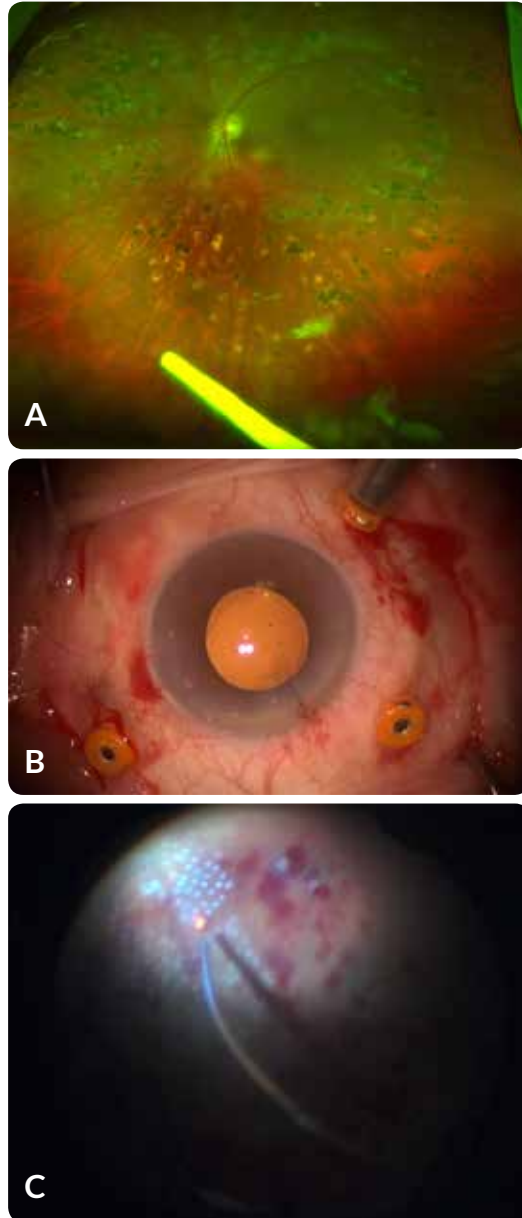
Per altra banda, els derivats esteroidals representen una altra família d'agents farmacològics en el tractament de l'EMD. L'acció dels esteroides es basa en el bloqueig de l'enzim fosfolipasa A2 i, per tant, la inhibició de la cascada inflamatòria en un estrat superior, per exemple, al dels diferents efectors de resposta com citocines, quimiocines i factors de creixement. En relació als agents pròpiament dits, l'acetònid de triamcinolona (ACT) va ser el primer exponent popularitzat d'aquesta família, amb un ús majoritàriament *off label*. [106, 107] Més endavant sorgiren altres compostos que són els que actualment estan disponibles i aprovats per a aquesta indicació: com ara l'implant intravítri de dexametasona i l'implant intravítri d'acetònid de fluocinolona. [108, 109] A diferència de l'ús d'ACT i dels fàrmacs anti-VEGF, ambdós derivats esteroidals avui disponibles s'administren intraocularment en forma no de *bolus* sinó d'implant intravítri. Ambdós implants, Ozurdex® (Allergan) en el cas de la dexametasona (0.7mg) i Iluvien® (Alimera Sciences) en el cas de la fluocinolona (0.2mg), permeten per tant una major duració d'acció clínica del fàrmac, que pot arribar als 6 mesos en el primer cas i als 3 anys en el segon, gràcies a un sistema d'alliberament perllongat. [108, 110] Tot i existir diferències significatives entre ambdós tractaments, en general, els derivats esteroidals en el tractament de l'EMD són més potents que els agents anti-VEGF i poden, per exemple, aconseguir resposta clínica en casos que no responen a aquesta teràpia. [111, 112] Per altra banda, a diferència de les controvèrsies en la seguretat sistèmica dels fàrmacs anti-VEGF, els fàrmacs esteroidals no tenen implicació en aquest camp però sí en alguns efectes secundaris oculars. És el cas de la formació de cataracta i glaucoma, efectes secundaris relativament freqüents però de presentació variable en funció del fàrmac emprat en cada cas. [111, 112] Finalment, tot i que inicialment la teràpia esteroidal de l'EMD va sorgir com a opció de segona línia en cas de fracàs del tractament anti-VEGF, actualment aquesta jerarquització no és tal i ambdues famílies són considerades, per alguns autors, com de primera línia terapèutica. [113]

Per últim, el tractament de l'EMD també pot incloure la cirurgia intraocular. Aquesta es limita però, usualment, a l'existència d'alteracions anatòmiques traccionals sobreafegides al mateix edema macular, com ara la proliferació fibrogliàtica epitelial en la superfície retinal en forma de membrana macular (també conegut com a màcula en cel·lofana), adherències vitrimaculars, traccions a partir de proliferacions fibrovasculars o bé, en alguns casos, el mateix engruiximent de la membrana limitant interna. [114] Aquestes cirurgies consisteixen bàsicament en la realització d'una vitrectomia via pars plana que implica l'introducció de diferents elements (vitrectom, pinces, tisores, infusió, llum, etc) de forma transescleral i amb visualització simultània del fons d'ull per a la seva acció sobre l'àrea macular per tal d'aconseguir l'eliminació dels elements traccionals anòmals. Avui en dia, a més a més, aquestes cirurgies es

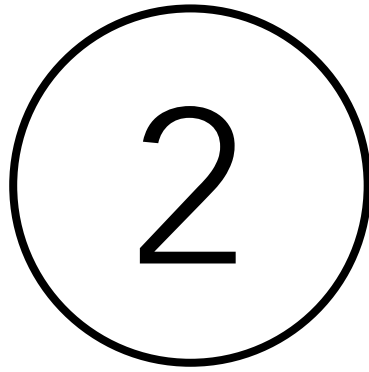
realitzen amb instruments de petit calibre (23, 25 i 27 *gauge*) que usualment no necessiten de sutura escleral i redueixen sensiblement la morbiditat associada. [115] L'efecte clínic d'aquestes cirurgies es relaciona amb l'alliberament de les traccions anatòmiques sobre l'àrea macular edematitzada, tot i que també s'ha postulat una milloria clínica de l'EMD, i també la RD, per la millora en l'oxigenació tissular retinal *per se* que s'experimenta en substituir postquirúrgicament el gel vitri per l'humor aquós. [116, 117] Tanmateix, tot i aquests beneficis, alguns estudis han reportat uns pobres resultats anatòmics i funcionals de la realització de cirurgia de vitrectomia en casos d'EMD no traccional [118] i, per tant, aquesta indicació no acostuma a ser considerada com a pràctica clínica habitual. Per altra banda, les indicacions de la cirurgia de vitrirretina en els casos d'EMD no descarta que aquests pacients puguin ser també objecte de cirurgia oftàlmica relacionada amb complicacions de la mateixa RD però no amb l'alteració macular en si, com ara la cirurgia de la cataracta, l'hemorràgia vítria o, fins i tot, el glaucoma neovascular.

Cal remarcar finalment que, tot i que conceptualment el tractament de l'EMD actualment es pot dividir en làser, farmacològic intravitri i quirúrgic, en la pràctica clínica habitual no és infreqüent la combinació de diferents opcions terapèutiques. En aquesta línia, per exemple, sovint es realitza tractament làser focal en àrees d'exsudació macular clares després d'haver realitzat teràpia intravíttria farmacològica per l'EMD. [119, 120] Els agents intravitris disminueixen l'engruiximent de la retina i faciliten la resposta tissular a l'efecte posterior del làser aplicat. Per altra banda, freqüentment es pot acompanyar la realització de cirurgia vitrirretinal amb la injecció d'agents intravitris posteriors per tal d'aconseguir disminuir més ràpidament l'engruiximent macular un cop eliminades les traccions retinals afegides a l'EMD. L'implant esteroïdal (usualment dexametasona) acostuma a ser més utilitzat en aquests casos en lloc dels agents anti-VEGF per la seva major duració d'acció. [121]

Figura 3. Elements terapèutics en edema macular diabètic



A, implant intravítri de dexametasona visible en fons d'ull després d'injecció intravítrea, a més a més, signes de panretinofotocoagulació retinal; B, aspecte extraocular de la cirurgia de vitrectomia mecànica via pars plana; C, tractament làser mitjançant panretinofotocoagulació retinal, en aquest cas, per via endocular durant la pràctica de cirurgia de vitrètica.



JUSTIFICACIÓ

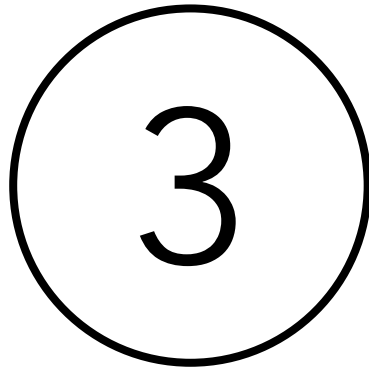
JUSTIFICACIÓ

El coneixement actual de l'EMD és ampli i variat, tal com hem presentat breument en la secció introductòria. A més a més, les millores tecnològiques d'imatge i tractament, així com d'anàlisi de mostres biològiques, han permès els últims anys establir unes bases sòlides sobre el que el maneig clínic dels pacients amb EMD es pot veure beneficiat en el futur. Tanmateix, existeixen llacunes en la literatura científica actual sobre certs aspectes d'aquesta patologia que resten per detallar. Per exemple, gran part del coneixement epidemiològic de l'EMD es basa en estudis dissenyats i enfocats en el marc de la RD i que només analitzen l'EMD com a variable acompanyant. Així mateix, molts d'aquests estudis es realitzaren en pacients amb DM tipus 1, situació que difereix de la pràctica clínica habitual on la majoria d'afectes per aquesta complicació oftalmològica són DM tipus 2. Finalment, també en el vessant epidemiològic, el control clínic i metabòlic dels pacients diabètics implicats en els estudis històrics pot haver canviat els últims anys, especialment en àrees urbanes desenvolupades amb prestacions sanitàries eficaces i, per tant, haver potencialment influït en la presentació de l'EMD.

Tot i això, el fet diferencial que justifica la realització de nous estudis descriptius de l'EMD és, principalment, la generalització de les noves tècniques d'imatge. En definitiva, molts conceptes vigents sobre EMD es basen en estudis històrics que no disposaven en el seu moment de la informació que habilita, per exemple, l'OCT i, en menor mesura, els dispositius fotogràfics retinals de camp ampli. En tant que l'OCT és la millor tècnica diagnòstica d'aquesta patologia, aquest punt representa un biaix important en el coneixement general de l'EMD. A més a més, aquestes tècniques permeten detallar diverses característiques intraoculars, com ara els patrons anatòmics d'edema macular o la isquèmia retinal perifèrica, l'associació de les quals a paràmetres sistèmics podria traduir un valor important com a biomarcador. En aquest punt és important recordar la definició de l'Organització Mundial de la Salut del concepte de biomarcador: "qualsevol substància, estructura o procés que pot ser mesurat en el cos, o producte derivat, i influeix o prediu la incidència de malaltia o el seu resultat". Així doncs, en el camp dels biomarcadors, hom pot justificar la necessitat d'un estudi que es dirigeixi específicament a pacients afectes d'EMD i que analitzi diversos paràmetres sistèmics, per exemple, en sang perifèrica, en relació a aquesta patologia estudiada amb les exploracions complementàries més modernes. Així mateix, es pot investigar la presència diferencial de certs marcadors en relació a la presència o no d'EMD en un conjunt de pacients diabètics, tots ells amb RD, per tal de no caure en el biaix de comparar pacients amb EMD i RD amb persones sense

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

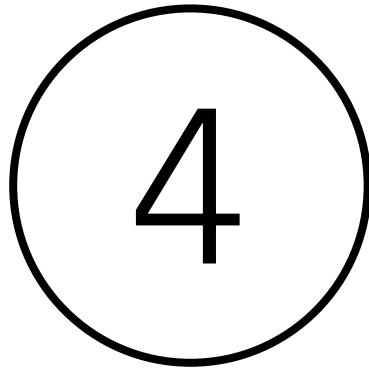
En resum, les noves tècniques diagnòstiques d'imatge en el camp de l'EMD ofereixen una informació actual i de gran valor. En relació amb paràmetres moleculars de sang perifèrica podrien, en conjunt, guanyar valor clínic com a detectors de malaltia així com establir les bases del valor pronòstic d'aquestes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



HIPÒTESI

HIPÒTESI

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



OBJECTIUS

OBJECTIUS

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



MATERIALS I MÈTODE

I. Marc ètic i clínic de l'estudi

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

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

Tipus i duració de l'estudi

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

Grups d'estudi: criteris d'inclusió i exclusió

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

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

Críteris d'inclusió

- Major de 35 anys.
- Diagnòstic de DM2 basant-se en la història clínica i seguint els críteris internacionals revisats de diagnòstic de Diabetis Mellitus segon l'*American Diabetis Association*. [122] Es fixa per tant presència d'algun dels següents ítems, amb confirmació analítica en segon temps: glicèmia en dejú >126 mg/dl, HbA_{1c} >6.5%, glicèmia >200 mg/dl a les 2 hores de sobrecàrrega oral de 75 mg de glucosa, glicèmia >200 mg/dl en presència de símptomes clàssics (sense necessitat de confirmació).
- Diagnòstic de RD: [68, 69] fons d'ull amb objectivació de microaneurismes retinals, que es poden o no acompanyar de dilatacions sectorials venoses i/o anomalies microvasculars retinals.
- Bona visibilitat de fons d'ull per a la correcta adquisició d'OCT, retinografia de camp ampli i AFCA.
- Capacitat per atorgar el consentiment informat i comprendre els objectius de l'estudi i els procediments que inclou.
- Consentiment informat escrit firmat.

Críteris d'exclusió

- Embaràs.
- Malaltia física o mental que interfereixi amb la capacitat per cooperar en la realització de l'estudi.
- Diagnòstic d'altra patologia vascular o degenerativa oftalmològica com ara síndrome isquèmica ocular, degeneració macular associada a l'edat, oclusió vascular retinal i/o qualsevol afectació que cursi amb opacitat significativa dels mitjans transparents oculars que impedeixi una correcta visualització del fons d'ull (cataracta madura, leucoma corneal, hemorràgia vítria etc).

- Diagnòstic de RD proliferativa (RDP) definida per la presència de RD associant hemorràgia vítria, hemorràgia preretinal i/o neovascularització retinal. [68]
- Diagnòstic previ de malalties i/o condicions de base immunològica sistèmica (Lupus Eritematós Sistèmic, Artritis Reumatoïdal, Sarcoidosi etc.) o infecciosa (Tuberculosi, Hepatitis Infecciosa, Infecció pel Virus de la Immunodeficiència Humana)
- Tractament actual o passat amb fàrmacs immunosupressors de qualsevol tipus.
- Tractament actual o passat amb fàrmacs amb potencial lesiu oftalmològic de fons d'ull com etambutol, isoniazida, linezolid, vincristina, penicil·lamina, etc.

Criteris de selecció

Grup 1

- A l'exploració de fons d'ull, detecció d'àrees d'engruiximent macular central associat a microaneurismes i/o exsudació lipídica macular. [68, 69] Confirmació per OCT com a *gold-standard* (vegeu Variables oftalmològiques). [123]
- Si un subjecte compleix criteris d'inclusió per ambdós ulls es determinaran les variables oftalmològiques quantitatives i se seleccionarà com ull d'estudi aquell amb major afectació quantitativa per EMD a criteri del facultatiu tractant.

Grup 2

- No compliment de criteris de selecció en el grup 1.

III. Procediments d'estudi

Totes les avaluacions i exploracions tindran lloc el mateix dia en la mateixa localització (Consultes Externes de l'ICOF) amb l'excepció de l'AFCA, que es podrà programar en una finestra de 7 dies des de la visita inicial per raons logístiques. Els procediments d'estudi són els que segueixen:

- **Visita Basal:** consulta oftalmològica on es valorarà la idoneïtat del subjecte en cada grup d'acord als criteris d'inclusió, exclusió i selecció, es recollirà informació respecte de les variables demogràfiques i clíniques, i es realitzarà l'exploració oftalmològica d'estudi així com les proves complementàries pertinents (OCT i AFCA). Visita realitzada per facultatiu oftalmòleg especialista en patologia de retina amb el suport d'optometria.
- **Obtenció de mostra sanguínia:** mitjançant venipunció de sang perifèrica, adquisició de 2 mostres (A i B). Procediment realitzat per infermeria de Consulta Externa de l'ICOF.
 - **Mostra A:** processament estàndard per anàlisi sanguínia basal dels paràmetres metabòlics a estudi en el Laboratori Central de l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.
 - **Mostra B:** processament immediat en el Laboratori d'Inflamació Ocular, situat en el mateix ICOF. Centrifugació a 1600 g i -4 °C per aïllament del sèrum i emmagatzematge del mateix en congelador a -70 °C. Procediment realitzat pel personal investigador bioquímic del citat dispositiu.
- **Determinació dels mediadors immunes seleccionats (IFN- γ , IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, IP-10, MCP-1, TNF- α i VEGF) en les mostres de sèrum emmagatzemades un cop descongelades mitjançant plataforma Luminex® (*Millipore's MilliPlex Human Cytokine/Chemokine kit*). Determinació emprant un *assay plate layout* de set estàndards per duplicat (3.2-2000 pg/ml), un pou en blanc (per subtracció de fluorescència base), dos elements de qualitat interna per duplicat i duplicats de cada mostra sèrica de 25 μ l. Mètode MilliPlex® realitzat d'acord amb les recomanacions del fabricant per part del personal del Laboratori d'Inflamació Ocular de l'ICOF.**

IV. Variables d'estudi

Variables demogràfiques

- Gènere i edat

Variables clíniques

- Data de diagnòstic de la DM, anys d'evolució i tractament actual (dieta, antiabètics orals i/o insulinoteràpia).
- Data de diagnòstic de la RD i de l'EMD així com tractament oftalmològic rebut (fotocoagulació làser macular i/o panretinal, teràpia farmacològica intravítrea i/o cirurgia).

Variables sistèmiques metabòliques

- Estat glucèmic (anàlisi sanguínia): glicèmia basal en dejú, hemoglobina glicada (HbA_{1c}).
- Dislipèmia (anàlisi sanguínia): colesterol total, LDL, HDL, triglicèrids.

Variables sistèmiques inflamatòries

- Nivells sèrics (pg/ml) de IFN- γ , IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, IP-10, MCP-1, TNF- α i VEGF.

Variables oftalmològiques

- Agudeses visual millor corregida (AVMC) (escala Snellen) en notació decimal i transformació a logMAR.
- Biomicroscòpia de segment anterior ocular: determinació de cataracta i transparència de mitjans.
- Pressió intraocular: quantificació en mmHg.
- Biomicroscòpia de segment posterior ocular: determinació inicial d'EMD, altres alteracions retinals d'acord a criteris de reclutament i estadificació de RD. Classificació gradual de RD d'acord a escala internacional [1, 68] en RD no proliferativa (RDNP) lleu (microaneurismes retinals), RDNP moderada (hemorràgies retinals en <4 quadrants de fons d'ull i/o dilatacions sectorials venoses en 1 quadrant), RDNP greu (hemorràgies retinals en 4 quadrants, dilatacions sectorials venoses en 2 o més quadrants i/o anomalia microvascular retinal) i RDP (hemorràgia vítria, preretinal i/o neovascularització retinal).

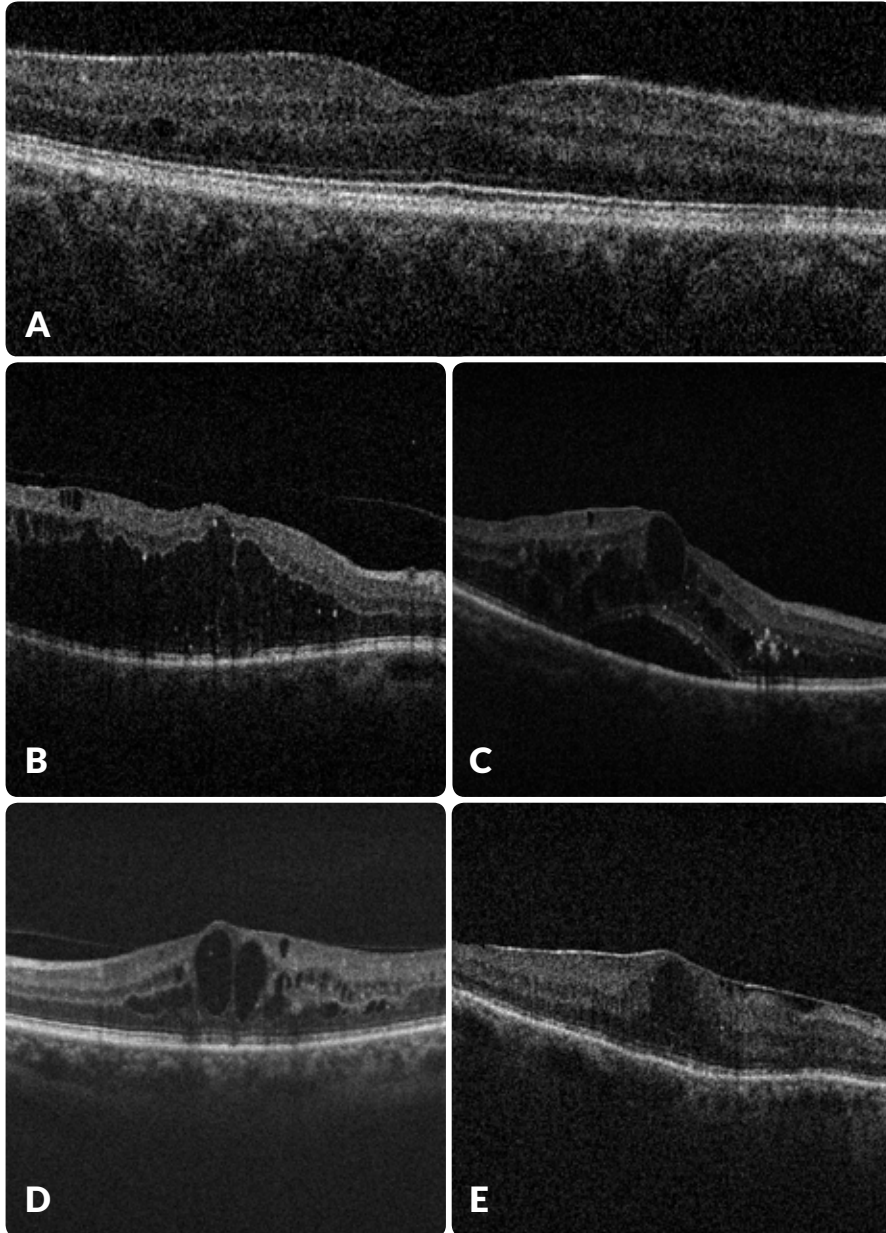
Exploracions complementàries anatòmiques oculars:

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

V. Anàlisi estadístic

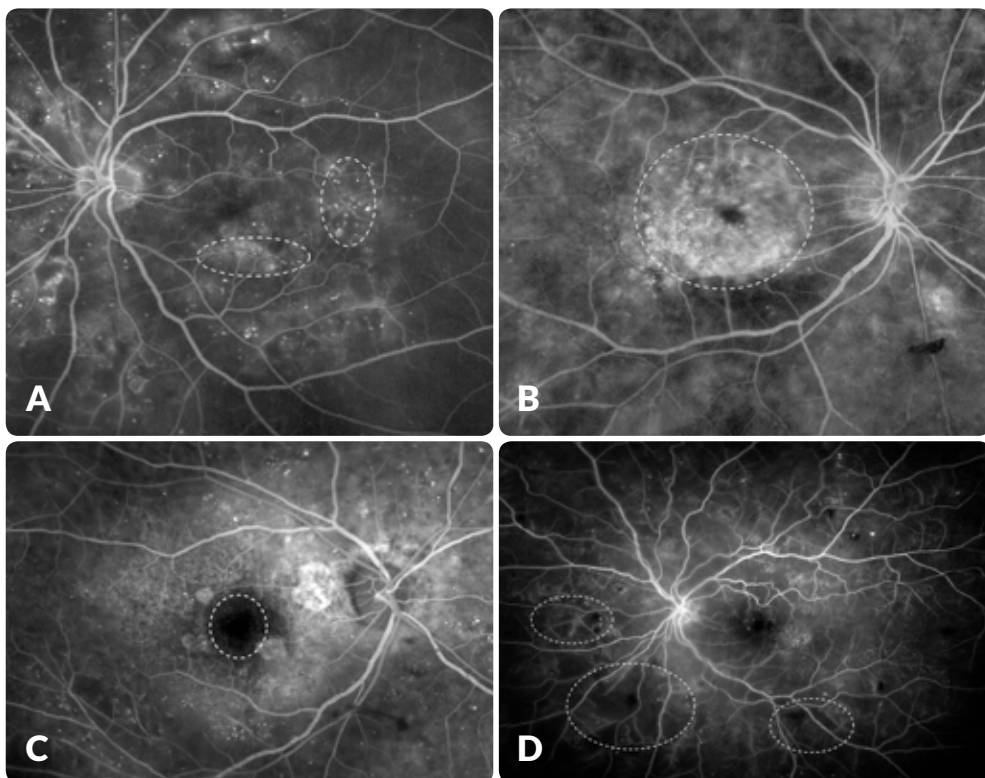
Estadística descriptiva a partir de la caracterització de les variables per mitjana aritmètica, mediana, rang interquartílic (IQR: percentil 25 i 75) i rang absolut per les variables quantitatives. Freqüència absoluta i percentatge emprats per la descripció de les variables qualitatives. Anàlisi estadístic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

Figura 4. Variables qualitatives d'EMD per OCT

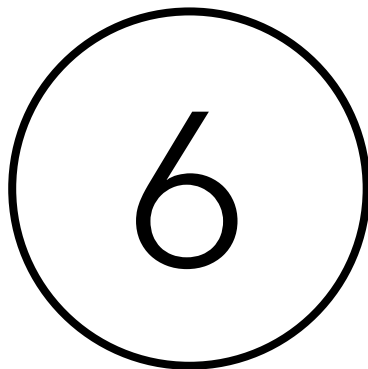


A, OCT sense EMD; B, OCT amb patró d'engruiximent difús retinal; C, OCT amb presència de desprendiment serós retinal; D, OCT amb signes d'edema macular quístic; E, OCT amb membrana epirretinal macular.

Figura 5. Variables qualitatives d'EMD per AFCA



A, detall de patró focal (línies de punts) d'edema macular diabètic (EMD) a l'angiografia fluoresceïnica retinal de camp ampli (AFCA); B, patró difús d'EMD a l'AFCA; C, detecció de zona avascular foveal augmentada mitjançant AFCA; D, àrees d'isquèmia retinal perifèrica (línies de punts) a l'AFCA.



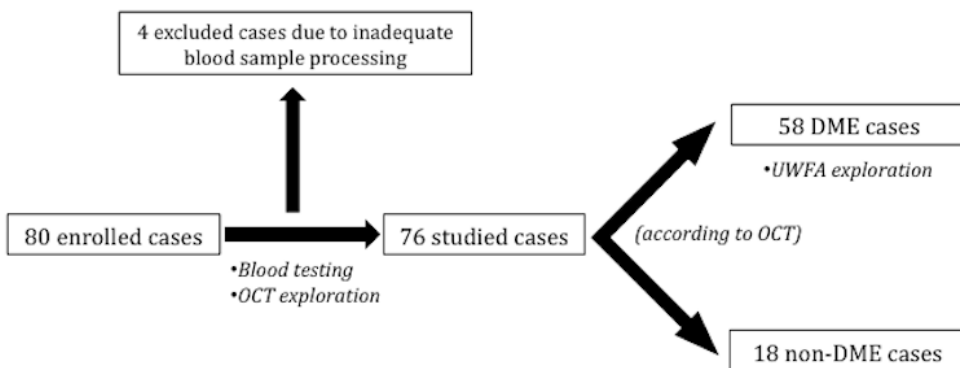
RESULTATS

I. Descriptius epidemiològics i clínics

En primera instància, vuitanta pacients amb DM foren inclosos en la investigació seguint els criteris d'inclusió i exclusió establerts. Quatre pacients van ser exclosos degut a un processament inadequat de les mostres sanguínies que imposibilitaren la determinació analítica de marcadors inflamatoris sèrics. Finalment per tant s'analitzaren 76 pacients (Figura 6). Tots els casos inclosos van ser objecte de venipunció perifèrica per a obtenció de dues mostres sèriques, tant d'analítica metabòlica com de molècules inflamatòries, així com d'exploració per OCT segons protocol. D'aquests 76 pacients, 58 presentaren EMD d'acord als criteris predefinits per OCT. Divuit pacients referits per sospita d'EMD no el varen presentar un cop explorats amb OCT segons el protocol establert i constituïren el grup no-EMD.

Dels 58 pacients amb EMD, 42 casos (72%) van ser també explorats mitjançant AFCA d'acord amb el protocol d'estudi; els 16 casos restants no foren analitzats amb aquesta tècnica per una programació retrasada en el temps, fora de finestra d'estudi, o contraindicació de la prova. La descripció epidemiològica d'ambdós grups es representa a la Taula 1 i les característiques oftalmològiques a la Taula 2.

Figura 6. Diagrama de selecció de la mostra en els grups estudiats.



Extret de Figueras-Roca et al.[124]

Abreviacions: DME, edema macular diabètic; OCT, tomografia de coherència òptica; UWFA, angiografia fluoresceïnica retinal de camp ampli.

Taula 1. Descripció epidemiològica dels grups estudiats

Variables epidemiològiques	No EMD (n=18)	EMD (n=58)	valor p
Edat (anys) ^a	65 [59; 76]	70 [62; 78]	0.264 ^c
	32 a 88	53 a 85	
Gènere ^b			
Home (%)	13 (72)	34 (59)	0.408 ^d
Dona (%)	5 (28)	24 (41)	
Duració DM (anys) ^a	11 [8; 14]	11 [8; 19]	0.344 ^c
	1 to 25	4 to 40	
Tractament DM ^b			
No farmacològic (%)	0 (0)	0 (0)	-
Antidiabètics orals (%)	8 (44)	19 (41)	0.819 ^d
Insulinoteràpia (%)	3 (17)	7 (15)	0.886 ^d
Antidiabètics orals i insulinoteràpia (%)	7 (39)	20 (44)	0.738 ^d
Tractament previ EMD i/o RD (%) ^b	0 (0)	18 (31)	0.007 ^d
Làser macular (%)	-	9 (50)	-
Panretinofotocoagulació (%)	-	3 (17)	-
Teràpia intravítrea (%)	-	11 (61)	-
Vitrectomia via pars plana (%)	-	2 (11)	-

Abreviacions: DM, Diabetis Mellitus; EMD, edema macular diabètic; RD, retinopatia diabètica.

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

b: Variables qualitatives descrites segons nombre de casos i percentatge sobre el total ().

c: Test estadístic U de Mann-Whitney.

d: Test estadístic de Chi-quadrat.

Taula 2. Característiques oftalmològiques dels grups estudiats

Variables oftalmològiques	No EMD (n=18)	EMD (n=58)	valor p
Millor agudesa visual corregida (logMAR) ^a	0.05 [0.01; 0.12]	0.52 [0.30; 0.80]	<0.001 ^c
	0 a 0.46	0 a 2	
Pressió intraocular (mmHg) ^a	17.5 [15; 19]	16 [15; 19]	0.778 ^c
	12 a 21	12 a 28	
Estat del cristal·lí ^b			
Fàquic (%)	16 (89)	38 (66)	0.056 ^d
Lent intraocular (%)	2 (11)	20 (34)	
Grau de retinopatia diabètica ^b			
Lleu (%)	18 (100)	25 (43)	<0.001 ^d
Moderada (%)	0 (0)	22 (38)	
Greu (%)	0 (0)	11 (19)	

Abreviacions: EMD, edema macular diabètic.

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

b: Variables qualitatives descrites segons nombre de casos i percentatge sobre el total ().

c: Test estadístic U de Mann-Whitney.

d: Test estadístic de Chi-quadrat.

II. Resultats analítics sèrics

En relació amb la determinació de variables sèriques obtingudes a partir de l'anàlisi de les mostres sanguínies, no es trobaren diferències estadísticament significatives entre el grup de pacients EMD i no-EMD tant en els paràmetres metabòlics (Taula 3: glicèmia basal en dejú, hemoglobina glicada, colesterol total, LDL, HDL i triglicèrids) com en els marcadors inflamatoris (Taula 4: IFN- γ , IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, IP-10, MCP-1, TNF- α i VEGF).

Taula 3. Resultats en marcadors metabòlics dels grups estudiats

Marcadors metabòlics	No EMD (n=18)	EMD (n=58)	valor p ^a
Glucosa (mg/dl)	191 [128; 264]	146 [116; 213]	0.220
	62 a 341	51 a 417	
Creatinina (mg/dl)	0.84 [0.68; 0.96]	0.87 [0.77; 1.03]	0.330
	0.54 a 1.34	0.37 a 4.13	
Colesterol total (mg/dl)	184 [148; 200]	172 [150; 193]	0.545
	95 a 281	90 a 249	
Triglicèrids (mg/dl)	116 [85; 204]	112 [85; 172]	0.648
	49 a 832	43 a 359	
AST (U/L)	20 [17; 28]	20 [16; 26]	0.402
	15 a 69	8 a 78	
ALT (U/L)	22 [19; 28]	21 [15; 29]	0.250
	15 a 106	6 a 119	
LDL-C (mg/dl)	106 [79; 128]	99 [76; 119]	0.641
	56 a 159	38 a 175	
HDL-C (mg/dl)	40 [34; 47]	44 [37; 59]	0.104
	22 a 68	24 a 84	
Hb (mg/dl)	145 [127; 155]	136 [124; 148]	0.288
	119 a 159	98 a 175	
HbA _{1c} (%)	8.3 [8; 9.4]	7.7 [6.9; 8.9]	0.082
	6.1 a 13.3	5.5 a 13.8	

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

Abreviacions: ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartat aminotransferasa; EMD, edema macular diabètic; Hb, hemoglobina; HbA_{1c}, hemoglobina-A_{1c} glicada; HDL-C, lipoproteïna d'alta densitat - colesterol; LDL-C, lipoproteïna de baixa densitat - colesterol.

a: Test estadístic U de Mann-Whitney.

Taula 4. Resultats en marcadors inflamatoris dels grups estudiats

Marcadors inflamatoris	No EMD (n=18)	EMD (n=58)	valor p ^a
IL-1 β (pg/ml)	0.8 [0.8; 0.8]	0.8 [0.8; 0.8]	0.753
	0.8 a 3.71	0.8 a 6.90	
IL-3 (pg/ml)	0.7 [0.7; 0.7]	0.7 [0.7; 0.7]	1
	0.7 a 0.7	0.7 a 162.15	
IL-6 (pg/ml)	0.9 [0.9; 1.53]	0.9 [0.9; 0.9]	0.258
	0.9 a 25.91	0.9 a 81.14	
IL-8 (pg/ml)	8.23 [5.38; 10.72]	8.78 [4.19; 12.60]	0.842
	2.06 a 25.19	0.82 a 108.03	
IL-10 (pg/ml)	1.1 [1.1; 1.1]	1.1 [1.1; 1.1]	0.741
	1.1 a 33.74	1.1 a 12.12	
MCP-1 (pg/ml)	401.73 [323.08; 458.65]	421.29 [361.56; 547.26]	0.465
	249.65 a 656.79	143.94 a 1115.98	
IP-10 (pg/ml)	254.95 [189.66; 378.41]	206.6 [140.91; 366.42]	0.266
	128.54 a 808.90	45.61 a 1271.69	
IFN- γ (pg/ml)	1.18 [0.8; 4.3]	0.89 [0.8; 3.42]	0.477
	0.8 a 58.31	0.8 a 572.05	
TNF- α (pg/ml)	5.74 [4.27; 8.19]	7.58 [5.23; 10.24]	0.078
	1.75 a 10.61	0.7 a 33.06	
VEGF (pg/ml)	26.3 [26.3; 293.59]	26.3 [26.3; 274.69]	0.631
	26.3 a 717.13	26.3 a 3269.42	

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

Abreviacions: EMD, edema macular diabètic; IFN- γ , interferó gamma; IL, interleucina; IP-10, interferó gamma-induïda proteïna-10; MCP-1, monòcit quimioatracent proteïna-1; TNF- α , factor de necrosi tumoral alfa; VEGF, factor de creixement vascular endotelial.

a: Test estadístic U de Mann-Whitney.

III. Resultats anatòmics intraoculars: grup EMD

Pel que fa a les troballes anatòmiques intraoculars del grup d'estudi d'EMD, els resultats es detallen a continuació. La caracterització quantitativa de l'EMD mitjançant OCT (GCS i VM) consta a la Taula 5 i els trets qualitius de cada grup per OCT i ACFA resten descrits a la Taula 6.

Així mateix, es detallen les associacions entre els resultats anatòmics intraoculars quantitius i qualitius anteriors i la principal variable clínica, és a dir, l'agudesa visual, en el present cas, millor agudesa visual corregida (MAVC) (Taula 7). Aquesta variable es correlaciona de forma estadísticament significativa amb el GCS ($r=0.593$; $p<0.001$) i el VM ($r=0.435$; $p=0.001$) (Figura 7). A més a més, la MAVC es va diferenciar de forma estadísticament significativa en determinades variables dicotòmiques (Taula 8). Així doncs, per una banda, s'ha descrit ($p<0.001$) una major MAVC en els casos d'EMD lleu (mediana 0.3 [rang interquartílic, IQR, 0.10; 0.52]) que en els greus (mediana 0.70 [IQR 0.52; 0.82]). Per altra banda, s'ha reportat una pitjor MAVC ($p=0.004$) en els EMD amb EDR (mediana 0.7 [IQR 0.40; 0.1]) que sense EDR (mediana 0.40 [IQR 0.22; 0.70]), així com també una pitjor MAVC ($p=0.017$) en els casos amb EMQ (mediana 0.52 [IQ 0.30; 0.80]) que en els pacients sense EMQ (mediana 0.30 [IQ 0.05; 0.52]).

Taula 5. Resultats quantitius per OCT en el grup EMD

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

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

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

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

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

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

Abreujacions: EMD, edema macular diabètic; GCS, gruix central subfoveal; OCT, tomografia de coherència òptica; ACFA, angiografia fluoresceïnica de camp ampli.

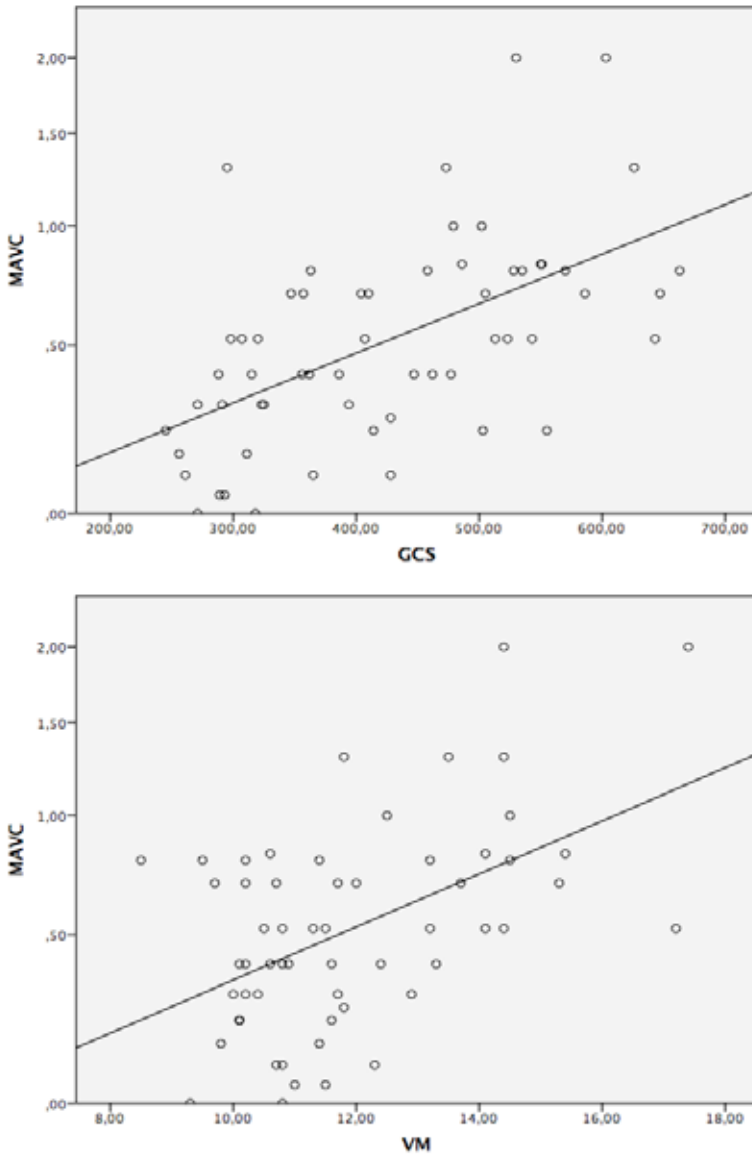
Taula 7. Relació entre resultats quantitius per OCT i agudesa visual en el grup EMD

Correlació de resultats quantitius d'OCT i MAVC		
	correlació^a	valor p^a
Gruix Central Subfoveal (μm) i MAVC (logMAR)	0.593	<0.001
Volum Macular (mm^3) i MAVC (logMAR)	0.435	0.001

Abreviacions: MAVC, millor agudesa visual corregida; OCT, tomografia de coherència òptica.

a: Coeficient de Correlació Rho de Spearman.

Figura 7. Representació gràfica de la correlació entre resultats quantitatius per OCT i agudesa visual en el grup EMD



Abreviacions: MAVC, millor agudesa visual corregida (logMAR); GCS, gruix central subfoveal (μm); VM, volum macular (mm^3).

Eix ordenades en representació logarítmica.

Taula 8. Relació entre resultats qualitatis per OCT i AFCA i agudesa visual en el grup EMD

	Resultats qualitatis d'OCT i AFCA		valor p ^a
	GCS <450 µm (n=33)	GCS ≥450 µm (n=25)	
MAVC (logMAR)	0.30 [0.10; 0.52]	0.70 [0.52; 0.82]	<0.001
	0 a 1.30	0.22 a 2	
	EDR (n=22)	no EDR (n=36)	
MAVC (logMAR)	0.70 [0.40; 1]	0.40 [0.22; 0.70]	0.004
	0.05 a 2	0 a 0.82	
	EMQ (n=38)	no EMQ (n=20)	
MAVC (logMAR)	0.52 [0.30; 0.80]	0.30 [0.05; 0.52]	0.017
	0 a 2	0 a 1.30	
	DSR (n=7)	no DSR (n=51)	
MAVC (logMAR)	0.70 [0.40; 0.82]	0.40 [0.22; 0.80]	0.098
	0.22 a 2	0 a 2	
	MEM (n=4)	no MEM (n=54)	
MAVC (logMAR)	0.70 [0.55; 0.76]	0.52 [0.26; 0.80]	0.317
	0.40 a 0.82	0 a 2	
	EMD patró difús (n=14)	EMD patró focal (n=28)	
MAVC (logMAR)	0.52 [0.22; 0.70]	0.52 [0.26; 0.80]	0.762
	0 a 1.30	0 a 1.30	
	augment ZAF (n=6)	no augment ZAF (n=36)	
MAVC (logMAR)	0.46 [0.26; 0.80]	0.52 [0.26; 0.70]	0.888
	0.10 a 1.30	0 a 1.30	
	IRP (n=11)	no IRP (n=31)	
MAVC (logMAR)	0.40 [0.30; 0.52]	0.52 [0.22; 0.80]	0.727
	0.10 a 0.82	0 a 1.30	

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

Abreviacions: AFCA, angiografia fluoresceínica retinal de camp ampli; DSR, despreniment serós retinal; EDR, engruïment difús retinal; EMD, edema macular diabètic; EMQ, edema macular quístic; IRP, isquèmia retinal perifèrica; MAVC, millor agudesa visual corregida; MEM, membrana epirretinal macular; OCT, tomografia de coherència òptica; ZAF, zona avascular foveal.

a: Test estadístic U de Mann-Whitney.

IV. Associació entre resultats intraoculars i paràmetres sèrics: grup EMD

Amb relació a l'anàlisi detallada del grup EMD, els paràmetres metabòlics i inflamatoris sèrics van ser analitzats d'acord amb les troballes anatòmiques intraoculars per OCT i AFCA (Taula 9, 10 i 11). Les associacions estadísticament significatives entre mediadors metabòlics i inflamatoris sèrics i paràmetres intraoculars es reporten en les Figures 8, 9 i 10, així com en la Taula 12. A més a més, cal fer referència en relació amb la variable dicotòmica de gravetat de l'EMD en funció del gruix foveal (lleu: GCS < 450 µm; greu: GCS ≥ 450 µm) que els casos d'EMD lleu van reportar de forma estadísticament significativa ($p=0.013$) majors xifres d'HbA_{1c} (mediana 8.4%) que els casos greus (mediana 7.1%). Aquesta associació amb l'HbA_{1c} es va mantenir en l'estudi de la variable GCS en la seva totalitat, ja que també hi manté una correlació significativa, en aquest cas, negativa ($r=-0.323$; $p=0.013$) (Figura 8).

Per altra banda, de tornada als mediadors inflamatoris, les variables quantitatives d'OCT (GCS i VM) no es correlacionaren de forma estadísticament significativa amb aquestes molècules amb l'excepció manifesta de l'IL-6. Aquest darrer mediador va presentar majors xifres com major és el VM ($r=0.334$; $p=0.012$) (Figura 9). Amb referència als paràmetres qualitius (Taula 12 i Figura 10), els pacients amb EMD i EDR per OCT ($n=22$) s'associaren ($p=0.044$) també a majors nivells d'IL-6 en sang perifèrica. Els casos d'EMD amb EMQ ($n=38$) presentaren ($p=0.012$) menor concentració sèrica d'IL-10. Finalment, també es trobaren diferències estadísticament significatives pel que fa als pacients amb EMD i augment de la ZAF per ACFA ($n=6$), que es van relacionar amb major nivells sèrics d'IL-8 ($p=0.031$) i VEGF ($p=0.031$) comparats amb aquells amb ZAF fisiològica.

Taula 9. Mediadors inflamatoris i HbA_{1c} associats a les variables d'EMD per OCT

	HbA _{1c} (%)	IFN- γ (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-3 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	
GCS <450 μm	8.57 (1.87)	18.87 (92.39)	1.08 (1.04)	4.95 (26.19)	3.26 (13.18)	12.14 (17.30)	
(n=33)	8.4 (7.4; 9.3)	1.24 [0.8; 3.42]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	9.11 [4.19; 14.38]	
	5.6 a 13.8	0.8 a 572.05	0.8 a 6.19	0.7 a 162.15	0.9 a 81.15	0.82 a 108.04	
GCS \geq450 μm	7.58 (1.53)	5.46 (12.51)	1.12 (1.40)	0.7 (0)	2.94 (4.43)	8.66 (5.85)	
(n=25)	7.1 (6.7; 8)	0.8 [0.8; 3.65]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 1.77]	8.26 [4.19; 12.02]	
	5.5 a 12.1	0.8 a 52.02	0.8 a 6.90	0.7 a 0.7	0.9 a 15.49	1.51 a 25.4	
valor p	0.013	0.312	1	1	0.358	0.588	
EMQ	7.9 (1.7)	19.13 (93.86)	1.02 (1.06)	5.06 (26.54)	4.27 (13.59)	10.89 (17.28)	
(n=38)	7.5 [6.9; 8.5]	0.89 [0.8; 2.62]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	6.82 [4.19; 10.987]	
	5.5 a 13.8	0.8 a 572.05	0.8 a 6.90	0.7 a 162.15	0.9 a 81.15	1.51 a 108.04	
no EMQ	8.6 (1.8)	5.6284 (8.50)	1.22 (1.34)	0.7 (0)	1.15 (0.84)	11.13 (7.57)	
(n=20)	8.3 [7.4; 9.6]	1.85 [0.8; 6.27]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	9.31 [7.21; 14.911]	
	5.8 a 11.9	0.8 a 32.28	0.8 a 6.19	0.7 a 0.7	0.9 a 4.61	0.82 a 30.34	
valor p	0.108	0.416	0.5	1	0.645	0.274	
EDR	7.7 (1.8)	32.78 (124.20)	1.34 (1.51)	8.39 (35.23)	6.57 (17.60)	13.26 (22.63)	
(n=22)	7.2 [6.4; 8.6]	0.89 [0.8; 3.65]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 1.76]	8.26 [4.39; 10.99]	
	5.5 a 12.1	0.8 a 572.05	0.8 a 6.90	0.7 a 162.15	0.9 a 81.14	1.51 a 108.04	
no EDR	8.4 (1.8)	3.68 (5.85)	0.95 (0.90)	0.7 (0)	1.09 (0.69)	9.64 (6.37)	
(n=36)	8 [7.3; 9.1]	1.00 [0.8; 3.02]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	9.29 [4.02; 13.65]	
	5.8 a 13.8	0.8 a 24.55	0.8 a 6.19	0.7 a 0.7	0.9 a 4.53	0.82 a 25.4	
valor p	0.074	0.667	0.106	0.368	0.044	0.655	
DSR	8.5 (2.4)	9.01 (19)	1.67 (2.31)	0.7 (0)	2.06 (2.71)	6.27 (4.94)	
(n=7)	7 [6.9; 11.7]	2.28 [0.8; 3.76]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 1.77]	4.39 [2.77; 10.99]	
	6.8 a 12.1	0.8 a 52.02	0.8 a 6.90	0.7 a 0.7	0.9 a 8.16	1.51 a 15.16	
no DSR	8.1 (1.7)	15.15 (80.63)	1.01 (0.92)	3.93 (22.83)	3.31 (11.68)	11.64 (15.33)	
(n=51)	7.8 [6.9; 8.9]	0.89 [0.8; 3.42]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	9.00 [4.69; 12.91]	
	5.5 a 13.8	0.8 a 572.05	0.8 a 6.19	0.7 a 162.15	0.9 a 81.15	0.82 a 108.04	
valor p	0.986	0.664	0.156	1	0.618	0.174	
MEM	7.7 (0.8)	4.29 (3.57)	0.8 (0)	0.7 (0)	1.38 (0.96)	11.61 (10.218)	
(n=4)	7.9 [7.2; 8.2]	3.62 [1.74; 6.84]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 1.86]	9.66 [4.21; 19]	
	6.6 a 8.5	0.8 a 9.12	0.8 a 0.8	0.7 a 0.7	0.9 a 2.8117	1.70 a 25.4	
no MEM	8.2 (1.8)	15.16 (78.50)	1.12 (1.20)	3.75 (22.177)	3.29 (11.37)	10.93 (14.89)	
(n=54)	7.6 [6.9; 9.1]	0.89 [0.8; 2.96]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	8.78 [4.19; 12.02]	
	5.5 a 13.8	0.8 a 572.05	0.8 a 6.90	0.7 a 162.15	0.9 a 81.15	0.82 a 108.04	
valor p	0.9	0.262	1	1	0.82	0.796	

Variables descrites (superior a inferior) per mitjana aritmètica i desviació estàndard, mediana i rang interquartílic [percentils 25-75] i rang absolut. Valor p de prova estadística U de Mann-Whitney.

Abreviacions: DSR, despreniment serós retinal; EDR, engruiximent difús retinal; EMD, edema macular diabètic; EMQ, edema macular quàstic; HbA_{1c}, hemoglobina-A_{1c} glicada; IFN- γ , interferó gamma; IL, interleucina; IP-10, interferó gamma-induïda proteïna-10; IRP, isquèmia retinal perifèrica; MCP-1, monòcit quimi-atraient proteïna-1; MEM, membrana epirretinal macular; OCT, tomografia de coherència òptica; TNF- α , factor de necrosi tumoral alfa; VEGF, factor de creixement vascular endotelial.

	IL-10 (pg/ml)	MCP-1 (pg/ml)	IP-10 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	VEGF (pg/ml)
	1.91 (2.68)	449.55 (164.40)	302.72 (232.70)	8.46 (6.26)	268.66 (548.36)
	1.1 [1.1; 1.1]	432.49 [312.76; 558.84]	247.19 [150.91; 376.84]	7.86 [4.75; 10.24]	26.3 [26.3; 334.17]
	1.1 a 12.13	224.69 a 887.96	45.62 a 1271.70	0.7 a 33.07	26.3 a 3269.42
	1.1 (0)	481.19 (200.41)	235.21 (170.84)	7.97 (2.26)	207.36 (280.96)
	1.1 [1.1; 1.1]	417.72 [390.71; 544.48]	189.98 [127.43; 252.06]	7.55 [6.31; 9.21]	26.3 [26.3; 274.70]
	1.1 a 1.1	143.95 a 1115.98	71.24 a 750.82	3.71 a 12.03	26.3 a 925.66
	0.134	0.620	0.209	0.696	1
	1.29 (1.17)	450.88 (180.29)	272.43 (169.20)	7.67 (4.00)	245.33 (561.05)
	1.1 [1.1; 1.1]	421.30 [366.92; 543.99]	212.14 [147.56; 366.42]	7.19 [5.0246; 9.21]	26.3 [26.3; 213.33]
	1.1 a 8.21	143.95 a 1115.98	71.24 a 750.82	0.98 a 18.82	26.3 a 3269.42
	2.29 (3.34)	474.10 (168.95)	294.63 (285.57)	9.45 (6.98)	253.58 (257.65)
	1.1 [1.1; 1.32]	448.62 [361.35; 579.10]	199.6 [115.4; 377.60]	8.38 [6.10; 10.53]	168.53 [26.3; 391.42]
	1.1 a 12.13	224.69 a 887.96	45.62 a 1271.70	0.7 a 33.07	26.3 a 736.17
	0.012	0.621	0.548	0.313	0.178
	2.02 (2.75)	434.54 (167.82)	257.37 (193.88)	9.66 (6.26)	374.75 (712.78)
	1.1 [1.1; 1.1]	394.10 [361.57; 544.48]	201.11 [136.88; 362.31]	7.76 [7.03; 10.24]	184.73 [26.3; 368.86]
	1.1 a 11.91	143.95 a 854.73	45.62 a 750.82	3.71 a 33.07	26.3 a 3269.42
	1.42 (1.84)	472.41 (179.65)	293.55 (227.87)	7.50 (4.47)	174.43 (233.05)
	1.1 [1.1; 1.1]	468.31 [365.57; 556.77]	223.19 [148.65; 371.63]	7.44 [4.72; 9.73]	26.3 [26.3; 235.68]
	1.1 a 12.13	224.69 a 1115.98	77.17 a 1271.69	0.7 a 19.69	26.3 a 754.54
	0.138	0.445	0.407	0.247	0.201
	1.1 (0)	413.94 (76.06)	262.07 (240.35)	7.64 (2.25)	297.14 (374.25)
	1.1 [1.1; 1.1]	415.47 [374.18; 421.30]	189.98 [89.06; 392.89]	7.12 [5.89; 8.92]	26.3 [26.3; 680.29]
	1.1 a 1.1	312.76 a 544.48	71.241 a 750.82	5.30 a 12.03	26.3 a 925.66
	1.72 (2.35)	464.88 (183.24)	282.76 (213.68)	8.39 (5.55)	241.38 (489.37)
	1.1 [1.1; 1.1]	439.39 [361.57; 558.83]	215.49 [146.38; 366.42]	7.73 [5.02; 10.24]	26.3 [26.3; 243.22]
	1.1 a 12.13	143.95 a 1115.98	45.62 a 1271.70	0.7 a 33.07	26.3 a 3269.42
	0.591	0.645	0.481	0.807	0.771
	1.1 (0)	517.19 (196.83)	331.51 (129.49)	7.75 (3.97)	196.51 (210.41)
	1.1 [1.1; 1.1]	578.45 [390.20; 644.17]	339.11 [220.23; 442.80]	9.00 [4.92; 10.57]	150.50 [26.3; 366.71]
	1.1 a 1.1	233.14 a 678.71	201.11 a 446.73	2.16 a 10.82	26.3 a 458.72
	1.68 (2.29)	454.79 (174.57)	276.35 (220.35)	8.34 (5.36)	252.13 (489.31)
	1.1 [1.1; 1.1]	417.72 [361.57; 543.99]	203.85 [138.44; 362.31]	7.55 [5.23; 9.21]	26.3 [26.3; 243.22]
	1.1 a 12.1271	143.95 a 1115.98	45.62 a 1271.70	0.7 a 33.07	26.3 a 3269.42
	1	0.245	0.227	0.78	0.854

Taula 10. Mediadors inflamatoris i HbA_{1c} associats a les variables d'EMD per AFCA

	HbA _{1c} (%)	IFN- γ (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-3 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	
Patró focal EMD	8.1 (1.7)	22.82 (107.74)	1.08 (1.09)	6.47 (30.51)	4.48 (15.52)	13.61 (19.89)	
(n=28)	7.7 [6.9; 9]	0.8 [0.8; 2.08]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	9.32 [4.54; 13.40]	
	5.6 a 11.9	0.8 a 572.05	0.8 a 6.19	0.7 a 162.15	0.9 a 81.15	0.82 a 108.04	
Patró difús EMD	8.2 (1.8)	7.46 (14.32)	1.31 (1.76)	0.7 (0)	1.80 (2.09)	10.66 (4.04)	
(n=14)	7.9 [7.4; 8.4]	3.22 [0.8; 6.39]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 1.72]	10.02 [7.49; 13.77]	
	5.5 a 12.1	0.8 a 52.02	0.8 a 6.90	0.7 a 0.7	0.9 a 8.16	5.03 a 18.07	
valor p	0.819	0.097	0.694	1	0.347	0.512	
Augment ZAF	9.2 (2)	97.80 (232.3)	1.19 (0.95)	27.61 (65.91)	14.40 (32.70)	30.17 (38.70)	
(n=6)	9 [7.4; 11.2]	2.60 [1.12; 7.64]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 1.68]	15.49 [10.73; 25.10]	
	6.8 a 11.9	0.8 a 572.05	0.8 a 3.12	0.7 a 162.15	0.9 a 81.15	6.17 a 108.04	
No augment ZAF	7.9 (1.6)	4.09 (9.44)	1.13 (1.36)	0.7 (0)	1.68 (2.47)	9.64 (6.19)	
(n=36)	7.7 [6.9; 8.5]	0.8 [0.8; 3.42]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	9.05 [5.03; 12.02]	
	5.5 a 12.1	0.8 a 52.02	0.8 a 6.90	0.7 a 0.7	0.9 a 13.22	0.82 a 30.34	
valor p	0.146	0.109	0.386	0.146	0.405	0.031	
IRP	8.9 (2)	58.68 (170.93)	1.57 (1.90)	15.38 (48.68)	9.01 (24.02)	20.49 (29.66)	
(n=11)	8.4 [7.3; 11.2]	2.23 [0.8; 7.64]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 1.77]	10.99 [6.38; 18.07]	
	6.8 a 12.1	0.8 a 572.05	0.8 a 6.90	0.7 a 162.15	0.9 a 81.15	3.84 a 108.04	
no IRP	7.8 (1.5)	2.8146 (4.75)	0.98 (0.98)	0.7 (0)	1.53 (2.37)	9.77 (6.50)	
(n=31)	7.6 [6.8; 8.5]	0.85 [0.8; 2.9638]	0.8 [0.8; 0.8]	0.7 [0.7; 0.7]	0.9 [0.9; 0.9]	9.16 [5.03; 12.02]	
	5.5 a 11.8	0.8 a 24.55	0.8 a 6.19	0.7 a 0.7	0.9 a 13.22	0.82 a 30.34	
valor p	0.122	0.188	0.119	0.268	0.142	0.174	

Variables descrites (superior a inferior) per mitjana aritmètica i desviació estàndard, mediana i rang interquartílic [percentils 25-75], i rang absolut. Valor p de prova estadística U de Mann-Whitney.

Abreujacions: AFCA, angiografia fluoresceïnica retinal de camp ampli; EMD, edema macular diabètic; HbA_{1c}, hemoglobina-A1c glicada; IFN- γ , interferó gamma; IL, interleucina; IP-10, interferó gamma-induïda proteïna-10; IRP, isquèmia retinal perifèrica; MCP-1, monòcit quimioatracent proteïna-1; TNF- α , factor de necrosi tumoral alfa; VEGF, factor de creixement vascular endotelial; ZAF, zona avascular foveal.

	IL-10 (pg/ml)	MCP-1 (pg/ml)	IP-10 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	VEGF (pg/ml)
	1.76 (2.40)	503.74 (201.06)	311.99 (259.48)	8.79 (6.60)	280.29 (625.35)
	1.1 [1.1; 1.1]	468.31 [384.80; 579.10]	209.41 [149.24; 402.65]	7.57 [4.79; 10.73]	43.18 [26.3; 220.73]
	1.1 a 11.91	224.69 a 1115.98	78.20 a 1271.70	0.98 a 33.065	26.3 a 3269.42
	1.14 (0.13)	409.15 (170.18)	288.54 (189.88)	8.92 (4.69)	203.50 (286.23)
	1.1 [1.1; 1.1]	411.41 [248.19; 543.99]	232.19 [169.55; 404.47]	8.81 [6.02; 11.42]	26.3 [26.3; 304.43]
	1.1 a 1.54	143.95 a 678.71	77.170 a 750.82	0.7 a 18.82	26.3 a 925.66
	0.677	0.286	0.942	0.497	0.857
	2.38 (2.87)	521.31 (236.17)	340.76 (126.93)	11.71 (6.69)	794.55 (1227.55)
	1.1 [1.1; 1.68]	540.41 [299.64; 626.93]	322.07 [260.74; 437.93]	12.86 [7.59; 17.39]	374.07 [152.33; 571.08]
	1.1 a 8.22	232.51 a 887.96	176.86 a 524.91	0.7 a 18.82	26.3 a 3269.42
	1.42 (1.83)	465.84 (188.31)	294.76 (251.31)	8.26 (5.79)	158.55 (239.82)
	1.1 [1.1; 1.1]	423.44 [370.01; 566.27]	203.64 [146.38; 371.00]	7.55 [4.82; 10.24]	26.3 [26.3; 211.52]
	1.1 a 11.91	143.95 a 1115.98	77.17 a 1271.70	0.98 a 33.07	26.3 a 925.66
	0.066	0.517	0.183	0.118	0.031
	1.75 (2.15)	501.82 (206.86)	418.79 (349.08)	8.68 (5.20)	510.96 (952.87)
	1.1 [1.1; 1.1]	488.11 [299.64; 661.33]	281.82 [176.86; 527.06]	9.21 [4.75; 12.73]	152.33 [26.3; 413.98]
	1.1 a 8.22	232.51 a 887.96	79.94 a 1271.70	0.7 a 17.39	26.3 a 3269.42
	1.49 (1.97)	464.94 (192.04)	258.49 (167.47)	8.79 (6.31)	156.53 (225.21)
	1.1 [1.1; 1.1]	419.40 [370.01; 547.26]	205.27 [146.38; 362.31]	7.64 [5.02; 10.24]	26.3 [26.3; 211.52]
	1.1 a 11.91	143.95 a 1115.98	77.17 a 733.32	0.98 a 33.07	26.3 a 754.54
	0.89	0.469	0.183	0.67	0.137

Taula 11. Mediadors inflamatoris i HbA_{1c} associats al grau de RD acompanyant de l'EMD

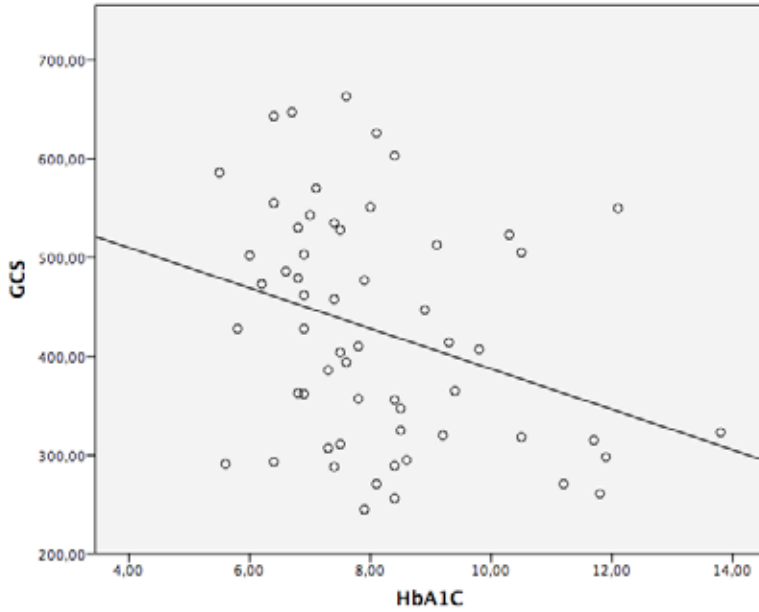
	HbA _{1c} (%)	IFN- γ (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-3 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	
RDNP lleu	8.2 (1.9)	5.52 (11.82)	0.31 (1.38)	0 (0)	0.53 (1.83)	7.8 (5.21)	
(n=25)	7.8 (6.9; 8.9)	0.89 (0; 3.24)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	8.25 (3.07; 10.32)	
	5.6 a 13.8	0 a 52.02	0 a 6.90	0 a 0	0 a 8.16	0.82 a 20.43	
RDNP moderada	8.3 (1.7)	3.77 (7.23)	0.54 (1.54)	0 (0)	11.34 (3.05)	12.34 (7.43)	
(n=22)	7.6 (7.3; 9.1)	0.89 (0; 3.76)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 1.45)	9.85 (6.72; 15.16)	
	6 a 12.1	0 a 32.28	0 a 6.19	0 a 0	0 a 13.22	3.22 a 30.34	
RDNP greu	7.7 (1.8)	53.38 (172.03)	0.30 (0.94)	14.74 (48.89)	8.90 (24.40)	15.61 (30.91)	
(n=11)	6.9 (6.4; 8.6)	1.46 (0; 2.96)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 1.22)	5.95 (2.77; 10.73)	
	5.5 a 11.7	0 a 572.05	0 a 3.12	0 a 162.15	0 a 81.15	1.51 a 108.04	
valor p	0.448	0.957	0.585	0.124	0.193	0.052	

Variables descrites (superior a inferior) per mitjana aritmètica i desviació estàndard, mediana i rang interquartílic [percentils 25-75], i rang absolut. Valor p de prova estadística Kruskal-Wallis.

Abreviacions: EMD, edema macular diabètic; HbA_{1c}, hemoglobina-A_{1c} glicada; IFN- γ , interferó gamma; IL, interleucina; IP-10, interferó gamma-induïda proteïna-10; MCP-1, monòcit quimioatracent proteïna-1; RD; retinopatia diabètica; RDNP, retinopatia diabètica no proliferativa; TNF- α , factor de necrosi tumoral alfa; VEGF, factor de creixement vascular endotelial.

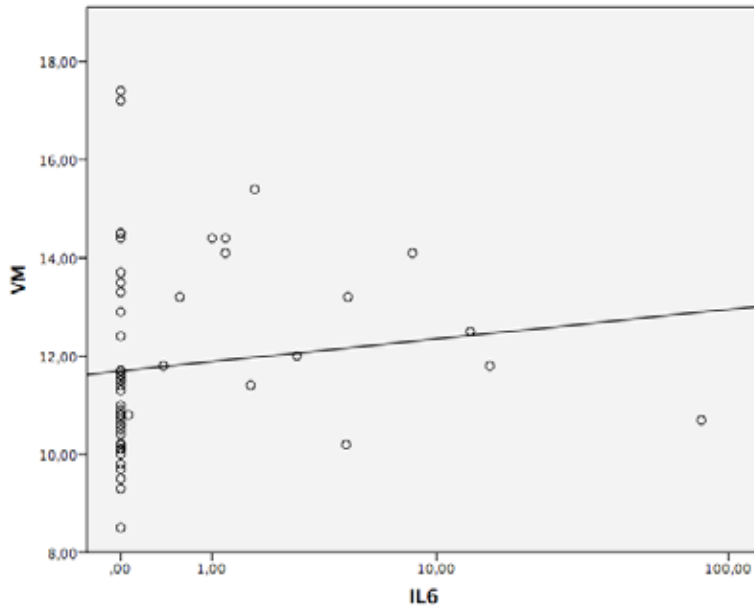
	IL-10 (pg/ml)	MCP-1 (pg/ml)	IP-10 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	VEGF (pg/ml)
	0.49 (2.43)	461.35 (201.49)	236.08 (178.29)	7.26 (4.22)	206.05 (290.87)
	0 (0; 0)	402.52 (346.72; 551.66)	191.89 (118.98; 260.74)	7.34 (4.68; 9.07)	0 (0; 368.86)
	0 a 12.13	224.69 a 1115.98	71.24 a 750.82	1.12 a 18.82	0 a 925.66
	0.74 (2.61)	492.63 (153.79)	355.61 (269.43)	9.63 (6.87)	206.78 (246.85)
	0 (0; 0)	512.86 (411.41; 579.57)	281.82 (203.64; 446.73)	8.92 (6.22; 10.82)	152.33 (0; 274.70)
	0 a 11.91	247.99 a 887.96	45.62 a 1271.70	0.04 a 33.06	0 a 736.17
	0.90 (2.48)	384.53 (136.75)	236.59 (135.20)	8.03 (3.44)	351.49 (975.61)
	0 (0; 0)	384.14 (312.76; 474.85)]	176.86 (136.88; 362.31)	7.19 (6.31; 8.78)	0 (0; a 228.14)
	0 a 11.91	143.95 a 626.93	107.43 a 512.51	3.71 a 17.39	0 a 3269.42
	0.287	0.157	0.098	0.347	0.431

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



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

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



Abreviacions: VM, volum macular (mm³); IL6, interleucina-6 (pg/ml).
Eix abscesses en representació logarítmica.

Taula 12. Associacions entre resultats qualitius per OCT i AFCA i marcadors inflamatoris sèrics

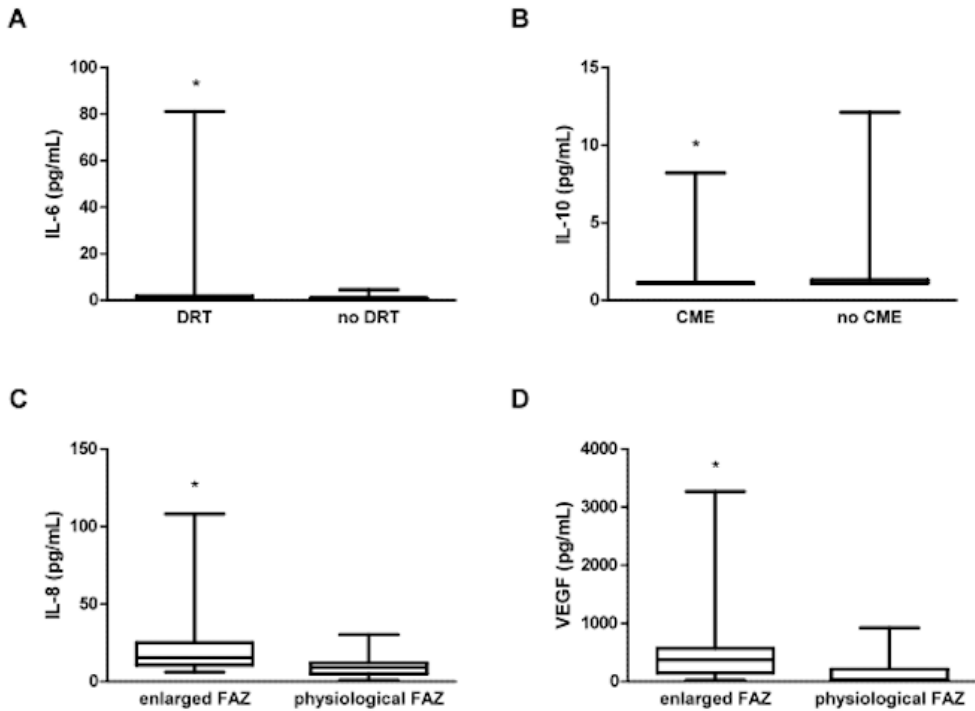
Marcador sèric	Trobada d'OCT i AFCA		valor p ^a
	EDR (n=22)	no EDR (n=36)	
IL-6 (pg/ml)	6.57 (17.60)	1.09 (0.69)	0.044
	0.9 [0.9; 1.76]	0.9 [0.9; 0.9]	
	0.9 a 81.14	0.9 a 4.53	
	EMQ (n=38)	no EMQ (n=20)	
IL-10 (pg/ml)	1.29 (1.17)	2.28 (3.33)	0.012
	1.1 [1.1; 1.1]	1.1 [1.1; 1.32]	
	1.1 a 8.21	1.1 a 12.12	
	augment ZAF (n=6)	no augment ZAF (n=36)	
IL-8 (pg/ml)	30.17 (38.69)	9.64 (6.18)	0.031
	15.49 [10.73; 25.10]	9.05 [5.02; 12.01]	
	6.17 a 108.03	0.82 a 30.33	
VEGF (pg/ml)	794.54 (1227.54)	158.55 (239.81)	0.031
	374.07 [152.32; 571.07]	26.3 [26.3; 211.52]	
	26.3 a 3269.42	26.3 a 925.66	

Variables descrites mitjançant mitjana aritmètica i desviació estàndard en cel·la superior, mediana i rang interquartilic (percentils 25-75) en cel·la mitja i rang absolut en cel·la inferior.

Abreviacions: AFCA, angiografia fluoresceïnica retinal de camp ampli; EDR, engruïment difús retinal; EMQ, edema macular quístic; OCT, tomografia de coherència òptica; ZAF, zona avascular foveal.

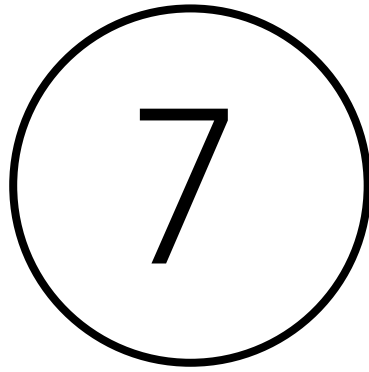
a: Test estadístic U de Mann-Whitney.

Figura 10. Representació gràfica mitjançant diagrama de caixes de les associacions entre resultats qualitattius per OCT i ACFA i marcadors inflamatoris sèrics



Extret de Figueras-Roca M et al.[124]

Abreujacions: CME, edema macular quístic; DRT, engruïment difús de la retina; FAZ, zona avascular foveal; IL, interleucina; VEGF, factor de creixement vascular endotelial.



DISCUSSIÓ

DISCUSSIÓ

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

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

I. Descripció epidemiològica i clínica dels grups d'estudi

Les característiques demogràfiques dels dos grups d'estudi, EMD i no-EMD, no han resultat estadísticament diferents presentant així xifres similars d'edat mediana, proporció de gènere i, sobretot, duració de la DM (Taula 1). Aquest últim tret, amb una duració mediana d'onze anys per ambdós grups, és molt important, ja que, de no donar-se aquesta condició, s'hagués pogut establir un biaix de comparació. Cal tenir present que els anys d'evolució de la malaltia són un dels factors clau en la presentació d'EMD, especialment en el supòsit de DM tipus 2 que ens ocupa.[12, 13] També en aquesta línia, no s'han descrit diferències significatives entre els grups en la proporció de pacients en tractament amb antidiabètics orals, insulinoteràpia o una combinació d'ambdós. En relació amb aquests dos punts, també s'ha de valorar el perfil de control glucèmic dels pacients dels grups, que en conjunt presenten xifres no estadísticament diferents d'HbA_{1c} (mediana 8.3% en els no-EMD i mediana del 7.7% en els EMD; p=0.082). Altre cop aquest és un punt cabdal, ja que les xifres elevades d'HbA_{1c} són un factor de risc conegut per a la presentació d'EMD.[16, 17]

Pel que respecta a la història de tractaments oftalmològics previs, cap dels casos sense EMD n'havien requerit. És lògic pensar que els casos amb EMD presentessin antecedents de teràpia oftalmològica, fins a un 31% d'ells, i, per contra, els casos sense EMD no en reportessin. També era esperable una proporció, en aquells que havien rebut tractament, d'un 50% de teràpia làser macular (focal i/o reixeta), ja que aquests eren els tractaments més usats abans de l'adveniment de la teràpia farmacològica intravítrea, present en un 61% dels casos que han rebut tractament en aquest grup. En aquesta línia, possiblement, una anàlisi d'antecedents en sèries futures presentarà una encara major proporció de teràpia farmacològica intraocular. Tot i això, crida l'atenció la no presència de tractament de la RD mitjançant fotocoagulació retinal total o parcial en el grup sense EMD, proporció que queda limitada al 17% dels pacients del grup EMD que han rebut tractament, aquells amb graus més avançats de RD. Aquest tret diferencial segurament pot explicar-se per la presentació diferencial de la RD entre els grups, ja que aquesta es descriu en un estadi no proliferant lleu en la totalitat de casos del grup no-EMD quant al grup EMD presenta una varietat d'estadis de RD no proliferativa (43% lleu, 38% moderada i 19% greu). A propòsit d'aquesta distribució de la classificació de la RD acompanyant als casos d'EMD, crida l'atenció com les diferents presentacions de RD no han diferit pel que fa a nivells sèrics d'HbA_{1c} ni de mediadors inflamatoris (Taula 11). Tot i existir un coneixement sòlid actual sobre l'associació d'aquests marcadors a la gravetat de la RD, [39-41] aquest punt no s'ha reproduït en la present investigació. Les raons d'aquesta aparent contradicció podrien ser la inadequada mida mostral per a detectar variables a tal

efecte, a causa del caràcter pilot de l'estudi, així com al fet que la forma més greu de RD, la proliferativa, possiblement la més alterada pel que fa a mediadors sistèmics, restava exclosa de la investigació.

Finalment, les variables clíniques oftalmològiques analitzades han reportat dades interessants. Per una banda, els casos del grup amb EMD han presentat de forma estadísticament significativa ($p < 0.001$) una pitjor MAVC (mediana 0.52 logMAR) que els del grup sense EMD (mediana 0.05 logMAR). Per altra banda, la pressió intraocular no s'ha descrit amb diferències entre els grups d'estudi. Les diferències en agudesa visual podrien valorar-se en un context de presentació de facoesclerosi incipient, és a dir, cataracta inicial, però, de fet, la proporció de pacients amb cristal·lí no ha diferit estadísticament entre els grups, essent del 89% en el grup no-EMD i 66% en el grup EMD ($p = 0.778$); els pacients restants són portadors de lent intraocular (ja intervinguts de cataractes). Així doncs, tot plegat justifica que la diferència en MAVC pugui atribuir-se especialment al sol fet de l'existència d'EMD, ja que aquesta complicació ocular és per si sola causa de gran disminució d'agudesa visual.

És per això que, en conjunt, els resultats descrits en aquest apartat no han estat diferents entre els dos grups d'estudi, tret de les característicament directament lligades a la presència d'EMD, com l'agudesa visual i la història prèvia de tractaments oculars. D'aquesta manera s'ha reforçat la validesa de la investigació en tant que s'ha evitat caure en alguns biaixos clars. Tanmateix, hom no pot extreure conclusions en ferm respecte a la relació d'aquests trets epidemiològics i clínics, ja que el disseny estadístic de l'estudi no estava adequadament potenciat per aquest objectiu i la mida dels grups era, possiblement, reduïda a tal efecte.

II. Resultats analítics sèrics

A propòsit de la determinació de paràmetres analítics sèrics, tant metabòlics com inflamatoris, no s'han detectat diferències estadísticament significatives entre el grup EMD i el grup sense EMD (Taules 3 i 4). En primera instància, i tal com hem comentat anteriorment quant a marcadors metabòlics, hom podria almenys esperar que l'HbA_{1c} fóra major en el grup d'EMD d'acord amb el coneixement general d'aquesta complicació de la DM.[15, 16] Tanmateix, els subjectes del grup sense EMD eren de fet pacients referits a l'Hospital des de l'oftalmòleg d'Atenció Primària en tant que presentaven RD amb sospita d'EMD, essent aquest últim descartat per l'exploració diagnòstica mitjançant OCT. Així doncs, no es pot descartar que els casos de no-EMD però si RD a risc de desenvolupar-lo poguessin de fet presentar un pitjor perfil metabòlic i de control glucèmic en sang perifèrica que els mateixos pacients diabètics sense EMD de la comunitat. És a dir, la selecció del grup sense EMD en el present estudi no semblaria homologable a la població diabètica general no complicada i, per tant, això podria infravalorar l'associació del control glucèmic al mateix EMD. Aleshores, la seva comparació amb els casos d'EMD podria ser no del tot escaient i, almenys parcialment, influir negativament en l'associació esperada.

Així doncs, en resum, s'han de valorar els resultats referents als paràmetres metabòlics en sang perifèrica amb especial atenció metodològica en base, com hem comentat, als criteris de selecció del grup no-EMD. Nogensmenys, la no existència de diferències en aquest apartat entre els grups d'estudi, lluny d'entrar en conflicte amb el coneixement actual sobre les influències metabòliques (sobretot d'HbA_{1c}) en aquesta patologia, [16, 17, 21, 26-29] reforça els posicionaments actuals de resultats contradictoris o falta de suficient evidència a favor d'un determinat rol de risc d'algun dels elements estudiats.

Per altra banda, pel que respecta als marcadors inflamatoris sèrics, es podria esperar algun tipus d'associació a la presència d'EMD, ja que, de fet, aquestes molècules s'han reportat augmentades en l'àmbit intraocular en l'EMD en múltiples publicacions.[39, 59-62] Tot i això, cap d'aquests elements analitzats en el present estudi es va diferenciar de forma estadísticament significativa entre el grup EMD i el grup no-EMD. Tot i que els nivells sèrics de TNF- α foren més alts en els casos amb aquesta complicació ocular (mediana 7.58 pg/ml) que en els que no la presentaven (mediana 5.74 pg/ml), la magnitud d'aquesta diferència no va arribar al nivell de significació estadística preestablert del 5% ($p=0.078$). A propòsit d'aquest mediador en concret, un estudi de *Kocabora et al.* [47] va arribar a conclusions similars reportant majors nivells sèrics de TNF- α en pacients amb EMD. Tanmateix, aquesta troballa només es considera-

va estadísticament significativa en comparar els nivells en pacients amb EMD amb subjectes sans sense DM. Així doncs, aquesta diferència no era significativa quan es comparaven els casos amb EMD amb aquells pacients amb RD sense EMD o amb subjectes amb DM sense RD. [47] És per això que no es pot descartar que les troballes reportes en la citada investigació s'associessin a la mateixa existència de DM més que a la presentació d'EMD *per se*. De forma similar, un estudi per Shimizu *et al.* [42] va reportar l'associació entre alts nivells sèrics d'IL-6 i presència d'EMD; tanmateix, el grup a comparar no era clarament sense EMD sinó que se seleccionaren pacients amb exsudats lipídics maculars en conjunt i, per tant, no eren casos clarament no afectes de maculopatia diabètica. Així doncs, no es podria descartar que les associacions defensades en aquestes citades investigacions fossin causades per aquests biaixos de selecció en els grups comparatius.

Respecte a valorar correctament els resultats no diferencials entre els grups quant a paràmetres inflamatoris sèrics, s'ha de considerar el coneixement actual en relació a aquests mediadors i la RD. En efecte, com hem comentat inicialment, diferents citocines, quimiocines i factors de creixement s'han associat a la presentació de RD: IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- α i VEGF en són alguns exemples.[39-41] A més a més, els mediadors inflamatoris participen del desenvolupament d'EMD en els pacients amb RD amb un paper clau i diferencial en el mitjà intraocular. Així doncs, diferents publicacions han reportat un perfil característic d'aquests i altres agents en mostres biològiques intraoculars (principalment humor aquós i humor vitri) en casos d'EMD: ICAM-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IP-10, MCP-1, PDGF, PEDF i VEGF.[39, 55, 57, 59-63]. En conseqüència, hom podria inferir que aquest perfil diferencial de mediadors intraoculars, que podria afavorir, en tant que s'hi associen de forma característica, la presència d'EMD, podria també existir a escala perifèrica. Aquesta troballa, en cas d'haver-se produït, hauria representat un avenç conceptual important, no només en el coneixement de l'etiopatogènia de l'EMD sinó també en la millora de tècniques de cribratge poblacional així com a la investigació futura de nous fàrmac sistèmics.

Tanmateix, aquest no ha estat el cas, ja que els resultats obtinguts en els mediadors analitzats no han reportat diferències significatives entre els grups. En tant que la selecció dels casos a comparar sense EMD es va basar en la presència de RD i no, com altres publicacions existents, al sol criteri de DM, els resultats són fiables i no esbiaixats per aquest punt. Aquesta discussió és clau, ja que, com hem comentat, d'acord amb el coneixement existent sobre l'associació de mediadors sistèmics a la mateixa RD,[39, 62] la no existència de RD en el grup control i la si presència de RD en el grup EMD podria per si sola justificar un perfil diferenciat d'aquests mediadors que no es podria, per tant, associar clarament a l'EMD. Un cop superat aquest en-

trebanc metodològic, els resultats de la present investigació no han evidenciat, en el panell estudiat de marcadors sistèmics, l'associació d'un cert perfil inflamatori sèric al mateix EMD. Aquesta conclusió reforça les teories sobre l'existència d'influències majoritàriament locals (intraoculars) en el desenvolupament de l'EMD, a diferència de la RD aïllada, que, com hem vist, resta clarament influenciada per la inflamació a escala sistèmica. Tanmateix, la no existència d'aquestes diferències no justifica que el perfil inflamatori sèric no jugui un paper en la presentació de l'EMD, possiblement en un rol modulador de l'ambient patogènic intraocular. En aquesta línia, com veurem seguidament, els resultats del present estudi en el mateix grup d'EMD sobre les associacions entre mediadors sèrics i les característiques intraoculars d'aquests casos reforça aquests plantejaments. En conjunt doncs es necessiten més estudis amb mides mostrals i panells de mediadors analitzats més extensos per arribar a conclusions sòlides i amb repercussió clínica sobre el paper dels mediadors inflamatoris sèrics en el desenvolupament diferenciat d'EMD.

III. Resultats de variables oftalmològiques en el grup EMD

A propòsit dels ítems d'estudi oftalmològics, la definició dels mateixos es va basar en la seva relació amb el comportament clínic de l'EMD i, al mateix temps, la seva capacitat de ser fàcilment determinats per exploracions objectives com, per exemple, l'OCT i l'AFCA. Així doncs, s'establiren trets quantitius d'EMD per OCT, com el GCS i el VM, i també variables qualitatives per la mateixa tècnica, com la presència d'EDR, EMQ, DSR i MEM. Per altra banda, en relació amb l'AFCA, tots els ítems detallats (patró d'edema, augment de ZAF i IRP) ho varen ser amb un caràcter dicotòmic qualitatiu. En aquesta línia doncs, i de forma esperada d'acord amb la seva selecció, les esmentades troballes anatòmiques intraoculars (Taules 5 i 6) i la seva relació amb la clínica visual (Taules 7 i 8, Figura 7) han reproduït de forma notablement aproximada els resultats en la pràctica clínica habitual.

Resultats anatòmics intraoculars en EMD

Pel que respecta a la determinació del GCS i el VM per OCT del conjunt de casos, el seu resultat és representatiu del que es pot trobar en el dia a dia del tractament d'aquesta complicació ocular de la DM, amb una mediana de GCS de 412 μm i de VM de 11.45 mm^3 . Per altra banda, la determinació qualitativa de variables oftalmològiques per aquesta tècnica exploratòria també ha resultat parcialment homologable. En primer lloc, es va establir arbitràriament un punt de tall de GCS de 450 μm per diferenciar, amb caràcter dicotòmic, els casos d'EMD lleus dels casos greus; aquesta

separació es va proposar de forma artificialment per tal d'obtenir resultats empírics de les associacions dels casos d'EMD, que van resultar classificats en un 57% com a lleus ($<450 \mu\text{m}$) i en un 43% com a greus ($\geq 450 \mu\text{m}$). En segon lloc, quant als trets qualitius de l'EMD per OCT, aquests també han resultat similars a algunes sèries descrites. Així doncs, la presència d'EMD amb característiques d'EDR (38% en el present grup) fou similar a resultats publicats però en el costat més infreqüent del rang descrit, que es reporta molt variable i d'entre el 35-97% dels casos.[86, 87, 125, 126] Per altra banda, quant als trets d'EMQ (65% en aquest estudi), la seva freqüència a estat lleugerament superior a la publicada en altres sèries i que s'havia situat entre el 34-55%.[86, 87, 125, 126] En relació amb l'existència de DSR, un 12% dels casos analitzats ha presentat aquesta característica enfront del 7-41% descrit en altres publicacions.[86, 87, 125, 126] Finalment, en relació amb l'existència de MEM, la seva presència és molt menor (7%) i no hi ha base per comparar amb estudis previs, ja que usualment és un criteri afegit o, fins i tot d'exclusió, en l'estudi de l'EMD. Cal remarcar la gran variabilitat de presentació d'aquests trets qualitius en les sèries existents, possiblement a causa de la mateixa diversitat de l'EMD, les diferències temporals de presentació i, sobretot, els criteris clínics de classificació en patrons diferenciats. Tot i això, en conjunt, els resultats de la present investigació quan a trets per OCT són relativament conseqüents amb el global de la literatura i el coneixement clínic habitual.

A més a més de l'exploració per OCT, també s'han determinat altres variables qualitatives oftalmològiques mitjançant AFCA. Així doncs, s'ha descrit un predomini en el patró d'EMD focal (66%) en comparació amb el difús (33%). Aquest resultat és extrapolable a alguns existents en la literatura, on, per exemple, es descriu un pes específic focal d'EMD del 60% i difús del 24% (amb un 16% d'indeterminats); [72] tanmateix, altres estudis més recents han reportat una freqüència invertida d'aquesta característica, fixada en el 41% de focals i 59% de difusos.[60] En general és difícil d'establir la prevalença real exacta d'aquests patrons, ja que sovint l'EMD es pot presentar de forma subclínica i, per tant, escapar a la seva detecció. Per altra banda, fins i tot la mateixa definició dels patrons d'EMD per AFCA és avui motiu de controvèrsia i d'una aplicació clínic limitada gràcies al clar predomini de l'exploració per OCT i la teràpia intravítrea en aquesta patologia.[72]

A propòsit dels trets restants anatòmics intraocular per AFCA, l'augment de la ZAF s'ha reportat en un 14% dels casos i la presència d'IRP en un 28% d'aquests. En relació amb la ZAF, els resultats reportats de la seva prevalença són també molt variables per culpa de les mateixes raons abans descrites en relació amb els patrons per OCT i al progressiu desús d'aquesta tècnica diagnòstica. En aquesta línia, estudis basats en

AGF han reportat un augment d'aquest ítem, és a dir, de la isquèmia foveal, en un 2.6% dels casos d'EMD,[72] freqüència que augmenta fins al 57% en alguna sèrie reportada on es valora l'augment de la ZAF en una població de RD sense cribrar per EMD.[76] Aquesta diferència es deu principalment a l'alta associació d'isquèmia macular a la presència de RD proliferativa (77% segons algunes publicacions)[127] que, per tant, altera en gran mesura els resultats de prevalença de distorsió de la ZAF en sèries generals sense criteris d'exclusió clars. En tant que la present investigació ha exclòs la RD proliferativa, eren d'esperar xifres menors d'augment de la ZAF. Cal recordar que la justificació d'aquesta exclusió es basa en la voluntat del present estudi per a determinar, a diferència d'altres investigacions publicades, un coneixement de l'EMD com a entitat diferenciada dels casos més greus de RD. Així i tot, el coneixement de l'epidemiologia de les alteracions vasculars maculars de la RD i, concretament, de l'EMD, segurament experimentarà un gran avenç en els anys vinents gràcies a l'adveniment de l'angiografia per OCT.[90-92] En tant que no disponible en el moment de la realització del present estudi, aquesta nova tècnica clarament superior a l'AGF clàssica en el camp vascular retinal formarà part, sense cap dubte, d'investigacions similars futures.[93, 94]

Finalment, la detecció d'àrees d'IRP en el context de l'EMD ha estat un punt de discussió usual en l'estudi d'aquesta patologia. De fet, es creu que la IRP fins i tot pot revestir importància en l'àmbit fisiopatològic, arran de la seva implicació en la formació i manteniment de l'estat d'EMD a partir de la producció de mediadors vasculars, com el VEGF, en el parènquima isquèmic. En aquesta línia, *Wessel et al.*[77] va reportar que fins a un 83% dels casos d'EMD estudiats associaven àrees d'IRP amb una *odds ratio* estadísticament significativa de 3.75 en comparar casos d'EMD i IRP amb EMD sense IRP. Tanmateix, en el nostre grup d'estudi, només un 26% dels casos d'EMD han presentat IRP a l'ACFA. En conjunt, més investigacions sobre aquestes associacions són necessaris per arribar a conclusions més consistents al respecte.

Associacions entre resultats anatòmics i agudesa visual

Amb l'objectiu d'avaluar la validesa externa dels resultats descrits en la investigació, s'han comparat les característiques intraoculars del grup EMD amb l'agudesa visual dels casos (Taules 7 i 8, Figura 7). D'aquesta manera, s'ha reportat una lògica correlació positiva i estadísticament significativa entre la MAVC i tant el GCS ($r=0.593$, $p<0.001$) com el VM ($r=0.435$, $p=0.001$); així doncs, com major és el gruix central de l'edema macular i major és el volum total d'aquest, menor és l'agudesa visual del cas. Aquest és el comportament esperable dels subjectes afectes d'EMD i, per tant, la seva comprovació en la present investigació reforça la representativitat i validesa externa del grup d'estudi.

Per altra banda, també s'han reportat associacions entre els trets qualitius dicotòmics estudiats i la MAVC. Així doncs, els EMD tipificats com a greus ($\geq 450 \mu\text{m}$) presenten, en comparació amb els lleus ($< 450 \mu\text{m}$), una pitjor agudesa visual (mediana logMAR 0.70 i 0.30 respectivament; $p < 0.001$). A més a més, aquells EMD amb trets d'EDR també experimenten una pitjor agudesa visual que aquells que no els presenten (mediana logMAR 0.70 i 0.40 respectivament; $p = 0.004$). En aquesta línia, els casos amb característiques d'EMQ pateixen també una pitjor agudesa visual que aquells no afectes d'EMQ (mediana logMAR 0.30 i 0.52 respectivament; $p = 0.017$). Finalment, no s'han descrit diferències estadísticament significatives quant a MAVC en relació a la presència de DSR, MEM, diferents patrons d'EMD per ACFA, augment de la ZAF i IRP. A partir d'aquests resultats, l'associació d'agudesa visual a la gravetat de l'EMD és fàcilment esperable en la mateixa línia que la correlació amb GCS i VM abans comentada. Tanmateix, les restants associacions descrites, així com aquelles no reportades de forma significativa, s'han de valorar amb compte a causa de la reduïda mida mostral i la falta de disseny objectiu estadístic de l'estudi per arribar a conclusions en aquest camp. Aquest punt podria explicar, per exemple, com no s'han reportat diferències en MAVC en funció de la presència d'isquèmia macular, mesurada com a ZAF augmentada, ja que és de coneixement general que aquest tret de l'EMD empitjora el pronòstic visual dels pacients en la pràctica clínica habitual.[76]

IV. Associacions entre resultats intraoculars i paràmetres sèrics: grup EMD

En la segona part de l'estudi s'ha centrat el focus en el grup EMD per tal d'identificar associacions entre certes característiques clíniques i anatòmiques d'aquests casos amb els nivells sèrics de determinats factors. En aquesta línia es varen seleccionar ítems d'estudi amb capacitat d'influència sobre el comportament clínic de l'EMD i que, al mateix temps, poguessin ser fàcilment objectivats per exploracions complementàries habituals.

Variables quantitatives per OCT

En relació amb els ítems anatòmics quantitius descrits per OCT (Taules 5 i 6, Figures 8 i 9), hom podria haver esperat, en primer lloc, que els nivells augmentats de GCS es poguessin associar a majors nivells sèrics de mediadors inflamatoris així com a un pitjor control glucèmic mesurat per HbA_{1c} . Tanmateix, les diferències reportades quant a xifres d' HbA_{1c} han resultat, fins i tot, anar en direcció contrària: en el grup d'EMD, menor HbA_{1c} s'ha relacionat a menor GCS ($r=-0.323$; $p=0.013$) en la correlació directa entre ambdues variables. Aquesta associació es repeteix en la categorització dicotòmica del GCS en EMD lleu ($GCS < 450 \mu m$) i greu ($GCS \geq 450 \mu m$), trobant majors xifres d' HbA_{1c} en els primers que en els segons (mediana 8.57 i 7.58 respectivament; $p=0.013$). Aquests resultats aparentment no esperats, lluny de contraposar-se al coneixement actual de la influència de l'estat glucèmic en el desenvolupament d'EMD, [16, 17] s'han de valorar prenent en consideració dos principals aspectes. Per una part, la mida mostral i el disseny estadístic no estaven originàriament potenciats per a valorar aquestes diferències degut al caràcter pilot i exploratori del mateix i, per tant, aquests resultats han de ser degudament confirmats en estudis posteriors. Per altra banda, la variable de GCS no és tant un indicador de gravetat global de l'EMD sinó d'afectació clínica (visual) de l'EMD; d'aquesta manera, magnituds majors de GCS s'acompanyen de pitjor agudesa visual (major MAVC), com ja hem comentat, però no necessàriament tradueixen un pitjor estat de la màcula. A més a més, la diferenciació entre EMD greu i lleu ha estat delimitada arbitràriament. En conjunt doncs, aquesta associació s'ha de considerar amb prudència. Finalment, en relació amb els mediadors inflamatoris i el GCS, no s'han reportat correlacions significatives entre ells. És per això que aquestes conclusions s'han de valorar només amb caràcter exploratori per a les consideracions estadístiques abans esmentades.

En relació amb l'altre paràmetre d'OCT de caràcter quantitatiu, el VM, no s'han reportat associacions significatives entre aquesta variable i l'estat de control glucèmic

així com de mediadors inflamatoris tret de l'IL-6. En aquest grup d'EMD, les xifres de VM s'han correlacionat positivament amb les xifres d'IL-6 sèrica ($r=0.334$; $p=0.012$). Per tant, i amb les lògiques reserves degut al caràcter pilot de la investigació, els resultats semblen suggerir que aquells casos amb major afectació macular per l'EMD (i per tant, un major VM) presenten, al mateix temps, majors xifres d'IL-6 en sang perifèrica i, per tant, reforça el concepte d'un rol inflamatori sistèmic en la fisiopatologia d'aquesta complicació. Cal recordar doncs que la IL-6 és una citocina multifuncional essencial per les reaccions de fase aguda i la regulació dels processos immunes involucrats tant en l'augment de la permeabilitat vascular com l'angiogènesi.[64, 65, 125]

Pel que respecte a les associacions sistèmiques del GCS i el VM, aquestes semblen reforçar la teoria en la qual el cos inflamatori sistèmic no explica completament el comportament de l'EMD. El fet diferencial que pacients amb EMD el presentin de forma lleu o greu mesurat per GCS podria associar-se per tant més a la concentració intraocular de certs mediadors que no pas a la càrrega sistèmica d'aquests. Tanmateix, la correlació entre VM i IL-6 sí que podria suggerir, tot i semblar contradictori amb el GCS, que la càrrega inflamatòria sistèmica pot mantenir un paper, almenys parcial, amb la presentació general de l'EMD.

Variables qualitatives per OCT

Amb relació als marcadors qualitius de l'EMD per OCT, com ara el DSR, l'EDR i l'EMQ, aquests ja han estat de fet interessantment associats a major nivells intraoculars de determinats mediadors inflamatoris.[125, 126] Així doncs per exemple, s'ha reportat major nivell en humor aquós d'IL-6, IP-10 i PDGF-AA en aquells casos amb DSR.[125, 126] També en aquesta línia i en humor aquós, la IL-6 i la MCP-1 s'han associat a la presència d'EMQ, així com s'han reportat major nivell de VEGF en els casos d'EDR. [126] Tot i el caràcter exploratori d'aquestes investigacions, l'evidència empírica d'una certa associació de determinades molècules en mostres intraoculars a la presència de trets qualitius de l'EMD pot establir les bases per similars estudis, com el present, en mediadors sistèmics en sang perifèrica.

En primer lloc, i en relació amb la característica d'EDR de l'EMD, aquesta sovint s'ha relacionat amb un pobre control glucèmic i escassa resposta al tractament. A propòsit del control metabòlic d'aquests casos, no s'han trobat diferències estadísticament significatives en les xifres d'HbA_{1c} entre ambdós grups (Taula 9). Tanmateix, els casos d'EDR sí que han reportat presentar majors nivells sèrics d'IL-6 (Taula 12 i Figura 10). Com s'ha comentat, la IL-6 és un mediador polivalent crucial per a les inflamacions agudes i la modulació dels processos immunes, l'augment de la permeabilitat vascular i l'angiogènesi.[64, 65, 125] D'aquesta manera, l'augment en el seu nivell

en sang perifèrica podria reforçar el plantejament de la naturalesa fortament inflammatòria d'aquest tret anatómic de l'EMD. Paral·lelament, els resultats del present estudi quant al VM i la seva correlació a les xifres d'IL-6 també reforcen aquesta implicació com a actor inflamatori clau degut a la seva influència en el conjunt de la màcula. Paral·lelament, també s'ha reportat en publicacions reconegudes una major concentració sèrica d'IL-6 en les presentacions més greus de la RD, [40] que són les que, precisament, usualment associen EMD amb trets d'EDR en pacients diabètics amb un control glucèmic deficient.

En segon lloc, un altre tret anatómic de la maculopatia diabètica estudiat per OCT ha estat l'EMQ, que representa una forma d'EMD amb presència de grans quists intraparenquimàtics en les capes retinals més internes. En relació a l'EMQ, l'única diferència estadísticament significativa fou la seva associació a menors nivells sèrics d'IL-10 (Taula 12 i Figura 10). Aquesta molècula és una citocina pleitròpica de caràcter alhora immunosupressiu i immunoestimulador que és capaç de modular a la baixa l'activitat inflammatòria dels limfòcits T *helper-1*. [56, 60, 126, 128] A més a més, també regula negativament l'angiogènesi mitjançant la inhibició de l'eix del VEGF. [56, 126] En el nostre coneixement, no hi ha altres resultats reportats en el possible paper de la IL-10 a nivell sistèmic en l'EMD. Tot i això, sí que s'han descrit resultats en la mateixa línia que els aquí presentats amb relació a la IL-10 i el risc de RD, és a dir, remarcar el caràcter protector d'aquest mediador en la presentació de RD. [129] A més a més, alguns estudis també han reportat una menor concentració en humor aquós d'aquest mediador, tant en casos de RD com, fins i tot, EMD. [56, 60] Els presents resultats podrien suggerir per tant que els baixos nivells sèrics d'IL-10 es podrien relacionar amb el desenvolupament de les característiques quístiques de l'edema tissular en l'EMD.

Finalment, i per acabar amb els trets estructurals estudiats per OCT, la presència de DSR i MEM també es varen analitzar en relació amb els marcadors sistèmics. El DSR és una entitat anatómica que implica la localització subretinal de fluid extracel·lular causat, presumiblement, per una disfunció de la barrera hematorretinal externa. [125, 126] Per altra banda, la MEM és una estructura intraocular formada per proliferació cel·lular fibroepitelial sobre la superfície interna retinal. Tot i l'evidència actual en l'associació de, per exemple, la presència de DSR a majors nivells en humor aquós d'IL-6, [125, 126] en la present investigació no s'han trobat diferències significatives a aquest nivell, així com tampoc quant a la MEM. És possible que el reduït nombre de casos per aquests fenotips d'edema (DSR n=7 i MEM n=4) hagi jugat en contra de l'avaluació d'aquestes relacions.

Variables qualitatives per AFCA

Tot i que els darrers anys la pràctica d'exploracions angiogràfiques amb fluoresceïna (en el present cas, AFCA) s'hagi vist àmpliament superada en el camp de l'estudi de l'EMD per l'OCT, aquesta exploració encara ha gaudit de certa importància. Fins als anys presents, l'AGF ha mantingut el monopoli de l'exploració vascular de la retina i, amb la millora de l'AFCA, ha pogut arribar a l'extrema perifèria retinal. Així doncs, tot estudi que hagi investigat aspectes isquèmics i vasculars de la RD i/o l'EMD s'hi ha basat àmpliament. Tanmateix, l'aparició de les noves modalitats d'imatge vascular de la màcula per angio-OCT facilitarà la substitució de l'AGF, també en els vessants investigadors. [90, 93] Així i tot, en el moment de la realització del present estudi aquesta tècnica no estava encara disponible per als investigadors i, per tant, els resultats vasculars s'han extret mitjançant la tècnica d'angiografia clàssica optimitzada a camp ampli (AFCA).

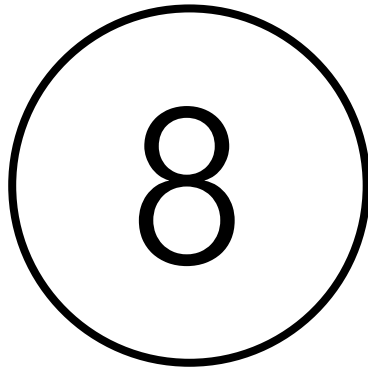
Pel que respecta a les troballes anatòmiques en l'exploració d'AFCA, es varen estudiar els següents ítems: patró d'EMD, augment de la ZAF i presència d'àrees d'IRP. No s'ha reportat cap associació entre aquests paràmetres i els nivells d'HbA_{1c}. Quant a mediadors inflamatoris sistèmics, tampoc s'han reportat diferències significatives en relació al patró angiogràfic d'EMD focal o difús. Aquest punt s'afegeix doncs als plantejaments teòrics actuals que expliquen la localització de l'edema a la màcula en base més a factors locals que a sistèmics. Quant a la IRP, l'existència d'aquestes àrees en l'AFCA podria ser una forma homologable de caracterització de la microangiopatia retinal i isquèmia tissular en la DM. Com hem comentat, alguns autors han reportat de fet l'associació entre les àrees d'IRP i la sola presència d'EMD, [77] enfortint per tant la relació d'aquest marcador amb aquesta patologia. Tanmateix, en la present investigació no es va reproduir aquesta associació (només un 26% dels casos d'EMD han presentat IRP a l'ACFA) i de fet, tampoc es va associar la IRP a una magnitud diferencial de cap dels marcadors inflamatoris estudiats. Es necessiten en conjunt doncs més estudis per confirmar aquest punt.

La zona avascular de la retina central (fòvea) es coneix com a ZAF. L'augment d'aquesta zona en pacients amb EMD es creu que s'associa a certs graus d'isquèmia macular i, per tant, a un pronòstic visual pobre. A més a més, la mateixa ZAF s'ha correlacionat directament a la presència d'àrees d'IRP en alguns estudis basats en AFCA.[76] Interessantment, el present estudi ha reportat de forma estadísticament significativa uns majors nivells sèrics d'IL-8 i VEGF en aquells casos amb augment de la ZAF (Taula 12 i Figura 10). La quimiocina proinflamatòria IL-8 és un important reclutador i activador de neutròfils i limfòcits T. Els seus nivells augmentats s'han associat, de fet,

a fases avançades de RD, com els estadis proliferants d'aquesta, possiblement en relació a l'obliteració gliòtica dels vasos.[56] Per altra banda, el VEGF, potser el més estudiat i conegut factor de creixement implicat en la RD, és un mitogen de la cèl·lula endotelial que indueix alhora la permeabilitat vascular i l'angiogènesi.[56] L'augment d'ambdós mediadors, IL-8 i VEGF, en sang perifèrica en els EMD amb augment de la ZAF podria suggerir que els casos amb aquesta vasculopatia retinal central podrien traduir certa implicació sistèmica. Tanmateix, la falta de significació estadística en relació a les troballes d'IRP no permet un major coneixement hipotètic sobre com els mediadors inflamatoris sèrics es poden associar a l'EMD i als trets vasculars locals.

V. Limitacions de la investigació

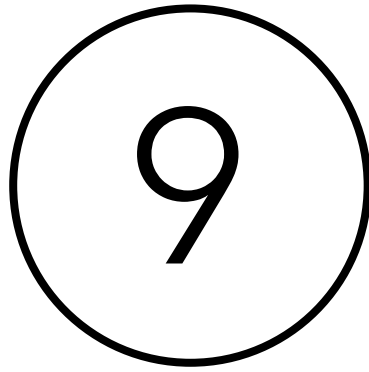
Finalment, hom ha de considerar les limitacions de la present investigació. Tot i dissenyat en una base de prova de concepte, la naturalesa de tall transversal del present estudi limita l'extensió de les seves conclusions. En aquesta línia, la mida mostral reduïda i la variabilitat interpersonal de les citocines, quimiocines i factors de creixement, representen les majors limitacions d'aquesta investigació. A més a més, la falta de correcció estadística per les comparacions múltiples podria haver afectat la potència de l'estudi per detectar diferències. Així doncs, els presents resultats necessiten ser validats en investigacions independents posteriors i, per tant, les associacions que es reporten a hores d'ara han de ser considerades curiosament. En conjunt calen més estudis amb mides mostrals majors per tal d'aprofundir en el coneixement del paper dels mediadors sistèmics en l'EMD.



CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

- Els mediadors inflamatoris i factors metabòlics sistèmics analitzats en mostra sanguínia perifèrica no s'associen de forma diferencial a la presència d'EMD en els pacients amb RD.
- Tanmateix, quan l'EMD ja és present, determinats trets anatòmics oculars es podrien associar a mediadors inflamatoris sistèmics. En el cas de la present investigació han destacat les següents relacions:
 - La presència d'EDR s'associa a majors nivells sèrics d'IL-6.
 - L'existència d'EMQ es relaciona amb menors nivells sèrics d'IL-10.
 - L'augment de la ZAF s'associa a majors nivells sèrics d'IL-8 i VEGF.
 - La magnitud del VM de l'EMD es correlaciona positivament amb les xifres d'IL-6 a nivell sèric.
- En tant que l'EMD és una condició multifactorial que resulta d'interaccions complexes entre esdeveniments inflamatoris locals i alhora sistèmics, aquestes troballes podrien revestir una gran importància com a punt de partida per a futures investigacions en el camp del paper de la inflamació sistèmica en l'EMD.



REFERÈNCIES

- 1 Wu L, Fernandez-Loaiza P, Sauma J, Hernandez-Bogantes E, Masis M. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World J Diabetes*. 2013;4(6):290-4.
- 2 Song SJ WT. Current concepts in diabetic retinopathy. *Diabetes Metab J*. 2014;38:416-25.
- 3 Nentwich M, Ulbig MW. Diabetic retinopathy - ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2015;5(6):489-99.
- 4 Sayin N, Kara N, Pekel G. Ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2015;5(6):92-108.
- 5 Klein R, Klein BE, Moss SE. Visual impairment in diabetes. *Ophthalmology*. 1984;91(1):1-9.
- 6 Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XV: The Long-term Incidence of Macular Edema. *Ophthalmology*. 1995;102(1):7-16.
- 7 Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-64.
- 8 Chen E, Looman M, Laouri M, Gallagher M, Van Nuys K, Lakdawalla D, et al. Burden of illness of diabetic macular edema: literature review. *Curr Med Res Opin*. 2010;26(7):1587-97.
- 9 Klein R, Knudtson MD, Lee KE, Gangnon R, Klein BE. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy XXIII: the twenty-five-year incidence of macular edema in persons with type 1 diabetes. *Ophthalmology*. 2009;116:497-503.
- 10 Romero-Aroca P, De la Riva-Fernández S, Valls-Mateu A, Sagarra-Alamo R, Moreno-Ribas A, Soler N. Changes observed in diabetic retinopathy. Eight year follow up of a Spanish population. *Br J Ophthalmol*. 2015:Epub ahead of print. doi:10.1136/bjophthalmol-2015-307689.

- 11 Jones CD, Greenwood RH, Misra A, Bachmann MO. Incidence and progression of diabetic retinopathy during 17 years of a population-based screening program in England. *Diabetes Care*. 2012;35(3):592-6.
- 12 Romero-Aroca P. Managing diabetic macular edema: The leading cause of diabetes blindness. *World J Diabetes*. 2011;2(6):98-104.
- 13 Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-64.
- 14 Klein R. Diabetic retinopathy. *Ann Rev Public Health*. 1996;17:137-58.
- 15 Frank RN. Diabetic Retinopathy and Systemic Factors. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2015;22(2):151-6.
- 16 Macky TA, Mahgoub MM. The effect of glycemic control on visual and anatomic outcomes in response to therapy for diabetic macular edema. *Eur J Ophthalmol*. 2012;30. Epub ahead of print. doi:10.5301/ejo.5000179.
- 17 Matsuda S, Tam T, Singh RP, Kaiser PK, Petkovsek D, Carneiro G, et al. The impact of metabolic parameters on clinical response to VEGF inhibitors for diabetic macular edema. *J Diabetes Complications*. 2014;28(2):166-70.
- 18 Romero-Aroca P, Salvat-Serra M, Méndez-Marín I, Martínez-Salcedo I. [Is microalbuminuria a risk factor for diabetic retinopathy?]. *J Fr Ophthalmol*. 2003;26(7):680-4.
- 19 Romero-Aroca P, Méndez-Marín I, Baget-Bernaldiz M, Fernández-Ballart J, Santos-Blanco E. Review of the relationship between renal and retinal microangiopathy in diabetes mellitus patients. *Curr Diabetes Rev*. 2010;6(2):88-101.
- 20 Romero-Aroca P, Baget-Bernaldiz M, Reyes-Torres J, Fernández-Ballart J, Plana-Gil N, Méndez-Marín I, et al. Relationship between diabetic retinopathy, microalbuminuria and overt nephropathy, and twenty- year incidence follow-up of a sample of type 1 diabetic patients. *J Diabetes Complications*. 2012;26(6):506-12.

- 21 Romero P, Baget M, Méndez I, Fernández J, Salvat M, Martínez I. Diabetic macular edema and its relationship to renal microangiopathy: a sample of Type I diabetes mellitus patients in a 15-year follow-up study. *J Diabetes Complications*. 2007;21(3):172-80.
- 22 UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ*. 1998;317(7160):703-13.
- 23 Egan AM, McVicker L, Heerey A, Carmody L, Harney F, Dunne FP. Diabetic retinopathy in pregnancy: a population-based study of women with pregestational diabetes. *J Diabetes Res*. 2015;2015:310239. doi: 10.1155/2015/310239.
- 24 The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of pregnancy on microvascular complications in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*. 2000;23(8):1084-91.
- 25 Salinero-Fort MA, San Andrés-Rebollo FJ, de Burgos-Lunar C, Arrieta- Blanco FJ, Gómez-Campelo P. Four-year incidence of diabetic retinopathy in a Spanish cohort: the MADIABETES study. *PLoS ONE*. 2013;8(10):e76417.
- 26 Ding J, Wong TY. Current epidemiology of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Curr Diabetes Rep*. 2012;12(4):346-54.
- 27 Keech AC, Mitchell P, Summanen PA, O'Day J, Davis TM, Moffitt MS, et al. Effect of fenofibrate on the need for laser treatment for diabetic retinopathy (FIELD study): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;370(9600):1687-97.
- 28 Massin P, Peto T, Ansquer JC, Aubonnet P, MacuFENSIFT. Effects of fenofibric acid on diabetic macular edema: the MacuFen study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2014;21(5):307-17.
- 29 Elam M, Lovato LC, Ginsberg H. Role of fibrates in cardiovascular disease prevention, the ACCORD-Lipid perspective. *Curr Opin Lipidol*. 2011;22(1):55-61.
- 30 Au A, Singh RP. A multimodal approach to diabetic macular edema. *J Diabetes Complications*. 2016;30:545-53.

- 31 Behl T, Kaur I, Kotwani A. Role of leukotrienes in diabetic retinopathy. *Other Lipid Mediat.* 2016;122:1-9.
- 32 Fogli S, Mogavero S, Egan CG, Del Re M, Danesi R. Pathophysiology and pharmacological targets of VEGF in diabetic macular edema. *Pharmacol Res.* 2016;103:149-57.
- 33 Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2011;30(5):343-58.
- 34 Behl T, Kaur I, Kotwani A. Implication of oxidative stress in progression of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol.* 2016;61:187-96.
- 35 Ciulla TA, Amador AG, Zinman B. Diabetic retinopathy and diabetic macular edema: pathophysiology, screening, and novel therapies. *Diabetes Care.* 2003;26:2653-2664.
- 36 Cuenca N, Fernández-Sánchez L, Campello L, Maneu V, De la Villa P, Lax P, et al. Cellular responses following retinal injuries and therapeutic approaches for neurodegenerative diseases. *Prog Retin Eye Res.* 2014;43:17-75.
- 37 Coorey NJ, Shen W, Chung SH, Zhu L, Gillies MC. The role of glia in retinal vascular disease. *Clin Exp Optom.* 2012;95(3):266-81.
- 38 Pinazo-Durán MD, Gallego-Pinazo R, García-Medina JJ, Zanón-Moreno V, Nucci C, Dolz-Marco R, et al. Oxidative stress and its downstream signaling in aging eyes. *Clin Interv Aging.* 2014;11(9):637-52.
- 39 Rangasamy S, McGuire PG, Das A. Diabetic retinopathy and inflammation: novel therapeutic targets. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2012;19(1):52-9.
- 40 Doganay S, Evereklioglu C, Er H, Türköz Y, Sevinç A, Mehmet N, et al. Comparison of serum NO, TNF- α , IL-1, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye.* 2002;16:163-70.
- 41 Gustavsson C, Agardh E, Bengtsson B, Agardh CD. TNF- α is an independent serum marker for proliferative retinopathy in type 1 diabetic patients. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2008;22:309-16.

- 42 Shimizu E, Funatsu H, Yamashita H, Yamashita T, Hori S. Plasma level of interleukin-6 is an indicator for predicting diabetic macular edema. *J Ophthalmol.* 2002;46:78-83.
- 43 Lee JH, Lee W, Kwon OH, Kim JH, Kwon OH, Kim KH, et al. Cytokine Profile of Peripheral Blood in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Diabetic Retinopathy. *Annals of Clinical and Laboratory Science.* 2008;38(4):361-7.
- 44 Roy MS, Janal MN, Crosby J, Donnelly R. Inflammatory biomarkers and progression of diabetic retinopathy in African Americans with type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54:5471-80.
- 45 Preciado-Puga MC, Malacara JM, Fajardo-Araujo ME, Wröbel K, Kornhauser-Araujo C, Garay-Sevilla ME. Markers of the progression of complications in patients with type 2 diabetes: a one-year longitudinal study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2014;122(8):484-90.
- 46 Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Fuller JH, Stehouwer CDA. EURODIAB Prospective Complications Study Group. Markers of inflammation are cross-sectionally associated with microvascular complications and cardiovascular disease in type 1 diabetes—the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia.* 2005;48:370-8.
- 47 Kocabora MS, Telli ME, Fazil K, Erdur SK, Ozsutcu M, Cekic O, et al. Serum and Aqueous Concentrations of Inflammatory Markers in Diabetic Macular Edema. *Ocul Immunol Inflamm.* 2015;23:1-6.
- 48 Liu J, Shi B, He S, Yao X, Willcox MD, Zhao Z. Changes to tear cytokines of type 2 diabetic patients with or without retinopathy. *Mol Vis.* 2010;16:2931-8.
- 49 Costagliola C, Romano V, De Tollis M, Aceto F, dell’Omo R, Romano MR, et al. TNF-alpha levels in tears: a novel biomarker to assess the degree of diabetic retinopathy. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:629529. doi: 1155/2013/629529.
- 50 Suzuki Y, Nakazawa M, Suzuki K, Yamazaki H, Miyagawa Y. Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in diabetic retinopathy and central retinal vein occlusion. *Jpn J Ophthalmol.* 2011;55:256-63.

- 51 Murugeswari P, Shukla D, Rajendran A, Kim R, Namperumalsamy P, Muthukkaruppan V. Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and eales' disease. *Retina*. 2008;28:817-24.
- 52 Demircan N, Safran BG, Soylu M, Ozcan AA, Sizmaz S. Determination of vitreous interleukin-1 (IL-1) and tumour necrosis factor (TNF) levels in proliferative diabetic retinopathy. *Eye*. 2006;20:1366-9.
- 53 Petrovic MG, Korošec P, Košnik M, Hawlina M. Association of preoperative vitreous IL-8 and VEGF levels with visual acuity after vitrectomy in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2010;88:e311-6.
- 54 Hernández C, Ortega F, García-Ramírez M, Villarroel M, Casado J, García-Pascual L, et al. Lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Retina*. 2010;30(2):345-52.
- 55 McAuley AK SP, Hewitt AW, Liang H, Lamoureux E, Wang JJ, Connell PP. Vitreous biomarkers in diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *J Diabetes Complications*. 2014;28(3):419-25.
- 56 Dong N, Xu B, Wang B, Chu L. Study of 27 aqueous humor cytokines in patients with type 2 diabetes with or without retinopathy. *Mol Vis*. 2013;19:1734-46.
- 57 Vujosevic S, Micera A, Bini S, Berton M, Esposito G, Midena E. Proteome analysis of retinal glia cells-related inflammatory cytokines in the aqueous humour of diabetic patients. *Acta Ophthalmol*. 2016;94(1):56-64.
- 58 Yoshimura T, Sonoda KH, Sugahara M, Mochizuki Y, Enaida H, Oshima Y, et al. Comprehensive analysis of inflammatory immune mediators in vitreoretinal diseases. *PLoS ONE*. 2009;4(12):e8158.
- 59 Jonas JB, Jonas RA, Neumaier M, Findeisen P. Cytokine concentration in aqueous humor of eyes with diabetic macular edema. *Retina*. 2012;32:2150-7.
- 60 Dong N, Xu B, Chu L, Tang X. Study of 27 Aqueous Humor Cytokines in Type 2 Diabetic Patients with or without Macular Edema. *PLoS ONE*. 2015;10(4):e0125329 <https://doi.org/10.1371/journal.pone>.

- 61 Funatsu H, Yamashita H, Noma H, Mimura T, Yamashita T, Hori S. Increased levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *Am J Ophthalmol.* 2013;133:70-7.
- 62 Vujosevic S, Simó R. Local and systemic inflammatory biomarkers of diabetic retinopathy: an integrative approach. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58:BIO68–BIO75. DOI: 10.1167/iovs.17-21769.
- 63 Oh IK, Kim SW, Oh J, Lee TS, Huh K. Inflammatory and angiogenic factors in the aqueous humor and the relationship to diabetic retinopathy. *Curr Eye Res.* 2010;35:1116-27.
- 64 Sohn HJ, Han DH, Kim IT, Oh IK, Kim KH, Lee DY, et al. Changes in aqueous concentrations of various cytokines after intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol.* 2011;152(4):686-94.
- 65 Roh MI, Kim HS, Song JH, Lim JB, Kwon OW. Effect of intravitreal bevacizumab injection on aqueous humor cytokine levels in clinically significant macular edema. *Ophthalmology.* 2009;116(1):80-6.
- 66 Shiraya T, Kato S, Araki F, Ueta T, Miyaji T, Yamaguchi T. Aqueous cytokine levels are associated with reduced macular thickness after intravitreal ranibizumab for diabetic macular edema. *PLoS ONE.* 2017;12(3):e0174340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone>.
- 67 Campochiaro PA, Hafiz G, Mir TA, Scott AW, Zimmer-Galler I, Shah SM, et al. Pro-permeability Factors in Diabetic Macular Edema; the Diabetic Macular Edema Treated with Ozurdex Trial. *Am J Ophthalmol.* 2016;168:13-23.
- 68 Wilkinson CP, Ferris FLr, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology.* 2003;110(9):1677-82.
- 69 Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report no 1. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Arch Ophthalmol.* 1985;103(12):1796-806.
- 70 Lee CS, Lee AY, Sim DA, Keane PA, Mehta H, Zarranz-Ventura J, et al. Reevaluating the definition of intraretinal microvascular abnormalities and

neovascularization elsewhere in diabetic retinopathy using optical coherence tomography and fluorescein angiography. *Am J Ophthalmol.* 2015;159(1):101-10.

- 71 Vaz-Pereira S, Zarranz-Ventura J, Sim DA, Keane PA, Smith R, Egan CA, et al. Optical Coherence Tomography Features Of Active And Inactive Retinal Neovascularization In Proliferative Diabetic Retinopathy. *Retina.* 2016;36(6):1132-42.
- 72 Browning DJ, Altaweel MM, Bressler NM, Bressler SB, Scott IU. Diabetic macular edema: what is focal and what is diffuse? *Am J Ophthalmol.* 2008;146(5):649-55.
- 73 Das T, Raman R, Ramasamy K, Rani PK. Telemedicine in diabetic retinopathy: current status and future directions. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2015;22:174-8.
- 74 Zimmer-Galler IE, Kimura AE, Gupta S. Diabetic retinopathy screening and the use of telemedicine. *Curr Opin Ophthalmol.* 2015;26:167-72.
- 75 Novotny HR, Alvis DL. A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation.* 1961;24:82-6.
- 76 Sim DA, Keane PA, Rajendram R, Karampelas M, Selvam S, Powner MB, et al. Patterns of peripheral retinal and central macula ischemia in diabetic retinopathy as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography. *Am J Ophthalmol.* 2014;158(1):144-53.
- 77 Wessel MM, Nair N, Aaker GD, Ehrlich JR, D'Amico DJ, Kiss S. Peripheral retinal ischaemia, as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography, is associated with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol.* 2012;96(5):694-8.
- 78 Virgili G, Menchini F, Casazza G, Hogg R, Das RR, Wang X, et al. Optical coherence tomography (OCT) for detection of macular oedema in patients with diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;1:CD008081.
- 79 Virgili G, Menchini F, Dimastrogiovanni AF, Rapizzi E, Menchini U, Bandello F, et al. Optical coherence tomography versus stereoscopic fundus photography or biomicroscopy for diagnosing diabetic macular edema: a systematic review. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(11):4963-73.

- 80 Pires I, Santos AR, Nunes S, Lobo C, Cunha-Vaz J. Subclinical macular edema as a predictor of progression to clinically significant macular edema in type 2 diabetes. *Ophthalmologica*. 2013;230:201-6.
- 81 Vujosevic S, Martini F, Cavarzeran F, Pilotto E, Midena E. Macular and peripapillary choroidal thickness in diabetic patients. *Retina*. 2012;32(9):1781-90.
- 82 Regatieri CV, Branchini L, Carmody J, Fujimoto JG, Duker JS. Choroidal thickness in patients with diabetic retinopathy analyzed by spectral-domain optical coherence tomography. *Retina*. 2012;32(3):563-8.
- 83 Kim JT, Lee DH, Joe SG, Kim JG, Yoon YH. Changes in choroidal thickness in relation to the severity of retinopathy and macular edema in type 2 diabetic patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(5):3378-84.
- 84 Querques G, Lattanzio R, Querques L, Del Turco C, Forte R, Pierro L, et al. Enhanced depth imaging optical coherence tomography in type 2 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(10):6017-24.
- 85 Adhi M, Brewer E, Waheed NK, Duker JS. Analysis of morphological features and vascular layers of choroid in diabetic retinopathy using spectral-domain optical coherence tomography. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(10):1267-74.
- 86 Kim BY, Smith SD, Kaiser PK. Optical Coherence Tomographic Patterns of Diabetic Macular Edema. *Am J Ophthalmol*. 2006;142:405-12.
- 87 Otani T, Kishi S, Maruyama Y. Patterns of Diabetic Macular Edema With Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol*. 1999;127:688-93.
- 88 Horii T, Murakami T, Nishijima K, Akagi T, Uji A, Arakawa N, et al. Relationship between fluorescein pooling and optical coherence tomographic reflectivity of cystoid spaces in diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2012;119(5):1047-55.
- 89 Kang JW, Chung H, Chan Kim H. Correlation of optical coherence tomographic hyperreflective foci with visual outcomes in different patterns of diabetic macular edema. *Retina*. 2016;36:1630-9.
- 90 Makita S, Hong Y, Yamanari M, Yatagai T, Yasuno Y. Optical coherence angiography. *Opt Express*. 2006;14(17):7821-40.

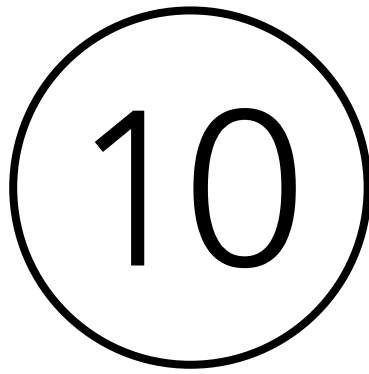
- 91 Jonathan E, Enfield J, Leahy MJ. Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *J Biophotonics*. 2011;4(9):583-7.
- 92 Miura M, Makita S, Iwasaki T, Yasuno Y. Three-dimensional visualization of ocular vascular pathology by optical coherence angiography in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(5):2689-95.
- 93 Hwang TS JY, Gao SS, Bailey ST, Lauer AK, Flaxel CJ, Wilson DJ, Huang D. Optical Coherence Tomography Angiography Features of Diabetic Retinopathy. *Retina*. 2015;35(11):2371-6.
- 94 Hwang TS GS, Liu L, Lauer AK, Bailey ST, Flaxel CJ, Wilson DJ, Huang D, Jia Y. Automated Quantification of Capillary Nonperfusion Using Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(4):367-73.
- 95 de Carlo TE CA, Bonini Filho MA, Adhi M, Branchini L, Salz DA, Bauman CR, Crawford C, Reichel E, Witkin AJ, Duker JS, Waheed NK. Detection of Microvascular Changes in Eyes of Patients with Diabetes but not Clinical Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Retina*. 2015;35(11):2364-70.
- 96 de Carlo TE BFM, Bauman CR, Reichel E, Rogers A, Witkin AJ, Duker JS, Waheed NK. Evaluation of Preretinal Neovascularization in Proliferative Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2016;47(2):115-9.
- 97 Coscas G, Lupidi M, Coscas F. Optical coherence tomographic angiography in diabetic macular ischemia, a new step forward. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(4):1-2.
- 98 de Carlo TE, Chin AT, Joseph T, Bauman CR, Witkin AJ, Duker JS, et al. Distinguishing Diabetic Macular Edema From Capillary Nonperfusion Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2016;47(2):108-14.
- 99 Yun SH, Adelman RA. Recent developments in laser treatment of diabetic retinopathy. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2015;22:157-63.

- 100** Luttrull JK, Musch DC, Mainster MA. Subthreshold diode micropulse photocoagulation for the treatment of clinically significant diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol.* 2005;89:74-80.
- 101** Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Wells JA, Glassman AR, Ayala AR, Jampol LM, Aiello LP, et al. Aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for diabetic macular edema. *N Engl J Med.* 2015;372(13):1193-203.
- 102** Nguyen QD, Brown DM, Marcus DM, Boyer DS, Patel S, Feiner L, et al. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology.* 2012;119(4):789-801.
- 103** Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Massin P, Schlingemann RO, et al. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2011;118(4):615-25.
- 104** Heier JS, Korobelnik JF, Brown DM, Schmidt-Erfurth U, Do DV, Midena E, et al. Intravitreal Aflibercept for Diabetic Macular Edema: 148-Week Results from the VISTA and VIVID Studies. *Ophthalmology.* 2016;123(11):2376-85.
- 105** Avery RL, Castellarin AA, Steinle NC, Dhoot DS, Pieramici DJ, See R, et al. Systemic pharmacokinetics following intravitreal injections of ranibizumab, bevacizumab or aflibercept in patients with neovascular AMD. *Br J Ophthalmol.* 2014;98(12):1636-41.
- 106** Massin P, Audren F, Haouchine B, Erginay A, Bergmann JF, Benosman R, et al. Intravitreal triamcinolone acetonide for diabetic diffuse macular edema: preliminary results of a prospective controlled trial. *Ophthalmology.* 2004;111(2):218-24.
- 107** Gillies MC, McAllister IL, Zhu M, Wong W, Louis D, Arnold JJ, et al. Intravitreal triamcinolone prior to laser treatment of diabetic macular edema: 24-month results of a randomized controlled trial. *Ophthalmology.* 2011;118(5):866-72.
- 108** Campochiaro PA, Brown DM, Pearson A, Chen S, Boyer D, Ruiz-Moreno J, et al. Sustained delivery fluocinolone acetonide vitreous inserts provide benefit for at least 3 years in patients with diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2012;119(10):2125-32.

- 109** Boyer DS, Yoon YH, Belfort RJ, Bandello F, Maturi RK, Augustin AJ, et al. Three-year, randomized, sham-controlled trial of dexamethasone intravitreal implant in patients with diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2014;121(10):1904-14.
- 110** Chang-Lin JE, Attar M, Acheampong AA, Robinson MR, Whitcup SM, Kuppermann BD, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a sustained-release dexamethasone intravitreal implant. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(1):80-6.
- 111** Bandello F, Preziosa C, Querques G, Lattanzio R. Update of intravitreal steroids for the treatment of diabetic macular edema. *Ophthalmic Res*. 2014;52(2):89-96.
- 112** Dugel PU, Bandello F, Loewenstein A. Dexamethasone intravitreal implant in the treatment of diabetic macular edema. *Clin Ophthalmol*. 2015;16(9):1321-35.
- 113** Gillies MC, Lim LL, Campain A, Quin GJ, Wedad S, Li J, et al. A Randomized Clinical Trial of Intravitreal Bevacizumab versus Intravitreal Dexamethasone for Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology*. 2014;121:2473-81.
- 114** Lewis H, Abrams GW, Blumenkranz MS. Vitrectomy for diabetic macular traction and edema associated with posterior hyaloid traction. *Ophthalmology*. 1992;00:753-9.
- 115** García-Arumí J, Boixadera A, Martínez Castillo V, Corcóstegui B. Transconjuntival sutureless 23-gauge vitrectomy for diabetic retinopathy. *Curr Diabetes Rev*. 2009;5(1):63-6.
- 116** Lange CAK, Stavarakas P, Luhmann UFO, de Silva DJ, Ali RR, Gregor ZJ, et al. Intraocular oxygen distribution in advanced proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2011;152(3):406-12.
- 117** Nguyen QD, Shah SM, Van Anden E, Sung JU, Vitale S, Campochiaro PA. Supplemental oxygen improves diabetic macular edema: a pilot study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(2):617-24.
- 118** Simunovic M, Hunyor AP, Ho IV. Vitrectomy for diabetic macular edema: a systematic review and meta-analysis. *Can J Ophthalmol*. 2014;49:188-95.

- 119** Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Edwards AR, Aiello LP, Bressler NM, Ferris F, Glassman AR, et al. Three-year follow-up of a randomized trial comparing focal/grid photocoagulation and intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(3):245-51.
- 120** Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Aiello LP, Beck RW, Bressler NM, Bressler SB, Edwards AR, et al. Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2010;117(6):1064-77.
- 121** Boyer DS, Faber D, Gupta S, Patel SS, Tabandeh H, Li XY, et al. Dexamethasone intravitreal implant for treatment of diabetic macular edema in vitrectomized patients. *Retina*. 2011;31(5):915-23.
- 122** American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes - 2013. *Diabetes Care*. 2013:S11-S66.
- 123** Mackenzie S, Schmermer C, Charnley A, Sim D, Tah V, Dumskyj M, et al. SDOCT Imaging to Identify Macular Pathology in patients diagnosed with diabetic maculopathy by a digital photographic retinal screening program. *PLoS ONE*. 2011;6(5):e14811.
- 124** Figueras-Roca M, Molins B, Sala- Puigdollers A, Matas J, Vinagre I, Ríos J, et al. Peripheral blood metabolic and inflammatory factors as biomarkers to ocular findings in diabetic macular edema. *PLoS ONE*. 2017;12(3):e0173865. doi: 0.1371/journal.pone.0173865.
- 125** Kim M, Kim Y, Lee SJ. Comparison of aqueous concentrations of angiogenic and inflammatory cytokines based on optical coherence tomography patterns of diabetic macular edema. *Indian J Ophthalmol*. 2015;63(4):312-7.
- 126** Kim JY, Jeong YJ, Park SP. Different Concentrations of Aqueous Cytokines According to Diabetic Macular Edema Patterns as Determined Optical Coherence Tomography. *J Clin Exp Ophthalmol*. 2014;5(6).
- 127** Sim DA, Keane PA, Zarranz-Ventura J, Fung S, Powner MB, Platteau E, et al. The Effects of Macular Ischaemia on Visual Acuity in Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2103;54:2353-60.

- 128** Xu AJ, Zhu W, Tian F, Yan LH, Li T. Recombinant adenoviral expression of IL-10 protects beta cell from impairment induced by pro-inflammatory cytokine. *Mol Cell Biochem.* 2010;344:163-71.
- 129** Ozturk BT, Bozkurt B, Kerimoglu H, Okka M, Kamis U, Gunduz K. Effect of serum cytokines and VEGF levels on diabetic retinopathy and macular thickness. *Mol Vis.* 2009;15:1906-14.



ANNEX

RESEARCH ARTICLE

Peripheral blood metabolic and inflammatory factors as biomarkers to ocular findings in diabetic macular edema

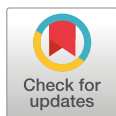
Marc Figueras-Roca^{1,2,3*}, Blanca Molins^{2,4}, Anna Sala-Puigdollers^{1,2,5}, Jessica Matas^{1,2,5}, Irene Vinagre^{3,5}, José Ríos^{4,5,‡}, Alfredo Adán^{1,2,‡}

1 Institut Clínic d'Oftalmologia (ICO), Hospital Clínic, Barcelona, Spain, 2 August Pi i Sunyer Biomedical Research Institute (IDIBAPS), Barcelona, Spain, 3 Department of Endocrinology, Hospital Clínic, Barcelona, Spain, 4 Medical Statistics Core Facility, IDIBAPS, Barcelona, Spain, 5 Biostatistics Unit, Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

☉ These authors contributed equally to this work.

‡ These authors also contributed equally to this work.

* mafiguer@clinic.cat



OPEN ACCESS

Citation: Figueras-Roca M, Molins B, Sala-Puigdollers A, Matas J, Vinagre I, Ríos J, et al. (2017) Peripheral blood metabolic and inflammatory factors as biomarkers to ocular findings in diabetic macular edema. *PLoS ONE* 12 (3): e0173865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865>

Editor: Demetrios G. Vavvas, Massachusetts Eye & Ear Infirmary, Harvard Medical School, UNITED STATES

Received: October 26, 2016

Accepted: February 28, 2017

Published: March 22, 2017

Copyright: © 2017 Figueras-Roca et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Ethical and legal restrictions do apply according to the IRB statement on the project's approval (current Spanish law on Data Protection: Organic Law 15/1999). IRB can be contacted on ceic@clinic.cat remarking project name (Characterization of Clinical and Biological Factors Associated to Diabetic Macular Edema in Type 2 Diabetes Mellitus. Principal Investigator: Marc Figueras Roca).

Abstract

Aims

To study the association between peripheral blood metabolic and inflammatory factors and presence of diabetic macular edema (DME) and its related anatomic features in type 2 diabetic mellitus (T2DM) patients.

Material and methods

Observational cross-sectional study on a proof of concept basis. Seventy-six T2DM included patients were divided based on the presence ($n = 58$) or absence of DME ($n = 18$) according to optical coherence tomography (OCT). Ultra-widefield fluorescein angiography (UWFA) was performed in DME patients. Fasting peripheral blood sample testing included glycemia, glycosylated hemoglobin, creatinin and lipid levels among others. Serum levels of a broad panel of cytokines and inflammatory mediators were also analysed. OCT findings included central subfoveal thickness, diffuse retinal thickness (DRT), cystoid macular edema (CME), serous retinal detachment and epiretinal membrane. UWFA items included pattern of DME, presence of peripheral retinal ischemia and enlarged foveal avascular zone (FAZ).

Results

Metabolic and inflammatory factors did not statistically differ between groups. However, several inflammatory mediators did associate to certain ocular items of DME cases: IL-6 was significantly higher in patients with DRT ($p = 0.044$), IL-10 was decreased in patients with CME ($p = 0.012$), and higher IL-8 ($p = 0.031$) and VEGF levels ($p = 0.031$) were observed in patients with enlarged FAZ.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Conclusion

Inflammatory and metabolic peripheral blood factors in T2DM may not be differentially associated to DME when compared to non-DME cases. However, some OCT and UWFA features of DME such as DRT, CME and enlarged FAZ may be associated to certain systemic inflammatory mediators.

Introduction

Diabetic retinopathy (DR) is the most common microvascular complication of Diabetes Mellitus (DM) and is characterized by progressive retinal microvascular changes leading to tissue ischemia, increased permeability, neovascularization and edema.[1] If such changes affect the central area of the retina (macula), diabetic macular edema (DME) is developed. DME is the leading cause of decreased visual acuity in patients with DR, and its overall prevalence in DM patients is about 6.8%~14%.[2–4] Natural history of DME can cause significant vision loss in up to 50% of affected patients at two years time.[5] Type 2 DM (T2DM) is the most prevalent form of DM and about 3% of them do present DME 5 years after being diagnosed, but such a proportion dramatically increases with disease duration, reaching 28% at 20 years time.[6]

The pathogenesis of DME in T2DM is thought to be associated with increased vascular permeability due to breakdown of the blood–retinal barrier (BRB) and the blood–aqueous barrier. This breakdown is driven by the inflammation and oxidative stress produced by high levels of advanced glycation end-products.[7] Such events present with characteristic cellular and functional changes due to inflammation taking place in DR: leukostasis, abnormal leukocyte adherence and increased permeability of retinal vascular barriers.[8] This global systemic inflammatory environment has been widely studied in diabetic patients. [8–12] However, it remains unclear whether the pathophysiology of DME is mainly attributed to such systemic affection or to a local (intraocular) response.

Several studies have published reports on systemic levels of metabolic and inflammatory mediators in DR but little is specifically known on DME. DR has been associated to higher serum levels of several cytokines, chemokines, growth and angiogenic factors such as interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and vascular endothelial growth factor (VEGF).[13–15] Metabolic and cardiovascular-related factors, such as poor glycemic control, blood hypertension, microalbuminuria, pregnancy, dyslipidemia, smoking habit and sedentary living have been also associated to DR development and progression.[11] However, there are only few studies focusing on systemic metabolic factors in DME, [16–19] and systemic inflammatory mediators in DME have not been studied so far. Inflammatory and vascular mediators in DME have been only studied locally in its intraocular setting. Indeed, it has been shown that DME patients have increased levels of pro-inflammatory mediators in aqueous humour (AH) compared to non-DME cases. [20] It is therefore controversial whether DME is also specifically associated to certain serum inflammatory and metabolic factors.

Finally, current diagnostic techniques on DME have greatly evolved from those used in past studies on systemic factors related to this entity. Optical coherence tomography (OCT) is a light-based imaging technique with no side events that allows tomographic reconstruction of any tissue, enabling, for example, characterization of cysts and extracellular edema within the macula. Ultra-widfield fluorescein angiography (UWFA) enhances visualization of retinal vessels and tissue ischemia up to 200° of photography of the retina (compared to the standard form of 45°). Both techniques have not been widely used in previous studies on this topic.

Given the current state of understanding of the complex systemic inflammatory and metabolic events in DM, we focused our research on DME. Although much reported information exists on differentiated levels of intraocular mediators of inflammation in diabetic patients with DME, little is known regarding such molecules in peripheral blood. Moreover, some reports on DME and its association to systemic items have not used current modern imaging techniques to identify DME such as OCT and UWFA. Therefore, the goal of the present study was to describe the association between peripheral blood metabolic and inflammatory factors and presence of DME and its related anatomic features in T2DM patients.

Material and methods

Study design

We present an observational cross-sectional study assessing serum levels of inflammatory and metabolic mediators in T2DM patients with and without DME.

The Hospital Clinic of Barcelona Institutional Review Board (IRB) approved this study according to local and national IRB guidelines. All DME and non-DME patients provided written informed consent, and the research followed the tenets of the Declaration of Helsinki. Eighty consecutive patients were screened when first attended in the Eye Department (Hospital Clinic of Barcelona, Spain) after primary care ophthalmologist referral because of DR with presumptive DME. Exclusion criteria was limited to proliferative DR (PDR), unclear ocular media, other retinal vasculopathy (such as retinal arterial or vein occlusion), pregnancy, systemic diseases of autoimmunity or infectious condition, and systemic immunosuppressive treatment of any kind. Whenever bilateral DME was present, the eye with the thickest edema in the fovea according to OCT measurements in microns was selected as the study eye.

All assessments and explorations, as well as peripheral blood extraction, were carried out the same day and in the same localiton; only UWFA could be delayed up to one week since inclusion date. Clinical assessment involved a complete medical and treatment history including DM duration.

Cytokine and metabolic profile determination

Peripheral blood extraction was carried out at fasting time and included two samples simultaneously collected to determine serum levels of metabolic parameters and inflammatory markers respectively. For serum obtention, blood was centrifugated at 1600g within 30 minutes after obtention and stored at -70°C until inflammatory mediators were determined.

Searched metabolic parameters included glycemia, creatinin, total cholesterol, low-density lipoproteins cholesterol (LDL-C), high-density lipoproteins cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), aspartat aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), hemoglobin (Hb) and glycated Hb ($\text{HbA}_{1\text{C}}$). Such parameters analyses were carried out in regular facilities of the study-based terciary referral center. Ten immune mediators were determined: proinflammatory molecules such as IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, MCP-1, interferon gamma-induced protein-10 (IP-10); type 1 cytokines such as interferon gamma (IFN- γ) and TNF- α ; type 2 cytokines (IL-10); and growth factors (VEGF). These molecules were chosen based on published results of previous studies regarding both serum and intraocular inflammatory biomarkers in DR and DME.[13–15, 20, 21] Selected immune mediators were determined by a Luminex platform (Millipore's MilliPlex Human Cytokine/ Chemokine kit) used to measure cytokine and chemokine levels in serum samples using an assay plate layout consisting of seven standards in duplicate (3.2–2000 pg/mL), one blank well (for background fluorescence subtraction), two internal quality control samples in duplicate and 25 μL duplicates of each serum sample. The MilliPlex method was performed as recommended by the manufacturer.

Ophthalmologic assessment

Ophthalmologic assessment was also performed including past and current ophthalmic events and treatments and a complete eye examination was carried out with visual acuity determination, slit lamp biomicroscopy, intraocular pressure assessment and funduscopy under pupil dilation. Eye fundus exploration included DR grading according to international-based scale: [1, 22] mild non-proliferative DR (NPDR), moderate NPDR, severe NPDR and PDR. All subjects underwent macular OCT exploration (Cirrus, Carl-Zeis Meditec, Inc, Dublin, CA) as gold-standard determination of DME using a standard Macular Cube 518x128 μm scan. Those diagnosed of DME were in addition studied with UWFA (Optomap, Optos PLC, Dunfermline, Scotland, UK). OCT findings included quantitative determination of central subfoveal thickness (CST) and qualitative findings (Fig 1) as presence of diffuse retinal thickening (DRT), cystoid macular edema (CME), serous retinal detachment (SRD) and epirretinal membrane (ERM). DME was OCT-confirmed when one of the next items was found: [23] CST > 250 μm , DRT, CME and/or SRD. UWFA findings (Fig 2) included: diffuse or focal pattern of DME according to common practice criteria [24] and previously published reports; [25] increased foveal avascular zone (FAZ) as defined by prior studies (>0.32 mm²); [25] and presence of peripheral retinal ischemia (PRI) set as areas of capillary nonperfusion outside retinal vascular arcades.

Statistical analysis

Description of variables were showed by mean, median, interquartile range (percentiles 25th and 75th) and absolute range for quantitative variables. Absolute frequencies and percentages were used in the description of qualitative factors. Inferential analyses were performed using Mann-Whitney U test. A bilateral type I error of 5% was established. Analyses were first performed comparing DME patients with non-DME patients. On the other hand, analyses were carried out within the DME group of patients based on qualitative endpoints (for example, comparing CME cases with non-CME ones). Due to observational characteristics of the present study a strategy for multiplicity adjust was not planned, thus significant results should be validated in posterior independent studies. All statistical calculations were executed on SPSS v.20.0 (SPSS IBM Corporation, New York, NY, USA).

Results

Eighty DM patients were included in the study according to previously stated criteria. Four patients were finally excluded due to blood sample processing malfunction and no possible determination of inflammatory markers. Seventy-six patients were finally analysed. Fifty-eight of them presented DME according to OCT-based defined endpoints. Eighteen patients referred for suspected DME did not achieve such endpoint and therefore constituted the non-DME group. All included patients had peripheral venous blood extraction and OCT exploration made. Of 58 DME patients, 42 subjects (72%) underwent UWFA according to study protocol; 16 patients did not undergo UWFA due to delayed planning or refusal (Fig 3). Demographics of both groups (Table 1) reported no differences between age, gender and DM duration. Regarding DR grading, all non-DME cases ($n = 18$) showed signs of mild NPDR whereas DME cases presented mild NPDR in 25 cases (43%), moderate NPDR in 22 subjects (38%) and severe NPDR in 11 cases (19%).

No statistically significant differences were found between DME and non-DME patients on metabolic blood parameters (glycemia, creatinin, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, TG, AST, ALT, Hb and HbA_{1c}) and serum inflammatory biomarkers (IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1, IP-10, IFN- γ , TNF- α and VEGF) (Table 1).

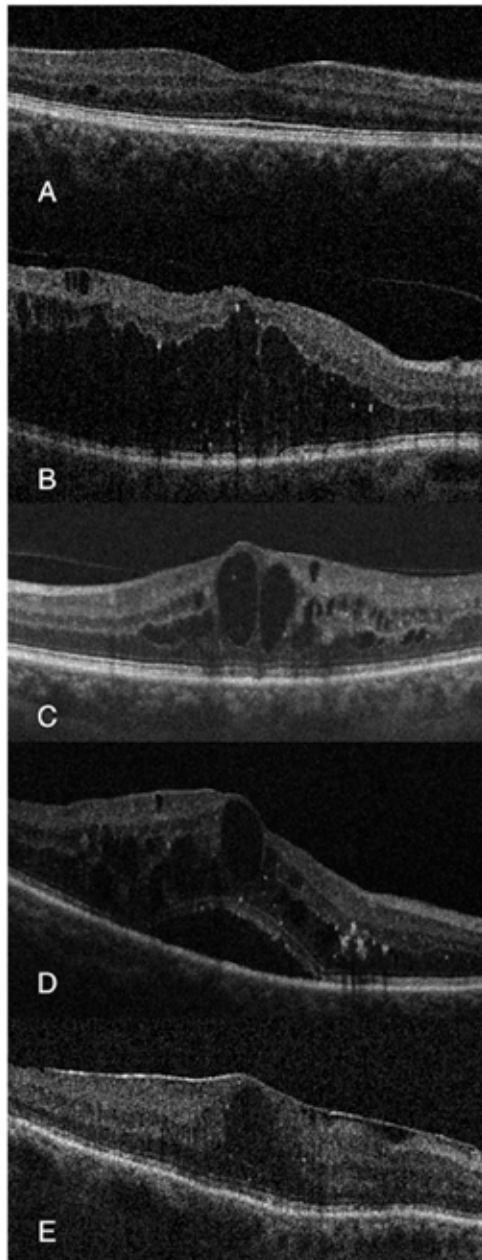


Fig 1. Examples of OCT-associated items. (A) No DME. (B) Diffuse retinal thickening. (C) Cystoid macular edema. (D) Serous retinal detachment. (E) Epirretinal membrane.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865.g001>

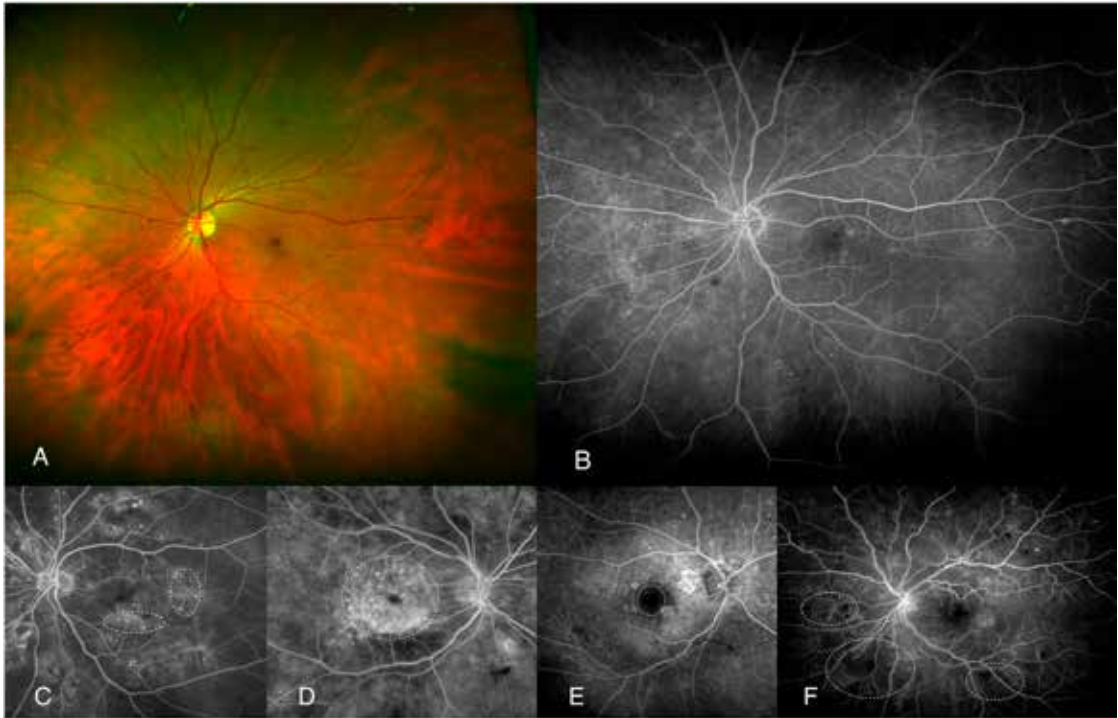


Fig 2. Examples of UWFA-based items (dotted lines). (A) Color fundus photography of NPDR case without DME nor any associated sign. (B) UWFA of previous case. (C) focal-pattern DME. (D) diffuse-pattern DME. (E) increased FAZ. (F) PRI.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865.g002>

Anatomic findings associated to DME as OCT and UWFA findings are shown in Table 2. A subanalysis of the DME patients was done according to an arbitrary split point of CST as an explorative clinical marker of mild ($<450\mu\text{m}$) or severe ($\geq 450\mu\text{m}$) DME presentation. Such split point was proposed by the authors on a proof of concept basis as an intended marker of DME severity. No statistically significant differences were found regarding blood parameters and inflammatory factors between such groups. However, BCVA (logMAR) did statistically

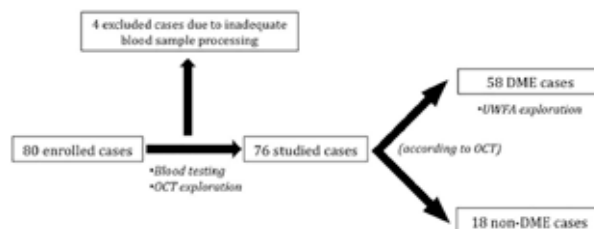


Fig 3. Flowchart of the study design.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865.g003>

Table 1. Clinical parameters of patients with and without DME.

	No DME (n = 18)	DME (n = 58)	p-value
Demographics:			
Age (years)	65 [59; 76]	70 [62; 78]	0.264
	32 to 88	53 to 85	
Gender			
Male (%)	13 (72.2%)	34 (58.6%)	0.408
Female (%)	5 (27.8%)	24 (41.4%)	
DM duration (years)	11 [8; 14]	11 [8; 19]	0.344
	1 to 25	4 to 40	
Serum metabolic markers:			
Glucose (mg/dl)	191 [128; 264]	146 [116; 213]	0.220
	62 to 341	51 to 417	
Creatinine (mg/dl)	0.84 [0.68; 0.96]	0.87 [0.77; 1.03]	0.330
	0.54 to 1.34	0.37 to 4.13	
Total cholesterol (mg/dl)	184 [148; 200]	172 [150; 193]	0.545
	95 to 281	90 to 249	
Triglyceride (mg/dl)	116 [85; 204]	112 [85; 172]	0.648
	49 to 832	43 to 359	
AST (U/L)	20 [17; 28]	20 [16; 26]	0.402
	15 to 69	8 to 78	
ALT (U/L)	22 [19; 28]	21 [15; 29]	0.250
	15 to 106	6 to 119	
LDL-C (mg/dl)	106 [79; 128]	99 [76; 119]	0.641
	56 to 159	38 to 175	
HDL-C (mg/dl)	40 [34; 47]	44 [37; 59]	0.104
	22 to 68	24 to 84	
Hb (mg/dl)	145 [127; 155]	136 [124; 148]	0.288
	119 to 159	98 to 175	
HbA1C (%)	8.3 [8; 9.4]	7.7 [6.9; 8.9]	0.082
	6.1 to 13.3	5.5 to 13.8	
Serum inflammatory markers:			
IL-1 β (pg/ml)	0.8 [0.8; 0.8]	0.8 [0.8; 0.8]	0.753
	0.8 to 3.71	0.8 to 6.90	
IL-3 (pg/ml)	0.7 [0.7; 0.7]	0.7 [0.7; 0.7]	1
	0.7 to 0.7	0.7 to 162.15	
IL-6 (pg/ml)	0.9 [0.9; 1.53]	0.9 [0.9; 0.9]	0.258
	0.9 to 25.91	0.9 to 81.14	
IL-8 (pg/ml)	8.23 [5.38; 10.72]	8.78 [4.19; 12.60]	0.842
	2.06 to 25.19	0.82 to 108.03	
IL-10 (pg/ml)	1.1 [1.1; 1.1]	1.1 [1.1; 1.1]	0.741
	1.1 to 33.74	1.1 to 12.12	
MCP-1 (pg/ml)	401.73 [323.08; 458.65]	421.29 [361.56; 547.26]	0.465
	249.65 to 656.79	143.94 to 1115.98	
IP-10 (pg/ml)	254.95 [189.66; 378.41]	206.6 [140.91; 366.42]	0.266
	128.54 to 808.90	45.61 to 1271.69	
IFN- γ (pg/ml)	1.18 [0.8; 4.3]	0.89 [0.8; 3.42]	0.477
	0.8 to 58.31	0.8 to 572.05	
TNF- α (pg/ml)	5.74 [4.27; 8.19]	7.58 [5.23; 10.24]	0.078

(Continued)

Table 1. (Continued)

	No DME (n = 18)	DME (n = 58)	p-value
	1.75 to 10.61	0.7 to 33.06	
VEGF (pg/ml)	26.3 [26.3; 293.59]	26.3 [26.3; 274.69]	0.631
	26.3 to 717.13	26.3 to 3269.42	

Variables are described by median and interquartile range [Percentiles 25th, 75th] and absolute range, except from gender.

Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartat aminotransferase; Hb, hemoglobin; HbA_{1C}, glycosylated hemoglobin-A1; HDL-C, high-density lipoproteins cholesterol; IL, interleukin; IP-10, interferon gamma-induced protein-10; IQR, interquartile range; LDL-C, low-density lipoproteins cholesterol; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; SD, standard deviation; TNF- α , tumour necrosis factor alpha; VEGF, vascular endothelial growth factor.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865.t001>

significantly differ ($p < 0.001$) between them with better visual acuity found in mild DME cases (median 0.3 [IQR: 0.1; 0.5]) than severe ones (median 0.7 [IQR 0.5; 0.8]).

Regarding further analysis within the DME group, metabolic and inflammatory markers were compared according to OCT and UWFA anatomic findings (S1 Table and S2 Table respectively). Statistically significant associations are reported in Table 3 and shown in Fig 4. DME patients presenting with DRT (n = 22) were therefore related ($p = 0.044$) to higher IL-6 peripheral blood serum levels. Cases of CME in the OCT exploration (n = 38) were associated ($p = 0.012$) to lower IL-10 concentration. Finally, significant differences were also found regarding DME patients with enlarged FAZ (n = 6) showing higher serum levels of IL-8 ($p = 0.031$) and VEGF ($p = 0.031$) when compared to those with physiological FAZ.

Discussion

This cross-sectional study aimed to analyse serum inflammatory and metabolic factors (cytokines, growth factors, and common practice metabolic items) and their association to DME in first place and, in addition, their relation to ophthalmic anatomic features studied by latest cutting-edge technology.

As a whole, no statistically significant differences were found in all parameters between the DME and the non-DME group (Table 1). At first glance, one could at least expect HbA_{1C} to be

Table 2. OCT and UWFA findings of DME.

	n (%)
OCT:	
CST <450 μ m	33 (57)
CST \geq 450 μ m	25(43)
Diffuse retinal thickening	22 (38)
Cystoid macular edema	38 (65)
Serous retinal detachment	7 (12)
Epirretinal membrane	4 (7)
UWFA:	
Diffuse-pattern DME	14 (33)
Focal-pattern DME	28 (66)
Increased foveal avascular zone	6 (14)
Peripheral retinal ischemia	11 (26)

Abbreviations: CST, central subfoveal thickness; DME, diabetic macular edema; OCT, optical coherence tomography; UWFA, ultra-widefield fluorescein angiography.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865.t002>

Table 3. Inflammatory factors associated to OCT and UWFA findings of DME.

	OCT and UWFA finding		p-value
	DRT (n = 22)	no DRT (n = 36)	
IL-6 (pg/ml)	6.57 (17.60)	1.09 (0.69)	0.044
	0.9 [0.9; 1.76]	0.9 [0.9; 0.9]	
	0.9 to 81.14	0.9 to 4.53	
IL-10 (pg/ml)	CME (n = 38)	no CME (n = 20)	0.012
	1.29 (1.17)	2.28 (3.33)	
	1.1 [1.1; 1.1]	1.1 [1.1; 1.32]	
IL-8 (pg/ml)	enlarged FAZ (n = 6)	physiological FAZ (n = 36)	0.031
	30.17 (38.69)	9.64 (6.18)	
	15.49 [10.73; 25.10]	9.05 [5.02; 12.01]	
VEGF (pg/ml)	6.17 to 108.03	0.82 to 30.33	0.031
	794.54 (1227.54)	158.55 (239.81)	
	374.07 [152.32; 571.07]	26.3 [26.3; 211.52]	
	26.3 to 3269.42	26.3 to 925.66	

Variables are described (above to lower) by mean and standard deviation, median and interquartile range [percentiles 25th, 75th], and absolute range. Abbreviations: CME, cystoid macular edema; DRT, diffuse retinal thickening; DME, diabetic macular edema; FAZ, foveal avascular zone; n, number of cases; OCT, optical coherence tomography; UWFA, ultra-widefield fluorescein angiography.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865.t003>

higher in the DME group according to the general understandig of this DM complication.[11, 17] However, studied non-DME patients were indeed referred patients with DR and no DME confirmed by fundus and OCT examination. Non-DME patients could therefore deploy a worse metabolic peripheral blood profile than similar non-DME DM outclinic patients not

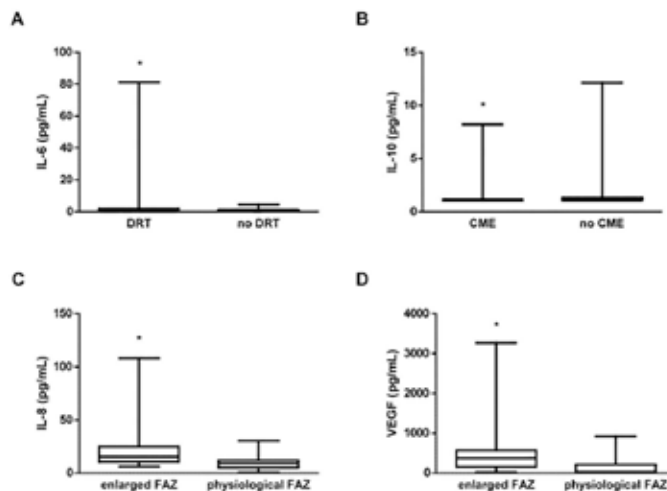


Fig 4. Boxplot graphic showing statistically significant differences (*) regarding peripheral blood inflammatory mediators and OCT and UWFA DME-associated items. (A) Increased IL-6 levels associated to DRT. (B) Decreased IL-10 levels related to CME. (C) Increased IL-8 and VEGF concentration (D) associated to enlarged FAZ.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173865.g004>

attending the primary care ophthalmologist. Therefore their comparison with DME patients could be inaccurate. Regarding serum inflammatory markers, one could expect some relationship with DME as intraocular levels are indeed increased in DME. [20] However, none of them did statistically differ between groups. Although levels of TNF- α showed a higher concentration in DME patients (median 7.58 $\mu\text{g/ml}$) than non-DME ones (median 5.74 $\mu\text{g/ml}$), such a difference did not match the established significance level ($p = 0.078$). A recent published study [26] reached similar conclusions when reporting increased serum levels of TNF- α in DME patients. However, such a finding was only statistically significant when comparing levels on DME patients to healthy non-DM controls. [26]. Moreover, this difference was not significant when comparing DME cases with either DR patients with no-DME, or DM patients with no DR. [26].

In the second part of the study we focused on the DME group to identify associations between certain clinical and anatomical characteristics of DME cases and systemic levels of several factors. We therefore selected defined endpoints that may influence DME prognosis and can be easily determined by objective explorations. BCVA, although a major clinical outcome of DME, was not one of these items since it can be easily biased by other parameters such as DME duration, presence of cataract and macular ischemia. However, in the present study, BCVA remained a good marker of internal validity as was significantly ($p = 0.001$) higher in mild DME cases ($\text{CST} < 450\mu\text{m}$) than severe ones ($\text{CST} \geq 450\mu\text{m}$).

Regarding OCT-based items, we could first expect increased CST to be associated to higher levels of inflammatory serum mediators. Despite that, no differences were found regarding serum cytokines and other molecules between mild DME cases ($\text{CST} < 450\mu\text{m}$) and severe ones ($\text{CST} \geq 450\mu\text{m}$). Such a finding may reinforce the idea that the systemic inflammatory milieu does not completely explain DME behaviour. The fact that DME patients present with mild or severe forms could be therefore related in fact to the intraocular concentration of such molecules. Some of the other OCT-based qualitative findings (DRT, CME, SRD and ERM) have been indeed interestingly associated to intraocular levels of inflammatory mediators. [27, 28] DME with DRT is thought to be related to poor glycemic control and poor response to treatment. Our analysis showed increased serum levels of IL-6 in patients with DRT (Table 3, Fig 4). IL-6 is a multifunctional cytokine essential for acute phase reactions and regulation of immune processes known to be involved in both increased vascular permeability and angiogenesis. [28–30] Such a finding could support the idea of a strong inflammatory nature of this macular feature. Moreover, high blood levels of IL-6 have already been reported to be associated to severe grades of DR itself, [14] commonly found together with DRT cases of DME in DM patients with poor glycemic control. Another studied item was CME, which stands for certain cases of DME presenting with major intraretinal cysts within inner retinal layers. Regarding CME, no differences between cytokines were found, except for IL-10, which was significantly decreased in the DME group (Table 3, Fig 4). IL-10 is a pleiotropic immunosuppressive and immunostimulatory cytokine which is able to down-regulate inflammatory activity of T lymphocytes helper 1. [20, 27, 31, 32] In addition, it also prevents angiogenesis by downregulating VEGF. [27, 32] To our knowledge, there have not been previous reports on systemic IL-10 in DR nor DME. However, some studies did report low AH concentration of IL-10 in DR and even DME [20, 32]. Our results would suggest that low IL-10 blood levels could be related to CME findings in DME. Finally, as OCT-based items, SRD and ERM were also studied. SRD stands for an anatomical subtype of edema with subretinal location of fluid caused by breakdown of the outer BRB. [27, 28] ERM, in turn, stands for epithelial proliferation on the inner surface of the retina. No differences were found between patients with and without these features, most likely due to the small number of cases with either SRD ($n = 7$) or ERM ($n = 4$).

Regarding UWFA findings, studied items included pattern of DME, enlarged FAZ and PRI. No significant differences were found between focal and diffuse DME pattern in any of the analysed markers. This could therefore enforce current theories on edema location within the macula being mainly driven by local factors instead of systemic ones. We also analysed two other items by UWFA: PRI and enlarged FAZ. PRI depicted by UWFA could be a way to characterize retinal microangiopathy and tissue ischemia in DM. PRI is nowadays a topic of major importance due to its presumed involvement in DME formation and maintenance; *Wessel et al.* [33] found 83% of studied DME cases to be associated to PRI with a statistically significant odds ratio of 3.75 when compared to PRI in DR non-DME subjects. In our studied DME group, only 26% of DME cases did present with PRI on UWFA. More reports are needed to confirm this point. Regarding PRI, peripheral blood mediators did not match significance level.

The avascular zone of the central retina (fovea) is known as FAZ. An enlarged FAZ in DME patients is presumed to be associated to certain grades of macular ischemia and therefore poor visual prognosis. Moreover, FAZ itself has been directly correlated to PRI in some UWFA-based reports.[25] Interestingly, we found that peripheral blood levels of IL-8 and VEGF were statistically higher in enlarged FAZ DME cases (Table 3, Fig 4). The pro-inflammatory chemokine IL-8 is a major attractant and activator of neutrophils and T lymphocytes. Its increased levels have been associated to advanced stages of DR such as PDR due to vessel gliotic obliteration.[32]. VEGF, perhaps the most studied and well-known growth factor in DR, is an endothelial cell mitogen inducing vascular permeability and angiogenesis.[32] Increased IL-8 and VEGF in DME cases with enlarged FAZ could suggest central retinal vasculopathy cases to be somehow systemic-related. However, lack of statistical significance regarding PRI findings does not allow a better knowledge on how serum inflammatory mediators associate to DME and local vascular-related events.

As a final point of discussion it is mandatory to take into consideration the limitations of the present investigation. Although designed on a proof of concept basis, the cross-sectional nature of the study limits the extent of the conclusions. Reduced sample size and variability of cytokines and growth factors remain as main limitations. In addition, lack of correction for multiple comparisons could affect the study power to detect differences. Therefore, our findings should be validated in posterior independent studies and the reported associations should be carefully considered. More studies are warranted with increased group sizes in order to further understand the involvement of systemic mediators in DME.

Conclusion

The results of our study suggest that inflammatory and metabolic serum mediators are not differentially associated to DME when compared to non-DME patients. However, we do report several OCT and UWFA features of DME such as DRT, CME and enlarged FAZ to be associated to certain systemic inflammatory mediators. Given that DME is a multifactorial condition resulting from complex interactions of both systemic and local inflammatory events, such findings could be of major importance as a starting point to further investigate the contribution of systemic inflammation in DME.

Supporting information

S1 Table. Inflammatory mediators associated to OCT findings of DME.
(DOC)

S2 Table. Inflammatory mediators associated to UWFA findings of DME.
(DOC)

Author Contributions

Conceptualization: MF BM IV AA.

Data curation: MF AS JM.

Formal analysis: BM JR.

Funding acquisition: JM AA.

Investigation: MF JM IV.

Methodology: MF BM.

Project administration: MF.

Resources: BM.

Supervision: MF.

Validation: BM.

Visualization: BM.

Writing – original draft: MF BM.

Writing – review & editing: MF BM.

References

1. Wu L, Fernandez-Loaiza P, Sauma J, Hernandez-Bogantes E, Masis M. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World J Diabetes*. 2013; 4(6):290–4. <https://doi.org/10.4239/wjcd.v4.i6.290> PMID: 24379919
2. Klein R, Klein BE, Moss SE. Visual impairment in diabetes. *Ophthalmology*. 1984; 91(1):1–9. PMID: 6709312
3. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XV: The Long-term Incidence of Macular Edema. *Ophthalmology*. 1995; 102(1):7–16. PMID: 7831044
4. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012; 35(3):556–64. <https://doi.org/10.2337/dc11-1909> PMID: 22301125
5. Chen E, Looman M, Laouri M, Gallagher M, Van Nuys K, Lakdawalla D, et al. Burden of illness of diabetic macular edema: literature review. *Curr Med Res Opin*. 2010; 26(7):1587–97. <https://doi.org/10.1185/03007995.2010.482503> PMID: 20429823
6. Romero-Aroca P. Managing diabetic macular edema: The leading cause of diabetes blindness. *World J Diabetes*. 2011; 2(6):98–104. <https://doi.org/10.4239/wjcd.v2.i6.98> PMID: 21860693
7. Stitt AW. AGEs and Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010; 51:4867–74. <https://doi.org/10.1167/iov.10-5881> PMID: 20876889
8. Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res*. 2011; 30(5):343–58. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2011.05.002> PMID: 21635964
9. Greenfield JR, Campbell LV. Relationship Between Inflammation, Insulin Resistance and Type 2 Diabetes: "Cause or Effect"? *Current Diabetes Reviews*. 2006; 2:195–211. PMID: 18220627
10. Vinagre I, Sánchez-Quesada JL, Sánchez-Hernández J, Santos D, Ordoñez-Llanos J, De Leiva A, et al. Inflammatory biomarkers in type 2 diabetic patients: effect of glycemic control and impact of Ild subfraction phenotype. *Cardiovascular Diabetology*. 2014; 13(34).
11. Frank RN. Diabetic Retinopathy and Systemic Factors. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2015; 22(2):151–6. <https://doi.org/10.4103/0974-9233.154388> PMID: 25949071
12. Semeraro F, Cancarini A, dell'Omo R, Rezzola S, Romano MR, Costagliola C. Diabetic Retinopathy: Vascular and Inflammatory Disease. *Journal of Diabetes Research*. 2015. Epub 2015 Jun 7.
13. Rangasamy S, McGuire PG, Das A. Diabetic retinopathy and inflammation: novel therapeutic targets. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2012; 19(1):52–9. <https://doi.org/10.4103/0974-9233.92116> PMID: 22346115

14. Doganay S, Evreklioglu C, Er H, Türköz Y, Sevinç A, Mehmet N, et al. Comparison of serum NO, TNF-IL-1 sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye*. 2002; 16:163–70. <https://doi.org/10.1038/sj/EYE/6700095> PMID: 11988817
15. Gustavsson C, Agardh E, Bengtsson B, Agardh CD. TNF- α is an independent serum marker for proliferative retinopathy in type 1 diabetic patients. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2008; 22:309–16. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2007.03.001> PMID: 18413212
16. Matsuda S, Tam T, Singh RP, Kaiser PK, Petkovsek D, Carneiro G, et al. The impact of metabolic parameters on clinical response to VEGF inhibitors for diabetic macular edema. *J Diabetes Complications*. 2014; 28(2):166–70. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2013.11.009> PMID: 24374138
17. Macky TA, Mahgoub MM. The effect of glycemic control on visual and anatomic outcomes in response to therapy for diabetic macular edema. *Eur J Ophthalmol*. 2012; 30.
18. Singh RP, Habbu K, Ehlers JP, Lansang MC, Hill L, Stoilov I. The impact of systemic factors on clinical response to ranibizumab for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2016; 123(7):1581–7. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2016.03.038> PMID: 27234930
19. Das R, Kerr R, Chakravarthy U, Hogg RE. Dyslipidemia and Diabetic Macular Edema: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ophthalmology*. 2015; 122(9):1820–7. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2015.05.011> PMID: 26150053
20. Dong N, Xu B, Chu L, Tang X. Study of 27 Aqueous Humor Cytokines in Type 2 Diabetic Patients with or without Macular Edema. *PLoS ONE*. 2015; 10(4):e0125329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125329> PMID: 25923230
21. Lee JH, Lee W, Kwon OH, Kim JH, Kwon OH, Kim KH, et al. Cytokine Profile of Peripheral Blood in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Diabetic Retinopathy. *Annals of Clinical and Laboratory Science*. 2008; 38(4):361–7. PMID: 18988929
22. Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 2003; 110(9):1677–82. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(03\)00475-5](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(03)00475-5) PMID: 13129861
23. Mackenzie S, Schmermer C, Charney A, Sim D, Tah V, Dumskyj M, et al. SDOCT Imaging to Identify Macular Pathology in patients diagnosed with diabetic maculopathy by a digital photographic retinal screening program. *PLoS ONE*. 2011; 6(5):e14811. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014811> PMID: 21573106
24. Browning DJ, Altaweel MM, Bressler NM, Bressler SB, Scott IU. Diabetic macular edema: what is focal and what is diffuse? *Am J Ophthalmol*. 2008; 146(5):649–55. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.07.013> PMID: 18774122
25. Sim DA, Keane PA, Rajendram R, Karamelas M, Selvam S, Pownner MB, et al. Patterns of peripheral retinal and central macula ischemia in diabetic retinopathy as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography. *Am J Ophthalmol*. 2014; 158(1):144–53. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2014.03.009> PMID: 24709807
26. Kocabora MS, Telli ME, Fazil K, Erdur SK, Ozsutcu M, Cekic O, et al. Serum and Aqueous Concentrations of Inflammatory Markers in Diabetic Macular Edema. *Ocul Immunol Inflamm*. 2015; 23:1–6.
27. Kim JY, Jeong YJ, Park SP. Different Concentrations of Aqueous Cytokines According to Diabetic Macular Edema Patterns as Determined Optical Coherence Tomography. *J Clin Exp Ophthalmol*. 2014; 5(6).
28. Kim M, Kim Y, Lee SJ. Comparison of aqueous concentrations of angiogenic and inflammatory cytokines based on optical coherence tomography patterns of diabetic macular edema. *Indian J Ophthalmol*. 2015; 63(4):312–7. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.158069> PMID: 26044469
29. Roh MI, Kim HS, Song JH, Lim JB, Kwon OW. Effect of intravitreal bevacizumab injection on aqueous humor cytokine levels in clinically significant macular edema. *Ophthalmology*. 2009; 116(1):80–6. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.09.036> PMID: 19118699
30. Sohn HJ, Han DH, Kim IT, Oh IK, Kim KH, Lee DY, et al. Changes in aqueous concentrations of various cytokines after intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol*. 2011; 152(4):686–94. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.03.033> PMID: 21782151
31. Xu AJ, Zhu W, Tian F, Yan LH, Li T. Recombinant adenoviral expression of IL-10 protects beta cell from impairment induced by pro-inflammatory cytokine. *Mol Cell Biochem*. 2010; 344:163–71. <https://doi.org/10.1007/s11010-010-0539-x> PMID: 20658311
32. Dong N, Xu B, Wang B, Chu L. Study of 27 aqueous humor cytokines in patients with type 2 diabetes with or without retinopathy. *Mol Vis*. 2013; 19:1734–46. PMID: 23922491
33. Wessel MM, Nair N, Aaker GD, Ehrlich JR, D'Amico DJ, Kiss S. Peripheral retinal ischaemia, as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography, is associated with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol*. 2012; 96(5):694–8. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2011-300774> PMID: 22423055

