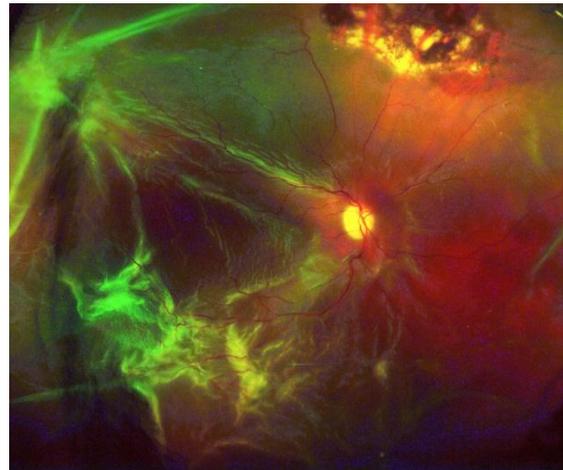
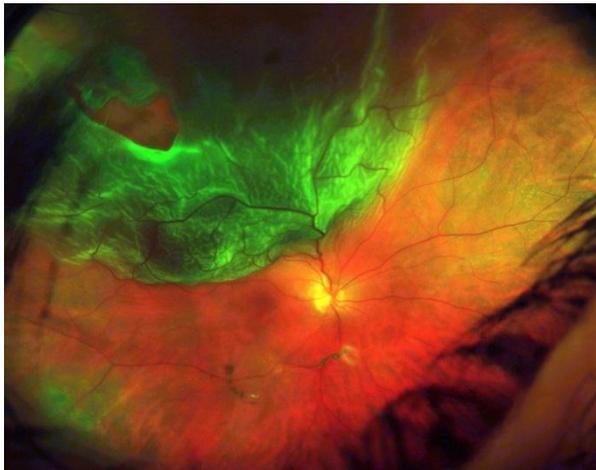




**Desprendimiento de retina y proliferación  
vitreooretiniana:**

**Balance de citocinas TH1/TH2 y marcadores  
infecciosos en líquido subretiniano y vítreo**



**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**Doctorando: D. Ángel Expósito Ordóñez**

**Directores: Dr. José María Gallardo Galera**

**Profesor Dr. José María Molleda Carbonell**

TÍTULO: Desprendimiento de retina y proliferación vitreorretiniana: Balance de citocinas TH1/TH2 y marcadores infecciosos en líquido subretiniano y vítreo

AUTOR: Ángel Expósito Ordóñez

---

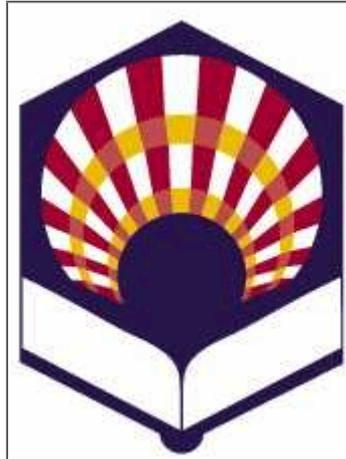
© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2012  
Campus de Rabanales Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---



**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**



**DESPRENDIMIENTO DE RETINA Y PROLIFERACIÓN  
VITREORRETINIANA: BALANCE DE CITOCINAS TH1/TH2 Y  
MARCADORES INFECCIOSOS EN LÍQUIDO SUBRETINIANO Y VÍTREO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR**

**Ángel Expósito Ordóñez**

**BAJO LA DIRECCIÓN DE LOS DOCTORES:**

**José María Gallardo Galera**

**José María Molleda Carbonell**

**Córdoba 2011**



**Certificados de los directores:**

**JOSE MARIA MOLLEDA CARBONELL**, Doctor en Veterinaria y Profesor Titular de la Universidad de Córdoba,

**Certifica:**

Que ANGEL EXPOSITO ORDOÑEZ, licenciado en Medicina y Cirugía, especialista en Oftalmología, ha trabajado bajo mi dirección en el transcurso del proyecto de Tesis Doctoral titulado:

“DESPRENDIMIENTO DE RETINA Y PROLIFERACIÓN VITREORRETINIANA: BALANCE DE CITOCINAS TH1/TH2 Y MARCADORES INFECCIOSOS EN LÍQUIDO SUBRETINIANO Y VÍTREO”.

Habiendo supervisado personalmente el trabajo efectuado, así como la redacción y presentación del mismo.

Considero que el trabajo reúne las condiciones necesarias para ser defendido ante el tribunal estipulado, optando al grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Córdoba,

Y para que conste firmo la presente en:

Córdoba a 28 de Noviembre de 2011



**JOSE MARIA GALLARDO GALERA**, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe de Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba,

**Certifica:**

Que ANGEL EXPOSITO ORDOÑEZ, licenciado en Medicina y Cirugía, especialista en Oftalmología, ha trabajado bajo mi dirección en el transcurso del proyecto de Tesis Doctoral titulado:

“DESPRENDIMIENTO DE RETINA Y PROLIFERACIÓN VITREORRETINIANA: BALANCE DE CITOCINAS TH1/TH2 Y MARCADORES INFECCIOSOS EN LÍQUIDO SUBRETINIANO Y VÍTREO”.

Habiendo supervisado personalmente el trabajo efectuado, así como la redacción y presentación del mismo.

Considero que el trabajo reúne las condiciones necesarias para ser defendido ante el tribunal estipulado, optando al grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Córdoba,

Y para que conste firmo la presente en:

Córdoba a 28 de Noviembre de 2011



*A mi compañera de viaje M<sup>a</sup> Victoria  
y a mis hijos Teresa y Carlos*



**Desprendimiento de retina y proliferación vitreorretiniana:  
Balance de citocinas TH1/TH2 y marcadores infecciosos en  
líquido subretiniano y vítreo**

Realizada por:

**Don Ángel Expósito Ordóñez**

Dirigida por:

**Dr. José María Gallardo Galera**

**Profesor Dr. José María Molleda Carbonell**

Tesis propuesta para el doctorado en Medicina, especialidad de Oftalmología

Adaptada al programa doctorado:

Biociencias y Ciencias Agroalimentarias

Línea de investigación:

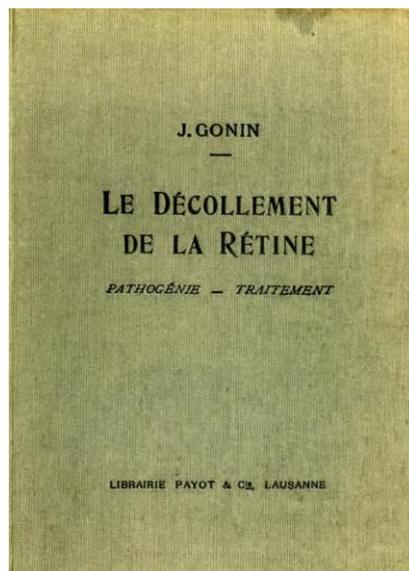
Oftalmología comparada: Estudio de las enfermedades del fondo de ojo

**Universidad de Córdoba**



*Le terme de « décollement » est lui-même impropre en ce sens que la rétine n'est, à l'état normal, pas « collée » au plan profond; ses seules attaches fixes se voient au niveau de la papille optique, dont ses fibres sont l'expansion, et sur le pourtour du cercle ciliaire, à l'ora serrata, où elle cesse d'exister comme membrane nerveuse; dans toute l'étendue de la zone intermédiaire, elle se trouve simplement appliquée à la surface de la choroïde par la pression du corps vitré.*

Jules Gonin  
"Le décollement de la rétine.  
Pathogénie. Traitement"  
Lausanne. Librairie Payot et Cia. 1934



Córdoba 2011



## **AGRADECIMIENTOS:**

Antes de empezar quisiera manifestar mi más sincero agradecimiento a todas las personas y entidades que de forma voluntaria y desinteresada han ayudado a la realización de este estudio.

En primer lugar debo mencionar a mis directores de tesis: el Doctor **José María Molleda Carbonell** (Profesor titular de la Universidad de Córdoba) y el Doctor **José María Gallardo Galera** (Jefe del Servicio de Oftalmología del Hospital Reina Sofía de Córdoba). Su labor para animarme a empezar esta tarea ya con diez lustros de vida a mis espaldas, estimularme en los momentos de desánimo y sobre todo, su permanente enseñanza y supervisión, han sido fundamentales en el desarrollo y la conclusión del presente trabajo.

En segundo lugar quisiera hacer una mención especial como *“colaboradores necesarios”* a los doctores: **Ana Merino Rodríguez** (IMIBIC/H.U. Reina Sofía de Córdoba), **Julia Carracedo Añón** (IMIBIC/H.U. Reina Sofía de Córdoba), **Manuel Rafael Ramírez Chamond** (IMIBIC/H.U. Reina Sofía de Córdoba) y **Juan Antonio Madueño Domenech** (Unidad de Genómica UCAIB. IMIBIC/H.U. Reina Sofía de Córdoba.), así como a la doctora **Elisa Muñoz Gomáriz** (Unidad de Apoyo Metodológico. IMIBIC/H.U. Reina Sofía de Córdoba). Su valiosa e inestimable cooperación en el procesamiento de las muestras, así como en el análisis estadístico e interpretación de los resultados, ha sido fundamental para la culminación de este estudio.

A mis compañeros del **Servicio de Oftalmología de Córdoba** y muy especialmente a los miembros de la **Unidad de Retina** por su impagable colaboración, asesoramiento y apoyo en la realización de este trabajo.

A todo el personal de **Enfermería del Área de Quirófanos de Oftalmología** por su ayuda desinteresada para la extracción y primera manipulación de las muestras biológicas.

A los/as técnicos de laboratorio por su paciencia y comprensión en las “trincheras de la investigación”. Gracias a ellos he podido realizar las siempre delicadas tareas de manipulación y procesamiento de las muestras en el **laboratorio del IMIBIC/H.U. Reina Sofía**. Quisiera hacer una mención especial a **M<sup>a</sup> José Jiménez Moral** por su especial dedicación e interés.

A **Juan Manuel Laborda Oñate** (compañero oftalmólogo y amigo) por su ayuda y colaboración (permitiéndome el uso de su retinógrafo de campo amplio: Optomap Optos®) en la realización de la iconografía de este estudio.

A nuestro residente “políglota” **Fabio Contieri** por su magnífico asesoramiento en la traducción al inglés del resumen de esta tesis.

No quisiera omitir al Doctor **José Luis Lancho Alonso** (Catedrático de la Universidad de Córdoba) por permitirme iniciar, bajo su tutela, los estudios de tercer ciclo y dirigirme en el trabajo de investigación para la obtención de la suficiencia investigadora. Sin su ayuda inicial no hubiera sido posible completar mis estudios de doctorado.

A mi familia por su comprensión y ayuda; por permitirme robarles su tiempo siempre con una sonrisa en la boca.

## **ÍNDICE Y ABREVIATURAS**



<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>SUMMARY</b> .....	9
<b>1.- INTRODUCCIÓN</b> .....	17
<b>2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	25
2.1 EPIDEMIOLOGÍA.....	27
2.2 ETIOPATOGENIA.....	28
2.2.1 PATOGENIA DEL DRR.....	28
2.2.2 FACTORES PREDISPOONENTES DEL DRR.....	30
2.2.3 PATOGENIA DE LA PVR.....	34
2.2.4 FACTORES PREDISPOONENTES DE LA PVR.....	36
2.3 EL VÍTREO.....	39
2.3.1 COMPOSICIÓN.....	39
2.3.2 FISIOLOGÍA.....	40
2.3.3 ALTERACIONES VÍTREAS SENILES.....	40
2.3.4 DESPRENDIMIENTO POSTERIOR DEL VITREO (DPV).....	41
2.4 CITOCINAS.....	43
2.4.1 TIPOS DE CITOCINAS.....	46
2.4.2 INTERLEUCINA-2 (IL-2).....	48
2.4.3 INTERFERÓN GAMMA (IFN- $\gamma$ ).....	49
2.4.4 FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF).....	50
2.4.5 INTERLEUCINA-17 (IL-17).....	51
2.4.6 INTERLEUCINA-4 (IL-4).....	52
2.4.7 INTERLEUCINA-6 (IL-6).....	53
2.4.8 INTERLEUCINA-10 (IL-10).....	54

2.5 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	55
2.6 ESTADO ACTUAL.....	58
2.6.1 CITOCINAS EN FLUIDOS OCULARES Y PLASMA.....	59
2.6.2 MARCADORES INFECCIOSOS EN FLUIDOS OCULARES....	62
2.6.3 IMPLICACIONES FUTURAS.....	63
<b>3.- PROYECTO DEL ESTUDIO.....</b>	<b>67</b>
3.1 JUSTIFICACIÓN.....	69
3.2 HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	72
3.3 OBJETIVOS.....	73
<b>4.- MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>75</b>
4.1 PACIENTES Y CONTROLES.....	77
4.1.1 PACIENTES.....	77
4.1.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	77
4.1.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	77
4.1.4 GRUPO CONTROL.....	78
4.1.5 DEONTOLOGÍA.....	78
4.2 TOMA DE MUESTRAS.....	79
4.3 METODOLOGÍA.....	80
4.3.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	80
4.3.2 MEDICIÓN DE CITOCINAS SOLUBLES.....	80
4.3.3 DETERMINACIÓN DE MARCADORES INFECCIOSOS.....	87
4.4 MÉTODO ESTADÍSTICO.....	93
4.5 OBTENCIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	95

<b>5.- RESULTADOS</b> .....	97
5.1 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN.....	99
5.2 ESTUDIO DE CITOCINAS SOLUBLES INTRAOCULARES.....	101
5.3 ESTUDIO DE MARCADORES INFECCIOSOS.....	113
<b>6.- DISCUSIÓN</b> .....	117
6.1 CITOCINAS.....	119
6.2 MARCADORES INFECCIOSOS.....	124
<b>7.- CONCLUSIONES</b> .....	125
<b>8.- BIBLIOGRAFÍA</b> .....	129
8.1 BIBLIOGRAFÍA POR ORDEN DE CITACIÓN.....	131
8.2 BIBLIOGRAFÍA POR AUTORES.....	147
<b>9.- APÉNDICES</b> .....	163
1. DECLARACIÓN DE HELSINKI DE LA A. MÉDICA MUNDIAL.....	165
2. MODELO OFICIAL DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	171
3. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE MUESTRAS.....	175
4. TABLA DE RECOGIDA DE DATOS.....	177
5. TABLAS DE RESULTADOS GLOBALES.....	179



**ABREVIATURAS:**

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico

**ARN:** Ácido Ribonucleico

**ARNm:** ácido ribonucleico mensajero

**ARNr 16S:** gen 16S del ARN ribosomal (ancestro bacteriano)

**AMI:** Agujero macular idiopático

**AV:** Agudeza visual

**CD:** Grupos de diferenciación leucocitaria según moléculas de superficie

**CD4<sup>+</sup>:** Subpoblación linfocitaria colaboradora

**CD8<sup>+</sup>:** Subpoblación linfocitaria citotóxica

**CSF:** Factor estimulante de colonias

**G-CSF:** Factor estimulante de colonias de granulocitos

**GM-CSF:** Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos

**M-CSF:** Factor estimulante de colonias de macrófagos

**CSFI:** Factor inhibidor de la síntesis de citocinas

**CMH:** Complejo mayor de histocompatibilidad

**CMV:** Citomegalovirus

**dNTPs:** Desoxirribonucleótidos

**dATP:** DesoxiAdenina-trifosfato

**dGTP:** DesoxiGuanina-trifosfato

**dCTP:** DesoxiTimina-trifosfato

**dTTP:** DesoxiCitosina-trifosfato

**DPV:** Desprendimiento posterior del vítreo

**DR:** Desprendimiento de retina

**DRR:** Desprendimiento de retina regmatógeno

**ELISA:** Técnica de inmunoensayo ligada a enzimas

**EPR:** Epitelio pigmentario de la retina

**FG:** Factor de crecimiento

**bFGF:** Factor de crecimiento básico de fibroblastos

**EGF:** Factor de crecimiento epidérmico

**VEGF:** Factor de crecimiento del endotelio vascular

**PDGF:** Factor de crecimiento derivado de plaquetas

**TGF- $\beta_2$ :** Factor de crecimiento transformante  $\beta_2$

**FITC:** Fluoresceína isothiocianato

**FTR:** Fotorreceptores

**GTC:** Guanidina Tiocianato

**HIV:** Virus de inmunodeficiencia humana

**HSV:** Virus Herpes simple

**HVS:** Herpes virus Saimiri

**IC:** Intervalo de confianza

**IL:** Interleucina

**IL-2:** Interleucina-2

**IL-4:** Interleucina-4

**IL-6:** Interleucina-6

**IL-10:** Interleucina-10

**IL-17:** Interleucina-17

**IFN:** Inmunofeón

**IFN- $\alpha$ :** Inmunofeón alfa

**IFN- $\beta$ :** Inmunofeón beta

**IFN- $\gamma$ :** Inmunofeón gamma

**IP-10:** Proteína inducible por interferón gamma con 10 kDa (quimiocina CXCL10)

**KDa:** Kilo Dalton (unidad de peso molecular)

**LAK:** Células asesinas activadas por linfocinas

**LSR:** Líquido subretiniano

**MCP-1:** Proteína quimioatrayente de monocitos (quimiocina CCL2)

**MEM:** Membrana epimacular

**Nd: YAG:** Laser Neodimio YAG (Ytrio, Aluminio, Granate)

**NK:** Células asesinas (natural killer)

**NVC:** Neovascularización coroidea

**PCR:** Reacción en cadena de la Polimerasa

**PE:** Ficoeritrina (Phicoeritrina)

**PEDF:** Factor derivado del epitelio pigmentario

**PVR:** Proliferación vítreorretiniana

**RANTES:** Citocina expresada y secretada por el linfocito T normal en función de su grado de activación (Regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted cytokine)

**RDP:** Retinopatía diabética proliferante

**SDF-1:** Factor derivado del estroma (quimiocina CXCL12)

**sIL-6r:** Receptor soluble de la interleucina-6

**Th:** Linfocitos T colaboradores

**Th1:** Perfil específico de citocinas: Inmunidad celular

**Th2:** Perfil específico de citocinas: Inmunidad humoral

**Th3 (Th17):** Perfil específico de citocinas: Cronificación

**TNF:** Factor de necrosis tumoral

**VPP:** Vitrectomía por pars plana

**VZV:** Virus Varicela-Zoster



## **RESUMEN**



## **RESUMEN:**

Se denomina “desprendimiento de retina” a la separación de la retina neurosensorial del epitelio pigmentario. Su incidencia se estima entre 1/10.000 y 1/15.000 por año. Para que se produzca un desprendimiento de retina regmatógeno (DRR) es necesario la existencia de un gel vítreo licuado, fuerzas centrípetas de tracción, una rotura retiniana o “regma” y el paso de fluido vítreo al espacio subretiniano. La gran mayoría de los DRR (80-90 %) están asociados con roturas retinianas originadas al producirse un desprendimiento posterior del vítreo (DPV).

La proliferación vítreoretiniana (PVR) se origina a partir del proceso de reparación tras un DRR, produciéndose proliferación celular, génesis y contracción de membranas epi y subretinianas. La PVR es la principal causa de fracaso de la cirugía reparadora del DRR.

Las citocinas son sustancias secretadas por células para modular las funciones celulares. Ejercen su función fundamentalmente a nivel local. Sus efectos se relacionan con el sistema inmune y la modulación de la respuesta inflamatoria.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de biología molecular que nos permite identificar, a partir de muy pequeñas cantidades de una muestra, fragmentos específicos de ácido desoxirribonucleico (ADN), utilizando para ello técnicas de amplificación del ADN. Desde su descubrimiento se ha convertido en una técnica fundamental en la moderna biología molecular.

Actualmente todo el esfuerzo terapéutico en los casos de DRR con o sin PVR está dirigido a eliminar las tracciones vitreoretinianas, drenar el líquido subretiniano y sellar las roturas retinianas. El porcentaje de PVR en cirugía del DRR sigue manteniéndose en cifras similares a las reflejadas hace dos décadas, a pesar de las evidentes mejoras tecnológicas en la reparación quirúrgica del DRR. Los trabajos más recientes en la literatura científica hablan de factores de índole inmunológica e incluso genética, involucrados en la evolución de los DRR y PVR.

El presente estudio observacional, transversal y comparativo parte de la siguiente premisa: el DRR y la PVR siguen siendo una de las causas más frecuentes de disminución de agudeza visual (AV) a veces irreversible; aunque se sabe bastante de su etiopatogenia, las causas y mecanismos patogénicos finales no están del todo aclaradas.

Planteamos la siguiente **Hipótesis:**

- 1.- Los factores mecánicos no son suficientes para explicar por sí solos la evolución y virulencia del DRR y la PVR.
- 2.- Factores de índole inmunológica y/o infecciosa podrían estar relacionados con el DRR, la PVR y su posterior evolución.

Al iniciarlo nos planteamos los siguientes **Objetivos:**

- 1.- Buscar la posible implicación de factores inflamatorios, inmuno-reguladores y/o infecciosos en la patogenia del DRR.
- 2.- Determinar cuantitativamente la existencia de citocinas proinflamatorias (TH1, Th2 y Th17) en el vítreo y líquido subretiniano (LSR) del DRR sin PVR, del DRR con PVR severa y su relación con la extensión y el tiempo de evolución del desprendimiento.
- 3.- Determinar la producción local de citocinas proinflamatorias intraoculares en los cuadros de DRR y PVR.
- 4.- Buscar la existencia de marcadores infecciosos (familia herpes-virus y bacterias) en el vítreo y LSR de DRR y PVR.

Se han estudiado un grupo de pacientes, incluidos de forma consecutiva, para ser intervenidos en nuestro servicio por presentar DRR con y sin PVR. La técnica quirúrgica usada [cirugía extra-escleral simple y/o vitrectomía por pars plana (VPP) asociada] ha sido la preferida en cada momento según las características clínicas del desprendimiento de retina (DR).

**Criterios de inclusión:**

- Pacientes con DRR primario que no hubieran sido vitrectomizados previamente por otra patología.

**Criterios de exclusión:**

- Pacientes con DRR recidivado
- DR traumático
- DR traccional
- DR con agujero macular miópico
- DR con hemovítreo
- DR de causas infecciosas

Los pacientes fueron divididos en dos grupos:

- Grupo I DRR (25 pacientes) con grado mínimo de PVR
- Grupo II DRR (18 pacientes) con PVR grado severo (grado C).

Como **grupo control** hemos usado pacientes que tuvieron que ser intervenidos mediante VPP por presentar agujero macular idiopático (AMI) o membrana epimacular (MEM) sin otra patología ocular preexistente (14 pacientes).

Se obtuvieron muestras de líquido subretiniano durante la cirugía extraescleral tras la realización del drenaje transescleral del LSR. Las muestras que presentaban sangre macroscópica fueron desechadas.

Las muestras de vítreo y LSR de los pacientes y controles intervenidos mediante VPP, fueron obtenidas a través del vitrectomo, antes de la apertura de la infusión para evitar su dilución.

De todos los pacientes y controles se recogieron muestras de sangre venosa, aprovechando la venoclisis de mantenimiento necesaria para ser intervenidos quirúrgicamente.

Para el análisis de las citocinas solubles de las muestras de LSR/vítreo y plasma, se seleccionó el kit de citometría BD<sup>TM</sup> CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit de Becton Dickinson and Company BD Biosciences<sup>®</sup>.

Para el estudio de marcadores infecciosos hemos utilizado la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. Se han elegido cebadores para la detección de ADN vírico de la ubicua familia *alfaherpesviridae*: virus herpes simple (HSV) cuyos genes diana son la glicoproteína D del HSV-1 y la glicoproteína G del HSV-2 y para el virus varicela

zoster (VZV) cuyo gen diana es la polimerasa del VZV. Los cebadores elegidos para la detección de bacterias han sido cebadores bacterianos universales (basados en el gen ARNr 16S). Hemos utilizado la polimerasa termoestable AmpliTaq Gold que nos permite la automatización, con un incremento en la especificidad y rendimiento de la reacción.

El análisis estadístico de los datos ha consistido en un análisis descriptivo, un análisis comparativo, análisis de covarianza y correlaciones bivariadas.

El análisis de las diferentes citocinas solubles en los fluidos oculares solo presenta variaciones significativas para la IL-6. Los datos encontrados en nuestro estudio muestran cifras de **5.4 ± 4,3 pg/ml** para el grupo control, **49,0 ± 25,6 pg/ml** para el grupo de pacientes con DR sin PVR y de **396,1 ± 228,1 pg/ml** para el grupo de pacientes con DR y PVR.

El mismo análisis realizado en las muestras de plasma no presenta diferencias significativas.

El análisis de covarianza, en los subgrupos de pacientes DR con y sin PVR muestra claras diferencias significativas entre las medias y desviaciones típicas ajustadas según extensión (nº de cuadrantes) y antigüedad (días de evolución) del DRR.

El análisis estadístico de correlación no nos permite afirmar que exista correlación entre los niveles plasmáticos y los hallados en fluidos oculares en el grupo de paciente de DR con PVR.

Los resultados de la PCR, no muestran positividad en ninguna de las muestras para los cebadores HSV.

Los resultados para los cebadores VZV han dado positividad en dos de las muestras: una corresponde a un paciente con DRR y otra a un paciente con PVR.

Los resultados de la PCR para los cebadores pan-bacterianos universales fueron positivos en bastantes muestras: en 11 de los catorce controles (6 correspondientes a AMI y 5 a MEM), 8 pacientes con DRR y 7 pacientes con PVR.

La mayor parte de los estudios recientes utilizan como controles, al igual que en nuestro estudio, las muestras de vítreo obtenidas en la cirugía de pacientes con AMI y MEM. La relación entre factores de índole inmunológica y el desarrollo de DRR complicado con PVR parece ampliamente aceptada en la literatura científica.

El incremento de IL-6 en muestras de vítreo/LSR de pacientes con DRR en relación a los controles y la propia elevación de los niveles de pacientes con PVR en relación a DRR no complicado, ha sido encontrado de forma preferente en la mayor parte de los trabajos revisados. Los más actuales sugieren a la IL-6 como una posible diana terapéutica de futuro.

Los resultados obtenidos en la detección de marcadores infecciosos no nos permiten inferir relación directa etiopatogénica entre causas infecciosas y el DRR o la PVR.

En la última década son múltiples los esfuerzos por obtener dianas terapéuticas para prevenir farmacológicamente el desarrollo de la PVR, mejorando así los resultados quirúrgicos del DRR.

En nuestro estudio hemos obtenido las siguientes conclusiones:

- 1.- En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas en los niveles intraoculares de IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, IFN- $\gamma$  y TNF entre ambos grupos de pacientes y el grupo control.
- 2.- Hemos encontrado niveles elevados significativamente de IL-6 en el grupo de pacientes con DRR, en relación con el grupo control.
- 3.- Hemos encontrado niveles elevados significativamente de IL-6 en el grupo de pacientes con PVR, en relación con el grupo control y también con el grupo de pacientes con DRR.
- 4.- Los niveles de IL-6 ajustados por extensión y antigüedad del desprendimiento han resultado elevados significativamente en los grupos de pacientes con DRR y DRR con PVR.
- 5.- No se puede concluir correlación en las cifras de IL-6 en fluidos oculares y plasma en el grupo de pacientes con PVR, lo que justificaría la producción local de dicha citocina.
- 6.- No encontramos relación directa de causas infecciosas (bacterianas o víricas) en la génesis o agravamiento del DRR o la PVR.



## **SUMMARY**



## **SUMMARY:**

The separation of neurosensory retina from its underlying pigmented epithelium is called “retinal detachment”. The incidence of retinal detachment is around 1/10000 and 1/15000 persons per year. To produce a rhegmatogenous retinal detachment (RRD) is necessary the presence of a liquefied vitreous gel, centripetal forces of traction, a retinal break or “rhegma” and passage of vitreous fluid to subretinal space. Most of RRD (80-90%) are associated with retinal breaks originated by a posterior vitreous detachment (PVD).

Vitreoretinal proliferation (VRP) originates from the process of repair after a retinal detachment, producing cell proliferation, genesis, and contraction of epi and subretinal membranes. VRP is the main causes of failure of reconstructive RRD surgery.

Cytokines are small cell-signalling protein molecules that are secreted by cells to modulate cellular functions. Their effects are related to the immune system and the modulation of the inflammatory response.

The polymerase chain reaction (PCR) is a molecular biological technique that allows us to identify a particular DNA sequence amplifying a simple or a few copies of a piece of DNA. Since its discovery PCR is now a fundamental technique in modern molecular biology.

All current therapeutic strategies, in the case of RRD with or without VRP, are aimed at removing the vitreoretinal traction, subretinal fluid drainage and seal the retinal breaks. VRP incidence remains at levels similar to 80's despite the obvious technological improvements in the surgical repair of RRD. More recent work in the scientific literature speaks of immunological and even genetic factors involved in the evolution of RRD and VRP.

The following, observational, transversal and comparative study originates from the following premise: the RRD and the VRP are still one of the most common causes of decrease in visual acuity (VA) sometimes irreversible; although much is known of its pathogenesis; the cause and late pathogenic mechanism are not completely understood.

We propose the following **Hypothesis**:

1. - Mechanical factors are not sufficient alone to explain the evolution and virulence of RRD and VRP.
2. - Immunological and infectious factors could be related to the RRD, VRP and their subsequent evolution.

To start it we set the following **Objectives**:

1. - Find the possible implication of inflammatory, immuno-regulatory and infectious factors in the pathogenesis of RRD.
2. - Quantitatively determine the presence of pro-inflammatory cytokines (Th1, Th2 and Th17) in the vitreous and subretinal fluid (SRF) of RRD, RRD with severe VRP, and patients with RRD with and without VRP in relation to its extent and duration of illness.
3. - Determine the local production of intraocular pro-inflammatory cytokines in the cases of RRD and VRP.
4. - Find the presence of infectious markers (herpes virus family and bacteria) in the vitreous and SRF of RRD and VRP.

We studied a group of patients included consecutively for surgery in our department for filing RRD with or without VRP. The surgical technique used was the preferred in every moment according to clinical characteristics of the detachment (simple buckling surgery or buckling with pars plana vitrectomy).

**Inclusion criteria:**

- Patients with primary detachment who had not previously been vitrectomized for other pathology.

**Exclusion criteria:**

- RRD recurrence.
- Traumatic RD.
- Tractional RD.
- RD with myopic macular hole.
- RD with hemovitreous.
- Infectious RD.

Two groups of patients were formed:

- Group I RRD (25 patients) with minimal VRP.
- Group II RRD (18 patients) with severe VRP (grade C).

The **control group** consisted of patients undergoing vitrectomy for idiopathic macular hole (IMH) or epimacular membrane (EMM) without pathology (14 patients).

In simple buckling surgery cases, samples were obtained following the completion of trans-scleral drainage of SRF. The macroscopic blood samples were discarded.

In vitrectomy surgery cases, samples were obtained through the vitrectomo before the opening of the infusion to avoid dilution.

Venous blood samples were obtained from all patients and controls, using the required maintenance infusion for surgery.

For the analysis of soluble cytokines in the SRF/vitreous and plasma samples, BD<sup>TM</sup> CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit de Becton Dickinson and Company BD Biosciences<sup>®</sup> was selected like cytometry kit.

We used PCR reaction for the study of infectious markers. We chose primers for the detection of viral DNA of the ubiquitous herpesviridae family: herpes simplex virus

(HSV), whose target genes are the HSV-1 glycoprotein D and HSV-2 glycoprotein G; varicella zoster virus (VZV) whose target gene is VZV polymerase. Primers chosen for the detection of bacteria was universal bacterial primers (based on 16S rRNA gene). We used AmpliTaq Gold thermoestable polymerase that allows the automation, with an increase in specificity and yield of the reaction.

Statistical analysis consisted of descriptive analysis, a comparative analysis, analysis of covariance and bivariate correlations.

The analysis of the different soluble cytokines in ocular fluids only presents significant variations for IL-6. Data found in our study show **5.4 ± 4.3 pg/ml** for the control group, **49.0 ± 25.6 pg/ml** for the group of patients with RRD and **396.1 ± 228.1 pg/ml** for the group of patients with RRD and VRP.

The same analysis performed on plasma sample did not differ significantly.

The analysis of covariance, in subgroups of patients with detachment shows clear differences between the means and standard deviations adjusted according to extension (number of quadrants) and old (days of evolution) of the detachment.

The statistical analysis of correlation does not allow us to say that there is a correlation between plasma levels and those found in ocular samples in the group of patients with RRD with VRP.

PCR results were negative in all samples for HSV primers.

Two samples were positive to VZV primers: one corresponds to a patient with detachment and one to a patient with VRP.

PCR results for the universal pan-bacterial primers were positive in enough samples: in 11 of the 14 controls (6 IMH and 5 EMM), 8 patients with RRD and 7 patients with VRP.

As in our study, most recent studies used as controls vitreous samples obtained at surgery from patients with IMH and EMM. The relationship between immunological factors and the development of detachment complicated with VRP seems widely accepted in the scientific literature.

The increase of IL-6 in vitreous samples of patients with detachment in relation to the controls and the same increase in patients with VRP in relation to uncomplicated detachment have been found in most of the studies reviewed. Most current studies purpose IL-6 as a potential therapeutic target in the future.

Results obtained in the detection of infectious markers do not allow us to infer a direct pathogenic relationship between infectious causes and RRD or VRP.

In the last decade are multiple the toads to get therapeutic targets to prevent pharmacologically the development of VRP, thus improving surgical results of RRD surgery.

In our study we obtained the following conclusions:

1. - In our study we found no significant differences in intraocular figures between the two groups of patients and the control group.
2. - We found significantly high levels of IL-6 in the group of patients with RRD in relation to the control group.
3. - We found significantly high levels of IL-6 in the group of patients with VRP in relation to the control group and to the group of patients with RRD.
4. - IL-6 figures adjusted for extension and antiquity of detachment has been significantly higher in the groups of patients with RRD and RRD with VRP.
5. - We cannot confirm correlation between the levels of IL-6 in ocular fluids and plasma in the group of patients with VRP, which would justify the local production of this cytokine.
6. - Our results do not allow us to establish direct relation of infection (bacterial or viral) causes in the genesis or aggravation of RRD or VRP.



## **1.- INTRODUCCIÓN**



Se denomina “desprendimiento de retina” a la separación de la retina neurosensorial de la capa más externa de la retina, el epitelio pigmentario (Fig. 1). El espacio virtual subretiniano existente entre la capa de fotorreceptores y el epitelio pigmentario (EPR), vestigio del periodo embrionario, se convierte así en un espacio real. Esa cavidad queda ocupada por fluido (vítreo licuado, exudación e incluso sangre) que la bomba del epitelio pigmentario no es capaz de evacuar.



Fig. (1). Desprendimiento de retina regmatógeno

Podemos clasificar los desprendimientos de retina, en función de su etiología en tres tipos: regmatógeno, traccional y exudativo; como una cuarta categoría se podría incluir el desprendimiento mixto regmatógeno-traccional, en el que encontraríamos ambos componentes<sup>1</sup>. Solo nos referiremos en esta tesis al desprendimiento de retina regmatógeno (DRR), originado por la rotura de la retina y el paso, a su través, de fluido vítreo licuado que rellena el espacio subretiniano y separa las capas internas (retina neurosensorial) del epitelio pigmentario.

El término “regmatógeno” deriva del griego *regma* que significa rotura o fisura. Así, por definición, sin rotura no existirá un DRR. Las roturas se producen por tracciones centrípetas sobre la propia retina.

Para que se produzca un DRR es necesaria la concurrencia de tres circunstancias:

- Una solución de continuidad en la retina (agujero o desgarro),
- La existencia de un gel vítreo licuado
- Y el paso de dicho fluido a través de la rotura separando ambas capas de la retina (Fig. 2).

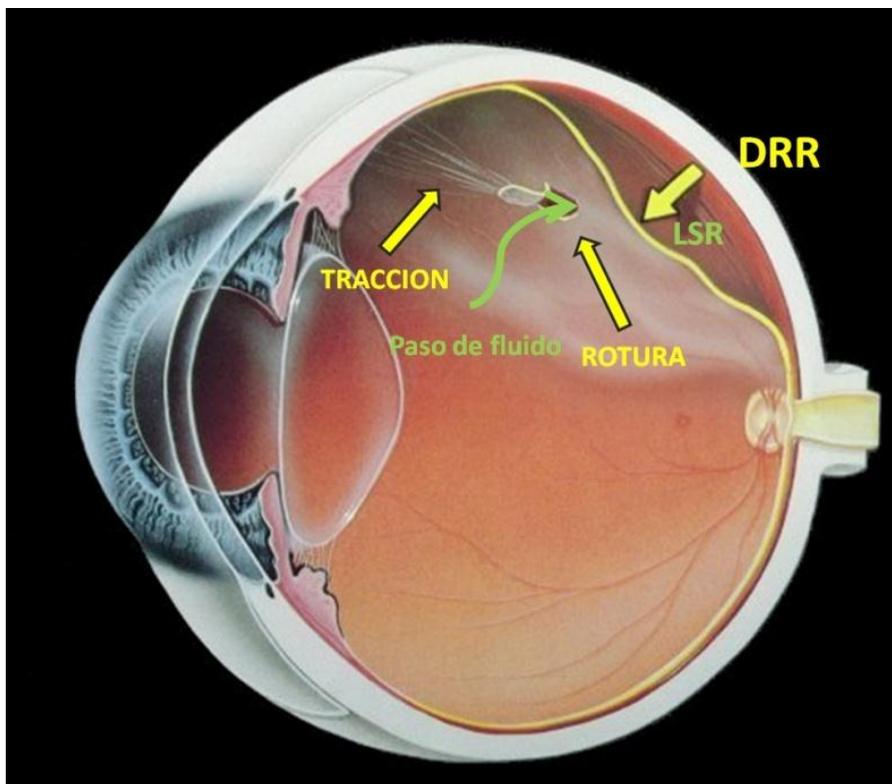


Fig. (2). Esquema de producción de un desprendimiento regmatógeno

El término proliferación vitreoretiniana o vitreoretinopatía proliferante fue acuñado en 1983 por el Comité Terminológico de la Sociedad Americana de Retina que propuso una clasificación de este cuadro clínico<sup>2</sup> (Tabla 1).

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE LA PVR (SOCIEDAD AMERICANA DE RETINA)

<b><u>CLASIFICACIÓN DE LA RETINA SOCIETY (1983)<sup>2</sup></u></b>	
<b><u>GRADO A: MINIMO</u></b>	(turbidez vítrea, dispersión pigmento en vítreo).
<b><u>GRADO B: MODERADO</u></b>	(pliegues en la superficie interna de la retina, desgarro retiniano con el borde enrollado, tortuosidad vascular, disminución de la movilidad retiniana y vítrea).
<b><u>GRADO C: MARCADO</u></b>	(pliegues retinianos fijos en menos de tres cuadrantes, afectación del grosor total con retina rígida):
C1.	En un cuadrante.
C2.	En dos cuadrantes.
C3-	En tres cuadrantes.
<b><u>GRADO D: MASIVO</u></b>	(pliegues retinianos fijos en los cuatro cuadrantes):
D1.	Infundibular ancho.
D2.	Infundibular estrecho.
D3.	Cerrado (no se ve papila).

Con posterioridad dicha clasificación fue revisada por Machemer y colaboradores en 1991<sup>3</sup>. En ella se redujo de cuatro a tres los grados (fundiendo el grado C y el D), incluyendo además en el C cinco tipos y la localización anatómica de la proliferación (Tabla 2).

A continuación mostramos un esquema representativo con los signos utilizados para mostrar la PVR severa, según la clasificación modificada por Machemer (Fig. 3).

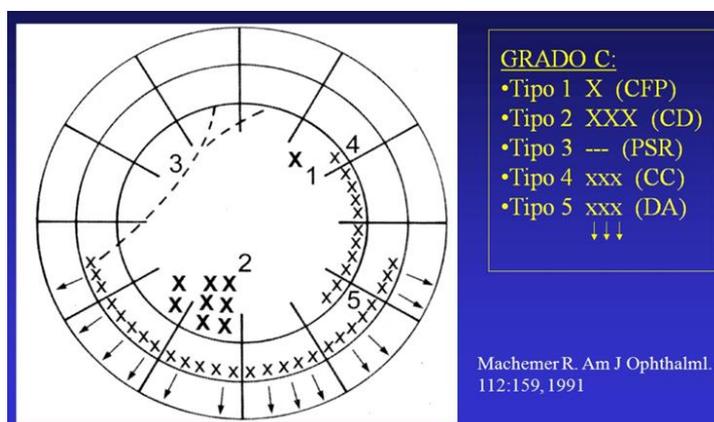


Fig. (3). Esquema representativo de la PVR severa (tomado de Machemer<sup>3</sup>)

TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE LA PVR ACTUALIZADA POR MACHEMER

**ACTUALIZACIÓN MACHEMER (1991)<sup>3</sup>**

**GRADO A.** - Turbidez vítrea, depósito de pigmento en vítreo y sobre retina.

**GRADO B.**- Plegamiento interno de la retina. Rigidez retiniana. Tortuosidad vascular. Bordes de los desgarros enrollados e irregulares. Movilidad vítrea disminuida.

**GRADO C.**- Severo o masivo:

**C1:** Contracción epirretiniana **focal (posterior)**. Pliegues en estrella. PVR posterior (considerando el ecuador como línea de separación), hay que reflejar las horas de reloj afectadas (I-XII).

**C2:** Contracción epirretiniana **difusa (posterior)**. Pliegues confluentes en estrella. La papila pudiera no verse. PVR posterior. Reflejar las horas.

**C3:** Contracción **subretiniana (anterior/posterior)**. Cordón anular cerca de papila, cordones anulares pigmentados o no pigmentados. Aspecto apolillado. PVR antero/posterior. Reflejar horas.

**C4:** Contracción **circunferencial (anterior)**. Contracción a lo largo de los márgenes posteriores de la base del vítreo, con desplazamiento centrípeto de la retina, retina periférica estirada, retina posterior en los pliegues radiales. PVR anterior. Siempre reflejar las horas.

**C5:** Contracción, desplazamiento **anterior**. Base del vítreo arrastrada anteriormente, canal retiniano periférico de anchura variable, estiramiento de los procesos ciliares de variable grado, membranas sobre procesos ciliares, retracción iridiana variable. PVR anterior. Como siempre reflejar horas.

La PVR es la principal causa de fracaso de la cirugía reparadora del desprendimiento de retina<sup>4, 5</sup>. Los procesos reparadores que se inician en el interior del ojo tras producirse un desprendimiento de retina, originan el crecimiento y proliferación de membranas en ambas superficies de la retina (interna y externa) así como en la cara posterior del vítreo (hialoides), dando lugar a la pérdida de elasticidad retiniana y a su posterior contracción perpetuando el desprendimiento (Fig. 4).

La proliferación vitreoretiniana (PVR) es un proceso cicatricial que comienza justo en el momento de producirse el desprendimiento de la retina. En algunos casos muy evolucionados puede alcanzar especial virulencia, imposibilitando la reparación quirúrgica posterior.

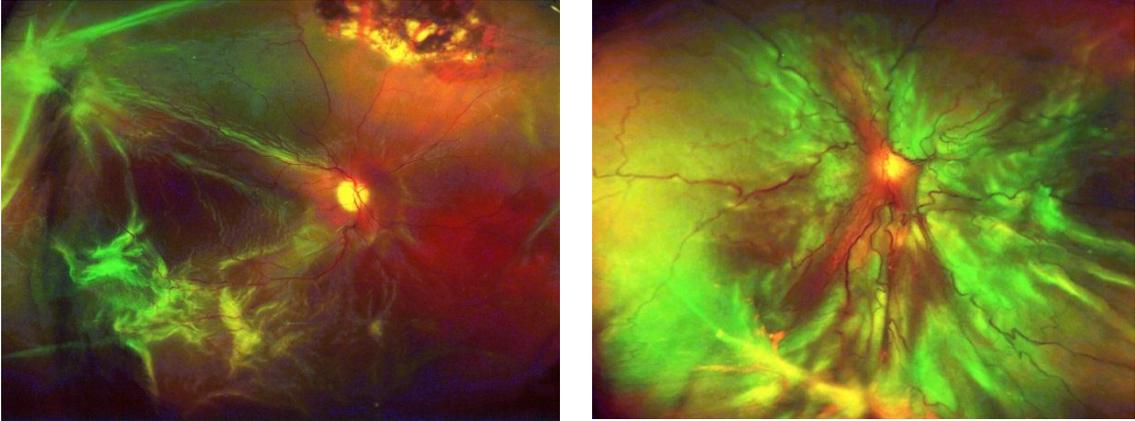


Fig. (4). Proliferación vitreoretiniana

Los mecanismos biológicos que se producen en el ojo tras el desprendimiento no están completamente aclarados. Su mejor conocimiento futuro determinará, el mayor éxito en el tratamiento del desprendimiento de retina y tal vez pueda abrir nuevas opciones terapéuticas.

De aquí deriva el interés personal en la realización de este trabajo.



## **2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**



## 2.1 EPIDEMIOLOGÍA

Se estima que el desprendimiento de retina tiene una incidencia en la población general entre 1/10.000 y 1/15.000 por año<sup>6</sup>.

Las **degeneraciones retinianas periféricas** de carácter trófico, como la degeneración en empalizada, favorecen el desprendimiento de retina<sup>7</sup>. Su incidencia se sitúa entre el 6 y el 8% de la población general<sup>8</sup>. El 1% de estos pacientes desarrolla desprendimiento de retina. La degeneración en empalizada se relaciona, aproximadamente, con el 41% de los desprendimientos<sup>9</sup>.

El riesgo también se ve incrementado en pacientes con **miopía**<sup>10</sup>; estos pacientes pueden tener de 5 a 6 veces más riesgo de padecer DRR<sup>11</sup>. Este incremento de riesgo se considera multifactorial, incluyendo una mayor incidencia de degeneraciones retinianas periféricas (ver párrafo anterior). Se considera que un 42% de los desprendimientos de retina ocurre en pacientes miopes<sup>9</sup>.

La **cirugía de catarata** aumenta el riesgo de desprendimiento de retina. Este incremento es variable en función del tipo de cirugía realizada, así como de la existencia de posibles complicaciones intraoperatorias: para la cirugía intracapsular es del 2-5%, para la cirugía extracapsular sin pérdida de vítreo del 0,3-1,4% y para la cirugía de catarata con vitreorragia del 7%<sup>12, 13, 14</sup>. Se admite que un 40% de los desprendimientos de retina se da en pacientes intervenidos de catarata<sup>15</sup>.

También se ha comprobado cierta tendencia a la **bilateralidad** en los pacientes con DRR, en torno al 10% de los casos<sup>16, 17</sup>.

La tendencia actual, con el aumento de pacientes a los que se realiza **cirugía refractiva**, nos aporta un nuevo factor de riesgo. Estas técnicas se han relacionado con el desprendimiento de retina en un 0,06%<sup>18</sup>.

Por otra parte se acepta que la **proliferación vitreorretiniana** severa representa entre el 5,1% y el 11,7% de los desprendimientos de retina regmatógenos<sup>19, 20, 21</sup>.

## 2.2 ETIOPATOGENIA

### 2.2.1 Patogenia del DRR

Las aportaciones de Jules Gonin dividen claramente la historia de esta enfermedad en una era pre-Gonin y la actual, a la que podemos denominar post-Gonin. Aunque la existencia de la enfermedad era conocida antes de la invención del oftalmoscopio, no fue hasta 1920 cuando Gonin presentó ante la Sociedad Francesa de Oftalmología su comunicación oficial: “*Pathogénie et anatomie pathologique des décollements rétiniens*”. En ella se admitía la relación entre rotura retiniana y el desprendimiento de retina<sup>22</sup>. Gonin propuso el primer tratamiento del desprendimiento de retina mediante la termopunción<sup>23</sup>.

En épocas anteriores, se hablaba de una teoría exudativa y, posteriormente de una teoría de la distensión o la elongación (dado que se observaba esta patología con mucha frecuencia en pacientes miopes)<sup>24</sup>. Leber en 1882 fue el primero que de forma tímida habló de tracción vítrea y desgarros retinianos como causantes del desprendimiento de la retina<sup>25</sup>. Con posterioridad él mismo rectificó su teoría de la tracción y abogó por una teoría basada en procesos inflamatorios prerretinianos.

El proceso tal y como lo admitimos hoy día, comienza con una solución de continuidad retiniana (regma), una licuefacción vítrea preexistente que origina vítreo fluido capaz de pasar por la rotura retiniana al espacio subretiniano y la separación subsiguiente de ambas capas retinianas.

Así los **prerrequisitos** para que se produzca un desprendimiento de retina regmatógeno serían los siguientes:

- Existencia de un gel vítreo licuado (sínquisis senil)
- Fuerzas centrípetas de tracción
- Rotura retiniana
- Paso de fluido vítreo al espacio subretiniano

El vítreo se fluidifica espontáneamente con la edad (sínquisis senil). Esta fluidificación se acelera por procesos inflamatorios, miopía y determinadas alteraciones genéticas. El proceso conlleva el colapso vítreo y el desprendimiento posterior del vítreo (DPV)<sup>26</sup>.

El DPV es la causa principal de que las tracciones vitreoretinianas puedan originar roturas retinianas, fundamentalmente si se asocia a una retina con degeneraciones tróficas. La gran mayoría de los DRR (80-90 %) están relacionados con roturas retinianas originadas al desprenderse el vítreo<sup>27</sup>. Las roturas se producen por degeneraciones retinianas y por las tracciones centrípetas sobre ellas (Fig. 5).

El axioma de Gonin postula que “*no hay desprendimiento de retina sin rotura*”. No obstante no todas las roturas retinianas originan desprendimiento de retina<sup>28, 29</sup>.



Fig. (5). Roturas retinianas

Como dijimos al principio, el desprendimiento de retina consiste en la separación de la retina sensorial del epitelio pigmentario, haciendo real el espacio virtual que existió en el periodo embrionario, durante la formación del cáliz óptico a partir de la vesícula óptica primitiva.

El fluido vítreo ha de pasar a través de la rotura retiniana, en cantidad suficiente para contrarrestar las fuerzas que mantienen la adhesión fisiológica de los fotorreceptores al epitelio pigmentario (mucopolisacáridos adhesivos en el espacio subretiniano, las diferencias de presión oncótica entre la coroides y el espacio subretiniano, fuerzas hidrostáticas derivadas de la presión intraocular y la bomba metabólica de iones del propio epitelio pigmentario)<sup>1</sup>.

### 2.2.2 Factores predisponentes DRR

Como ha quedado explicito previamente, se describen varios factores de riesgo involucrados en el desarrollo del desprendimiento de retina regmatógeno. Entre ellos se encuentra la cirugía previa de catarata, la degeneración periférica en empalizada, la alta miopía o los traumatismos oculares (Tabla 3).

- Los pacientes con **alta miopía** (equivalente esférico > 6 dioptrías o una longitud axial >26 mm.) tienen un riesgo 5 o 6 veces mayor que la población general de padecer desprendimiento de retina<sup>11</sup> (Fig. 6). Estos pacientes representan el 10% de la población general y suponen el 42% de los DRR<sup>9</sup>. Parece existir también relación entre el grado de miopía y el riesgo de padecer DRR: se admite que por cada milímetro de aumento en la longitud axial el riesgo se incrementa en 1,3<sup>30</sup>.

La causa de esta asociación podría ser multifactorial: una mayor incidencia de adelgazamiento retiniano, degeneración vítrea miópica, más presencia de DPV y la asociación frecuente al siguiente factor de riesgo que vamos a considerar: la degeneración en empalizada.

- Los precursores vitreoretinianos de las roturas retinianas: retinosquisis degenerativa, quistes retinianos periféricos y sobre todo la degeneración en empalizada, incrementan el riesgo de DRR. Los pacientes con **degeneración en empalizada** (Fig. 7) representan el 6-7% de la población general pero suponen el 41% de los DRR<sup>9</sup>. Además esta degeneración es mucho más frecuente entre pacientes afectos de alta miopía (el 15% de los ojos miopes)<sup>31</sup>. La degeneración en empalizada es la más importante de las degeneraciones retinianas periféricas que predisponen al DRR. Su mecanismo patogénico no es del todo conocido.

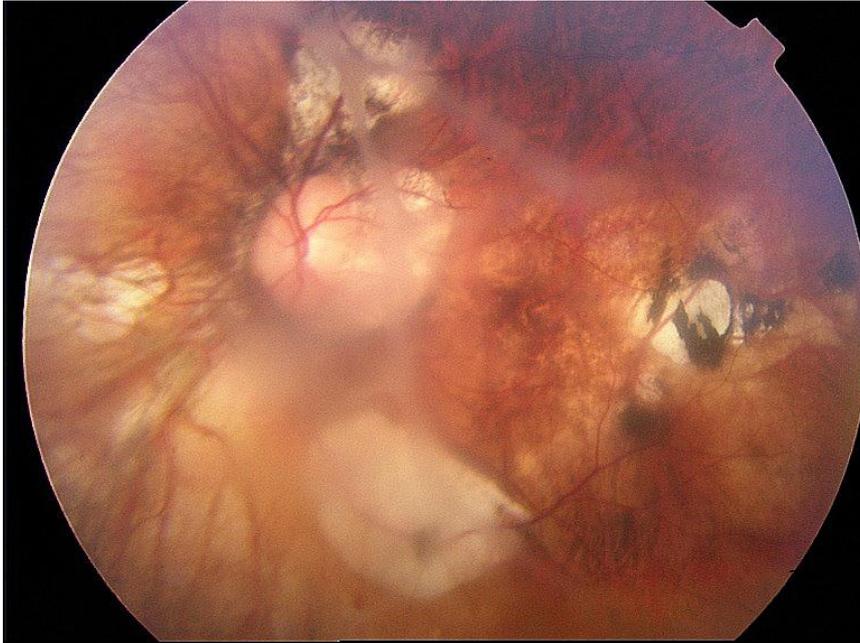


Fig. (6). Miopía magna, vítreo sinerético

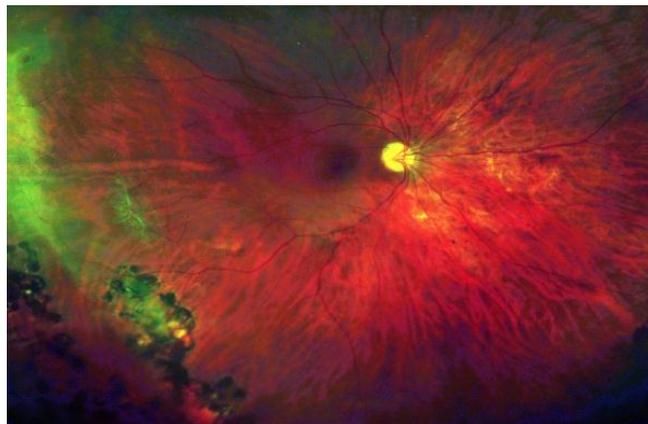


Fig. (7). Degeneración en empalizada

- Los pacientes que han sido sometidos a **cirugía de catarata** suponen en torno al 3% de la población general pero suponen hasta el 40% de los pacientes con DRR<sup>15</sup>. Esto se debe probablemente a los cambios que la propia cirugía de la catarata induce en el gel vítreo. El riesgo es mayor en pacientes sometidos a cirugía intracapsular (1,1 – 3,6%)<sup>15</sup> que en los pacientes sometidos a cirugía extracapsular (0,81%)<sup>32</sup>. Estas cifras se ven incrementadas de manera ostensible si se produce vitreorragia intraoperatoriamente u otras complicaciones intraoperatorias<sup>14</sup> (Fig. 8).

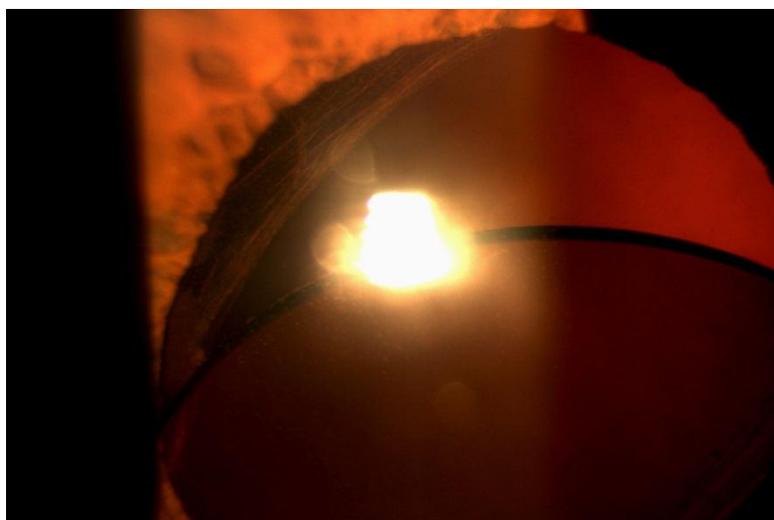
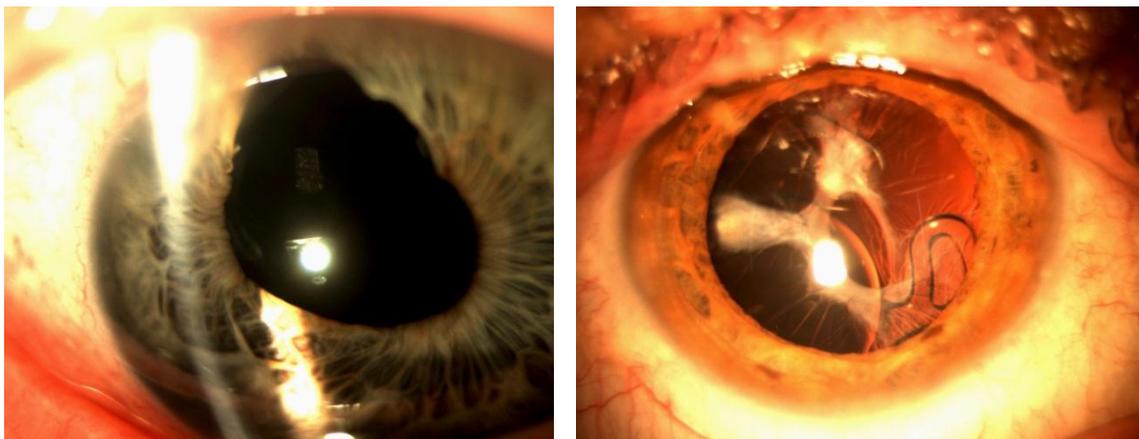


Fig. (8). Cirugía de cataratas complicadas

TABLA 3. FACTORES PREDISPONENTES DEL DRR

<b>FACTORES PREDISPONENTES DEL DESPRENDIMIENTO DE RETINA REGMATÓGENO</b>		
<b>Miopía</b>	> 6 Dioptrías	42% de los DRR <sup>9</sup>
<b>Degeneraciones periféricas</b>	D. en empalizada	41% de los DRR <sup>9</sup>
<b>Cirugía de catarata</b>	Afaquia/pseudofaquia	40% de los DRR <sup>15</sup>
<b>DRR en el ojo adelfo</b>	Sin traumatismo	Riesgo incrementado 10% <sup>16, 17</sup>
<b>Otros: Traumatismos Vitreorretinopatías Retinitis (CMV) Necrosis retiniana</b>		

- La capsulotomía posterior Nd: YAG (Fig. 9) parece ser un factor que incrementa el riesgo de padecer DRR, no obstante las series revisadas presentan datos dispares<sup>33</sup>.

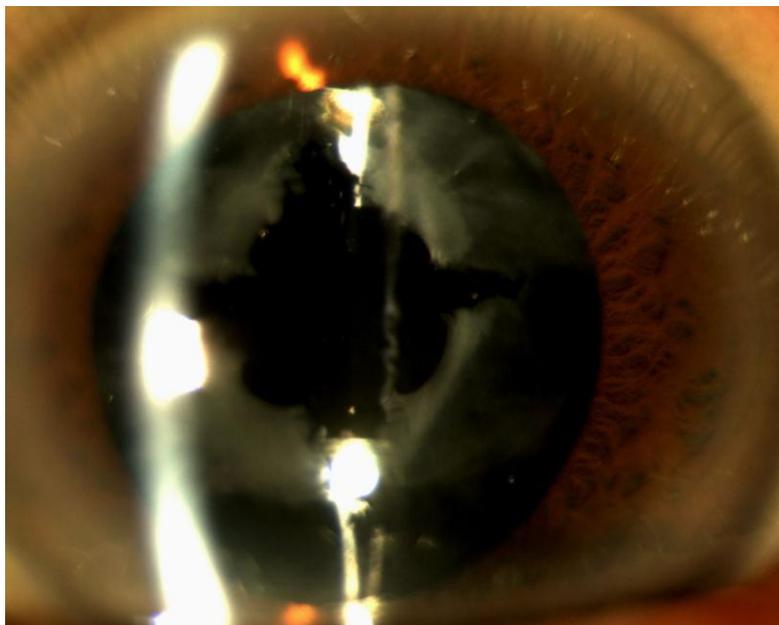


Fig. (9). Capsulotomía Nd-YAG

- También debe ser considerado un factor de riesgo la existencia de un **DRR primario en el ojo adelfo**. Los pacientes que han tenido un desprendimiento de retina no traumático en un ojo tienen un riesgo incrementado del 10% de padecer DRR en el otro<sup>16, 17</sup>. Este aumento de incidencia se relaciona con la frecuente bilateralidad de los cambios patológicos vitreoretinianos.

También se ha comprobado como el ojo adelfo fáquico de un paciente que padeció un DRR en su ojo pseudofáquico tenía un riesgo incrementado de un 7% de padecer desprendimiento de retina<sup>34</sup>, indicando que el riesgo de desprendimiento no puede atribuirse, en este caso, solo a la cirugía de catarata.

- **Otras situaciones predisponentes** al DRR serían: los traumatismos oculares<sup>35, 36</sup>, determinadas inflamaciones e infecciones oculares<sup>37</sup>, el glaucoma<sup>38</sup> así como algunas enfermedades vitreoretinianas<sup>1, 39, 40</sup>. Todas ellas incrementan el riesgo de padecer DRR.

### 2.2.3 Patogenia de la PVR

Se admite que la proliferación vitreoretiniana se origina a partir del proceso de reparación inducido por el desprendimiento de retina. Este proceso se inicia en todos los DRR, pero solamente unos pocos desarrollan PVR severa. Probablemente otros factores predisponentes deben ser implicados<sup>41</sup>, tal vez en relación con cuadros en los que se produce una excesiva inflamación intraocular. Su origen es similar al proceso general de reparación de las heridas en nuestro organismo<sup>42, 43</sup> presentando:

- Una primera fase inflamatoria-exudativa
- Una segunda fase de proliferación celular
- Y la tercera fase de modulación de la cicatriz.

La rotura retiniana es una herida especial: al no disponer de un soporte anatómico que permita el relleno de la solución de continuidad, el proceso reparador se autoestimula y se potencia, dando lugar a la PVR con formación de membranas en la superficie externa e interna de la retina, que agravarían el proceso.

Extrapolando éste proceso las fases de la PVR serían:

- Fase inflamatoria inicial
  - Fase de proliferación y diferenciación celular
  - Fase de génesis y contracción de membranas epi y subretinianas
- 
- Así, el desarrollo de la PVR comienza con una **primera fase** tras el desgarro retiniano. Se produciría la fase inflamatoria inicial, con rotura de la barrera hemato-ocular, acúmulo de citocinas y migración celular. En esta fase intervienen tanto células existentes en la cavidad vítrea como elementos añadidos del torrente sanguíneo:
    - Factores del suero, macrófagos y linfocitos.
    - Producción de citocinas proinflamatorias.
    - Creación de un microambiente humoral quimiotáctico en el vítreo.
    - Atracción de células intraoculares: células del EPR, glía endocular y fibroblastos.

- En una **segunda fase** se produce la proliferación y la diferenciación celular. La unión de las citocinas a los receptores de membrana de las diferentes congregaciones celulares, da lugar a procesos de mitosis y transformación celular. También se produce incremento en la producción de citocinas que intensifica el proceso, entrando en un círculo vicioso que se va retroalimentando.
- La **tercera fase** se inicia cuando la cavidad vítrea se ha convertido en un auténtico caldo de cultivo celular. La proliferación de células en cavidad vítrea, membrana limitante interna y espacio subretiniano, origina un aumento de matriz extracelular así como factores de adhesión celular. Se generan membranas epirretinianas y subretinianas, que van madurando en el transcurso de 6-8 semanas.

Estas membranas van aumentando y extendiéndose por toda la superficie retiniana, el espacio subretiniano y la propia cavidad vítrea (lo que define la PVR). Al final de esta fase se produciría la contracción de las membranas. Esto origina fruncimiento de la retina con formación de pliegues retinianos así como reapertura de los desgarros existentes y producción de nuevos desgarros.

En una situación terminal se produciría una contracción masiva del vítreo y de las membranas retinianas, dando lugar a engrosamiento y rigidez de la retina, con desorganización total de la estructura anatómica de la retina<sup>44</sup>.

***La PVR debe ser considerada como un proceso de cicatrización amplificado.*** La implicación de los factores de crecimiento, citocinas y procesos inmunológicos, no está del todo aclarada.

Dado que algunos pacientes con DRR presentan una incidencia mayor de PVR que otros, con características similares, es posible pensar en otros factores no conocidos, de índole genético o ambiental que estuviesen también implicados<sup>45, 46</sup>.

### 2.2.4 Factores predisponentes PVR

Los procedimientos quirúrgicos de reparación del desprendimiento de retina son en sí mismos los factores predisponentes más importantes en su desarrollo. Incluso con el avance tecnológico conseguido en las técnicas quirúrgicas actuales la incidencia de la PVR es parecida a la de hace treinta años<sup>19, 20, 21</sup>.

Si bien se considera como factor preponderante la inflamación originada por el propio trauma quirúrgico, algunos de estos ojos probablemente desarrollen una PVR independientemente de la técnica usada para ser intervenidos (Tabla 4). Como ya hemos comentado previamente se sospecha una cierta predisposición genética<sup>45, 46</sup>. La mayoría de los ojos con PVR han sido sometidos a la reparación quirúrgica reciente por un desprendimiento de retina.

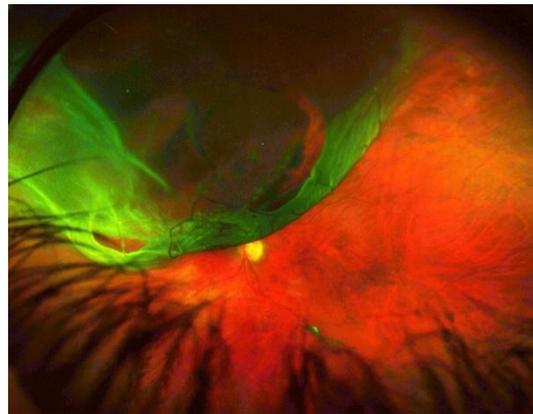
TABLA 4. FACTORES PREDISONENTES DE LA PVR

<b>FACTORES PREDISONENTES DE LA PROLIFERACIÓN VITREORRETINIANA</b>	
<b>PVR primario</b>	<b>PVR postquirúrgico</b>
DRR muy extensos	VPP
DRR de larga data	Criocoagulación extensa
Desgarros gigantes y múltiples	Hemorragia intra o postoperatoria
DRR de origen traumático	Desprendimiento coroideo
Hemovítreo y D. coroideo previo	Infección e inflamación postquirúrgica
Afaquia	
Uveítis previa	

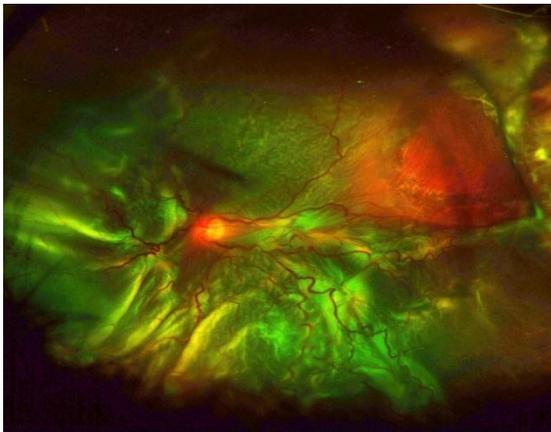
Por otra parte los ojos con desprendimientos de retina muy extensos, con grandes desgarros, los desprendimientos de larga evolución, los originados tras traumatismos oculares, inflamación previa o infecciones víricas intraoculares pueden presentar de inicio una PVR sin que hayan sido sometidos a una intervención quirúrgica previa (Fig. 10)<sup>47, 48</sup>.



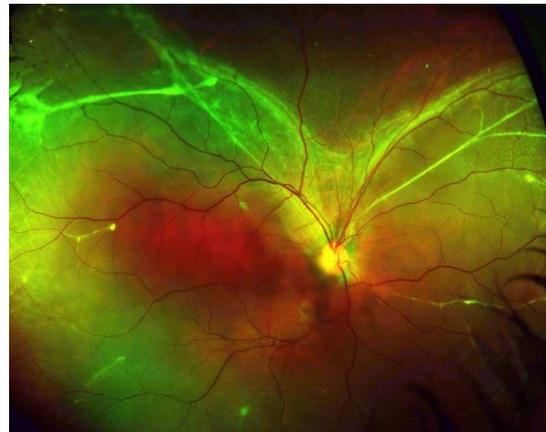
Múltiples desgarros



Grandes desgarros



Cirugía previa



Desprendimiento antiguo

Fig. (10). Situaciones con predisposición a desarrollar PVR

Como queda explicado previamente, a modo de corolario, podemos afirmar que el DRR *per se*, con sus características propias, así como el trauma quirúrgico añadido para la curación del desprendimiento son la causa principal de la PVR<sup>41, 19, 49</sup>:

- **Factores dependientes del DRR:** La existencia de desgarros gigantes, las roturas múltiples, número de cuadrantes afectados, los desprendimientos de retina de larga evolución, la uveítis asociada, la afaquia, la hemorragia vítrea y los desprendimientos coroideos previos a la cirugía, incrementan de forma importante la posibilidad de desarrollar PVR.
- **La PVR previa** es, por sí sola, un factor de riesgo para la progresión tras su reparación quirúrgica.
- **Factores dependientes de la reparación quirúrgica:** La utilización de la vitrectomía vía pars plana, áreas extensas de pexia con criocoagulación, la hemorragia intraoperatoria o postquirúrgica, el desprendimiento coroideo postquirúrgico así como la infección e inflamación postquirúrgicas favorecen la proliferación vítreo retiniana.

## 2.3 EL VÍTREO

### 2.3.1 Composición

El cuerpo vítreo constituye aproximadamente el 80% del volumen ocular. Es una estructura de aspecto gelatinoso que ocupa la denominada cavidad vítrea del ojo, su volumen es de unos 4 cc. El vítreo se comporta como un sostén semisólido para la retina.

Es en su mayor parte **agua** (99%). El resto lo componen sales inorgánicas y lípidos de bajo peso molecular, así como ácido hialurónico (responsable de la viscosidad del vítreo) y proteínas solubles e insolubles. El componente fibrilar que confiere la estructura al gel vítreo es colágeno de tipo II principalmente (sería como el esqueleto del vítreo). En su estructura se observan también algunas células.

- El **colágeno** del vítreo es en un 80% del tipo II. Estas fibras de colágeno se encuentran organizadas en forma de triple hélice de tres cadenas alfa. También se han encontrado fracciones de colágeno híbrido V/XI que formarían el núcleo central de las fibras vítreas.
- El **ácido hialurónico** es el mayor glucosaminoglucano del cuerpo vítreo. Se aprecia en el ser humano ya en el nacimiento. Se cree que es sintetizado primordialmente por los hialocitos. El volumen del vítreo se altera si se modifican las características electroquímicas de las moléculas de ácido hialurónico, que tienen un alto potencial electrostático negativo.
- Células. Los **hialocitos** predominan en la zona cortical, aunque son bastantes escasas. Se cree que su función es la producción del ácido hialurónico, así como cierta actividad de tipo histiocitaria. También se han detectado en muy poca cantidad algunos fibrocitos o macrófagos.
- **Otros componentes** encontrados en vítreo son: iones (Na, K, Cl), fosfato (en menor cantidad que en el humor acuoso, parece ser en relación al uso metabólico por parte de la retina), bicarbonato (secretado por el cuerpo ciliar), glucosa y derivados de su metabolismo, proteínas solubles y aminoácidos, urea y ácido ascórbico (en mayor proporción que en el plasma)<sup>50, 51</sup>.

### 2.3.2 Fisiología

En su organización específica, la red de colágeno-hialuronato es responsable de la estructura, volumen y distribución de las células y de la transparencia del vítreo.

El vítreo tiene dos componentes: un componente sólido (el **gel vítreo** fundamentalmente constituido por las fibrillas de colágeno) y el componente líquido (el **sol vítreo** que no contiene fibrillas). La porción más periférica es fundamentalmente fibrilar.

El vítreo rellena la denominada cavidad vítrea y mantiene uniones o adherencias más o menos intensas con las diferentes estructuras intraoculares. Las **uniones fisiológicas** más fuertes se encuentran en el borde de la papila, la mácula, en la base del vítreo y a lo largo de los vasos retinianos. Por otra parte existen **uniones patológicas** asociadas a degeneraciones retinianas (degeneración en empalizada), algunas lesiones de la base del vítreo y zonas focales postinflamatorias.

Podemos resumir las funciones del gel vítreo en<sup>50</sup>:

- Relleno de la cavidad vítrea y soporte mecánico de la retina y el cristalino.
- Barrera de difusión entre segmento anterior y posterior del ojo.
- Función de amortiguación metabólica.
- Función óptica: transparencia para permitir el paso de la luz.

### 2.3.3 Alteraciones vítreas seniles

Se ha demostrado, en estudios autopsicos del cuerpo vítreo de ojos humanos, que a partir de los 40 años va disminuyendo el volumen del gel, incrementándose el componente líquido (el sol vítreo), formándose lagunas líquidas en su interior (Fig. 11) (degeneración lacunar o **sínquisis** del vítreo). Se considera que los radicales libres generados en el metabolismo y las interacciones con la luz alterarían la estructura del ácido hialurónico y del colágeno, desencadenando la disociación de sus moléculas y produciendo la licuefacción<sup>52</sup>. Además se producen cambios estructurales, las bolsas de líquido van coalesciendo y las fibras se engruesan y se agregan dando lugar al fenómeno denominado **sinéresis** vítrea (separación de la fases sólida y líquida)<sup>53</sup>.

Adicionalmente se produce un debilitamiento en la adhesión entre el vítreo cortical posterior y la membrana limitante interna. De todo ello se deriva la posibilidad del desprendimiento posterior del vítreo (DPV)<sup>54</sup>.

Las complicaciones surgen cuando este proceso de licuefacción se inicia precozmente, antes de que ocurra un adecuado debilitamiento de la adhesión vitreoretiniana.

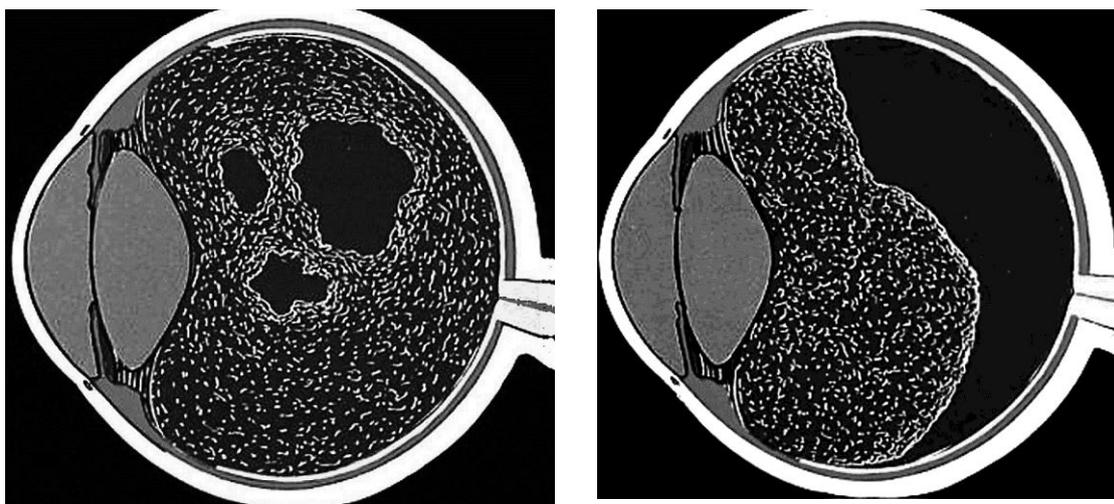


Fig. (11). Licuefacción y DPV (modificado de Kanski J.)<sup>55</sup>

#### 2.3.4 Desprendimiento posterior del vítreo (DPV)

Como queda dicho con anterioridad el DPV es la separación entre el córtex vítreo posterior y la membrana limitante interna. En condiciones, podríamos decir fisiológicas, esta separación ocurre en personas de edad avanzada. Cuando el componente gel del vítreo no es suficiente para rellenar totalmente la cavidad vítrea se produce el DPV (Fig.11). Como hemos mencionado previamente el proceso está condicionado por la licuefacción del gel vítreo senil (formación de vacuolas que van coalesciendo).

Si se produce de forma brusca pueden manifestarse síntomas como miodesopsias y fosfenos (indicativos de tracción retiniana). Si la corteza posterior del vítreo se separa limpiamente de la limitante interna de la retina, los síntomas pueden ser mínimos y no tener consecuencias patológicas para el ojo.

En otras circunstancias el DPV puede producir tracciones sobre la retina, en las zonas de fuerte adherencia vítreoretiniana<sup>56</sup>. En estos casos es posible la producción de roturas retinianas. La incidencia de desgarros retinianos en pacientes con DPV agudo sintomático se estima en torno al 15%<sup>57</sup>. Los pacientes que no desarrollan rotura retiniana en su presentación tienen 2 - 5% de posibilidades de desarrollarlo en una o dos semanas<sup>58</sup>.

Tal como hemos comentado con anterioridad, existen situaciones en las que la licuefacción es precoz y más acelerada originando el denominado DPV anómalo (más susceptible de originar complicaciones). Entre estas condiciones patológicas podemos mencionar:

- Miopía<sup>59</sup>,
- Síndromes vítreoretinianos hereditarios que afectan al metabolismo del colágeno tipo II (síndromes de Stickler y de Marfan)<sup>60</sup>,
- Enfermedades vasculares retinianas, afaquia, traumatismos, inflamación intraocular y hemorragias vítreas<sup>61</sup>,
- Reducción de la síntesis de ácido hialurónico asociado con el declive estrogénico en mujeres menopáusicas<sup>62</sup>.

## 2.4 CITOCINAS

En sentido amplio las citocinas son sustancias secretadas por células para modular las funciones celulares. Primariamente ejercen su función a nivel local.

Es muy difícil esbozar una definición precisa. Podríamos definir las como “*péptidos reguladores* que pueden ser producidos por prácticamente todas las células nucleadas de nuestro organismo (fundamentalmente por leucocitos)”<sup>63</sup>. Sus efectos se relacionan con el sistema inmune y la modulación de la respuesta inflamatoria, entre otros efectos.

Las citocinas son moléculas de bajo peso molecular (15-30 KDa) constituidas por cadenas de 120-180 aminoácidos (algunas glicosiladas), con funciones muy variadas a nivel celular, predominando las relacionadas con la respuesta inmune. Se denominan quimiocinas (citocinas quimiotácticas) a moléculas algo menores de 8-14 KDa con características comunes que tienen funciones en la migración celular.

En condiciones normales sus niveles son virtualmente ausentes, siendo necesaria la activación celular para que se produzcan citocinas en cantidades suficientes capaces de ejercer sus efectos biológicos. Poseen una vida media muy corta y actúan a muy bajas concentraciones, mediante la unión a receptores de alta afinidad<sup>64</sup>.

La **terminología** utilizada es muy variada (Tabla 5):

- Se denominan **linfocinas** los productos biológicos producidos por los linfocitos. El término interleucina (IL) se refiere a moléculas que sirven de interrelación entre los distintos tipos de leucocitos.
- Los **interferones** (IFN) fueron inicialmente descubiertos como agentes producidos por células infectadas por virus.
- Los **factores de necrosis tumoral** (TNF) son denominados así por su capacidad para causar necrosis en determinados tumores.
- Los **factores de crecimiento** (GF) y **factores transformadores del crecimiento** (TGF), se denominan así por su capacidad para promover el crecimiento y la división de varios tipos de células.

- Los **factores estimuladores de colonias celulares** (CSF) son un grupo de citocinas cuya función principal es regular la diferenciación y proliferación de células hematopoyéticas.

TABLA 5. TERMINOLOGÍA DE LAS CITOCINAS

<b>CITOCINAS Y QUIMIOCINAS</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Ejemplos</b>
<b>Interleucinas</b>	IL	IL1, IL2, IL3, IL4 ...
<b>Interferones</b>	IFN	IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\gamma$
<b>Factores de crecimiento</b>	GF	EGF, PDGF, TGF $\alpha$
<b>F. Necrosis tumoral</b>	TNF	TNF $\alpha$ , TNF $\beta$
<b>F. Estimuladores de colonias</b>	CSF	GM-CSF, G-CSF, M-CSF
<b>Quimiocinas</b>	-	IP10, SDF1, MCP1, RANTES

Podemos resumir sus **características**<sup>63, 65, 66</sup>:

- Estructuralmente son cadenas de polipéptidos, proteínas o glicoproteínas.
- Producidas por leucocitos (y por otras muchas células de tejidos y órganos).
- Su función predominante es la regulación de procesos tisulares. Suelen ser secretadas al espacio extracelular, la mayoría en su forma glicosilada que incrementa su estabilidad y solubilidad.
- La expresión de la mayoría de las citocinas está estrictamente regulada. En condiciones normales prácticamente ausentes. Es necesaria la activación celular para su producción. Se incrementan en enfermedades tisulares o en los procesos de reparación.
- Fundamentalmente actúan localmente (de manera autocrina y paracrina) y a muy bajas concentraciones (picogramos). En raras ocasiones actúan a distancia (endocrina) liberándose al torrente sanguíneo o linfático.
- Su vida media es corta.

- Presentan **pleiotropismo** por el cual una misma citocina puede ejercer efectos biológicos diferentes sobre distintos tipos celulares.
- Tienen **redundancia** por la cual diferentes citocinas pueden efectuar la misma función en un determinado tipo celular.
- Otra característica es la **interrelación** por la que la secreción de una determinada citocina puede estar inducida, potenciada o inhibida por otra citocina que, a su vez, puede incrementar o inhibir la expresión de sus receptores (sinergismo, antagonismo, cascada de citocinas, trans-modulación y trans-señalización de receptores).

Los avances en investigación molecular, han ido aumentando en cantidad y complejidad el entramado de las citocinas, alcanzando un número considerable de moléculas, que va creciendo día a día<sup>66</sup>. Como ha quedado dicho previamente, aunque desempeñan un papel fundamental en las respuestas inmunes, los efectos biológicos de las citocinas son muy amplios y variados, interviniendo en procesos relacionados con la embriogénesis, la angiogénesis o en procesos reguladores diversos (inhibición del crecimiento, apoptosis, quimiotaxis, resistencia a infecciones víricas, promoción de la adhesividad celular o regulación de la adhesión a la matriz extracelular). La diferencia entre las hormonas y las citocinas cada vez parece quedar más difuminada.

Los últimos progresos en la caracterización de los **receptores** de las citocinas y en la clonación de los genes que codifican dichos receptores, permite agruparlos según sus características estructurales en varios grupos o familias<sup>63</sup>:

- Receptores clase I de citocinas (familia de hematopoyetina).
- Receptores clase II de citocinas (familia de interferón/IL10).
- Receptores familia TNF.
- Receptores familia IL1.
- Receptores TGF- $\beta$ .
- Receptores de quimiocinas.

La actividad de las citocinas se puede medir usando técnicas de inmunoensayo en fase sólida, como el ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) o técnicas de fluorescencia, como la Citometría de Flujo, para cuantificar la concentración de citocinas en fluidos biológicos.

### 2.4.1 Tipos de citocinas

Para clasificarlas podemos recurrir a su **origen celular** (producidas por linfocitos, por fibroblastos, por monocitos y macrófagos o incluso por células estromales de la médula ósea), o a sus **funciones en el organismo** (implicadas en el crecimiento y la diferenciación hematopoyética, producidas en las respuestas inmunes innatas y adaptativas o con propiedades proinflamatorias o inmunosupresoras).

El análisis estructural de las citocinas hace posible agruparlas en grupos familiares<sup>63</sup> (Tabla 6):

TABLA 6. FAMILIAS DE CITOCINAS SEGÚN CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES

<b>FAMILIAS DE CITOCINAS</b>	<b>Miembros representativos</b>
<b>IL-2/IL-4</b>	IL-2, IL-4, IL-5, GM-CSF
<b>IL-6/IL-12</b>	IL-6, IL-12
<b>Interferones</b>	IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\omega$ , IFN- $\tau$
<b>F. Necrosis tumoral</b>	TNF- $\alpha$ , LT- $\alpha$ (TNF- $\beta$ ), LT- $\beta$ , Fas ligand, CD40 ligand, TRAIL, BAFF, APRIL, RANK, LIGHT
<b>IL-10</b>	IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 (MDA-7)
<b>IL-17</b>	IL-17, IL-25
<b>IL-1</b>	IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 receptor antagonista, IL-18
<b>TGF- <math>\beta</math></b>	TGF- $\beta$ , Proteína morfogenética de hueso, Inhibinas, Activinas
<b>Quimiocinas</b>	CXC subfamilia (CXCL1–16), CC subfamilia (CCL1–28), C subfamilia (CL1/Linfotactina), CX3C subfamilia (CX3CL1/Fractalcina)

Las células reguladoras centrales del sistema inmune son los linfocitos T. Como consecuencia de una estimulación antigénica éstos pueden diferenciarse hacia linfocitos T cooperadores de tipo Th1 (principalmente respuesta celular) o Th2 (sobre todo respuesta humoral). Los factores que determinan dicha diferenciación son múltiples y no completamente conocidos. Entre ellos destacan el tipo y dosis del estímulo antigénico, la célula presentadora del antígeno (macrófagos y células dendríticas favorecen respuesta Th1, las células B la respuesta Th2), las propias citocinas presentes en el medio al principio de la diferenciación y la fuerza de interacción entre el receptor de la célula T y el propio antígeno. Los linfocitos diferenciados Th1 producen a su vez citocinas denominadas Th1 (IL2, IFN $\gamma$  o TNF) mientras que los linfocitos Th2 producen citocinas Th2 (IL4, IL5, IL10 o IL13)<sup>67</sup>. Las citocinas producidas por las células Th1 y Th2 tienen a su vez una inhibición recíproca de sus funciones<sup>68</sup>.

Podemos incluir novedosamente una respuesta que se denomina Th17. De forma algo simplista la primera respuesta Th1 (celular) sería la generadora de la inflamación inicial (como la IL-2, IFN $\gamma$  o el TNF), continuaría con la respuesta Th2 (humoral) que detiene la inflamación inicial y genera la inmunidad (incluiríamos IL-4, IL-10). Estas respuestas se completarían con la denominada respuesta Th17 (mixta) que se relaciona con situaciones de cronicidad (aquí se puede incluir la familia de la interleucina-17). La IL-6 se puede considerar como participe de ambas respuestas Th1 y Th2, siendo además la iniciadora de la respuesta Th17.

Analizaremos a continuación algunas citocinas representativas de cada una de las respuestas del sistema inmune. Éstas serán las que conforman el Kit elegido para la realización de nuestro estudio con el que cubriremos una muestra representativa del amplio espectro de la citocinas:

- Interleucina-2 (IL-2)
- Interferón gamma (IFN $\gamma$ )
- Factor de necrosis tumoral (TNF)
- Interleucina-17 (IL-17)
- Interleucina-4 (IL-4)
- Interleucina-6 (IL-6)
- Interleucina-10 (IL-10)

### 2.4.2 Interleucina 2 (IL-2)

La IL-2 es el prototipo de citocina con acción pleiotrópica en el sistema inmune. Fue descubierta en 1976 (Morgan)<sup>69</sup>. Tiene un peso molecular aproximado de 15 kDa. La mayor fuente de producción de IL-2 son las células T CD4<sup>+</sup>. Es una citocina de gran importancia en la respuesta Th1.

Es considerada el **factor de crecimiento primario de las células T**. Hay tres clases de receptores IL-2 de baja, media y alta afinidad.

Su acción mejor conocida es aumentar la proliferación de Linfocitos T en respuesta a estimulación antigénica, incluyendo la generación células T supresoras y citotóxicas.

Controla la fase de “amplificación” de la respuesta inmune. También actúa sobre otros tipos celulares: induce la proliferación de células B productoras de anticuerpos; estimula la proliferación, respuesta citotóxica y secreción de IFN- $\gamma$  por las células NK (“*natural killer*”, células asesinas) y LAK (células asesinas activadas por linfocinas), y activa los monocitos y macrófagos. También interviene en el desarrollo de las respuestas inflamatorias crónicas, encontrándose niveles aumentados en algunas enfermedades autoinmunes e infecciosas<sup>70</sup>.

A nivel ocular se han encontrado niveles elevados en muestras oculares de pacientes con uveítis<sup>71</sup>.

### 2.4.3 Interferón gamma (IFN- $\gamma$ )

Los interferones (IFN) fueron originalmente descritos en 1957 en el sobrenadante de células infectadas por virus **interfiriendo** en la replicación viral (Isaacs)<sup>72</sup>.

Estas proteínas son ahora catalogadas como representantes de una familia de citocinas que se clasifican en dos grupos, basados en criterios funcionales y estructurales:

- El tipo I es inducido en respuesta a la infección viral (IFN- $\alpha$  secretado por leucocitos y el IFN- $\beta$  producido por fibroblastos).
- El tipo II denominado IFN- $\gamma$  sintetizado primariamente por células T activadas y por células asesinas (NK) en respuesta a su activación con estímulos inmunes e inflamatorios más que en relación a estímulos originados por infecciones virales.

Los interferones promueven tanto la respuesta inmune innata como adaptativa contra una gran variedad de agentes infecciosos y tumorales. Los interferones poseen una importante actividad inmunomoduladora.

Su actividad es también muy pleiotrópica: inhibiendo la proliferación de los linfocitos Th2 y favoreciendo la diferenciación hacia células efectoras Th1<sup>73</sup>. Juega también un papel central en el desarrollo de condiciones inmunopatológicas.

Se ha demostrado su efecto inductor de uveítis en animales de experimentación, detectándose niveles elevados de IFN- $\gamma$  en humor acuoso de paciente con uveítis<sup>74</sup>.

#### **2.4.4 Factor de Necrosis tumoral (TNF)**

Es una citocina pleiotrópica proinflamatoria. Originalmente identificado en 1975 como un agente antitumoral que inducía necrosis celular en sarcomas y otros tumores (Carswell)<sup>75</sup>.

Está implicado en los procesos inflamatorios derivados de los procesos infecciosos. Se le relaciona con la respuesta Th1.

- Un bajo nivel de expresión localizado de TNF beneficia la respuesta defensiva del huésped y la remodelación de los tejidos.
- Por el contrario, su sobreproducción sistémica activa la respuesta inflamatoria a la infección y la agresión tisular, originando hipotensión, coagulación difusa y daño tisular extenso (implicado directamente en el denominado “shock séptico”).

La fuente principal de TNF son los monocitos/macrófagos, aunque es producido por múltiples tipos de células inmunológicas (células NK, células B y T, basófilos, eosinófilos o mastocitos) y no inmunológicas (astrocitos, miocitos cardíacos, fibroblastos o células del epitelio pigmentario de la retina).

La lista de sus efectos biológicos es muy amplia. Es un importante mediador en las respuestas metabólicas e inmunológicas. Es el factor endógeno capaz por si solo de desarrollar el “shock” y el fallo letal de órganos y tejidos tras infecciones graves. Está relacionado con la caquexia, la fiebre y las reacciones agudas asociadas a infecciones y neoplasias diversas. Se le ha relacionado también con diferentes enfermedades autoinmunes<sup>76</sup>.

#### 2.4.5 Interleucina 17 (IL-17)

La familia de la citocina IL-17 es un grupo descubierto más recientemente. Se trata de una nueva familia de citocinas proinflamatorias secretadas fundamentalmente por células T activas (linfocitos Th17). El primer miembro de este grupo la IL-17A fue primariamente identificado, en 1993 por Rouviere como antígeno-8 murino citotóxico asociado a linfocitos T<sup>77</sup>. En humanos se reconoció en 1995 por Yao con una secuencia similar a la perteneciente al herpes virus saimiri (HVS-13)<sup>78</sup>.

Estructuralmente no tiene una secuencia similar a ninguna otra citocina conocida. Su receptor IL-17R tampoco es parecido a los receptores de citocinas conocidos. No se clasifica dentro de ninguna de las familias Th1 o Th2 de citocinas<sup>79</sup>. Podemos incluirla en la denominada **respuesta Th17**, relacionada con la cronificación de la respuesta inmune.

Son fuentes de IL-17 además de las células T, los neutrófilos, eosinófilos y células T CD8<sup>+</sup>. Su actividad proinflamatoria y también hematopoyética es debida a su capacidad de estimular la liberación secundaria de citocinas y quimiocinas como IL-6, IL-8 y factor estimulador de colonias granulocítico (G-CSF). Está involucrada en el reclutamiento de neutrófilos, induce la producción de citocinas Th2, produce eosinofilia, promueve la maduración de células dendríticas e incrementa la proliferación de linfocitos T.

Se ha relacionado con enfermedades autoinmunes, rechazo de aloinjertos y respuestas de inmunidad tardía (inflamación de vías aéreas y enfermedad asmática). Actúa en sinergia con el TNF<sup>80</sup>.

#### 2.4.6 Interleucina 4 (IL-4)

La IL-4 fue identificada inicialmente (1982 Howard) como una citocina producida por células T CD4<sup>+</sup> que actuaba como un factor de proliferación de células B en el ratón<sup>81</sup>.

Las principales fuentes celulares de IL-4 son los linfocitos T CD4<sup>+</sup>, específicamente de la subpoblación Th2, los mastocitos, eosinófilos y los basófilos activados así como algunas células T CD8<sup>+</sup> y células NK-T son capaces de producirla.

Es una citocina muy pleiotrópica. Ejerce numerosos efectos en diferentes tipos celulares. Es el prototipo de citocina **inmunorreguladora**<sup>82</sup>. Es un importante factor para el crecimiento y diferenciación de células B maduras, se requiere su presencia para la producción de Ig E, actúa sobre las células T como factor de crecimiento y diferenciación sobre la subpoblación CD4<sup>+</sup> Th2, a la vez que suprime el desarrollo de las células CD4<sup>+</sup> Th1 de potencial citolítico. Es un factor de crecimiento para mastocitos. También puede actuar como una citocina antiinflamatoria suprimiendo la producción de otras citocinas como la IL-1, IL-6 o TNF. También induce la liberación de histamina y puede comportarse como pro y anti-angiogénico<sup>83</sup>.

#### 2.4.7 Interleucina 6 (IL-6)

Citocina pleiotrópica con un amplio rango de actividades biológicas, estando involucrada en la diferenciación, la supervivencia, la apoptosis y la proliferación de multitud de células del organismo<sup>84</sup>. Podemos considerarla como participe de la respuesta Th1 y de la Th2, siendo la iniciadora de la respuesta Th17. En su descubrimiento (1980 Weissenbach) fue denominada como interferón- $\beta_2$ <sup>85</sup>, recibiendo diversas denominaciones como factor estimulante de hepatocitos o factor de diferenciación de células B. Desde 1989 se conoce como interleucina-6<sup>86</sup>.

Es producida por células T y B, células epiteliales y endoteliales, fibroblastos y células estromales. Su fuente principal son los macrófagos activados. Su producción es estimulada por la IL-1 y el TNF.

Junto con la IL-1 es la principal inductora de la síntesis de proteínas de fase aguda por el hígado, sobre todo de fibrinógeno. Actúa como factor de crecimiento de las células B activadas, en las fases finales de la secuencia de diferenciación de dichas células, induciendo la maduración final a células plasmáticas formadoras de anticuerpos. Estimula la proliferación de las células T periféricas y actúa también como cofactor de crecimiento de las células madre hematopoyéticas en la médula ósea<sup>87</sup>.

En pacientes con traumatismos, quemaduras severas y receptores de trasplante renal, se encuentran niveles séricos elevados, comportándose como una hormona autocrina, paracrina y exocrina. Enfermos con uveítis diversas presentan niveles intraoculares elevados de IL-6<sup>88</sup>.

Recientemente se considera pudiera tener una función de neuroprotección inhibiendo la apoptosis de los fotorreceptores tras la separación entre neuroepitelio y epitelio pigmentario de la retina (desprendimiento de retina)<sup>89</sup>.

### 2.4.8 Interleucina 10 (IL-10)

Originalmente descrita (Fiorentino 1989) como factor inhibidor de la síntesis de citocinas (CSIF)<sup>90</sup>.

Producida principalmente por células T activadas, células B, monocitos, macrófagos y queratinocitos.

Es la citocina **inmunosupresora** por excelencia, inhibiendo la síntesis de muchas citocinas como IFN- $\gamma$ , TNF, IL-2, IL-6, IL-12 o IL-1 $\alpha$ . Es considerada como una citocina antiinflamatoria e inmunosupresora: inhibe la proliferación de linfocitos T CD4<sup>+</sup> tipo Th1 (reduciendo las reacciones de hipersensibilidad retardada), inhibe la producción de IFN- $\gamma$  por las células NK, inhibe la síntesis de numerosos mediadores inflamatorios por los monocitos/macrófagos, suprime la expresión de los antígenos de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) por los monocitos y es un cofactor para el crecimiento y diferenciación de células B (Th2)<sup>91</sup>.

Su capacidad para inhibir la producción de citocinas proinflamatorias, así como inducir la producción de agentes antiinflamatorios, la convierten en un buen candidato para el tratamiento de algunas enfermedades autoinmunes Th1/macrófago mediadas.

Encontramos niveles elevados en enfermedades como la septicemia, la malaria, la artritis reumatoide, la lepra lepromatosa, mieloma múltiple o linfomas no Hodgkin<sup>92</sup>.

## 2.5 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa, conocida por su acrónimo inglés PCR, es una técnica de biología molecular que nos permite la síntesis “in vitro” de secuencias específicas de ADN. Su objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN determinado, a partir de una muestra mínima que se utiliza como molde. Este proceso de amplificación se basa en la propiedad natural de las ADN polimerasas para replicar hebras de ADN. Su perfeccionamiento y modernización supuso la gran revolución en el campo de la Biología Molecular.

En 1971 Kleppe y colaboradores<sup>93</sup> describieron un método para replicar una secuencia de ADN con cebadores “in vitro” mediante enzimas. Este inicio de la técnica no fue muy tenido en cuenta y la invención de la PCR fue atribuida a Kary Mullis (1983)<sup>94, 95</sup>. El gran impacto científico obtenido, le supuso la obtención del Premio Nobel de Química en 1993. La técnica inicialmente era muy lenta por la desnaturalización de las propias polimerasas, siendo necesario agregar nuevas polimerasas tras cada ciclo (el proceso necesita altas temperaturas en cada ciclo de desnaturalización de la muestra de ADN para separar las hebras de la doble cadena). Actualmente se emplean DNA polimerasas termoestables, obtenidas de microorganismos adaptados a vivir en esas temperaturas.

La técnica se basa en la replicación del ADN en los organismos eucariotas realizada por la ADN polimerasa.

El proceso consiste en la repetición sucesiva de un ciclo formado por tres etapas:

- **Desnaturalización** del ADN de doble cadena (separación de las hebras que lo componen). Se suele utilizar para ello técnicas de calentamiento (93-97°C).
- **Hibridación** o apareamiento de los cebadores o iniciadores (en terminología inglesa *primers*). Es necesario descender la temperatura de la reacción (40-65°C), de manera que los iniciadores (pequeñas secuencias de ADN de cadena simple formados por 10 - 30 bases) se unan a sus secuencias complementarias del ADN de la muestra, en sus extremos 3'-OH flanqueando el fragmento de ADN que queremos amplificar.

- **Extensión** o elongación de la cadena. La ADN polimerasa sintetiza una nueva hebra de ADN complementaria a la hebra molde añadiendo dNTPs (desoxinucleótido fosfato) complementarios. De esta forma se va duplicando el número inicial de moléculas de ADN con cada ciclo. La temperatura de esta fase depende de la ADN polimerasa usada (70-80°C).

Estos tres pasos se repiten 20-40 ciclos consiguiendo una amplificación exponencial de las cadenas de nucleótidos delimitadas por los cebadores (Fig. 12). Todo el proceso actual está automatizado mediante termocicladores, que nos permiten calentar y enfriar los tubos de la reacción para el control preciso de la temperatura necesaria en cada fase.

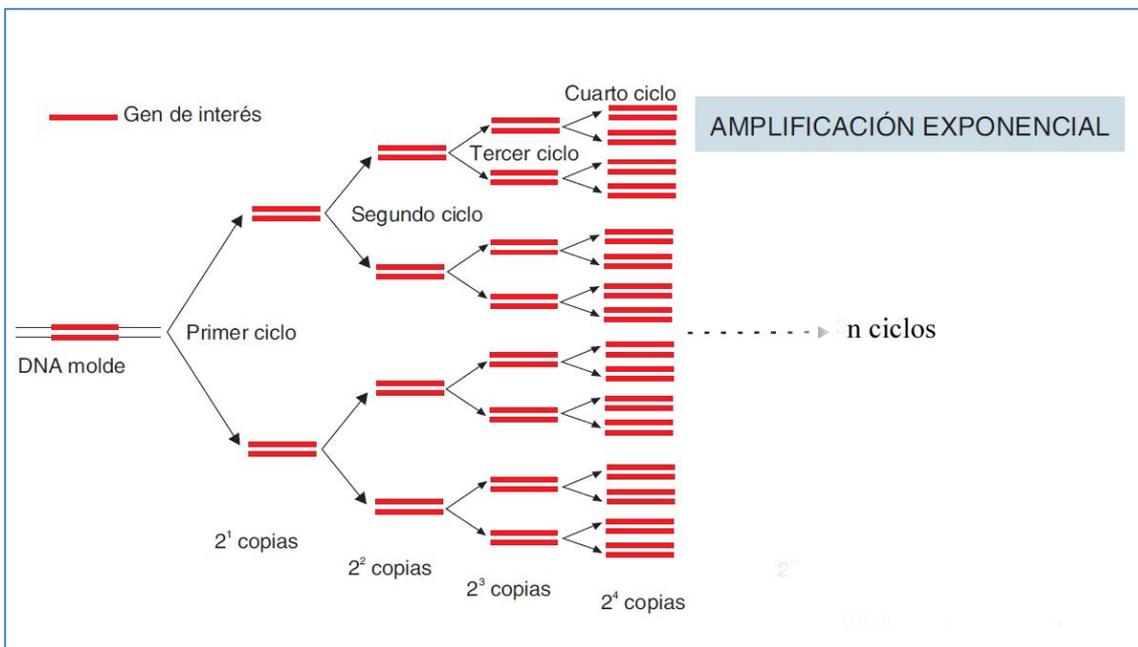


Fig. (12). PCR: Amplificación exponencial del ADN

Para analizar los productos obtenidos al finalizar el programa, se suele realizar una separación mediante electroforesis en gel de agarosa. El fragmento amplificado se observa en un transiluminador con luz ultravioleta (UV) y se realiza un registro fotográfico (Fig. 13).

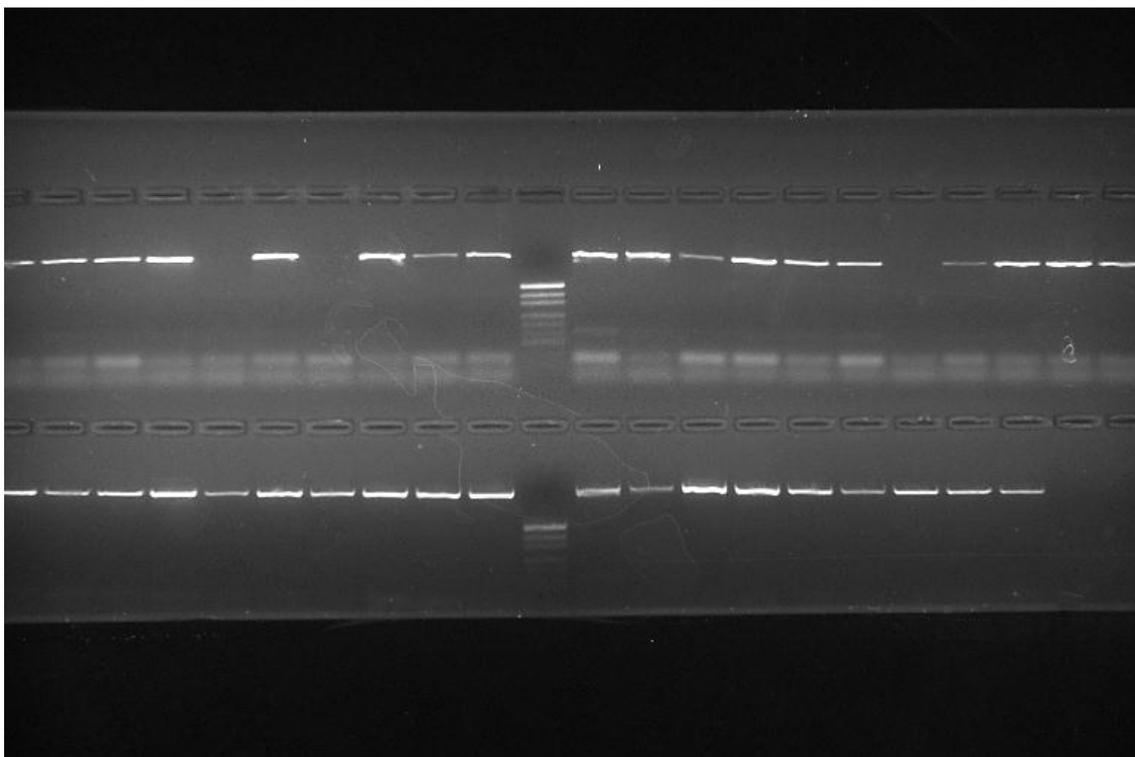


Fig. (13) Imagen de electroforesis en gel de agarosa.

Es muy importante el diseño adecuado de los cebadores utilizados, para mejorar al máximo su especificidad.

La gran sensibilidad de esta técnica obliga a realizarla en condiciones adecuadas de esterilidad, para evitar la amplificación de ADN no deseado (una de sus mayores ventajas puede llegar a convertirse en un inconveniente). Se ha de realizar en un lugar exclusivo y con material exclusivo, utilizando reactivos y tubos estériles así como guantes para el manipulador.

Se deben realizar controles de blanco (añadiendo agua bidestilada en lugar de ADN) en los que no debe existir amplificación.

La PCR tiene múltiples aplicaciones en investigación básica, en medicina como herramienta de diagnóstico, en paleontología, en antropología, en ciencias forenses, en veterinaria e incluso en agronomía.

## 2.6 ESTADO ACTUAL

Los **factores mecánicos** por sí solos parecen poder explicar la mayoría de los casos de DRR en su fase inicial: una vez producida la solución de continuidad en la superficie retiniana, el DRR se inicia con el paso del vítreo fluido a través de la rotura retiniana al espacio subretiniano.

La retina desprendida sufre procesos de hipoxia, alteraciones de los fotorreceptores y algún grado de inflamación. Se producen fenómenos de digestión lisosomal y alteración de la barrera hematorretiniana que permite el paso de suero al espacio subretiniano<sup>96</sup>.

Las fuerzas que mantienen la neuroretina posicionada en el ojo son complejas y no completamente aclaradas. Se acepta la presión hidrostática como el mecanismo fundamental en el mantenimiento de la retina aplicada, admitiéndose la existencia de sustancias viscoelásticas entre el epitelio pigmentario de la retina y los fotorreceptores así como fuerzas de índole oncótica y bioquímica<sup>97</sup>. El estudio de la adherencia retiniana demuestra una disminución de la adherencia postmortem, lo que indicaría algún mecanismo activo involucrado<sup>98</sup>. El espacio retiniano se mantiene así deshidratado por una conjunción de fuerzas activas y pasivas que mantienen aplicada la retina.

El análisis químico del LSR en los desprendimientos retinianos revela una composición similar al vítreo, pero con mayor concentración de proteínas y de otras grandes moléculas, mostrando una correlación positiva entre el nivel de proteínas y la duración del desprendimiento<sup>97</sup>.

De esta manera la composición del LSR es cambiante y dinámica: siendo muy parecido, casi idéntico, al vítreo en desprendimientos muy recientes y pareciéndose cada vez más al suero en desprendimientos antiguos.

Las fuerzas involucradas en el movimiento de fluidos a través del EPR serían:

- La presión osmótica,
- El transporte activo por parte del epitelio pigmentario de la retina
- Y la presión hidrostática.

El sentido de la presión osmótica se invierte en los casos de desprendimiento antiguo, debido a la mayor concentración de proteínas en el líquido subretiniano (Fig. 14).

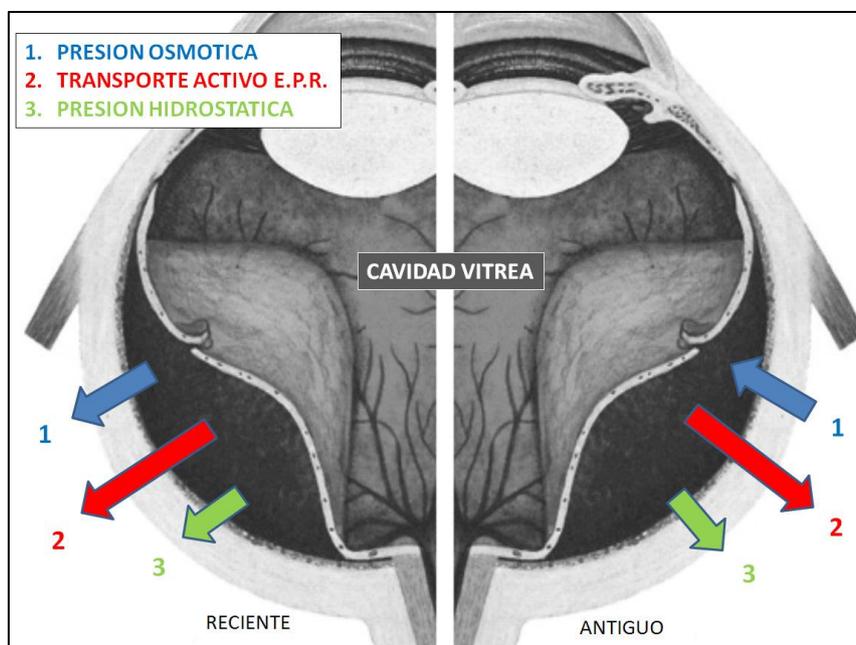


Fig. (14). Fuerzas involucradas en el fluido subretiniano (modificado de Quintyn JC.)<sup>97</sup>

### 2.6.1 Citocinas en fluidos oculares y plasma

Desde hace dos décadas se buscan factores de crecimiento y citocinas que pudieran ser responsables de la evolución del DRR y la PVR.

Limb GA y colaboradores (1991)<sup>99</sup> encontraron cifras elevadas de diversas citocinas (IL-6, IL-1 e IFN- $\gamma$ ) en muestras de vitrectomía de pacientes con DRR complicado con PVR, en relación a muestras de DRR sin PVR. En su trabajo ya intuían una relación de vías inflamatorias mediadas por citocinas en la patogenia de la PVR.

Ya en 1994 Kauffmann DJH y colaboradores<sup>100</sup> encontraron niveles elevados de IL-6 en vítreo de pacientes con PVR sugiriendo implicación en su patogénesis. Las muestras fueron obtenidas del vítreo sin diluir de 45 pacientes con diferentes patologías como hemorragia vítrea, degeneración macular, oclusión venosa, retinopatía diabética proliferante, “pucker” macular, desgarros gigantes, DRR y PVR.

También en 1994 Bakunowicz-Lazarczyk A y colaboradores<sup>101</sup> tuvieron resultados similares, con cifras elevadas significativamente de IL-6 en los casos de DRR con 5-8 semanas de evolución. El mismo autor en 1999<sup>102</sup> justificaba el aumento de IL6, en los DRR de larga data, por el flujo mantenido de células proinflamatorias que modularían y potenciarían la proliferación vitreoretiniana.

Keranova B et al. (1997)<sup>103</sup> presentaron cifras de IL-6 e dos veces más elevadas en el fluido subretiniano de pacientes con DRR frente al control realizado en vítreo de cadáver. También encontraron valores hasta 6 veces superiores de IFN- $\gamma$  en ojos con PVR frente al vítreo de cadáveres. Sugieren que las vías de la inflamación mediadas por citocinas están involucradas en la patogénesis del DRR y la PVR.

Kon CH y colaboradores (1999)<sup>104</sup> concluían que las citocinas pudieran ser importantes en la patobiología de la PVR. En un estudio prospectivo sobre 140 pacientes consecutivos con DRR a los que se le realizó VPP encontraron niveles elevados de IL-6 y proteínas en pacientes que desarrollaron PVR en el postoperatorio. Los pacientes fueron seguidos durante los tres meses posteriores a la cirugía. Consideraban la IL-6 como un factor predictivo de PVR.

La Heij EC y colaboradores (2001)<sup>105</sup> obtuvieron muestras de 96 pacientes con DRR consecutivos, intervenidos con técnicas de cirugía extraescleral. En este estudio la IL-6, el bFGF (factor de crecimiento básico de fibroblastos), la glutamino-sintetasa y las proteínas totales mostraban valores elevados con respecto a los controles, si más de un cuadrante era afectado en el desprendimiento. Las cifras de IL-6 se encontraron incrementadas en todos los pacientes con PVR comparado con aquellos pacientes sin PVR. En fechas posteriores (2002)<sup>106</sup> encontraron también niveles elevados de IL-6, bFGF y proteínas totales en fluido vítreo de 53 pacientes con PVR.

El-Ghrably IA y colaboradores (2001)<sup>44</sup> encontraron niveles elevados de ARNm (ARN mensajero) y sus respectivas citocinas, en muestras vítreas de PVR y DRR, en relación a los controles con AMI. Los niveles de ARNm obtuvieron cifras significativamente elevadas en pacientes con PVR en relación a los pacientes con DRR. Concluyen que la fuerte correlación entre los niveles de citocinas y sus respectivos ARNm están relacionados con la invasión de células externas que invaden el cuerpo vítreo en esta situación.

Yamamoto H (2003)<sup>107</sup> demostró por técnicas de inmunohistoquímica la presencia de IL-6 y su receptor soluble (sIL-6r) en membranas proliferativas tanto en PVR como en MEM. Concluye que vías mediadas por la IL-6 están involucradas en la patogénesis de la MEM y la PVR.

Además de la IL-6 otras citocinas y factores de crecimiento han sido encontrados por diferentes autores en pacientes con DRR y PVR:

- Limb GA et al. (2001)<sup>108</sup> encontraron niveles elevados de receptores solubles de TNF tipo I y II en vítreo de ojos con PVR, DRR y retinopatía diabética proliferante (RDP). Los niveles fueron más altos en ojos con PVR en relación con DRR. Los niveles séricos fueron elevados en la RDP. Los altos niveles fueron relacionados con la duración del DR, el número de intervenciones quirúrgicas, el grado y la severidad de la PVR. Sugieren que estas moléculas pudieran constituir productos reactivos de la inflamación.
- Lewandowska-Furmanik M et al. (2002)<sup>109</sup> encontraron niveles elevados de IL-10 y IL-12 en relación con la duración y extensión del desprendimiento de retina.
- Ogata N y colaboradores en 2002<sup>110</sup> determinaron los niveles de PEDF (factor derivado del epitelio pigmentario) y VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular) en 26 ojos con DRR, 6 con PVR y 14 con AMI. Encontraron niveles elevados de VEGF y bajos de PEDF en los pacientes con PVR. Concluyen que estos datos podrían estar relacionados con la proliferación celular.
- Dieudonne SC en 2004<sup>111</sup> encontró cifras dos veces menores de TGF- $\beta_2$  en muestras vítreas de pacientes con PVR postoperatoria, en relación a los pacientes con DRR sin PVR. Las cifras de los pacientes que desarrollaban PVR eran similares a la de los controles (pacientes intervenidos por AMI o MEM). Concluía que cifras elevadas de TGF- $\beta_2$  en el fluido subretiniano de DRR primario pudiera proteger a los pacientes del desarrollo posterior de la PVR.
- Cassidy L en 2006<sup>112</sup> demostró la existencia de concentraciones elevadas de bFGF y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), incluso en ausencia de hemorragia vítrea, en pacientes con PVR. No encontró

elevaciones significativas en pacientes con DRR sin PVR. Concluye que las células del EPR pudieran jugar un papel importante en la producción local de PDGF.

Yoshimura T y colaboradores (2009)<sup>113</sup> realizaron un amplio estudio de mediadores inflamatorios de la respuesta inmune en pacientes con diferentes enfermedades vitreoretinianas. Encontraron niveles elevados de IL-6 y MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos) preferentemente en pacientes con DRR. Consideran ambas sustancias como factores importantes implicados en la patogénesis del desprendimiento

Ricker LJ 2010<sup>114</sup> determinó los niveles de IL-6 y otras citocinas en muestras de pacientes intervenidos con cirugía extraescleral por DRR primario. Los resultados de aquellos que desarrollaron posteriormente recidiva del DRR con PVR fueron comparados con los que no desarrollaron PVR. Las cifras de IL-6 mostraron una fuerte correlación positiva en aquellos pacientes que desarrollaron PVR. También Ricker LJ más recientemente (2011)<sup>115</sup> analizó las muestras almacenadas en su Biobanco. Comparó los resultados para 29 diferentes citocinas, entre ellas la IL-6, entre pacientes con DRR no complicado con PVR y pacientes con PVR. La IL-6 alcanzó cifras 2,5 veces más altas en el grupo de PVR comparado con el grupo DRR.

### **2.6.2 Marcadores infecciosos en fluidos oculares**

La PCR se ha convertido en una técnica útil por su especificidad y sensibilidad en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, autoinmunes y síndromes mascarada en patología ocular<sup>116</sup>.

Son múltiples los trabajos que nos muestran su utilidad en el diagnóstico de las endoftalmitis<sup>117, 118</sup>. Realizada en muestras de humor acuoso y humor vítreo, permite el diagnóstico de endoftalmitis bacterianas en casos con frotis y cultivo negativos<sup>119</sup>. El uso de esta técnica puede incrementar la eficacia diagnóstica hasta el 95,3%<sup>120</sup>.

La PCR también ha supuesto un avance en el diagnóstico de uveítis en las que, los métodos convencionales de diagnóstico han fracasado<sup>121</sup>. Su utilidad se extiende al diagnóstico del agente causal en casos de enfermedades coriorretinianas inflamatorias en las que se sospecha una etiología viral<sup>122, 123</sup>.

Se han descrito roturas retinianas, que originan desprendimientos de retina, en pacientes con retinitis necrotizantes producidas en infecciones víricas<sup>124, 125</sup>, en candidiasis<sup>126</sup> y en toxoplasmosis<sup>127</sup>.

Recientemente, se están describiendo asociaciones, con una posible causa infecciosa, de algunas patologías coriorretinianas. La coriorretinopatía central serosa y la epitelopatía retiniana difusa, que se consideran como enfermedades de origen oclusivo microvascular de la coriocapilar, están siendo relacionadas, en los últimos años, con una posible infección por *helicobacter pylori*<sup>128, 129</sup>.

La presencia de ADN bacteriano<sup>130</sup> o viral<sup>131</sup> puede considerarse, hoy día, como un factor de cronicidad en enfermedades inflamatorias y degenerativas. Las moléculas de ADN son moléculas inmunorreguladoras, capaces de activar el sistema inmune. La historia del potencial inmunoestimulador del ADN bacteriano, comienza con la observación del efecto reductor del crecimiento tumoral de la vacunación con bacillos de Calmette-Guerin (BCG)<sup>132</sup>.

### 2.6.3 Implicaciones futuras

Actualmente todo el esfuerzo terapéutico, en los casos de DRR con o sin PVR, está dirigido a eliminar las tracciones vitreoretinianas, drenar el líquido subretiniano y sellar las roturas retinianas. Salvando las diferencias tecnológicas aún nos enfrentamos al DRR con el conocimiento que nos transmitió Jules Gonin.

Como ha quedado explicitado con anterioridad la PVR es, según la mayoría de los estudios, la causa más frecuente de fracaso en la reparación quirúrgica del DRR<sup>4, 5</sup>.

Las revisiones actuales nos demuestran que su incidencia (5,1-11,7%) permanece **casi invariable** desde la década final del siglo pasado a pesar de los innumerables avances tecnológicos disponibles para la realización de la cirugía<sup>19, 20, 21</sup>.

Además la evolución de algunos desprendimientos y la propia PVR, en algunos casos de una virulencia insospechada, requiere introducir nuevos elementos para mejorar nuestra comprensión y optimizar nuestros resultados terapéuticos.

Así pues el comportamiento del DRR, en determinados casos no puede ser explicado, de forma completa, con los conocimientos actuales sobre su patogenia.

De forma resumida:

- No todas las roturas retinianas originan desprendimiento retiniano<sup>28, 29, 133</sup>.
- Se han descrito situaciones de reaplicación espontánea de DRR<sup>134</sup>.
- Todos nos hemos enfrentado, en ocasiones, a desprendimientos con evoluciones muy virulentas hacia la proliferación vítreoretiniana, sin una explicación clara.
- Seguimos teniendo cifras similares de PVR desde varias décadas<sup>19, 20, 21</sup>.

Para explicar las diferencias encontradas en los diferentes pacientes, los trabajos más recientes en la literatura científica hablan de factores de índole inmunológica<sup>109</sup> y como ha quedado dicho previamente, incluso predisposición genética<sup>45, 46</sup>, involucrados en la evolución de los desprendimientos de retina y la PVR.

Se admite la PVR como un fenómeno de cicatrización exagerado, una mala modulación del proceso general de cicatrización<sup>135</sup>. La propia cirugía utilizada para la reparación quirúrgica del DRR es considerada como el factor predisponente más importante en el desarrollo de la PVR<sup>41, 19, 49</sup>.

**Esto justifica los intentos en la última década de obtener dianas terapéuticas para intentar prevenir farmacológicamente el desarrollo de la PVR, mejorando así los resultados quirúrgicos del DRR.**

Diferentes sustancias inmunomoduladoras e inmunosupresoras se han utilizado de forma genérica y con escaso éxito para intentar disminuir la incidencia de la PVR, entre ellas:

- **Corticoides:** El uso de triamcinolona intravítrea en ojos con aceite de silicona, no mostró beneficios frente a una cirugía vitreoretiniana completa en pacientes con PVR grado C, en un seguimiento de seis meses<sup>136</sup>.
- **Daunorubicina:** No se encontraron beneficios, en las cifras de reaplicación retiniana ni mejora de agudeza visual, en pacientes intervenidos de DRR con PVR grado C, mediante vitrectomía con infusión intravítrea de daunorubicina durante la vitrectomía, en comparación con vitrectomía clásica sin tratamiento coadyuvante<sup>137, 138</sup>.

- **5-Fluoruracilo:** Se ha utilizado 5-fluoruracilo junto con heparina de bajo peso molecular, en infusión en cavidad vítrea, como coadyuvante de la cirugía de pacientes con PVR grado C anterior o posterior. La comparación con cirugía convencional asociada a taponamiento con aceite de silicona, no parece demostrar una clara mejoría en las cifras de aplicación retiniana y agudeza visual, una vez retirado el taponamiento con aceite de silicona<sup>139, 140, 141</sup>.

Sin duda es necesario seguir investigando para obtener opciones terapéuticas que mejoren las cifras de éxito del DRR, disminuyendo las cifras de PVR. En este proceso de investigación es necesario **contar con buenos modelos predictivos** (para predecir de forma fiable el riesgo de padecer PVR, indicándonos así los pacientes susceptibles de tratamiento) **y experimentales de PVR** (en los que poder comprobar la eficacia de los posibles nuevos fármacos).

Kon CH y colaboradores (2000)<sup>142</sup> realizaron un estudio prospectivo sobre 140 pacientes con DRR que fueron sometidos a VPP. Se controlaron 12 variables clínicas, así como la concentración de proteínas en vítreo. Concluyen que son factores muy significativos en el desarrollo de PVR: la PVR preoperatoria, la afaquia y los altos niveles de proteínas intravítreas.

Asaria y colaboradores (2001)<sup>143</sup> desarrollan una fórmula predictiva de riesgo de PVR. Para ello realizan un estudio prospectivo sobre 219 pacientes intervenidos mediante VPP por DRR. Con esta fórmula los pacientes fueron clasificados en pacientes de alto riesgo y de bajo riesgo. La ecuación presentada era:

$$\text{Riesgo de PVR} = 2,88 (\text{PVR C}) + 1,85 (\text{PVR B}) + 2,92 (\text{afaquia}) + 1,77 (\text{uveítis anterior}) + 1,23 (\text{nº de cuadrantes}) + 0,83 (\text{hemovítreo}) + 1,23 (\text{crioterapia})$$

Consideran como pacientes de alto riesgo aquellos con cifras de riesgo de PVR > 6,33.

Nuestro compatriota Pastor y colaboradores (2005)<sup>144</sup> nos presentan un estudio observacional sobre 335 pacientes con DRR no complicado. De ellos 134 pacientes desarrollaron PVR y 201 no. Estos últimos fueron utilizados como controles. Consideran factores de riesgo: la edad > 70 años, la PIO < 14 mm Hg, las grandes roturas retinianas (mayores de un huso horario), los desprendimientos de retina extensos, las reintervenciones, la cirugía escleral así como la afaquia/pseudofaquia

cuando realizamos la cirugía escleral. Con sus resultados realizan también un modelo predictivo del riesgo de PVR.

Rojas J. y colaboradores (2009)<sup>45</sup>, asumiendo la existencia de factores de índole genética, nos plantean incluso el desarrollo de modelos predictivos basados en variables genéticas.

Numerosos modelos experimentales de PVR se han diseñado para estudiar su patogenia y su posible terapia. Se utilizaron, con este fin, inyecciones de diferentes tipos celulares o factores inflamatorios: fibroblastos<sup>145</sup>, células del EPR<sup>146</sup>, fibronectina y PDGF<sup>147</sup>. Más recientemente:

- Frenzel EM et al. (1997)<sup>148</sup> utilizó la inyección de la enzima proteolítica dispasa. Usaron la dispasa en el espacio subretiniano, dispasa intravítrea junto con rotura retiniana mediante endodiatermia y dispasa intravítrea solamente. Los controles recibieron solo inyección de solución salina. La dispasa sola en cavidad vítrea fue suficiente para desarrollar una PVR aún en ausencia de rotura retiniana.
- De gran utilidad es el trabajo de Agrawal y colaboradores (2007)<sup>149</sup>. Ellos nos presentan una amplia revisión de modelos tanto in vitro (cultivos celulares de EPR) como in vivo de PVR. Describiendo un detallado protocolo de su modelo experimental estandarizado de PVR.

Para concluir, son múltiples los **biomarcadores** que se han relacionado con la PVR<sup>113, 150, 151</sup>. Estos biomarcadores podrían ser considerados como posibles dianas terapéuticas.

La IL-6 es, posiblemente junto con la concentración elevada de proteínas en el líquido subretiniano, el factor más preponderante relacionado con la PVR<sup>104, 113, 114, 115, 151</sup>. La IL-6 podría ser considerada, así pues, como una posible diana terapéutica en el futuro.

La era actual del tratamiento de la DMAE (degeneración macular asociada a la edad) exudativa, comienza con la consideración del VEGF como el factor preponderante en la génesis y el desarrollo de la neovascularización coroidea (NVC)<sup>152, 153</sup>. El VEGF se convirtió en la principal diana terapéutica de la DMAE exudativa. A partir de este conocimiento se empiezan a desarrollar fármacos que intentan bloquear, a nivel local, la acción de esta citocina. La utilización de anticuerpos monoclonales humanizados anti-VEGF, para uso intraocular, en la DMAE supuso una nueva concepción en el tratamiento de esta enfermedad<sup>154, 155</sup>.

### **3.- PROYECTO DEL ESTUDIO**



### 3.1 JUSTIFICACIÓN

El tratamiento del DRR es una de las mayores historias de éxito en el devenir histórico de la Medicina. Las primeras observaciones de desprendimiento retiniano en humanos datan del siglo XIX. Se trataba lógicamente de observaciones patológicas. Con la invención del oftalmoscopio (a mediados del siglo XIX) se pudo realizar, por primera vez, el diagnóstico clínico de esta enfermedad.

En el Congreso Internacional de París de 1904 el DRR fue declarado como una enfermedad intratable<sup>1</sup>.

**Jules Gonin** (1870-1935), tal vez motivado por esta pesimista declaración, reflexionaba sobre la necesidad de conocer la etiopatogenia de la enfermedad para poder tratarla eficazmente. Gonin fue capaz de identificar correctamente los desgarros retinianos originados por tracciones vítreas, como los causantes de la enfermedad. Él comenzó a tratar los desprendimientos mediante drenaje del LSR y la creación de una cicatriz coriorretiniana (mediante ignipunctura) alrededor de los desgarros<sup>156</sup>. Su libro “Le Décollement de la Rétina. Phatogénie. Traitment” es todo un clásico para los retinólogos actuales<sup>157</sup>. Aquí da comienzo, a partir de la segunda década del siglo XX, la exitosa era quirúrgica del desprendimiento de retina<sup>24</sup>.

En esta gran aventura, otros grandes nombres de la historia de la medicina han sido fundamentales para el progreso de la cirugía del DRR:

- Quisiera resaltar en primer lugar a nuestro compatriota **Hermenegildo Arruga Liro** (1886-1972). Nacido en Barcelona, hijo de oftalmólogos y discípulo predilecto de Gonin. En el XIV Congreso internacional de Oftalmología celebrado en Madrid (1933), fue encargado de presentar uno de los temas oficiales sobre el desprendimiento de retina. Contribuyó también en el desarrollo del cerclaje ecuatorial<sup>158</sup>. El cerclaje tenía como objetivo el sellado de las roturas periféricas visibles y las invisibles en la denominada “retina periférica porosa”. Posiblemente sea el mejor retinólogo español del siglo XX, galardonado con el premio Gonin (Londres 1951).

- **Ernst Custodis** (1898-1990). En 1953 el oftalmólogo alemán usará por primera vez un material sintético, el poliviól, para realizar la indentación escleral favoreciendo el contacto entre la retina y la coroides<sup>159</sup>.
- **Harvey A. Lincoff** en Nueva York modificó la técnica quirúrgica de Custodis, reemplazó la diatermia por la cryopexia y el poliviól por la esponja de silicona para realizar la indentación (1965)<sup>160</sup>.
- **Charles Schepens** (1912-2006). Expandió la indentación segmentaria para realizarla en forma circular: el cerclaje ecuatorial (1953)<sup>161</sup>. El desarrollo de su oftalmoscopio binocular indirecto (1947), junto con la biomicroscopía del fondo de ojo (Goldman) fue fundamental para la detección de las roturas retinianas. La exploración completa del fondo de ojo permitió desarrollar las denominadas “4 reglas” de Lincoff, que servían para localizar la rotura primaria en un desprendimiento de retina, según la morfología del desprendimiento (1970)<sup>162</sup>.
- **Robert Machemer** (1933-2009). A partir de 1971 se comenzó a utilizar la cirugía intraocular para la reparación de los desprendimientos de retina<sup>163</sup>. Machemer desarrolló la vitrectomía por pars plana (VPP) para tratar los DRR complicados con tracción vítrea o PVR.
- Otro ilustre oftalmólogo español el doctor **Alfredo Domínguez** (ex-presidente consejero de la Sociedad Española de Oftalmología) contribuyó junto al doctor Hilton en el desarrollo de la denominada retinopexia neumática<sup>164, 165</sup>.
- Terminaré con el doctor **Juan Carlos Pastor Jimeno** con sus estudios actuales sobre patogenia del DR y PVR<sup>41, 48</sup>.

Sin duda la lista de los grandes oftalmólogos que han contribuido de forma muy relevante en la reparación del DRR no es exhaustiva. Quisiera humildemente que este trabajo sirviera de homenaje a todos ellos.

Desde los inicios las tasas de éxito en la cirugía del desprendimiento han ido mejorando desde el 0% en la era pre-Gonin hasta llegar a las cifras actuales por encima del 90%. Los avances tecnológicos e instrumentales, sin duda, han permitido estas mejoras sustanciales.

Sin embargo el DRR sigue siendo hoy día una causa importante de pérdida irreversible de visión. Seguimos encontrándonos con situaciones en las que el proceso se autoperpetúa y agrava de forma espontánea. Hay casos en que la reparación anatómica de la rotura retiniana es imposible y los mecanismos de reparación tisular dan lugar a PVR severa que resulta finalmente iatrogénica. He comentado con anterioridad como actualmente se habla de factores de índole inmunológica e incluso genética para explicar las diferencias encontradas en la diferente evolución de nuestros pacientes.

La idea de este trabajo se inicia con objeto de indagar en posibles causas inmunológicas y/o infecciosas en la etiología y evolución del DRR y la PVR.

### **3.2 HIPÓTESIS DE TRABAJO**

El presente estudio **observacional, transversal y comparativo** parte de la siguiente premisa: el DRR y la PVR siguen siendo una de las causas más frecuentes de disminución de agudeza visual (AV) a veces irreversible; aunque se sabe bastante de su etiología, las causas y mecanismos patogénicos finales no están del todo aclaradas.

Por ello planteamos las siguientes hipótesis:

- 1.- Los factores mecánicos no son suficientes, en todos los casos, para explicar, por sí solos, la evolución y virulencia del DRR y la PVR.
- 2.- Factores de índole inmunológica y/o infecciosa podrían estar relacionados con el DRR, la PVR y su posterior evolución.

### **3.3 OBJETIVOS**

Al iniciarlo nos impusimos los siguientes OBJETIVOS:

- 1.- Buscar la posible implicación de factores inflamatorios, inmunorreguladores y/o infecciosos en la patogenia del DRR.
- 2.- Determinar el tipo de respuesta inmunológica predominante (Th1, Th2 y Th17) a nivel ocular en pacientes con desprendimiento de retina mediante el estudio de diferentes citocinas en el vítreo y LSR del DRR sin PVR, del DRR con PVR severa y su relación con la extensión y el tiempo de evolución del desprendimiento.
- 3.- Definir la expresión local y/o sistémica de las citocinas en los pacientes con DRR con o sin PVR, mediante el estudio de diferentes citocinas a nivel ocular y en sangre periféricas.
- 4.- Buscar la existencia de marcadores infecciosos (familia alfa herpes-viridae y bacterias) a nivel ocular en pacientes con desprendimiento de retina regmatógeno.



## **4.- MATERIAL Y MÉTODOS**



## **4.1 PACIENTES Y CONTROLES**

### **4.1.1 Pacientes**

Se han estudiado los pacientes remitidos por DRR, a la Unidad de Retina Quirúrgica del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, para ser intervenidos quirúrgicamente. Los pacientes fueron incluidos de forma consecutiva desde diciembre de 2009 y Diciembre de 2010. Originariamente fueron introducidos 50 pacientes en nuestro estudio.

### **4.1.2 Criterios de inclusión**

Se incluyeron pacientes con DRR primario que no hubieran sido vitrectomizados previamente por otra patología. Los pacientes se dividieron en dos grupos (originariamente 25 en cada grupo):

- Grupo I DRR con un grado mínimo de PVR (< C).
- Grupo II DRR con PVR grado C. (Clasificación del Comité Terminológico de la Sociedad Americana de Retina revisada por Machemer y colaboradores en 1991)<sup>3</sup>.

La técnica quirúrgica usada (cirugía extraescleral simple o VPP) ha sido la preferida en cada momento según las características clínicas del desprendimiento.

### **4.1.3 Criterios de exclusión**

Hemos considerado como criterios de exclusión:

- Pacientes con DRR recidivado
- DR traumático
- DR traccional
- DR con agujero macular miópico
- DR con hemovítreo
- DR de causas infecciosas

#### **4.1.4 Grupo control**

Como grupo control, hemos usado pacientes que tuvieran que ser intervenidos mediante vitrectomía, por presentar agujero macular idiopático (AMI) o membrana epimacular (MEM) y sin otra patología ocular preexistente. Fueron introducidos primariamente un total de 15 pacientes en el grupo control.

#### **4.1.5 Deontología**

El presente estudio se realizó de conformidad con las recomendaciones para la investigación en seres humanos, establecidas en la declaración de Helsinki y en sus sucesivas revisiones (59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008) (apéndice 1).

Todos los pacientes y los controles fueron intervenidos quirúrgicamente siguiendo las indicaciones propias de su patología y con la metodología quirúrgica habitual de nuestro servicio.

Así mismo todos fueron informados previamente a la obtención del consentimiento informado. Se utilizó, para ello, el modelo de consentimiento informado oficial establecido por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (apéndice 2), en el cuál el paciente autoriza expresamente *“la conservación y posterior utilización de sus muestras biológicas para cualquier posible investigación relacionada directamente con la enfermedad que padece”*.

## 4.2 TOMA DE MUESTRAS

Se obtuvieron muestras de líquido subretiniano, durante la **cirugía extraescleral**, tras la realización de una pequeña punción transesclero-coroidea, previa cauterización de vasos esclerales circundantes (proceso habitual de drenaje del LSR). Previamente cualquier traza de sangre macroscópica en las proximidades de la punción fue cuidadosamente eliminada con hemostetas quirúrgicas. El fluido subretiniano fue recogido del lecho quirúrgico utilizando jeringa y cánula de punta roma. Las muestras que mostraran sangre macroscópica fueron desechadas.

Las muestras de vítreo y líquido subretiniano de los pacientes y controles intervenidos mediante **vitrectomía**, fueron obtenidas a través del vitrectomo antes de la apertura de la infusión para evitar su dilución (Fig. 15).

El volumen de la muestra obtenida en quirófano fue aproximadamente de 500  $\mu$ l. La muestra se coleccionó en tubos estériles de polipropileno, inmediatamente almacenada en frío y enviada para su análisis.

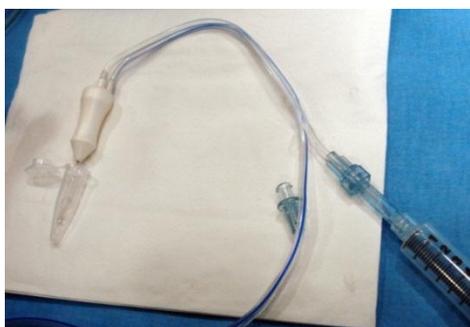


Fig. (15). Recolección de la muestra.

De todos los pacientes se recogió una muestra de sangre venosa, aprovechando la venoclisis de mantenimiento, prevista en el protocolo de toda intervención quirúrgica. La sangre se extrajo en tubos vacutainer heparinizados en un volumen aproximado de unos 3,0 ml.

Todas las muestras de vítreo/líquido subretiniano y de sangre fueron enviadas juntas, con la identificación adecuada, para su análisis (apéndice 3).

## 4.3 METODOLOGÍA

### 4.3.1 Preparación de las muestras

- LÍQUIDO SUBRETINIANO/HUMOR VÍTREO: Las muestras obtenidas del drenaje de líquido subretiniano y/o vítreo se recogieron en microtubos 3810X (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) en un volumen aproximado de 500 µl. Las muestras fueron criopreservadas a -20°C de forma inmediata (en menos de 12 horas) para su posterior análisis.

- PLASMA: La sangre extraída se recogió en tubos Vacutainer heparinizados (BD Diagnostic System, Buenos Aires, Argentina). Los tubos fueron centrifugados a 3500 rpm durante 5 minutos en una centrífuga HERAUS de Thermo Scientific Inc. Una vez separado el plasma del resto de componentes sanguíneos la muestra se alícuota en microtubos 3810X en volúmenes de 500µl y se procede a criopreservarla a -20° C para su posterior análisis.

### 4.3.2 Medición de citocinas solubles

Para el análisis de las citocinas solubles de las muestras se seleccionó el kit BD™ CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit de Becton Dickinson and Company BD Biosciences®. Este kit nos permite medir simultáneamente siete citocinas/muestra que son las más representativas de cada una de las respuestas del sistema inmune (Th1/Th2/Th17). El volumen de muestra requerido es aproximadamente 1/7 de lo necesario para técnicas de ELISA convencionales, siendo comparables los límites teóricos de detección y precisión. Las cifras obtenidas pueden variar debido a la complejidad cinética de una técnica de detección múltiple. Las citocinas que podemos cuantificar con este kit son: IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN-γ e IL-17A.

- PRINCIPIO DEL KIT: Este ensayo está basado en un método para capturar los analitos (componente químico cuya concentración se desea conocer) solubles con microesferas captadoras de un tamaño y fluorescencia conocidos. Cada microesfera captadora está conjugada con un anticuerpo específico.

El reactivo de detección está formado por una mezcla de anticuerpos conjugados con R-Ficoeritrina (Fhycoeritrin PE: pigmento rojo, soluble en agua que se encuentra en cianobacterias, algas rojas y criptomónadas). La ficoeritrina es utilizada en el laboratorio como un indicador basado en fluorescencia, para etiquetar anticuerpos en la técnica que denominamos inmunofluorescencia, produciendo una señal proporcional a la unión con los analitos.

Cuando las microesferas captadoras y el reactivo de detección se incuban con las muestras se produce un sándwich complejo (microesfera captadora + analito + reactivo de detección).

Estos complejos son posteriormente detectados mediante técnicas de Citometría de Flujo (Fig. 16).

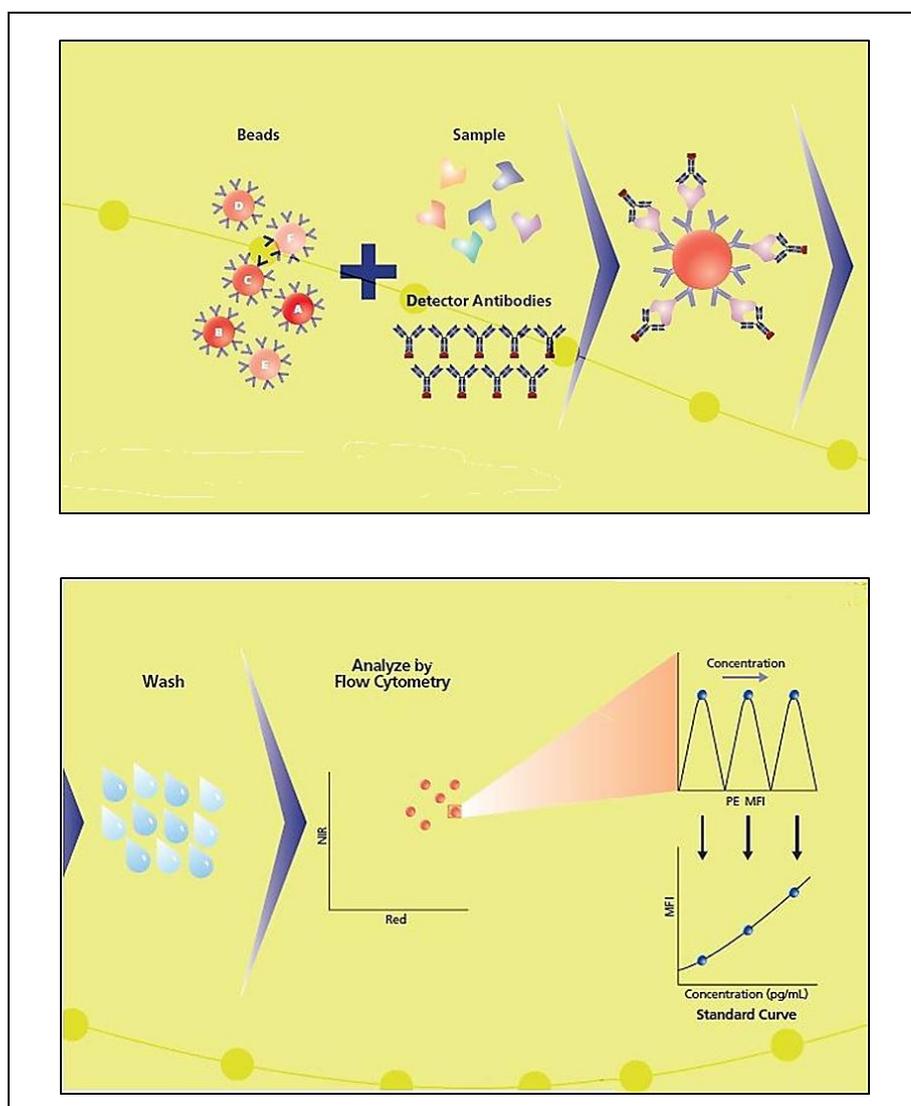


Fig. (16). Esquema de citometría de flujo

- COMPONENTES DEL KIT: Los componentes que constituyen el kit son:

- MICROESFERAS CAPTURADORAS:
  - A1: Microesferas captadoras humanas para IL-2
  - A2: Microesferas captadoras humanas para IL-4
  - A3: Microesferas captadoras humanas para IL-6
  - A4: Microesferas captadoras humanas para IL-10
  - A5: Microesferas captadoras humanas para TNF
  - A6: Microesferas captadoras humanas para IFN- $\gamma$
  - A7: Microesferas captadoras humanas para IL-17A
- B: Reactivo de detección humano Th1/Th2/Th17 PE
- C: Reactivo estándar humano de citocinas Th1/Th2/Th17
- Reactivos de calibración:
  - D: Microesferas de calibración del citómetro
  - E1: Marcador del control positivo en PE
  - E2: Marcados del control positivo en FITC (Fluorescein Isothiocianato)
- F: Solución tamponada de lavado
- G: Diluyente para muestras
- H: Solución potenciadora del suero

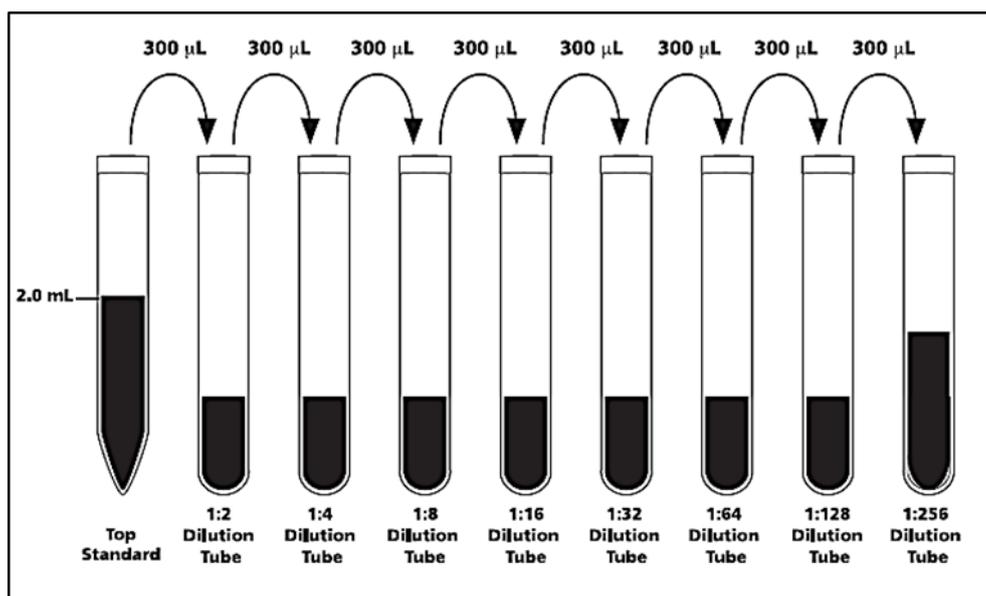


Fig. (17). Preparación de la curva estándar

- PROCEDIMIENTO:

- 1. PREPARACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR:
  - En primer lugar reconstituir el reactivo estándar humano Th1/Th2/Th17 estándar (C) con 2 ml del diluyente para las muestras (G) en un tubo cónico de polipropileno de 15 ml. Este tubo se etiqueta con el nombre de “top standard” y se incuba durante 15 minutos a temperatura ambiente. El reactivo estándar humano Th1/Th2/Th17 se compone de una concentración conocida de cada una de las citocinas que vamos a analizar. El tubo “top estándar” es el que contiene la máxima concentración de cada una de las citocinas.
  - A continuación etiquetamos otros 8 tubos de 12 x 75 mm. con la siguiente nomenclatura:
    - 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 y 1:256.
  - Seguimos añadiendo 300 µl de diluyente para muestras (G) en cada uno de los tubos anteriores y vamos desarrollando las diluciones en serie transfiriendo 300 µl desde el tubo “top standard” al tubo 1:2 y de este al 1:4 y así sucesivamente hasta terminar con el tubo 1:256 (fig. 17).
  - Concluimos preparando un último tubo de 12 x 75 mm. al que sólo se añade el diluyente para muestras (G). Este tubo será utilizado como control negativo (0 pg/ml).
  - Obtenemos así 10 tubos. Las concentraciones que se obtienen para cada una de las citocinas en cada tubo son las que reflejamos en la siguiente tabla de concentraciones (Tabla 7).

TABLA 7. TABLA DE CONCENTRACIONES

TUBO/ETIQUETA	CONCENTRACION (pg/mL)	DILUCION ESTANDAR
1	0 (control negativo)	Ninguna dilución (solo diluyente de muestras)
2	20	1:256
3	40	1:128
4	80	1:64
5	156	1:32
6	312,5	1:16
7	625	1:8
8	1250	1:4
9	2500	1:2
10	5000	“Top standard”

○ 2. PREPARACIÓN DE LA MEZCLA DE MICROESFERAS:

Las microesferas captadoras se presentan en recipientes individuales (A1-A7). Tras determinar el número de tubos de ensayo necesarios (estándar, control y uno por muestra) hay que realizar una mezcla con las siguientes proporciones:

- Añadir 10 µl de cada recipiente de las microesferas captadoras por cada tubo de ensayo, en un tubo etiquetado con el nombre de “mezcla de microesferas captadoras”.
- Este tubo se centrifuga a 200 g durante 5 minutos, se retira el sobrenadante y se sustituye por un volumen igual de “solución potenciadora del suero” (H).
- Incubar el tubo “mezcla de microesferas captadoras” durante 30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.

- 3. PROTOCOLO:
  - Etiquetar un tubo de 12 x 75 mm por cada muestra biológica con el código del paciente y uno para cada punto de la curva estándar.
  - Añadir 50  $\mu$ L de “mezcla de microesferas captadoras” a todos los tubos del ensayo.
  - Añadir 50  $\mu$ L de cada punto de la curva estándar en el tubo correspondiente.
  - Añadir 50  $\mu$ L de cada muestra de los pacientes en el tubo correspondiente.
  - Añadir 50  $\mu$ L del reactivo de detección humano Th1/Th2/Th17 PE (B) en todos los tubos.
  - Incubar los tubos durante 3 horas a temperatura ambiente y protegidos de la luz.
  - Añadir 1 ml de solución de lavado (F) a cada tubo y centrifugar a 200 g durante 5 minutos.
  - Retirar el sobrenadante y añadir nuevamente 300  $\mu$ L de solución de lavado (F) a cada tubo.
  
- 4. ADQUISICIÓN DE LAS MUESTRAS:

Para la adquisición de las muestras hemos utilizado el citómetro de flujo FacsCalibur de Becton Dickinson (Fig. 18).

Antes de la adquisición de las muestras es necesario realizar el **calibrado** del citómetro de flujo utilizando para ello los reactivos de calibración del kit (D, E1 y D2).

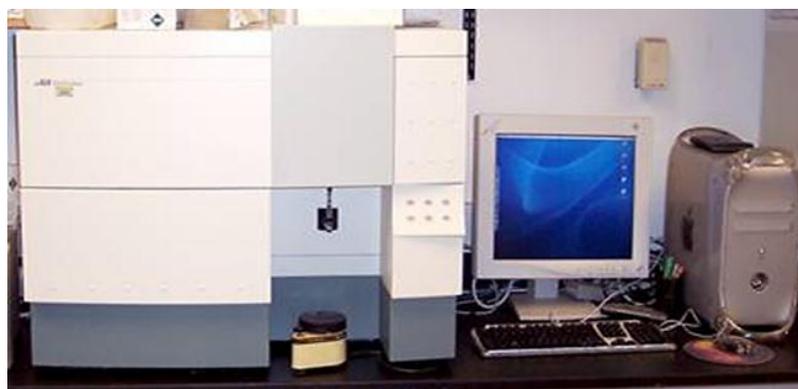


Fig. (18). Imagen del citómetro de flujo.

- En primer lugar se procede a detectar la imagen de fluorescencia de la mezcla de citocinas.
- Obtenemos a continuación las imágenes de fluorescencia del control negativo y de las diferentes concentraciones **conocidas**, para elaborar la denominada “curva estándar” para cada citocina.
- Por último se realiza la comparación de la fluorescencia de nuestras muestras con la fluorescencia de la curva estándar de cada una de las citocinas analizadas, obteniendo así la concentración de los analitos en nuestras muestras.

El programa informático utilizado para la adquisición de muestras del citómetro es el BD CellQuest software. Dicho programa nos muestra imágenes de la curva estándar similares a las mostradas en la figura 19. Las imágenes mostradas han sido tomadas del BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit Instruction Manual.

El programa de análisis utilizado para la obtención de los resultados cuantitativos es el FCAP Array software.

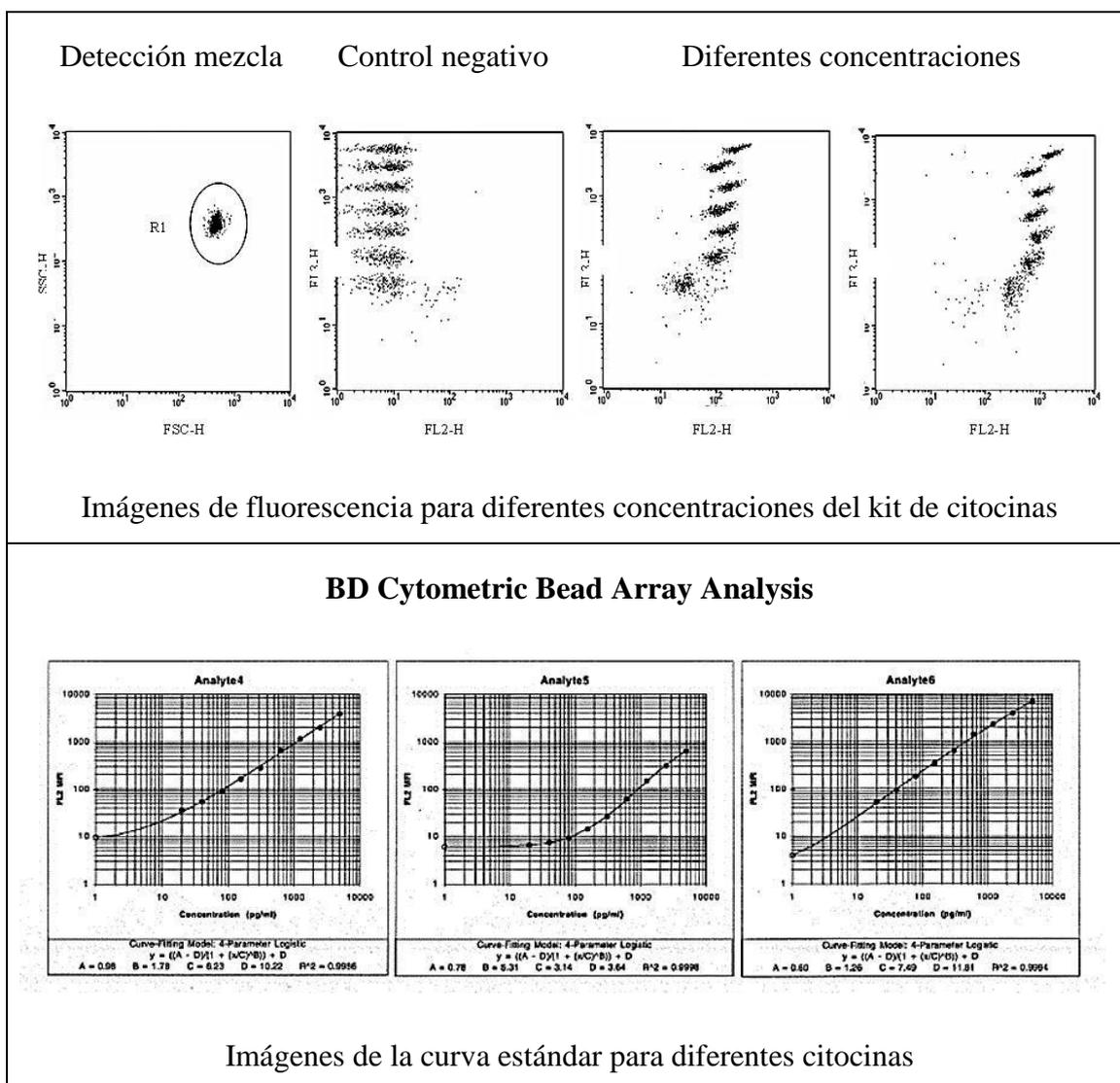


Fig. (19). Ejemplo obtención imágenes de la curva estándar

### 4.3.3 Determinación de marcadores infecciosos

Para el análisis de los marcadores infecciosos hemos recurrido a la PCR, que nos permite optimizar la detección de pequeñas trazas de ADN bacteriano y vírico. Hemos utilizado la DNA polimerasa termoestable aislada de *Thermus aquaticus*, modificada por ingeniería genética, AmpliTaq Gold de Perkin-Elmer®, que hace posible un arranque en caliente automático, incrementando la especificidad y rendimiento de la reacción.

- EXTRACCIÓN DE ADN VÍRICO Y BACTERIANO DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS. El aislamiento del DNA de las muestras de líquido subretiniano/vítreo se ha realizado mediante el método guanidina tiocianato (GTC)<sup>166</sup>:

- A 100 µl de muestra se le añaden 400 µl de tampón de extracción (5.75 M GTC [G9277; Sigma], 50 mM Tris [pH 7,4], 50 µg de glicógeno [901393; Boehringer-Mannheim] por ml, 10 µl de β-mercaptoetanol [Sigma] por ml).

- La preparación se mantiene en agitación en un termo-bloque (Thermomixer 5436; Eppendorf) durante 10 minutos a temperatura ambiente.

- A continuación se añaden 500 µl de isopropanol, siendo posteriormente agitada y centrifugada a 12000 g durante 20 minutos a temperatura ambiente.

- Se descarta el sobrenadante y el botón o “*pellet*” se lava con etanol al 80%, centrifugándose a continuación durante 2 minutos a 12000 g. Para finalizar el “*pellet*” se deja secar al aire y se resuspende en 25 µl de agua grado molecular o TE buffer.

- DISEÑO DE LOS CEBADORES (*PRIMERS*):

La síntesis de cebadores se ha realizado utilizando el software Primer 3.0.

Hemos elegido cebadores (oligonucleótidos de aproximadamente 20 nucleótidos de longitud que sirven como punto de partida para la replicación del ADN en la PCR) víricos diseñados para conseguir secuencias de DNA de, los muy ubicuos, virus humanos de la familia *alfaherpesviridae*. Las secuencias de ADN utilizadas se corresponden con los siguientes números de acceso a GenBank (base de datos de secuencias genéticas del NIH –Instituto Nacional de Salud de EEUU-):

- HSV-1, X14112; HSV-2, Z86099; EBV, V01555; CMV, M14709; HHV-8, U93872; VZV, X04370; HHV-6A, X83413; HHV-6B, AF157706, y HHV-7, U43400.

Hemos utilizado, asimismo, cebadores bacterianos universales con amplia especificidad sobre bacterias Gram (+) y Gram (-) basados en el gen ARNr 16S común en todas las bacterias (presente en la subunidad 30S del ribosoma bacteriano).

Los alineamientos de nucleótidos se comparan con BLAST (herramienta de búsqueda de alineación local básica del NIH).

Los cebadores utilizados han sido:

- El par de cebadores utilizados para HSV-1, HSV-2, EBV, CMV y HHV-8:

- HSV-P1 (5'-GTGGTGGACTTTGCCAGCCTGTACCC-3').
  - HSV-P2 (5'-TAAACATGGAGTCCGTGTCGCCGTAGATGA-3').
- Generan un amplicón (conjunto de moléculas de ADN idénticas, resultado de una reacción en cadena de la polimerasa, esencialmente se trata de un clon molecular) de 532 pares de bases (bp). Los genes diana son los de la glicoproteína D del HSV-1 y la glicoproteína G del HSV-2

- El par de cebadores utilizados para VZV:

- VZV-P1 (5'-GTCGTGTTTGATTTTCAAAGTTTATATCC-3').
  - VZV-P2 (5'-TAAACACACAATCCGTATCACCATAAATAACCT-3').
- El amplicón generado está formado por 536 pares de bases (bp). En este caso el gen-diana es el de la polimerasa del VZV.

- Para detectar la presencia de DNA bacteriano los primers utilizados:

- U1 (5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG-3'), correspondiente a los nucleótidos 518 -537 del gen ARNr 16S de *E. coli*.
  - U2 (5'-ATCGG(C/T)TACCTTGTTACGACTTC-3'), obtenido de la secuencia 1513 a 1491 del mismo gen.
- Genera un amplicón de 995 bases de pares (bp).

- REACCIÓN AMPLIFICADA DE LA PCR:

Cada reacción se ha llevado a cabo en tubos de 0,2 ml (Eppendorf) en un volumen total de 50  $\mu$ l.

- La mezcla de la reacción contiene:

- 5  $\mu$ l de 10X Cetus buffer II (Perkin-Elmer<sup>®</sup>). Mantiene pH adecuado.
- 5  $\mu$ l de 25 mM MgCl<sub>2</sub> (cofactor de la polimerasa).
- 5  $\mu$ l de una mezcla de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP). Cada dNTP se encuentra a una concentración de 2mM; Pharmacia.
- 2,5  $\mu$ l de dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma<sup>®</sup>). Contribuye a la disminución de la estructura secundaria del ADN.
- 37,5 pmol. de cada cebador.
- 0,5  $\mu$ l (2,5 U) de la polimerasa (Amplitaq Gold; Perkin-Elmer<sup>®</sup>).
- Agua destilada de grado molecular hasta completar 50  $\mu$ l.

- La mezcla madre es dividida en fracciones alícuotas y colocas en tubos para la reacción. A cada tubo se le añade 10  $\mu$ l del ADN obtenido de las muestras disuelto en agua grado molecular o TE buffer.

- Los tubos fueron colocado en un aparato termo-ciclador de PCR Stratagene Robocycler 40 (Fig. 20).



Fig. (20) Termo-ciclador para PCR

- Para la reacción correspondiente a los **cebadores HSV-P1/P2** se realiza una preincubación inicial a 95° C durante 12 minutos; a continuación se realizan 3 ciclos de 95° C 1 minuto, 60° C 1 minuto y 72° C 1 minuto, seguidos de 37 ciclos de reacción de 95° C 1 minuto, 55° C 45 segundos y 72° C 1 minuto, finalizando con una extensión final de la cadena de ADN de 72° C durante 3 minutos.
- Para la reacción correspondiente a los **cebadores VZV-P1/P2** se realiza una preincubación inicial a 95° C durante 10 minutos; a continuación se realizan 40 ciclos de 95° C 1 minuto, 47° C 1 minuto y 72° C 1 minuto, finalizando con una extensión final de 72° c durante 3 minutos.
- Para la reacción correspondiente a los **cebadores U1/U2** se realiza una preincubación inicial a 94° C durante 10 minutos; a continuación se realizan 35 ciclos de 94°C 1 minuto, 55° C 1 minuto y 72° C 2 minutos, finalizando con una extensión final de 72° C durante 10 minutos.

- De cada tubo de reacción se toman 10 µl que se colocan en pocillos de un gel de agarosa al 1,5 % teñido con Bromuro de Etidio. Terminada la **electroforesis** se coloca el gel en un transiluminador ultravioleta (Gelprinter Plus; TDI®) y se registra la imagen de las calles en soporte fotográfico.

- **Controles:**

La mezcla madre de la reacción PCR ha de pasar un **control positivo**. Se usa el amplicón diana obtenido con técnicas de clonación mediante plásmidos. Dicho control positivo ha sido realizado previamente en el laboratorio del IMIBICH/ H.U. Reina Sofía de Córdoba.

El **control negativo** se realiza mediante controles en blanco en los cuales se añade agua bidestilada en lugar de ADN muestra.

- Precauciones contra la **contaminación**: El alto nivel de sensibilidad de la PCR puede producirnos fácilmente falsos positivos por contaminación de las muestras. Para evitar esta contaminación cruzada es necesario seguir de forma escrupulosa una normativa estricta (usar lugares diferentes para la preparación de las muestras, la amplificación y el análisis del material amplificado; usar juegos completos e independientes de pipetas así como puntas con filtro; el uso de lámparas de luz UV y campana de flujo laminar) y realizar comprobaciones de controles negativos.

## 4.4 MÉTODO ESTADÍSTICO

Los datos con la información clínica de los pacientes y controles se encuentran recogidos en el apéndice 4.

Los datos globales obtenidos con el análisis biológico (citocinas) de las muestras fueron incluidos en sendas tablas, plasma y humor vítreo/LSR para cada uno de los grupos estudiados: control, DR sin PVR y DR con PVR (quedan recogidos en el apéndice 5).

El paciente identificado con la etiqueta 14 fue eliminado del análisis estadístico posterior por presentar cifras muy extremas en la antigüedad del desprendimiento de retina (aproximadamente un año) dentro del total de la muestra que hemos presentado en nuestro estudio (rango 4 -90 días).

El análisis estadístico de los datos ha consistido en:

1.- **Análisis descriptivo** con cálculo de frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas (edad, sexo) y media  $\pm$  desviación típica para las variables cuantitativas (antigüedad del desprendimiento, nº de cuadrantes y la variable principal: concentración de citocinas). Hemos realizado comparaciones de porcentajes utilizando la prueba Ji-cuadrado para las tablas de contingencia.

2.- **Comparaciones** de los valores medios entre los tres grupos mediante la prueba de Kruskal-Wallis; en el caso de dar resultado significativo, las comparaciones a posteriori se han realizado con los test de Mann-Whitney. Para las representaciones gráficas se han empleado diagramas de caja en los que se representa la mediana y el rango intercuartílico.

3.- Se ha realizado un **análisis de covarianza** para comparar los subgrupos de pacientes (con y sin PVR) considerando como covariables el nº de cuadrantes afectados por el desprendimiento de retina y la antigüedad, dado que eran homogéneos en lo referente a la edad y sexo.

4.- Para determinar la relación entre los niveles IL-6 (única citocina en la que se encontraron diferencias significativas) en plasma y humor vítreo en cada grupo se han realizado **correlaciones bivariadas**, mediante el estadístico Rho ( $\rho$ ) de Spearman.

En todas las pruebas estadísticas se consideraron significativos los valores de  $p < 0,05$  y los contrastes de hipótesis fueron bilaterales.

Para el análisis de los datos se utilizó el software PASW-Statistic 18.0.

## 4.5 OBTENCIÓN BIBLIOGRÁFICA

Para la revisión bibliográfica hemos utilizado el sistema MEDLARS<sup>®</sup> (MEDical Literature Analysis and Retrieval System -Análisis de la literatura médica y Sistemas de Recuperación de Datos-) en concreto su sistema de información por ordenador MEDLINE<sup>®</sup> (MEDlars onLINE), primer banco de datos de NLM (National Library of Medicine -Biblioteca Nacional de Medicina-) de los Estados Unidos.

Para la búsqueda he utilizado varias entradas o encabezamientos “descriptores” (palabras clave estandarizadas) MeSH (Medical Subject Headings) del Index Medicus. El acceso a internet se ha realizado a través de:

- la página de pubmed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed>
- y del medline semántico: <http://www.semanticmedline.com/>

El material bibliográfico fue obtenido gracias:

- Fondo bibliográfico de la Biblioteca de la Facultad de Medicina de la Universidad de Córdoba.
- Fondo bibliográfico del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.
- La BV-SSPA (Biblioteca virtual del Sistema Sanitario Público de Andalucía).



## **5. RESULTADOS**



## 5.1 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

Originariamente contábamos con 50 pacientes (25 DR sin PVR y 25 DR con PVR) y 15 controles. De ellos tuvieron que ser desechados por errores en la recogida de muestras 4 pacientes del grupo DR con PVR y 1 del grupo control. Otros 2 pacientes más del grupo DR con PVR no se han contabilizado por mala manipulación posterior de la muestra. Contamos así con 44 pacientes (25 DR sin PVR y 19 DR con PVR) que cumplían los criterios de selección antes mencionados y 14 controles (7 con AMI y 7 con MEM). Del grupo DR con PVR, se eliminó además el paciente identificado con el nº 14, por presentar valores muy extremos en el tiempo de evolución, dentro del contexto de nuestra muestra.

Las características de los pacientes las reflejamos a continuación en la tabla 8.

TABLA 8. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-DEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES

	Grupo Control (n= 14)	Pacientes DR sin PVR (n= 25)	Pacientes DR con PVR (n= 18)	P
Edad (años) Media $\pm$ DT (Mínimo-Máximo)	66,6 $\pm$ 10,1 (44-75)	61,0 $\pm$ 15,1 (28-84)	60,0 $\pm$ 14,7 (34-88)	<b>0,37</b>
Sexo Nº hombres (%)	3 (21,4%)	14 (56,0%) <sup>a</sup>	12 (66,7%) <sup>a</sup>	<b>0,031</b>
Nº cuadrantes Media $\pm$ DT (Mínimo-Máximo)		2,4 $\pm$ 0,5 (2-3)	2,8 $\pm$ 0,6 (2-4)	<b>0,020*</b>
Antigüedad (días) Media $\pm$ DT (Mínimo-Máximo)		10,9 $\pm$ 5,0 (4-22)	30,6 $\pm$ 9,8 (20-60)	<b>&lt;0,001*</b>
DT= Desviación típica. DR = Desprendimiento de retina. PVR= Proliferación vítreoretiniana. P= Significación obtenida mediante análisis de varianza (variables cuantitativas) y la prueba Ji-cuadrado para tablas de contingencia (variable cualitativa). P*= Significación obtenida mediante la prueba <i>t de Student</i> para muestras independientes. a= diferencias significativas (P<0,05) frente al grupo control.				

Del total de la población estudiada 29 eran hombres (50,9%) y 28 mujeres (49,1%). Los grupos no eran homogéneos en la distribución por sexos (en el grupo control la proporción de hombres fue del 21,4%, en el grupo DRR sin PVR los hombres eran el 56% y en el grupo DRR con PVR los hombres eran el 66,7 %).

La edad media en el grupo control fue de 66,6 años  $\pm$  10,1 (media  $\pm$  desviación típica), en el grupo DR sin PVR fue de 61,0 años  $\pm$  15,1 y en el grupo DR sin PVR 60,0 años  $\pm$  14,7.

La extensión del DRR se midió según el número de cuadrantes desprendidos. Fueron más extensos los desprendimientos en el grupo con PVR. El número de cuadrantes afectados por el DR fue de  $2,4 \pm 0,5$  en el grupo DR sin PVR y de  $2,8 \pm 0,6$  en el grupo DR con PVR (con diferencias significativas).

La antigüedad del desprendimiento fue mayor también el grupo con PVR. El tiempo de evolución en días fue de  $10,9 \pm 5,0$  (grupo DR sin PVR) y de  $30,6 \pm 9,8$  (grupo DR con PVR), con una clara significación.

## 5.2 ESTUDIO DE CITOCINAS SOLUBLES INTRAOCULARES

Los valores de las citocinas en fluidos oculares obtenidos en el laboratorio quedan reflejados en la tabla 9.

TABLA 9. CONCENTRACIONES DE CITOCINAS EN HUMOR VÍTREO/LSR

	Grupo Control (n= 14)	Pacientes Grupo DR sin PVR (n= 25)	Pacientes Grupo DR con PVR (n= 18)	P
IL-2 (pg/ml)	0,4 ± 0,5	0,3 ± 0,6	0,5 ± 0,9	<b>0,16</b>
IL-4 (pg/ml)	0,4 ± 0,4	0,4 ± 0,8	0,6 ± 1,2	<b>0,29</b>
IL-6 (pg/ml)	5,4 ± 4,3	(49,0 ± 25,6) <sup>a</sup>	(396,1 ± 228,1) <sup>a, b</sup>	<b>&lt;0,001</b>
IL-10 (pg/ml)	0,6 ± 0,8	0,5 ± 0,9	1,0 ± 1,6	<b>0,72</b>
IL-17 (pg/ml)	4,7 ± 7,1	6,8 ± 12,1	7,0 ± 11,5	<b>0,93</b>
IFN- γ (pg/ml)	0,8 ± 0,9	0,8 ± 1,4	1,6 ± 2,2	<b>0,20</b>
TNF (pg/ml)	0,5 ± 0,9	0,4 ± 0,7	1,0 ± 1,5	<b>0,20</b>

**DR= Desprendimiento de retina. PVR = Proliferación vitreorretiniana.**  
**IL= Interleucina. IFN = Inmunofeón. TNF = Factor de necrosis tumoral.**  
**Los datos se expresan como media y desviación típica. P = Significación obtenida mediante la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba de Mann-Whitney para las comparaciones post-hoc**  
**(a= diferencias significativas (P<0,001) frente al grupo Control, b= diferencias significativas frente al grupo DR sin PVR.**

Nuestro análisis de las diferentes citocinas solubles en los fluidos oculares, sólo presenta variaciones significativas para la interleucina-6.

Los datos encontrados en nuestro estudio muestran cifras de 5,4 ± 4,3 pg/ml para el grupo control, 49,0 ± 25,6 pg/ml para el grupo de pacientes con DR sin PVR y de 396,1 ± 228,1 pg/ml para el grupo de pacientes con DR y PVR.

El mismo análisis realizado en las muestras de plasma no presentó diferencias significativas. Los resultados son presentados en la tabla 10.

TABLA 10. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LAS CITOCINAS

	Grupo Control (n= 14)	Pacientes Grupo DR sin PVR (n= 25)	Pacientes Grupo DR con PVR (n= 18)	<i>P</i>
IL-2(pg/ml)	0,6 ± 0,6	0,9 ± 1,0	0,6 ± 0,8	<b>0,82</b>
IL-4(pg/ml)	0,5 ± 0,9	0,7 ± 1,3	0,3 ± 0,2	<b>0,66</b>
IL-6(pg/ml)	0,8 ± 1,7	1,4 ± 2,0	5,8 ± 17,3	<b>0,57</b>
IL-10(pg/ml)	1,1 ± 1,3	1,1 ± 2,0	0,7 ± 1,1	<b>0,50</b>
IL-17(pg/ml)	47,5 ± 171,7	14,5 ± 33,1	1,6 ± 3,7	<b>0,62</b>
IFN-γ (pg/ml)	0,8 ± 1,0	1,1 ± 1,2	0,5 ± 0,6	<b>0,80</b>
TNF (pg/ml)	0,7 ± 1,1	0,9 ± 1,0	1,1 ± 1,7	<b>0,86</b>
<b>DR= Desprendimiento de retina. PVR = Proliferación vitreorretiniana.</b> <b>IL= Interleucina. IFN = Inmunoforon. TNF = Factor de necrosis tumoral.</b> <b>Los datos se expresan como media y desviación típica.</b> <b>P = Significación obtenida mediante la prueba de Kruskal-Wallis</b>				

Para la representación gráfica de los resultados anteriores hemos recurrido a diagramas de caja, donde se muestran la mediana y el rango intercuartílico. En las siguientes figuras (21-27) se muestran los valores de las diferentes citocinas en los fluidos oculares y plasma.

## Resultados

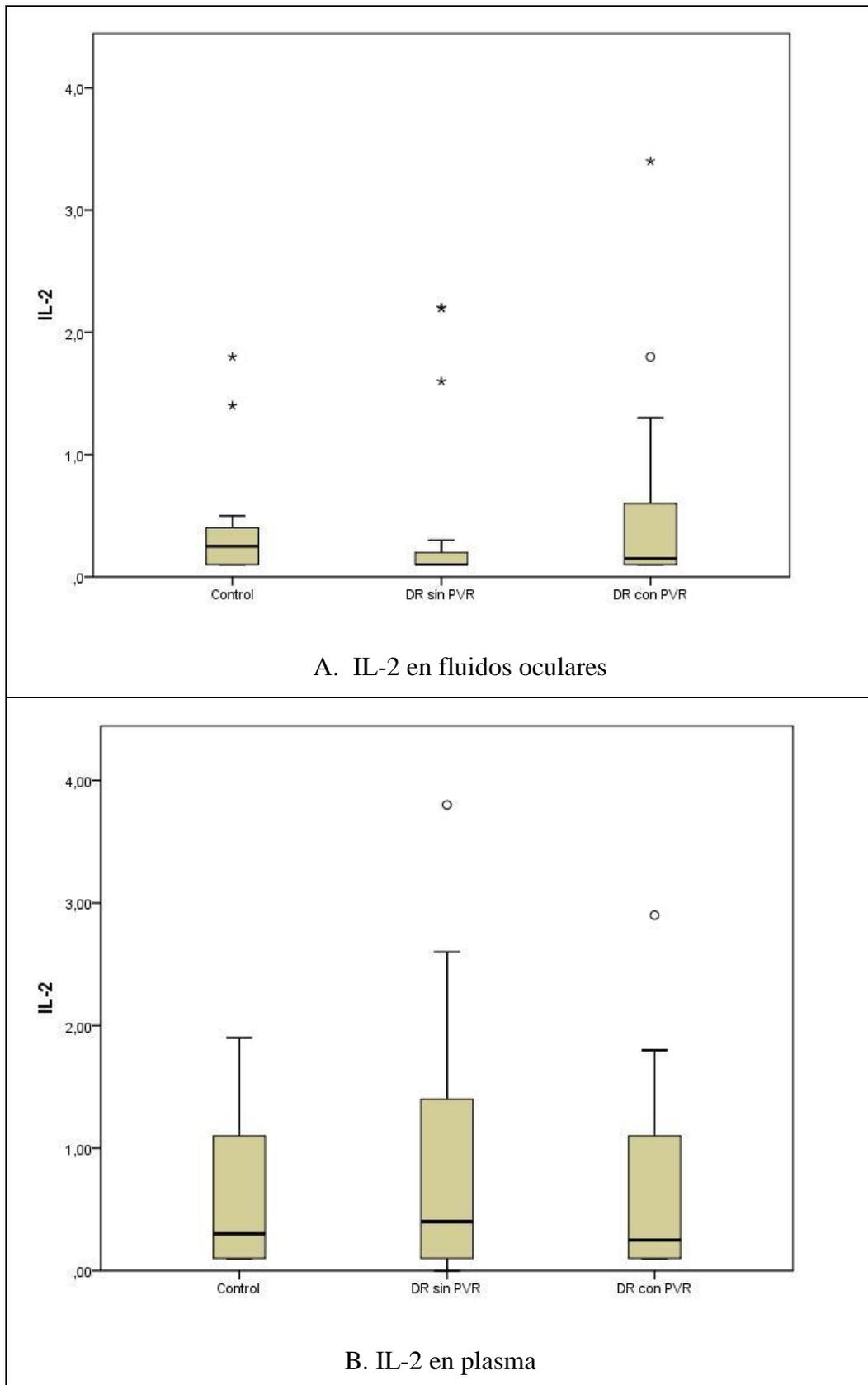


Fig. (21). Resultados de IL-2

## Resultados

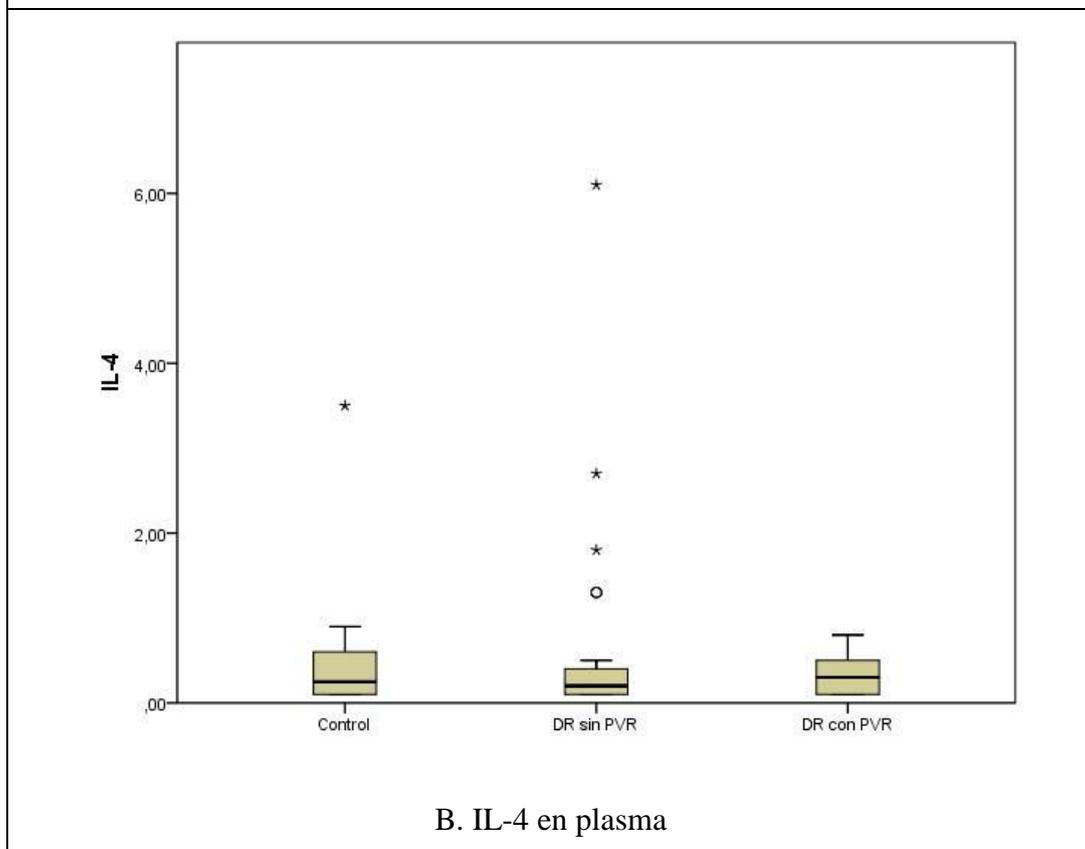
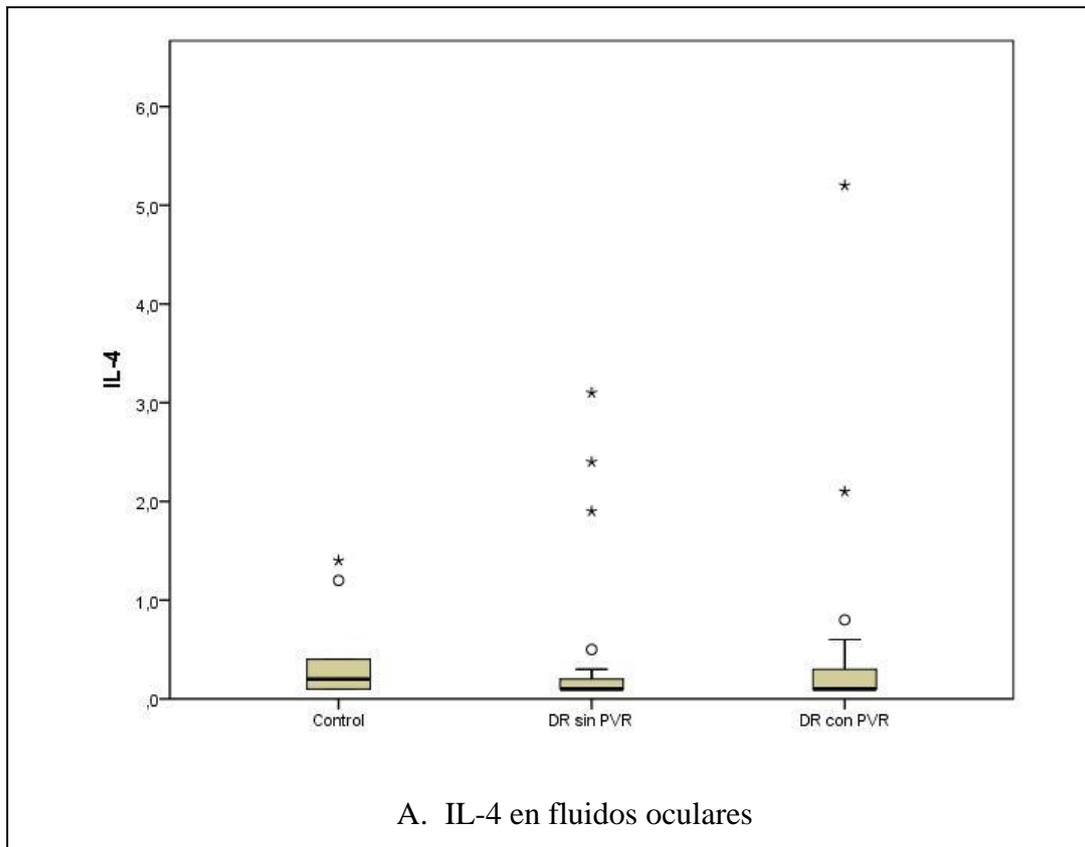


Fig. (22). Resultados IL-4

## Resultados

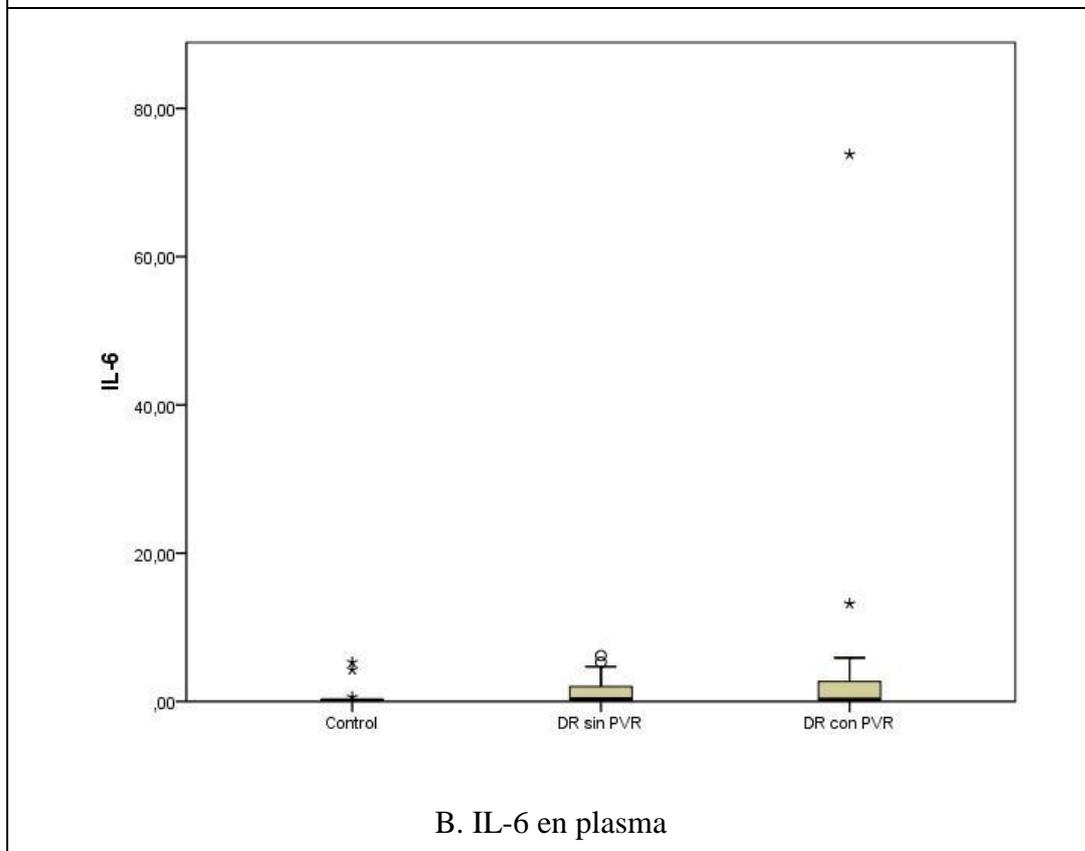
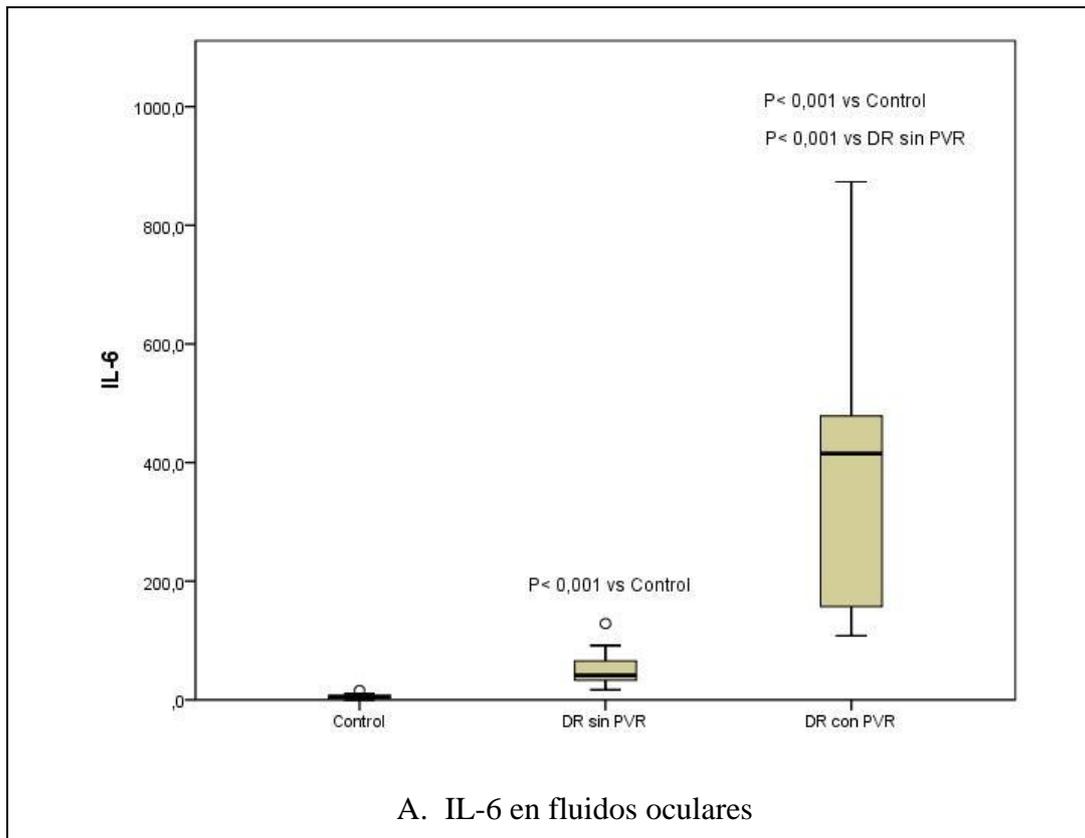
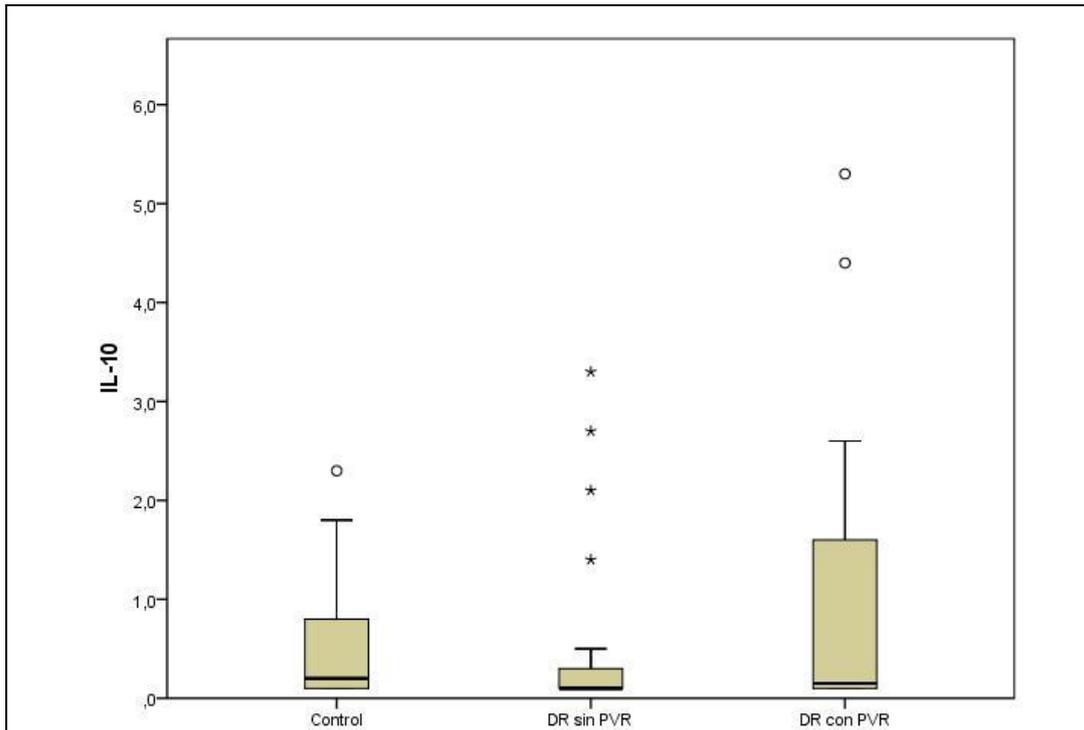
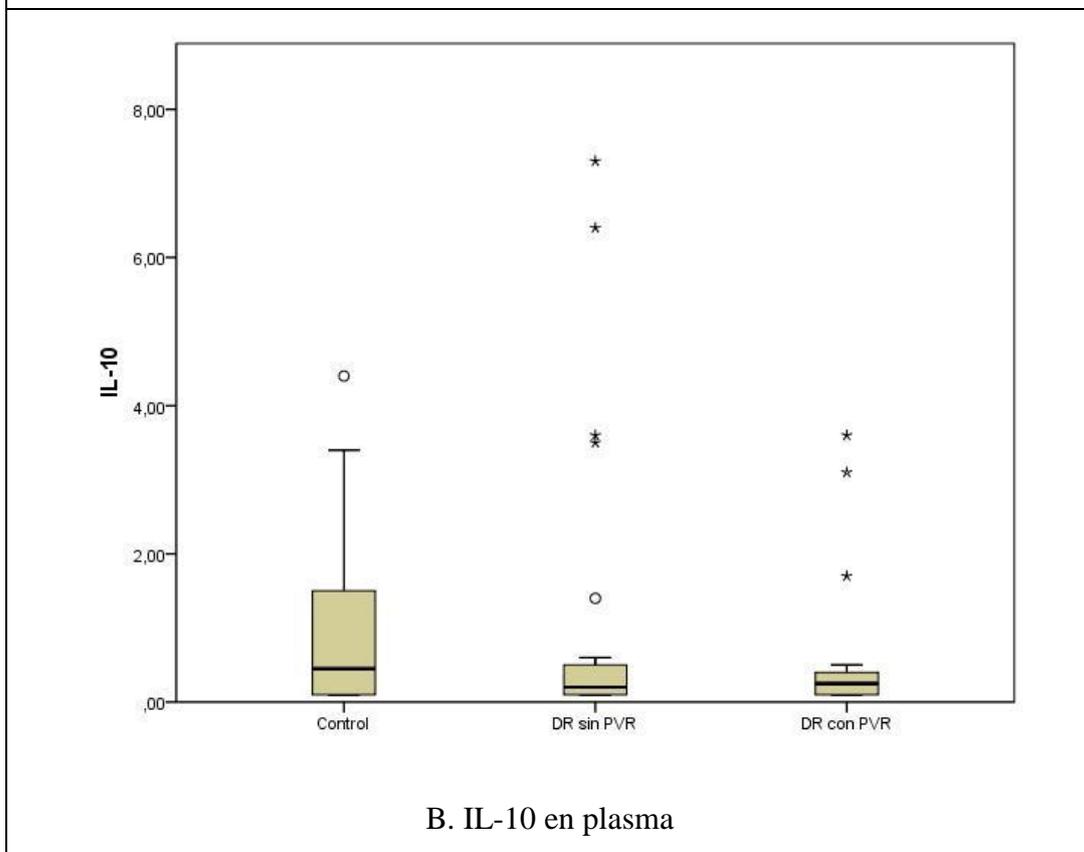


Fig. (23). Resultados IL-6

Resultados



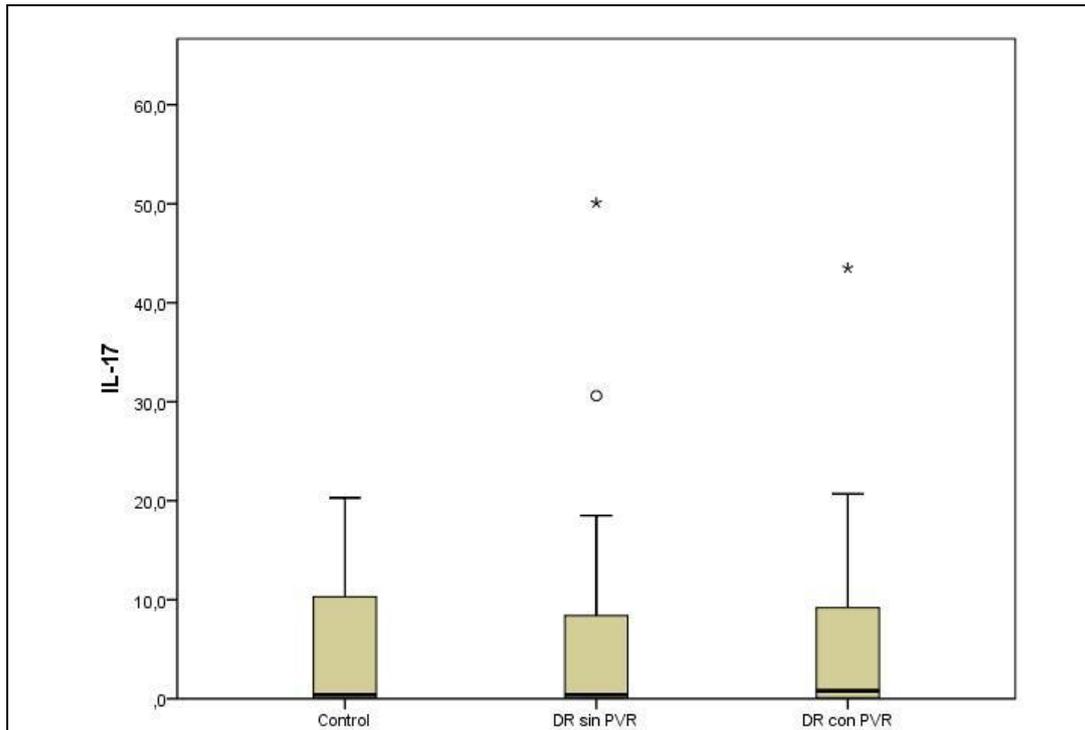
A. IL-10 en fluidos oculares



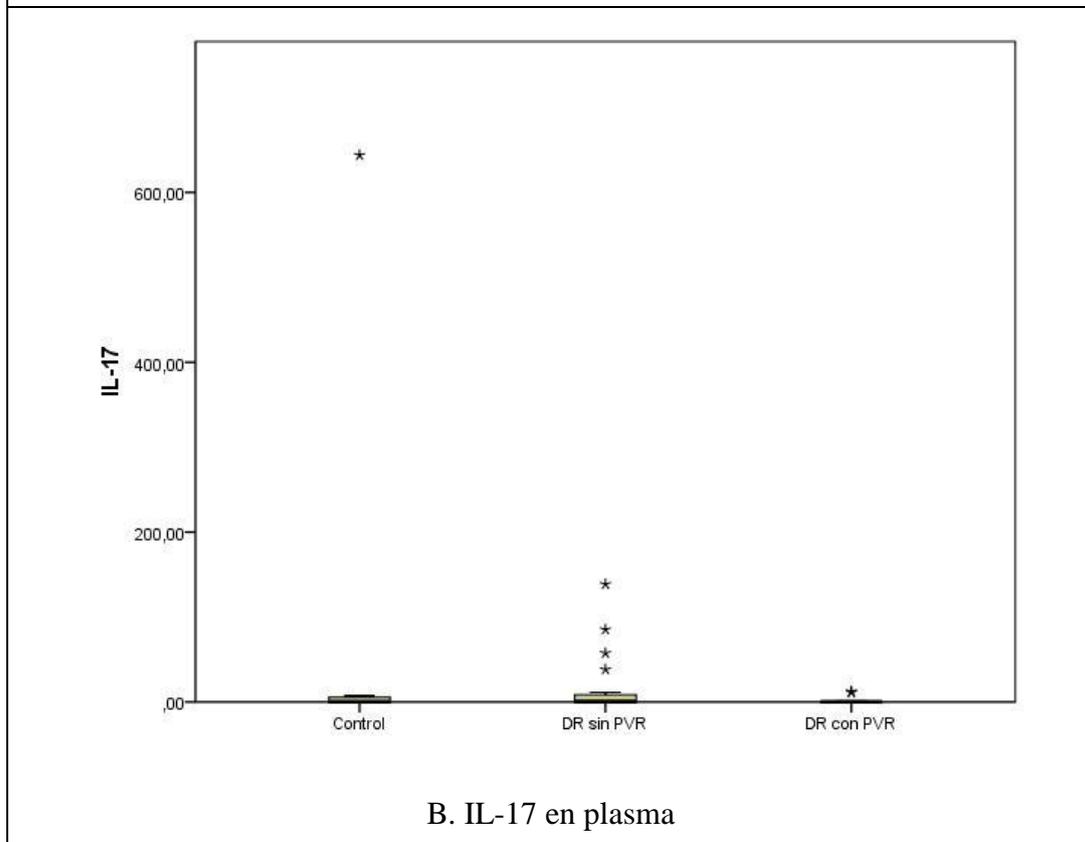
B. IL-10 en plasma

Fig. (24). Resultados IL-10

Resultados



A. IL-17 en fluidos oculares



B. IL-17 en plasma

Fig. (25). Resultados IL-17

Resultados

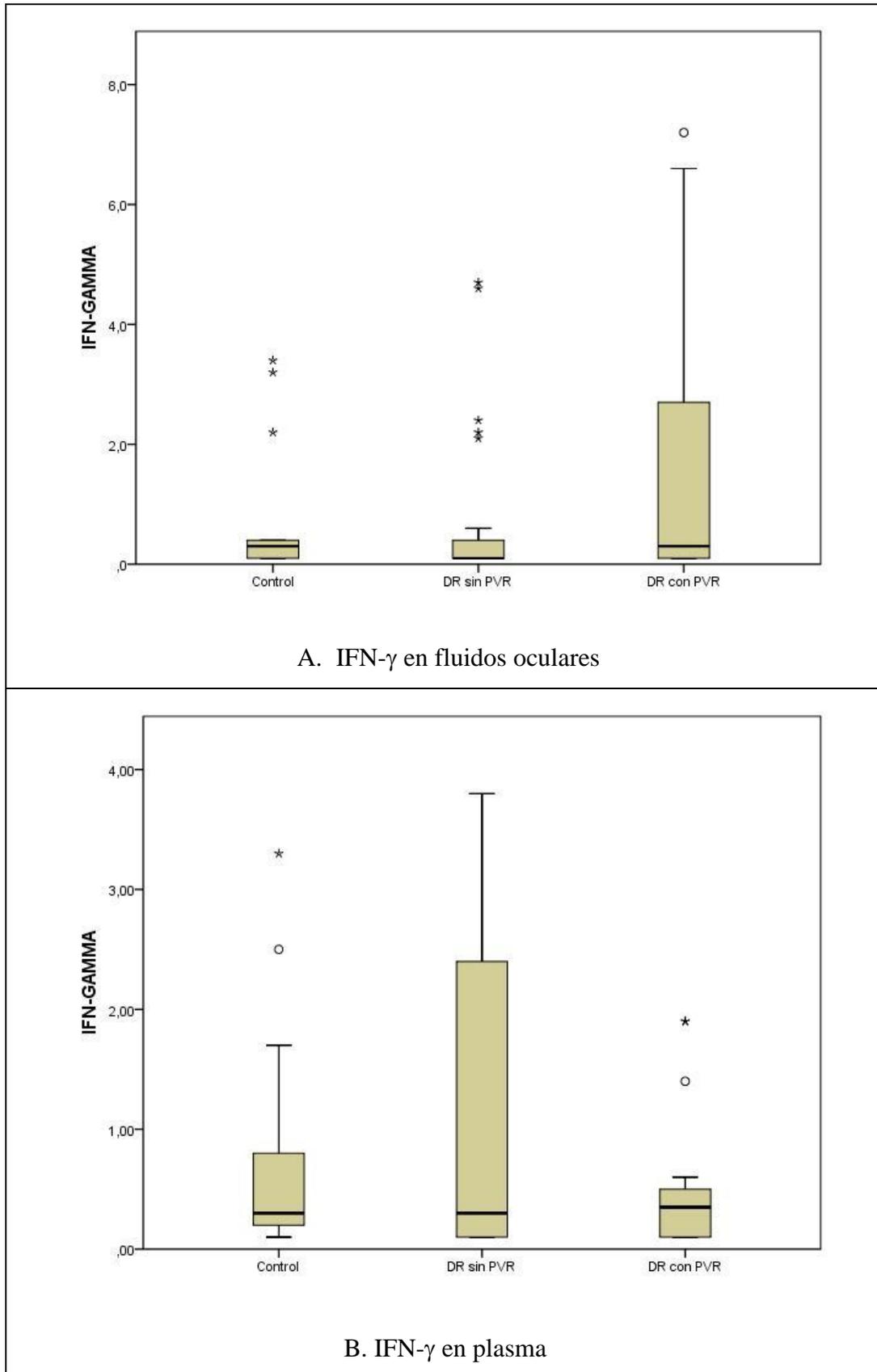


Fig. (26). Resultados IFN- $\gamma$

## Resultados

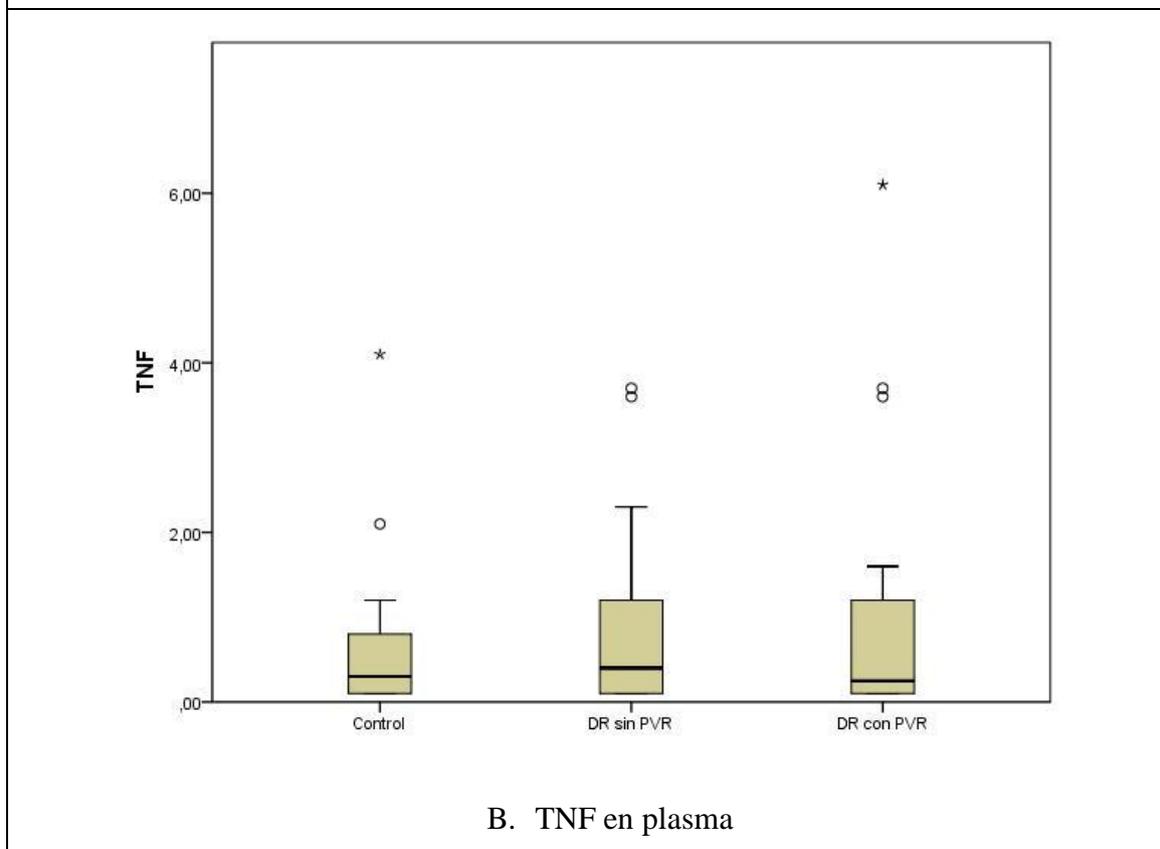
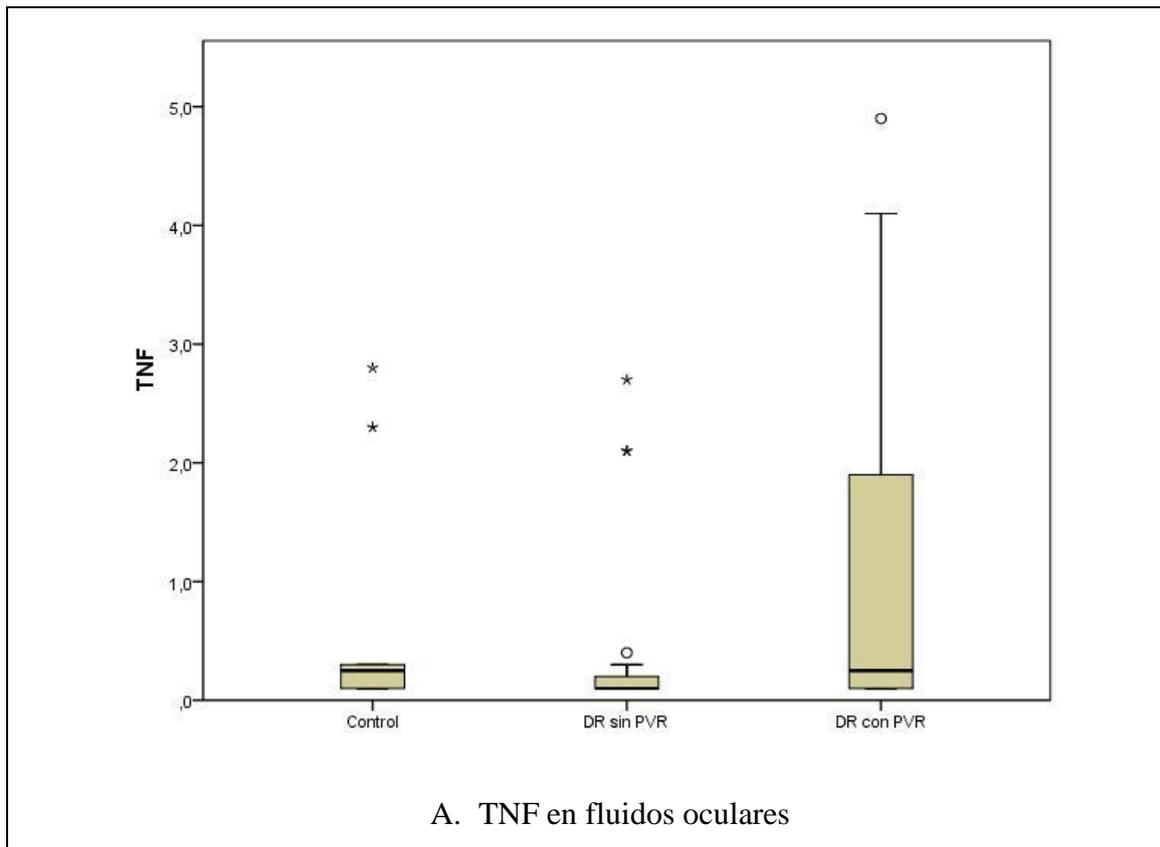


Fig. (27). Resultados TNF

Para comparar los subgrupos de pacientes (DR con y sin PVR) se ha realizado un análisis de covarianza, considerando como covariables el número de cuadrantes y la antigüedad del desprendimiento, dado que estos grupos eran homogéneos en lo referente a edad y sexo.

Como mostramos en la tabla 11 los niveles de IL-6 en fluidos oculares están incrementados (significativamente) en el grupo con DR y PVR con respecto a los que no tenían PVR, por término medio, en 248,1 pg/ml (IC95% 90,9 a 405,2 pg/ml), el análisis para el resto de citocinas no mostró diferencias significativas.

TABLA 11. ANÁLISIS DE COVARIANZA, CITOCINAS EN FLUIDOS OCULARES

	Pacientes Grupo DR sin PVR (n= 25)	Pacientes Grupo DR con PVR (n= 18)	<i>P</i>
IL-2 (pg/ml)	0,2 ± 1,0	0,8 ± 1,1	<b>0,14</b>
IL-4 (pg/ml)	0,2 ± 1,3	0,9 ± 1,5	<b>0,19</b>
IL-6 (pg/ml)	90,4 ± 193,7	338,5 ± 214,1 <sup>a</sup>	<b>0,003</b>
IL-10 (pg/ml)	0,4 ± 1,6	1,2 ± 1,8	<b>0,21</b>
IL-17 (pg/ml)	4,8 ± 15,8	9,7 ± 17,4	<b>0,44</b>
IFN-γ (pg/ml)	0,5 ± 2,4	2,0 ± 2,6	<b>0,14</b>
TNF (pg/ml)	0,4 ± 1,5	1,1 ± 1,6	<b>0,21</b>
<p><b>DR= Desprendimiento de retina. PVR = Proliferación vitreorretiniana.</b>  <b>IL = Interleucina. IFN = Inmunoferrón. TNF: Factor de necrosis tumoral.</b>  <b>Significación obtenida mediante análisis de covarianza.</b>  <u><b>Medias y desviaciones típicas ajustadas por nº de cuadrantes y antigüedad del desprendimiento.</b></u></p>			

Por otra parte, como muestra la tabla 12, no encontramos diferencias significativas si realizamos el mismo análisis de covarianza a los niveles de citocinas en plasma.

TABLA 12. ANÁLISIS DE COVARIANZA, CITOCINAS PLASMÁTICAS

	Pacientes Grupo DR sin PVR (n= 25)	Pacientes Grupo DR con PVR (n= 19)	<i>P</i>
IL-2 (pg/ml)	1,1 ± 1,2	0,3 ± 1,3	<b>0,12</b>
IL-4 (pg/ml)	0,4 ± 1,3	0,7 ± 1,5	<b>0,63</b>
IL-6 (pg/ml)	2,0 ± 14,4	4,9 ± 15,9	<b>0,62</b>
IL-10 (pg/ml)	1,5 ± 2,2	0,1 ± 2,4	<b>0,12</b>
IL-17 (pg/ml)	17,6 ± 34,0	-2,7 ± 37,6	<b>0,15</b>
IFN- $\gamma$ (pg/ml)	0,8 ± 1,3	1,0 ± 1,4	<b>0,71</b>
TNF (pg/ml)	1,0 ± 1,8	0,8 ± 2,0	<b>0,78</b>
<p><b>DR= Desprendimiento de retina. PVR = Proliferación vitreorretiniana.</b>  <b>IL = Interleucina. IFN = Inmunoferrón. TNF: Factor de necrosis tumoral.</b>  <b>Significación obtenida mediante análisis de covarianza.</b>  <u><b>Medias y desviaciones típicas ajustadas por nº de cuadrantes y antigüedad del desprendimiento.</b></u></p>			

Para terminar, hemos analizado la posible relación entre los niveles IL-6 (única citocina en la que hemos encontrado diferencias significativas en los diferentes grupos) en plasma y humor vítreo/LSR para cada uno de los grupos. Para ello se han realizado correlaciones bivariadas mediante el estadístico Rho de Spearman.

Los resultados obtenidos quedan reflejados en la tabla 13:

- El análisis estadístico de correlación no nos permite afirmar que exista correlación entre los niveles plasmáticos y los hallados en fluidos oculares en el grupo de pacientes de DR con PVR (Rho = -0,23 / P = 0,36).
- En el grupo control encontramos correlación con significación débil (Rho = 0,53 / P= 0,049).
- En el grupo de DR sin PVR la correlación obtenida tiene una significación de Rho = 0,45 / P = 0,022.

Resultados

TABLA 13. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN: NIVELES DE IL-6 PLASMÁTICOS E INTRAOCULARES

Grupo			IL-6 (Humor vítreo)	
<b>Control</b>	Rho de Spearman	<b>IL-6 (Plasma)</b>	Coefficiente de correlación	,535*
			Sig. (bilateral) P=	,049
			N	14
<b>DR sin PVR</b>	Rho de Spearman	<b>IL-6 (Plasma)</b>	Coefficiente de correlación	,455*
			Sig. (bilateral) P=	,022
			N	25
<b>DR con PVR</b>	Rho de Spearman	<b>IL-6 (Plasma)</b>	Coefficiente de correlación	-,230
			Sig. (bilateral) P=	,359
			N	18

### 5.3 ESTUDIO DE MARCADORES INFECCIOSOS

- Los resultados de la PCR para los cebadores HSV, no han dado resultado positivo en ninguna de nuestras muestras.
- Los resultados de la PCR para los cebadores VZV han dado resultado positivo en dos casos (los identificados como nº 10 y 48) correspondientes a un paciente del grupo DR con PVR y otro del grupo DR sin PVR respectivamente.
- Los resultados de la PCR para los cebadores pan-bacterianos universales fueron positivos en 27 muestras (los identificados con los nº 4, 6, 8, 10, 11, 12, 14, 19, 20, 25, 27, 29, 30, 31, 34, 35, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 57 y 59) correspondientes a 11 muestras del grupo control (6 AMI y 5 MEM), 7 del grupo DR con PVR y 8 del grupo DR sin PVR respectivamente.

Estos resultados no permiten encontrar relación entre causas infecciosas y los grupos DR con y sin PVR. Por el contrario los resultados muestran significación, en la positividad del ADN bacteriano, en favor del grupo control con respecto a los dos grupos de pacientes. Los datos anteriores quedan reflejados en la siguiente tabla de contingencia (tabla 14) y representados en el diagrama de barras de la figura 28.

TABLA 14. RESULTADOS PCR PARA CEBADORES PAN-BACTERIANOS

	Grupo control (n= 14)	Pacientes DR sin PVR (n= 25)	Pacientes DR con PVR (n= 18)	<i>P</i>
<b>ADN Bacteriano +</b>	11 (78,6%) IC95%= 49,2 a 95,3%	8 (32%) <sup>a</sup> IC95%= 14,9 a 53,5%	7 (36,8%) <sup>a</sup> IC95%= 16,3 a 61,6%	<b>0,014</b>
<b>Significación obtenida mediante la prueba Ji-cuadrado para tablas de contingencia y pruebas a posteriori con corrección de Bonferroni por múltiples comparaciones.</b> <b>a= diferencia significativa frente al control</b> <b>IC95% = Intervalo de confianza al 95% de seguridad.</b>				

## Resultados

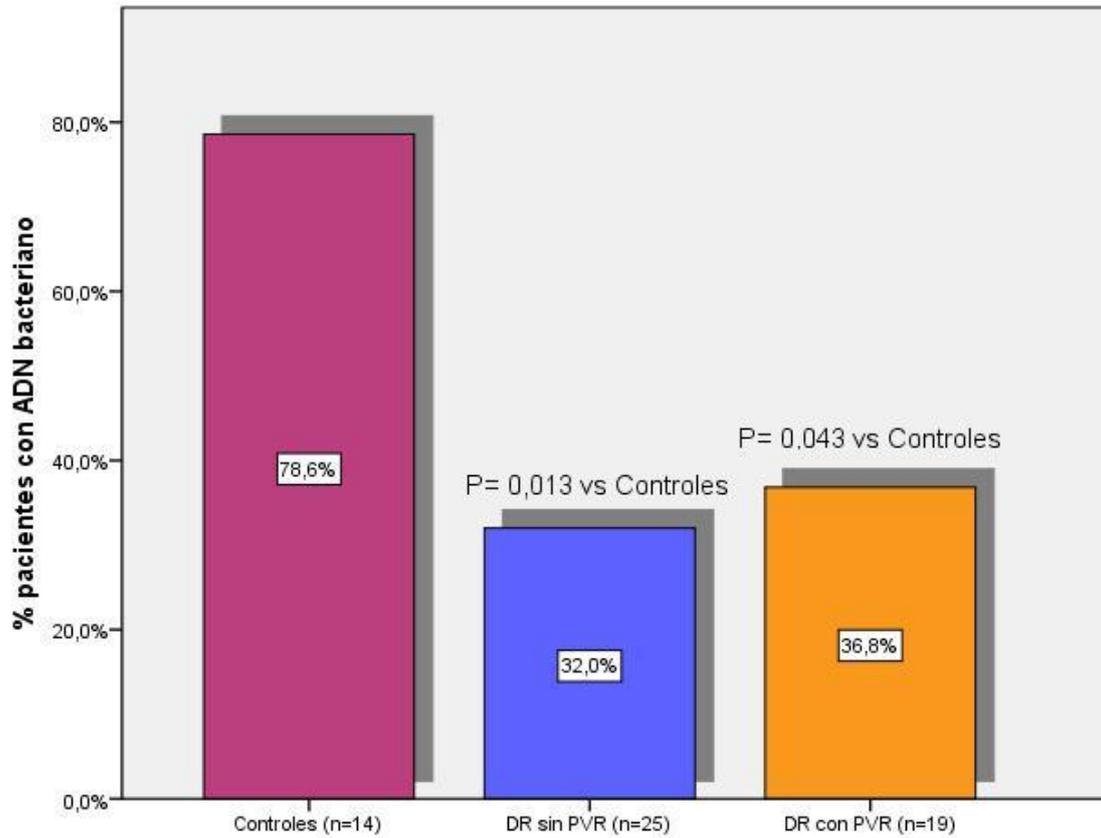


Fig. (28). Resultados positivos en la detección de ADN bacteriano.

Para terminar mostramos la imagen de electroforesis en gel de agarosa (Fig. 29), donde se observan de izquierda a derecha (ver flechas indicativas en azul):

- Una calle del control negativo para ADN bacteriano,
- Cuatro muestras representativas positivas de ADN bacteriano,
- La calle del marcador de pares de bases de ADN representativo de VZV,
- Las dos muestras positivas para VZV y
- Una calle con el control negativo para VZV.

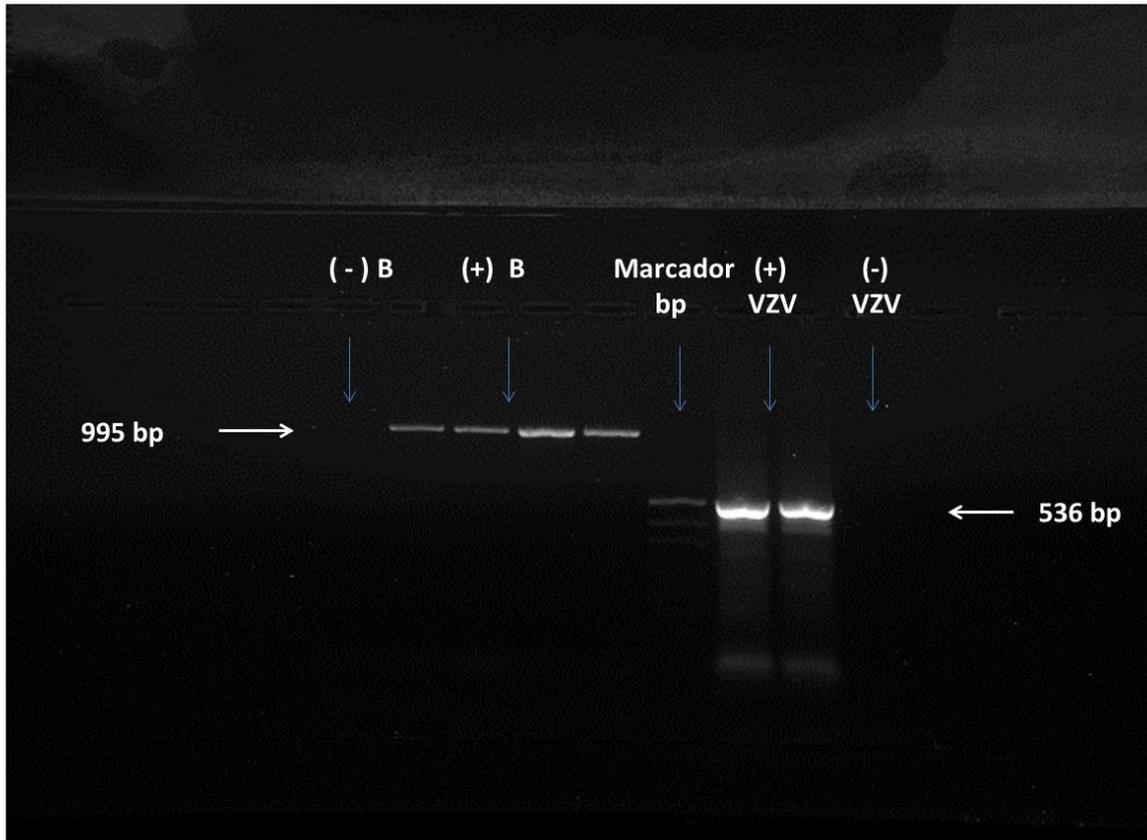


Fig. (29). Electroforesis en gel de agarosa



## **6.- DISCUSIÓN**



## 6.1 CITOCINAS

En nuestro estudio los niveles encontrados en fluidos intraoculares de IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, IFN- $\gamma$  y TNF no reflejaron diferencias significativas entre los tres grupos (control, DR sin PVR y DR con PVR).

Por el contrario, hemos encontrado diferencias significativas en los valores de IL-6. Las cifras obtenidas en nuestro estudio son  $5,4 \pm 4,3$  pg/ml en el grupo control,  $49,0 \pm 25,6$  pg/ml (9 veces más) en el grupo DR sin PVR y de  $396,1 \pm 228,1$  pg/ml (70 veces más que el grupo control y 8 veces más que el grupo DRR sin PVR) en el grupo DR con PVR.

Los valores ajustados según extensión (nº de cuadrantes afectados) y antigüedad del DRR mostraron cifras incrementadas en  $248,1$  pg/ml (con un IC95% de 90,9 a 405,2 pg/ml) en los pacientes con PVR con respecto a los que no tenían PVR.

Los trabajos realizados en los últimos veinte años, nos muestran cifras elevadas de diferentes citocinas en los pacientes que presentan o desarrollan PVR. Los investigadores sugieren, que las vías de la inflamación mediadas por citocinas, estarían involucradas en las patogénesis del DRR complicado con PVR.

Limb GA (1991)<sup>99</sup> refleja cifras elevadas de IL-6, IL-1 e IFN- $\gamma$  en muestras de vitrectomía de pacientes con DRR complicado con PVR (18 ojos), en relación a muestras de DRR sin PVR (15 ojos). A diferencia de nuestro trabajo, utiliza como control muestras vítreas de cadáveres (15 ojos) sin patología ocular conocida. En nuestro estudio las cifras de IFN- $\gamma$  fueron normales, encontrando solamente diferencias significativas en el caso de la IL-6.

Kauffmann DJH (1994)<sup>100</sup> también encontró cifras elevadas de IL-6 en pacientes con PVR (cifras de  $91,5 \pm 18$  pg/ml). Las muestras utilizadas en su estudio fueron obtenidas del vítreo sin diluir de pacientes con diferentes patologías como hemorragia vítrea, degeneración macular, oclusión venosa, “pucker” macular, retinopatía diabética proliferante (RDP), DRR y PVR (divididos en tres grupos: 16 PVR, 18 RDP y 11 misceláneas).

Bakunowicz-Lazarczyk A<sup>101, 102</sup> mostró cifras elevadas significativamente de IL-6 en pacientes con DRR en relación con el tiempo de evolución (5-8 semanas). El estudio se realizó sobre LSR de 36 pacientes con DRR, divididos en función del tiempo de evolución.

Keranova B (1997)<sup>103</sup> presenta cifras de IL-6 e IFN- $\gamma$  dos veces más elevadas en el fluido subretiniano de pacientes con DRR simple (6 ojos) frente al control y seis veces superiores en ojos con PVR (14 ojos). Como control utilizó, como Limb GA<sup>99</sup>, el aspirado vítreo por pars plana de 10 ojos de cadáver sin patología conocida. A diferencia de nosotros y como en los trabajos de Limb GA<sup>99</sup>, además de la IL-6, las cifras de IFN- $\gamma$  fueron también elevadas.

Kon CH (1999)<sup>104</sup> encuentra niveles elevados de IL-6 y proteínas en pacientes que desarrollaron PVR postoperatoria. En este estudio prospectivo sobre 140 pacientes sometidos a cirugía reparadora del DRR. Los pacientes fueron seguidos durante los tres meses posteriores a la intervención quirúrgica.

La Heij EC investiga la presencia de b-FGF, IL-6 y la actividad de la glutamino-sintetasa en 96 ojos con DRR<sup>105</sup> y 53 ojos con PVR<sup>106</sup>. Obtiene una relación directa, al igual que nosotros, de las cifras de IL-6 con la extensión del DRR (número de cuadrantes afectados). Los pacientes con PVR obtuvieron cifras elevadas de IL-6, b-FGF y proteínas totales. Igual que nosotros, en sus trabajos, usa como controles el vítreo de pacientes intervenidos por AMI y MEM, al no poderse obtener fluido subretiniano sin no existe un desprendimiento de retina.

Yamamoto H<sup>107</sup> encontró cifras elevadas de IL-6 tanto en pacientes con PVR como en pacientes afectos de MEM. En nuestro estudio los pacientes con MEM, incluidos dentro del grupo control, no mostraron elevación de la IL-6. Podemos concluir posible relación patogénica con el DRR y con la PVR, pero no en el caso de la MEM.

Yoshimura T (2009)<sup>113</sup> presenta un amplio estudio de mediadores inflamatorios de la respuesta inmune en pacientes con diferentes enfermedades vitreoretinianas (92 edemas maculares diabéticos, 147 retinopatías diabéticas proliferantes, 30 obstrucciones venosas de rama retiniana, 13 obstrucciones de vena central retiniana y 63 DRR). Utilizó, como controles, al igual que nuestro estudio, las muestras obtenidas de 83 pacientes intervenidos de AMI y MEM. Obtuvo niveles elevados de IL-6 y MCP-1

preferentemente en pacientes con DRR. Considera ambas sustancias como factores importantes en la patogénesis del desprendimiento.

Ricker LJ (2010)<sup>114</sup> encontró cifras significativamente elevadas de IL-6 en los pacientes que desarrollaron recidiva del DRR por PVR (21 muestras). Para el estudio estadístico utilizó, como control, las muestras de 54 casos que no desarrollaron PVR. Las muestras fueron seleccionadas del Biobanco de Maastricht (estas muestras de fluido subretiniano habían sido almacenadas rutinariamente tras la cirugía). Considera la posibilidad futura de utilizar la IL-6 como diana terapéutica para prevenir el desarrollo de PVR. Más recientemente (2011)<sup>115</sup> en otro estudio retrospectivo similar (29 diferentes citocinas), también sobre las muestras almacenadas en su Biobanco, encuentran cifras elevadas 2,5 veces de IL-6 en el grupo de PVR comparado con el grupo DRR. Los resultados del grupo DRR presenta cifras de 59,5 pg/ ml  $\pm$  139, el grupo de PVR presenta cifras de 149 pg/ml  $\pm$  483. Sugiere que la IL-6 pudiera servir, además de como amplificadora de la respuesta inflamatoria intraocular, como un neuroprotector de fotorreceptores. Plantea las posibles implicaciones en el desarrollo futuro de fármacos intravítreos para prevenir y/o tratar la PVR.

Chong DY (2008)<sup>89</sup> realizó un estudio experimental provocando desprendimiento de retina en ratas y ratones de laboratorio, por inyección de ácido hialurónico subretiniano. Un grupo de ratones presentaba ablación genética de IL-6 (ratones tipo IL-6<sup>-/-</sup>). En algunos animales se administró IL-6 exógena, en otros anticuerpos neutralizantes anti-IL-6. Las situaciones de inhibición de IL-6 con ablación genética o administrando anti IL-6 mostraba un incremento en las cifras de apoptosis de los fotorreceptores (FTR). Por otra parte, la adición de IL-6 exógena resultaba en un incremento de la capa nuclear externa. Afirma que la IL-6 es sintetizada por las células de Müller y las células del EPR en respuesta a la separación de los segmentos externos de los fotorreceptores. Sus datos avalarían la hipótesis de que la IL-6 es necesaria para la supervivencia de los FTR tras el desprendimiento de retina.

La relación entre los factores de índole inmunológica y el desarrollo de DRR complicado con PVR parece estar ampliamente aceptada en la literatura, como queda reflejado en los trabajos previamente expuestos y como se infiere de nuestro trabajo.

Como ocurre en nuestro estudio, el incremento de IL-6 en muestras de vítreo/LSR de pacientes con DRR en relación a los controles y la propia elevación de los niveles de

pacientes con PVR en relación a DRR no complicada, ha sido encontrado preferentemente en la mayor parte de los trabajos revisados. Los más actuales, como hemos visto, sugieren a la IL-6 como una posible diana terapéutica de futuro.

Como hemos podido comprobar la mayor parte de los estudios recientes utilizan como controles, al igual que en nuestro estudio, las muestras de vítreo obtenidas en la cirugía de pacientes con AMI y MEM.

En el presente estudio, por otra parte, el análisis de las citocinas en las muestras de plasma de nuestros pacientes no ha mostrado diferencias significativas en ninguno de los grupos estudiados (control, DRR sin PVR y DRR con PVR prequirúrgico).

El estudio fue realizado simultáneamente en plasma y muestras vítreas para determinar, si los posibles incrementos que pudiéramos encontrar en los fluidos oculares, tendrían relación con los niveles sistémicos o eran fruto de la producción local de las citocinas.

Solo en uno de los trabajos revisados (Yoshimura. 2009)<sup>113</sup> encontramos el análisis simultáneo en muestras oculares y de sangre periférica. Como nosotros no encontramos relación con las cifras obtenidas en muestras vítreas.

La PVR es la principal causa de recidiva del DRR. Las revisiones actuales nos demuestran que su incidencia permanece **casi invariable** desde la década final del siglo pasado a pesar de los avances tecnológicos disponibles para la realización de la cirugía<sup>19, 20, 21</sup>. Por ello, en los últimos años, proliferan los trabajos dirigidos a obtener biomarcadores relacionados con la PVR. Estos biomarcadores podrían ser utilizados como posibles dianas terapéuticas para prevenir el PVR.

Ninguna de las sustancias inmunomoduladoras e inmunosupresoras usadas hasta ahora, ha tenido éxito en la disminución de la incidencia de PVR<sup>136-141</sup>.

Los resultados de nuestro estudio y de la mayoría de los trabajos revisados, parecen señalar a la IL-6 como la más importante citocina proinflamatoria implicada en la patogenia del DR y la PVR. Su uso como posible diana terapéutica podría así estar justificado.

Son necesarios modelos experimentales de PVR<sup>145-149</sup> que nos permitan realizar estudios sobre eficacia terapéutica. Por otra parte deberíamos disponer de buenos modelos predictivos<sup>142-144</sup> para acotar los posibles pacientes susceptibles de tratamiento.

El uso de anticuerpos monoclonales humanizados en diferentes enfermedades, hasta ahora sin tratamiento eficaz, nos orienta hacia el posible uso de terapias biológicas como ocurre en la DMAE (ranimizumab) y la uveítis (infliximab, adalimumab).

El **Tolicizumab** es un anticuerpo monoclonal humanizado que compite con el receptor de IL-6. Se usa en medicina como tratamiento de la artritis reumatoide. Modificaciones de este anticuerpo o productos similares podrían emplearse, en un futuro, a las dosis adecuadas como tratamiento local (intravítreo) al terminar la cirugía de aquellos pacientes, considerados como de alto riesgo, en el desarrollo de la PVR (si aceptamos la IL-6 como inductor de la PVR).

En sentido contrario podríamos usar el aporte intraocular de IL-6 exógena, si consideramos esta citocina como un factor neuroprotector de los FTR<sup>89</sup>.

## 6.2 MARCADORES INFECCIOSOS

Todas las muestras analizadas en nuestro estudio presentaron resultados negativos a la presencia de ADN viral HSV.

Por otra parte, encontramos amplificación de ADN viral VZV en dos de las muestras correspondientes a sendos pacientes del grupo DRR sin PVR y del grupo de DRR con PVR.

Sin embargo, obtuvimos bastantes resultados positivos en la detección de ADN bacteriano. La PCR fue positiva casi en el 50% de las muestras analizadas (27 de las 57). Estos resultados fueron contrarios a la línea argumental de la hipótesis de nuestro estudio, obteniendo diferencias estadísticamente significativas en favor del grupo control.

Ninguno de los pacientes de nuestro estudio presentaba signos de infección en el preoperatorio, tampoco se observaron signos de infección en el necesario seguimiento postoperatorio de los pacientes.

Las técnicas de PCR, debido a su alta sensibilidad, permiten detectar mínimas trazas de ADN. La existencia de amplificación de ADN bacteriano no confirma la infección, si ésta no va acompañada de signos y síntomas confirmatorios. La presencia de ADN bacteriano, por sí solo, no significa la existencia de microorganismos viables con capacidad de producir infección.

No he encontrado ninguna referencia bibliográfica, en la literatura científica, en relación con una posible implicación de factores infecciosos en la génesis y/o evolución del DRR.

El resultado de nuestro trabajo podría servir como inicio de otros estudios diferentes en relación con la etiología del AMI y la MEM.

## **7.- CONCLUSIONES**



## **CONCLUSIONES:**

- 1.- En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas en los niveles intraoculares de IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, IFN- $\gamma$  y TNF entre ambos grupos de pacientes y el grupo control.**
- 2.- Hemos encontrado niveles elevados significativamente de IL-6 en el grupo de pacientes con DRR, en relación con el grupo control.**
- 3.- Hemos encontrado niveles elevados significativamente de IL-6 en el grupo de pacientes con PVR, en relación con el grupo control y también con el grupo de pacientes con DRR.**
- 4.- Los niveles de IL-6 ajustados por extensión y antigüedad del desprendimiento han resultado elevados significativamente en los grupos de pacientes con DRR y con PVR.**
- 5.- No se puede concluir correlación en las cifras de IL-6 en fluidos oculares y plasma en el grupo de pacientes con PVR, lo que justificaría la producción local de dicha citocina.**
- 6.- No encontramos relación directa de causas infecciosas (bacterianas o víricas) en la génesis o agravamiento del DRR o la PVR.**



## **8.- BIBLIOGRAFÍA**



**BIBLIOGRAFÍA POR ORDEN DE CITACIÓN:**

1. Sodhi A, Leung LS, Do DV, Gower EW, Shein OD, Handa JT. Recent trends in the management of rhegmatogenous retinal detachment. *Surv Ophthalmol* 2008; 53 (1): 50-67.
2. The Retina Society Terminology Committee. The classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmology* 1983; 90:121-125.
3. Machemer R, Aaberg TM, Freeman HM, Irvine AR, Lean JS, Michels RM. An update classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 1991; 12 (2): 159-165.
4. Ryan SJ. The pathophysiology of proliferative vitreoretinopathy and its management. *Am J Ophthalmol* 1985; 100: 188-193.
5. Aguirrebeña A, Saornil MA, Giraldo A, Pastor JC. Incidencia de la vitreoretinopatía proliferante (VRP) en el desprendimiento de retina regmatógeno. *Arch Soc Esp Oftalmol* 1986; 51: 229-234.
6. Haumann MH, Burton TC, Brown CK. Epidemiology of retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1982; 100: 289-292.
7. Benson WE, Morse PH. The prognosis of retinal detachment due to lattice degeneration. *Ann Ophthalmol* 1978; 10: 1197-1200.
8. Byer NE. Long-term natural history of lattice degeneration of the retina. *Ophthalmology* 1989; 96: 1396-1401.
9. Ashrafzadeh RH, Schepens CL, Elzeneiny II, Moura R, Morse P, Kraushar MF. Aphakic and phakic retinal detachment. I. Preoperative findings. *Arch Ophthalmol* 1973; 89: 476-483.
10. Eye Disease Case Control Study Group. Risk factors for idiopathic rhegmatogenous retinal detachment. *Am J Epidemiol* 1993;137: 749-757.
11. Clayman HM, Jaffe NS, Light DS, Jaffe MS, Cassady JC. Intraocular lenses, axial length and retinal detachment. *Am J Ophthalmol* 1981; 92: 778-780.

12. Scheie HG, Morse PH, Aminlari A. Incidence of retinal detachment following cataract extraction. *Arch Ophthalmol* 1973; 89: 293-295.
13. Smith P, Stark WJ, Maumenee A, Enger CL, Michels RG, Glasser BM. Retinal detachment after extracapsular cataract extraction with posterior chamber intraocular lens. *Ophthalmology* 1987; 94: 495-504.
14. Tuf SJ, Minassian D, Sullivan P. Risk factor for retinal detachment after cataract surgery: a case-control study. *Ophthalmology* 1006; 113: 650-656.
15. Lois N, Wong D. Pseudophakic retinal detachment. *SurvOphthalmol* 2003; 48: 467-487.
16. Mastropasqua L, Carpineto P, Ciancaglini M, Falconio G, Gallenga P. Treatment of retinal tears and lattice degenerations in fellow eyes in high Risk patients suffering retinal detachment: a prospective study. *Br J ophthalmol* 1999; 83: 1046-1049.
17. Byer NE. Rethinking prophylactic treatment. In Stirpe M, ed. *Advances in vitreoretinal surgery. Acta Third International Congress on VitreoretinalSurgery*. Rome, 1991. Ophthalmic Communications Society, New York, 1992: 399-411.
18. Arevalo JF, Ramirez E. Incidence of vitreoretinal pathologic conditions within 24 months after Laser in Situ Keratomileusis. *Ophthalmology* 2000; 107: 258-262.
19. Girard P, Mimoun G, Karpouzas I, Montefiore G. Clinical risk factor for proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery. *Retina* 1994; 14: 417-424.
20. Charteris DG, Sethi CS, Lewis GP, Fisher SK. Proliferative vitreoretinopathy-developments in adjunctive treatment and retinal pathology. *Eye* 2002; 16: 369-374.
21. Asaria RH, Charteris DG. Proliferative vitreoretinopathy: developments in pathogenesis and treatment. *Compr ophthalmol Update* 2006; 7: 179-185.
22. Gonin J. Pathogénie et anatomie pathologique des décollements rétiens. *Rapport Soc Fr Ophthalmol* 1920; 33: 1-102.
23. Gonin J. Le traitement du décollement rétinien. *Ann d'Ocul* 1921; 158: 175.

24. Sanchez Salorio M. Historia Magistra Vitae. Noticia y reflexión sobre dos grandes maestros: Jules Gonin y Charles Schepens. *St Ophthal* 1998; XVII (1): 85-96.
25. Leber T. Ueber die entstehung der netzhautablösung. *Ver Dtsch Ophthalmol Ges* 1882; 14: 18.
26. Sebag J. Anomalous posterior vitreous detachment: a unifying concept in vitreo-retinal disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004; 242: 690-698.
27. Winkinson CP. Evidence-based analysis of prophylactic treatment of asymptomatic retinal breaks and lattice degeneration. *Ophthalmology* 2000; 107: 12-16.
28. Davis MD. Natural history of retinal breaks without detachment. *Arch Ophthalmol* 1974; 92: 183-194.
29. Byer NE. What happens to untreated asymptomatic retinal breaks, and are they affected by posterior vitreous detachment? *Ophthalmology* 1998; 105: 1045-1050.
30. Ninn-Pedersen K, Bauer B. Cataract patients in a defined Swedish population, 1986 to 1990. V. Postoperative retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 382-386.
31. Karlin DB, Curtin BJ. Peripheral chorioretinal lesions an axial length of the myopic eye. *Am J Ophthalmol* 1976; 81: 625-635.
32. Javitt JC, Street DA, Tielsch JM, Wang Q, Kolb MM, Schien O, et al. National outcomes of cataract extraction. Retinal detachment and endophthalmitis after outpatient cataract surgery. The Cataract Patient Outcomes Research Team. *Ophthalmology* 1994; 101:100-105.
33. Javitt JC, Tielsch JM, Canner JK, Kolb MM, Sommer A, Steinberg EP. National outcomes of cataract extraction. Increased risk of retinal complications associated with Nd:YAG laser capsulotomy. The Cataract Patient Outcomes Research Team. *Ophthalmology* 1992; 99: 1487-1498.
34. Sharma MC, Chan P, Kim RU, Benson WE. Rhegmatogenous retinal detachment in the fellow phakic eyes of patients with pseudophakic rhegmatogenous retinal detachment. *Retina* 2003; 23 (1): 37-40.

35. Nagpal M, Nagpal K, Rishi P, Nagpal PN. Juvenile rhegmatogenous retinal detachment. *Indian J Ophthalmol* 2004; 52(4): 297-302.
36. Maguire JI, Benson WE. Retinal injury and detachment in boxers. *JAMA* 1986; 255: 2451-2453.
37. Davis JL. Management of CMV retinal detachments in the new era of antiretroviral therapy. *Ocul Immunol Inflamm* 1999; 7: 205-213.
38. Phelps CD, Burton TC. Glaucoma and retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1997; 95: 418-422.
39. Stickler GB, Hughes W, Houching P. Clinical features of hereditary progressive arthro-ophthalmopathy (Stickler syndrome): a survey. *Genet Med* 2001; 3: 192-196.
40. Maumenee IH. The eye in the Marfan syndrome. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1981; 79: 684-733.
41. Pastor JC. Proliferative vitreoretinopathy: an overview. *Surv Ophthalmol* 1998; 43 (1): 3-18.
42. Wilkins RB, Kulwin DR. Wound healing. *Ophthalmology* 1979; 86: 507-510.
43. Weller M, Wiedemann P, Heimann K. Proliferative vitreoretinopathy. Is it anything more than wound healing at the wrong place? *Int Ophthalmol* 1990; 14: 105-117.
44. El-Ghrably IA, Dua HS, Orr GM, Fischer D, Tighe PJ. Intravitreal invading cells contribute to vitreal cytokine milieu in proliferative vitreoretinopathy. *BR J Ophthalmol* 2001; 85: 461-470.
45. Rojas J, Fernandez I, Pastor JC, Garcia-Gutierrez MT, Sanabria RM, Brion M, et al. Development of predictive models of proliferative vitreoretinopathy based on genetic variables: The retina 4 Project. *IOVS* 2009; 50 (5).2384-2390.
46. Sanabria MR, Pastor JC, Garrote JA, Telleria JJ, Yugueros MI. Cytokine gene polymorphisms in retinal detachment patients with and without proliferative vitreoretinopathy: a preliminary study. *Acta Ophthalmol Scand* 2006; 84:309-313.
47. Yoshino Y, Ideta H, Nagasaki H, Uemura A. Comparative study of clinical factors predisposing patients to proliferative vitreoretinopathy. *Retina* 1989; 9: 97-100.

48. Pastor JC, Rodriguez de la Rúa E, Martín F. Proliferative vitreoretinopathy: risk factors and pathobiology. *Progress in Retinal and Eye Research* 2002; 21: 127-144.
49. Nagasaki H, Shinagawa K, Mochizuki M. Risk factors for proliferative vitreoretinopathy. *Progress in Retinal and Eye Research* 1998; 17: 77-98.
50. Lund-Andersen H, Sander B. Cuerpo vítreo. En: Kaufman PL, Alm A, eds. *Adler Fisiología del ojo: aplicación clínica*. 10th ed. Madrid: Elsevier Science; 2004. 293-316.
51. Sebag J. Vitreous biochemistry, morphology, and clinical examination. En: Tasman W, Jaeger E, eds. *Duane's Clinical Ophthalmology*. Philadelphia. New York: Lippincott-Raven; 1995. Vol 3 Cap 38.
52. Balazs EA, Denlinger JL. Aging changes in the vitreous. En: Sekuler R, Kline D, Dismukes K, eds. *Aging and human visual function*. New York: Liss; 1982: 45-57.
53. O'Malley P, The pattern of vitreous syneresis: a study of 800 autopsy eyes. En: Irvine AR, O'Malley C, eds. *Advances in vitreous surgery*. Springfield IL: Charles C. Thomas; 1976: 17-33.
54. Sebag J. Age-related differences in the human vitreoretinal interface. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 966-971.
55. Kanski JJ. *Clinical Ophthalmology*. 2º ed. Londres: Butterworth & Co; 1989.
56. Johnson MW. Posterior vitreous detachment: evolution and complications of its early stages. *Am J Ophthalmol* 2010; 149 (3). 371-382.
57. Tasman WS. Posterior vitreous detachment and peripheral retinal breaks. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1968; 72: 217-224.
58. Van Overdam KA, Bettink-Remeijer MW, Mulder PG, van Meurs JC. Symptoms predictive for the later development of retinal breaks. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1483-1486.
59. Yonemoto J, Ideta H, Sasaki K, Hirose A, Oka C. The age of onset of posterior vitreous detachment. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994; 232: 67-70.

60. Maumenee IH. Vitreoretinal degeneration as a sign of generalized connective tissue diseases. *Am J Ophthalmol* 1979; 88: 432-449.
61. Hikichi T, Trempe CL. Ocular condition associated with posterior vitreous detachment in young patients. *Ophthalmol Surg Lasers* 1996; 27: 782-786.
62. Larsson L, Österlin S. Posterior vitreous detachment: a combined clinical and physiochemical study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1985; 223: 92-95.
63. Vilcek J. The cytokines: an overview. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 3-18.
64. Suarez A, Mozo L, Gutiérrez Martín C. Citocinas y sus receptores. En *Inmunología en línea*. Peña J, coordinador. UCO. HURS. Córdoba 2009. Disponible en: <http://www.inmunologiaenlinea.es>.
65. Turnbull AW, Rivier CL. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev* 1999; 79: 1-71.
66. Horst Ibelgauf's COPE (Cytokines & Cells Online Pathfinder Encyclopedia). Disponible en: <http://www.copewiththecytokines.de>.
67. Druet P, Sheela R, Pelletier L. Th1 and Th2 cells in autoimmunity. *Clin Exp Immunol* 1995; 101: 9-12.
68. Oriss TB, McCarthy SA, Morel BF, Campana MAC, Morel PA. Crossregulation between T helper cell Th1 and Th2. Inhibition of Th2 proliferation by IFN- $\gamma$  involves interferencia with IL-1. *J Immunol* 1997; 158: 3666-3672.
69. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 1976; 193: 1007-1008.
70. Lin JX, Leonard WJ. Interleukin-2. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 167-199.
71. Hooks JJ, Chan CC, Detrick B. Identification of the limphokines, interferon-gamma and interleukina-2 in inflammatory eye diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 798-804.

72. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference II. Some properties of interferon. *Proc R Soc Lond B Biol. Sci* 1957; B147: 268-273.
73. Schreiber GH, Schreiber RD. Interferon- $\gamma$ . En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 567-601.
74. Abi-Hanna D, McCluskey P, Wakefiel D. HLA antigens in the iris and aqueous humor gamma interferon levels in anterior uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 990-994.
75. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3666–3670.
76. Wang H, Czura CJ, Tracey KJ. Tumor necrosis factor. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 837-860.
77. Rouvier E, Luciani MF, Mattei MG, Denizot F, Golstein P. CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol* 1993; 150: 5445–5456.
78. Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK et al. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol* 1995; 155: 5483–5486.
79. Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK. IL-17 cytokine family. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114: 1265-1273.
80. Antonyamy MA, Numasaki M, Interleukin-17. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 475-502.
81. Howard M, Farrar J, Hilfiker M, Johnson B, Takatsu K, Hamaoka T, Paul WE. Identification of a T-cell derived B-cell growth factor distinct from interleukin 2. *J Exp Med* 1982; 155: 914-923.
82. Paul WE. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood* 1991; 77: 1859-1870.
83. Okada H, Bancherau J, Lotze MT. Interleukin-4. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 227-262.

84. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signaling and its regulation. *Biochem J* 2003; 374: 1-20.
85. Weissenbach J, Chernajovsky Y, Zeevi M, Shulman L, Soreq H, Nir U, et al. Two interferon mRNAs in human fibroblasts: in vitro translation and *Escherichia coli* cloning studies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 7152–7156.
86. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989; 74: 1–10.
87. Kishimoto T. Interleukin-6. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4th ed. London: Academic press; 2003. 281-304.
88. Murray PI, Hoekzema R, van Haren MAC, De Hon FD, Kijlstra A. Aqueous humor interleukin-6 levels in uveítis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 917-920.
89. Chong DY, Boehlke CS, Zheng Q-D, Zhang L, Han Y, Zacks DN. Interleukin-6 as a photoreceptor neuroprotectant in an experimental model of retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 3193-3200.
90. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; 170: 2081–2095.
91. Ding Y, Fu S, Zamarin D, Bromberg J. Interleukin-10. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4th ed. London: Academic press; 2003. 603-625.
92. Schreiber S, Heining T, Thiele HG, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995; 108: 1434-1444.
93. Kleppe K, Ohtsuka E, Kleppe R, Molineux I, Khorana HG. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. *J Mol Biol* 1971; 56: 341-361.
94. Saiki RK, Scharf SJ, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnostic of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230: 1350-1354.

95. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology* 1987; 155: 335-350.
96. Hisatomi T, Sakamoto T, Goto Y, Yamanaka I, Oshima Y, Hata Y, et al. Critical role of photoreceptor apoptosis in functional damage after retinal detachment. *Curr Eye Res* 2002; 24: 161-172.
97. Quintyn JC, Brasseur G. Subretinal fluid in primary rhegmatogenous retinal detachment: physiopathology and composition. *Surv Ophthalmol* 2004; 49:96-108.
98. Zauberman H, de Guillebon H. Retinal traction in vivo and postmortem. *Arch Ophthalmol* 1972; 87:549-554.
99. Limb GA, Little BC, Meager A, Ogilvie JA, Wolstencroft RA, Franks WA, et al. Cytokines in proliferative vitreoretinopathy. *Eye* 1991; 5: 686-693.
100. Kauffmann DH, van Meurs JC, Mertens DA, Peperkamp E, Master C, Gerritsen ME. Cytokines in vitreous humor: Interleukin-6 is elevated in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35 (3): 900-906.
101. Bakunowicz-Lazarczyk A, Moniuszko T, Stankiewicz A. Behavior of selected cytokines in subretinal fluid. *Klin Oczna* 1994; 96 (3):89-90.
102. Bakunowicz-Lazarczyk A, Sulkowski S, Moniuszko T. Comparative studies of morphological changes and interleukin concentration in subretinal fluid of patients with retinal detachment. *Ophthalmologica* 1999; 213: 25-29.
103. Kenarova B, Voinov L, Apostolov C, Vladimirova R, Misheva A. Levels of some cytokines in subretinal fluid in proliferative vitreoretinopathy and rhegmatogenous retinal detachment. *Eur J Ophthalmol* 1997; 7: 64-67.
104. Kon CH, Occlestone NL, Aylward GW, Khaw PT. Expression of vitreous cytokines in proliferative vitreoretinopathy: A prospective study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40 (3): 705-712.
105. La Heij EC, Van de Waarenburg M, Blaauwgeers H, Kessels A, Vente J, Liem A, et al. Levels of basic fibroblast growth factor, glutamine synthetase, and interleukin-6 in subretinal fluid from patients with retinal detachment. *Am J Ophthalmol* 2001; 132: 544-550.

106. La Heij EC, Van de Waarenburg M, Blaauwgeers H, Kessels A, Liem A, Theunissen C, et al. Basic fibroblast growth factor, glutamine synthetase, and interleukin-6 in vitreous fluid from eyes with retinal detachment complicated by proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2002; 134: 367-375.
107. Yamamoto H, Hayashi H, Uchida H, Kato H, Oshima K. Increased soluble interleukin-6 receptor in vitreous fluid of proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 2003; 26: 9-14.
108. Limb GA, Hollifield RD, Webster L, Charteris DG, Chignell AH. Soluble TNF receptors in vitreoretinal proliferative disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1586-1591.
109. Lewandowska-Furmanik M, Pozarowska D, Pozarowski P, Matysik A. TH1/TH2 balance in the subretinal fluid of patients with rhegmatogenous retinal detachment. *Med Sci Monit* 2002; 8: CR526-528.
110. Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Matsumura M. Inverse levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in the vitreous of eyes with rhegmatogenous retinal detachment and proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 851-852.
111. Dieudonne SC, La Heij EC, Diederer R, Kessels AG, Liem A, Kijlstra A, et al. High TGF- $\beta$ 2 levels during primary retinal detachment may protect against proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 4113-4118.
112. Cassidy L, Barry P, Shaw C, Duffy MJ, Kennedy S. Platelet derived growth factor and fibroblast growth factor basic levels in the vitreous of patients with vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 181-185.
113. 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.
114. Ricker L, Kijlstra A, de Jager W, Liem A, Hendrikse F, La Heij EC. Chemokine levels in subretinal fluid obtained during scleral buckling surgery after rhegmatogenous retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 4143-4150.

115. Ricker L, Kijlstra A, Kessels A, de Jager W, Liem A, Hendriksen F, et al. Interleukin and growth factor levels in subretinal fluid in rhegmatogenous retinal detachment: A case-control study. *Plos ONE* 2011; 6 (4): e19141.
116. Nandi K, Ranjan P, Therese L, Biswas J. Polymerase chain reaction in introcular inflammation. *Open Ophthalmol J* 2008; 2: 141-145.
117. Okhravi N, Adamson P, Carroll N, Dunlop A, Matheson MM, Towler H, et al. PCR-Based evidence of bacterial involvement in eyes with suspected intraocular infection. *Invest Ophthalmol Visc Sci* 2000; 41: 3474-3479.
118. Carroll N, Jaeger E, Choudhury S, Dunlop A, Matheson MM, Adamson P, et al. Detection of and discrimination between gram-positive and gram-negative bacteria in intraocular samples by using nested PCR. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1753-1757.
119. Therese L, Anand AR, Madhavan HN. Polymerase chain reaction in the diagnosis of bacterial endophthalmitis. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 1078-1082.
120. Bispo PJ, Melo GB, Hofling-Lima AL, Pignatari AC. Detection and gram discrimination of bacterial pathogens from aqueous and vitreous humor using real-time PCR assays. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 873-881.
121. Chan CC, Shen DF, Tuo J. Polymerase chain reaction in the diagnosis of uveitis. *Int Ophthalmol Clin* 2005; 45(2): 41-45.
122. Fox GM, Crouse CA, Chuang EL, Plugfelder SC, Cleary TJ, Nelson SJ, et al. Detection of herpesvirus DNA in vitreous and aqueous specimens by the polymerase chain reaction. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 266-271.
123. Tran THC, Rozenberg F, Cassoux N, Rao NA, LeHoang P, Bodaghi B. Polymerase chain reaction analysis of aqueous humour samples in necrotising retinitis. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 79-83.
124. Jabs DA, Enger C, Haller J, de Bustros S. Retinal detachments in patients with cytomegalovirus retinitis. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 794-799.
125. Abegg M, Kurz-Levin M, Helbig H. Retinal detachment in patients with acute retinal necrosis: a case series. *Klin Mombi Augenheilkd* 2007; 224: 360-363.

126. Lightman S, Towlwe H, Cooling R. Late-onset rhegmatogenous-traction retinal detachment due to candida chorioretinitis. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 731.
127. Frau E, Gregoire-Cassoux N, Lautier-Frau M, Labetoulle M, LeHoang P, Offret H. Toxoplasmic corioretinitis complicated by retinal detachment. *J Fr Ophthalmol* 1997; 20: 749-752.
128. Giusti C. Central serous chorioretinopathy: a new extragastric manifestation of *Helicobacter pylori*?: analysis of a clinical case. *Clin Ter* 2001; 152: 393-397.
129. Mauget-Faÿsse M, Kodjikian L, Quaranta M, BenEzra D, Trepsat C, Mion F, et al. *Helicobacter pylori* in central serous chorioretinopathy and diffuse retinal epitheliopathy. Results of the first prospective pilot study. *J Fr Ophthalmol* 2002; 25: 1021-1025.
130. Häcker G, Redecke V, Häcker H. Activation of the immune system by bacterial CpG-DNA. *Immunology* 2002; 105: 245-251
131. Zamora MR. DNA viruses (CMV, EBV, and the Herpesviruses). *Semin Respir Crit Care Med* 2011; 32: 454-470.
132. Tokunaga T, Yamamoto T, Yamamoto S. How BCG led to the discovery of immunostimulatory DNA. *Jpn J Infect Dis* 1999; 52: 1-11.
133. Foos RY, Allen RA. Retinal tears and lesser lesions of the peripheral retinal in autopsy eyes. *Am J Ophthalmol* 1967; 64: 643-655.
134. Cho HY, Chung SE, Kim JI, Park KH, Kim SK, Kang SW. Spontaneous reattachment of rhegmatogenous retinal detachment. *Ophthalmology* 2007; 114: 581-586.
135. Sethi CS, Lewis GP, Fisher SK, Leitner WP, Mann DL, Luther PJ, et al. Glial remodeling and neural plasticity in human retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46 (1): 329-342.
136. Almadieh H, Feghhi M, Tabatabaei H, Shoebi N, Ramezani A, Mohebbi MR. Tiamcinolone acetonide in silicone-filled eyes as adjunctive treatment for proliferative vitreoretinopathy: a randomized clinical trial. *Ophthalmology* 2008; 115: 1938-1943.

137. Wiedemann P, Hilgers RD, Bauer P, Heimann K. Adjunctive daunorubicin in the treatment of proliferative vitreoretinopathy: results of a multicenter clinical trial. Daunomycin Study Group. *Am J Ophthalmol* 1998; 126: 550-559.
138. Kumar A, Nainiwal S, Choudhary I, Tewari HK, Verma LK. Role of daunorubicin in inhibiting proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery. *Clin Experiment Ophthalmol* 2002; 30 (5): 348-351.
139. Asaria RH, Kon CH, Bunce C, Charteris DG, Wong D, Khaw PT et al. Adjuvant 5-fluorouracil and heparin prevents proliferative vitreoretinopathy: Results from a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Ophthalmology* 2001; 108: 1179-1183.
140. Charteris DG, Aylward GW, Wong D, Groenewald C, Asaria RH, Bunce C. A randomized controlled trial of combined 5-fluorouracil and low-molecular-weight heparin in management of established proliferative vitreoretinopathy. PVR Study Group. *Ophthalmology* 2004; 111: 2240-2245.
141. Wickham L, Bunce C, Wong D, McGurn D, Charteris DG. Randomized controlled trial of combined 5-fluorouracil and low-molecular-weight heparin in the management of unselected rhegmatogenous retinal detachments undergoing primary vitrectomy. *Ophthalmology* 2007; 114: 698-704.
142. Kon CH, Asaria RH, Occleston NL, Khaw PT, Aylward GW. Risk factors for proliferative vitreoretinopathy after primary vitrectomy: a prospective study. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 506-511.
143. Asaria RH, Kon CH, Bunce C, Charteris DG, Wong D, Luthert PJ, et al. How to predict proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmology* 2001; 108: 1184-1186.
144. Rodriguez de la Rúa E, Pastor JC, Aragon J, Mayo-Iscar A, Martinez V, Garcia-Aruí J, et al. Interaction between surgical procedure for repairing retinal detachment and clinical risk factors for proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 2005; 30: 147-153.
145. Sugita G, Tano Y, Machemer R, Abrams G, Claflin A, Fiorentino G. Intravitreal autotransplantation of fibroblasts. *Am J Ophthalmol* 1980; 89: 121-130.

146. Radtke ND, Tano Y, Chandler D, Machemer R. Simulation of massive periretinal proliferation by autotransplantation of retinal pigment cells in rabbits. *Am J Ophthalmol* 1981; 91: 76-87.
147. Yeo JH, Sadeghi J, Campochiaro PA, Green WR, Glaser BM. Intravitreal fibronectin and platelet-derived growth factor. *Arch Ophthalmol* 1986; 104:417-421.
148. Frenzel EM, Neely KA, Walsh AW, Cameron JD, Gregerson DS. A new model of proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 2157-2164.
149. Agrawal RN, He S, Spee C, Cui JZ, Ryan SJ, Hinton DR. In vivo models of proliferative vitreoretinopathy. *Nature protocols* 2007; 2(1): 67-77.
150. Lei H, Rheaume MA, Kazlauskas A. Recent developments in our understanding of how platelet-derived growth factor (PDGF) and its receptors contribute to proliferative vitreoretinopathy. *Exp Eye Res* 2010; 90: 376-381.
151. Funatsu H, Yamashita T, Yamashita H. Vitreous fluid biomarkers. *Adv Clin Chem* 2006; 42: 111-166.
152. Tolentino MJ, Miller JW, Gragoudas ES, Jakobiec FA, Flynn E, Chatzistefanou K, et al. Intravitreal injections of vascular endothelial growth factor produce retinal ischemia and microangiopathy in an adult primate. *Ophthalmology* 1996; 103: 1820-1828.
153. Campochiaro P. Retinal and choroidal neovascularization. *J Cell Sci* 2000; 114: 301-310.
154. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham Jr ET, Feinsod M, Guyer DR. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004; 351: 2805-2816.
155. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al: Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006; 355: 1419-1431.
156. Hernandez Da Mota SE. Historia de la cirugía del desprendimiento de retina hasta Gonin. *Rev Mex Oftalmol* 2008; 82: 331-334.
157. Gonin J. *Le décollement de la retina*. Lausanne: Librairie Payot et Cia.; 1934.

158. Arruga H. Le cerclaje equatorial pour traiter le décollement rétinien. Bull Soc franc Ophtal 1958; 71: 571-580.
159. Custodis E. Bedeutet die Plombenaufnahme auf die Sklera einen Fortschritt in der operativen Behandlung der Netzhautablösung? Berichte der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 1953; 58: 102-105. Citado en Kreissig I. Changing concepts in the surgical repair of primary retinal detachment: The oyssey of a leaking break. J Ophthalmic Vis Res 2006; 1 (1): 47-60.
160. Lincoff H, Baras I, McLean J. Modifications to the Custodis procedure for retinal detachment. Arch Ophthalmol 1965; 73: 160-163.
161. Schepens CL. Prognosis and treatment of retinal detachment. The Mark J Schoenberg Memorial Lecture. A review by Kronenburg B, New York Society for Clinical Ophthalmology. Am J Ophthalmol 1953; 36: 1739-1756.
162. Lincoff H, Gieser R. Finding the retinal hole. Arch ophthalmol 1971; 85: 565-569.
163. Machemer R, Buettner H, Norton EW, Parel JM. Vitrectomy: a pars plana approach. Trans Am Acad Ophthalmol 1971; 75: 813-820.
164. Dominguez A. Cirugía precoz y ambulatoria del desprendimiento de retina. Arch Soc Esp Oftal 1985; 48: 47-54.
165. Hilton GF, Grizzard WS. Pneumatic retinopexy. A two-step outpatient without conjunctival incision. Ophthalmology 1986; 93: 626-641.
166. Johnson G, Nelson S, Petric M, Tellier R. Comprehensive PCR-based assay for detection and species identification of human herpesviruses. J Clin Microbiol 2000; 38: 3274-3279.



## **BIBLIOGRAFÍA POR AUTORES:**

**Abegg M**, Kurz-Levin M, Helbig H. Retinal detachment in patients with acute retinal necrosis: a case series. *Klin Mombi Augenheilkd* 2007; 224: 360-363.

**Abi-Hanna D**, McCluskey P, Wakefiel D. HLA antigens in the iris and aqueous humor gamma interferon levels in anterior uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 990-994.

**Agrawal RN**, He S, Spee C, Cui JZ, Ryan SJ, Hinton DR. In vivo models of proliferative vitreoretinopathy. *Nature protocols* 2007; 2(1): 67-77.

**Aguirrebeña A**, Saornil MA, Giraldo A, Pastor JC. Incidencia de la vitreoretinopatía proliferante (VRP) en el desprendimiento de retina regmatógeno. *Arch Soc Esp Oftalmol* 1986; 51: 229-234.

**Almadieh H**, Fegghi M, Tabatabaei H, Shoebi N, Ramezani A, Mohebbi MR. Tiamcinolone acetonide in silicone-filled eyes as adjunctive treatment for proliferative vitreoretinopathy: a randomized clinical trial. *Ophthalmology* 2008; 115: 1938-1943.

**Antonyesamy MA**, Numasaki M, Interleukin-17. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 475-502.

**Arevalo JF**, Ramirez E. Incidence of vitreoretinal pathologic conditions within 24 months after Laser in Situ Keratomileusis. *Ophthalmology* 2000; 107: 258-262.

**Arruga H**. Le cerclage equatorial pour traiter le décollement rétinien. *Bull Soc franc Ophtal* 1958; 71: 571-580.

**Ashrafzadeh RH**, Schepens CL, Elzeneiny II, Moura R, Morse P, Kraushar MF. Aphakic and phakic retinal detachment. I. Preoperative findings. *Arch Ophthalmol* 1973; 89: 476-483.

**Asaria RH**, Charteris DG. Proliferative vitreoretinopathy: developments in pathogenesis and treatment. *Compr ophthalmol Update* 2006; 7: 179-185.

**Asaria RH**, Kon CH, Bunce C, Charteris DG, Wong D, Khaw PT et al. Adjuvant 5-fluorouracil and heparin prevents proliferative vitreoretinopathy: Results from a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Ophthalmology* 2001; 108: 1179-1183.

**Asaria RH**, Kon CH, Bunce C, Charteris DG, Wong D, Luthert PJ, et al. How to predict proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmology* 2001; 108: 1184-1186.

**Bakunowicz-Lazarczyk A**, Moniuszko T, Stankiewicz A. Behavior of selected cytokines in subretinal fluid. *Klin Oczna* 1994; 96 (3):89-90.

**Bakunowicz-Lazarczyk A**, Sulkowski S, Moniuszko T. Comparative studies of morphological changes and interleukin concentration in subretinal fluid of patients with retinal detachment. *Ophthalmologica* 1999; 213: 25-29.

**Balazs EA**, Denlinger JL. Aging changes in the vitreous. En: Sekuler R, Kline D, Dismukes K, eds. *Aging and human visual function*. New York: Liss; 1982: 45-57.

**Benson WE**, Morse PH. The prognosis of retinal detachment due to lattice degeneration. *Ann Ophthalmol* 1978; 10: 1197-1200.

**Bispo PJ**, Melo GB, Hofling-Lima AL, Pignatari AC. Detection and gram discrimination of bacterial pathogens from aqueous and vitreous humor using real-time PCR assays. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 873-881.

**Byer NE**. Long-term natural history of lattice degeneration of the retina. *Ophthalmology* 1989; 96: 1396-1401.

**Byer NE**. Rethinking prophylactic treatment. In Stirpe M, ed. *Advances in vitreoretinal surgery*. Acta Third International Congress on Vitreoretinal Surgery. Rome, 1991. Ophthalmic Communications Society, New York, 1992: 399-411.

**Byer NE**. What happens to untreated asymptomatic retinal breaks, and are they affected by posterior vitreous detachment? *Ophthalmology* 1998; 105: 1045-1050.

**Campochiaro P**. Retinal and choroidal neovascularization. *J Cell Sci* 2000; 184: 301-310.

**Carroll N**, Jaeger E, Choudhury S, Dunlop A, Matheson MM, Adamson P, et al. Detection of and discrimination between gram-positive and gram-negative bacteria in intraocular samples by using nested PCR. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1753-1757.

**Carswell EA**, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3666–3670.

**Cassidy L**, Barry P, Shaw C, Duffy MJ, Kennedy S. Platelet derived growth factor and fibroblast growth factor basic levels in the vitreous of patients with vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 181-185.

**Chan CC**, Shen DF, Tuo J. Polymerase chain reaction in the diagnosis of uveitis. *Int Ophthalmol Clin* 2005; 45(2): 41-45.

**Charteris DG**, Aylward GW, Wong D, Groenewald C, Asaria RH, Bunce C. A randomized controlled trial of combined 5-fluorouracil and low-molecular-weight heparin in management of established proliferative vitreoretinopathy. PVR Study Group. *Ophthalmology* 2004; 111: 2240-2245.

**Charteris DG**, Sethi CS, Lewis GP, Fisher SK. Proliferative vitreoretinopathy-developments in adjunctive treatment and retinal pathology. *Eye* 2002; 16: 369-374.

**Cho HY**, Chung SE, Kim JI, Park KH, Kim SK, Kang SW. Spontaneous reattachment of rhegmatogenous retinal detachment. *Ophthalmology* 2007; 114: 581-586.

**Chong DY**, Boehlke CS, Zheng Q-D, Zhang L, Han Y, Zacks DN. Interleukin-6 as a photoreceptor neuroprotectant in an experimental model of retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 3193-3200.

**Clayman HM**, Jaffe NS, Light DS, Jaffe MS, Cassady JC. Intraocular lenses, axial length and retinal detachment. *Am J Ophthalmol* 1981; 92: 778-780.

**Custodis E**. Bedeutet die plombenaufnähung auf die sklera einen fortschritt in der operativen behandlung der netzhautablösung? *Berichte der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 1953; 58: 102-105. Citado en Kreissig I. Changing concepts in the surgical repair of primary retinal detachment: The oyssey of a leaking break. *J Ophthalmic Vis Res* 2006; 1 (1): 47-60.

**Davis JL.** Management of CMV retinal detachments in the new era of antiretroviral therapy. *Ocul Immunol Inflamm* 1999; 7: 205-213.

**Davis MD.** Natural history of retinal breaks without detachment. *Arch Ophthalmol* 1974; 92: 183-194.

**Dieudonne SC, La Heij EC, Diederer R, Kessels AG, Liem A, Kijlstra A, et al.** High TGF- $\beta$ 2 levels during primary retinal detachment may protect against proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 4113-4118.

**Ding Y, Fu S, Zamarin D, Bromberg J.** Interleukin-10. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4th ed. London: Academic press; 2003. 603-625.

**Dominguez A.** Cirugía precoz y ambulatoria del desprendimiento de retina. *Arch Soc Esp Oftal* 1985; 48: 47-54.

**Druet P, Sheela R, Pelletier L.** Th1 and Th2 cells in autoimmunity. *Clin Exp Immunol* 1995; 101: 9-12.

**El-Ghrably IA, Dua HS, Orr GM, Fischer D, Tighe PJ.** Intravitreal invading cells contribute to vitreal cytokine milieu in proliferative vitreoretinopathy. *BR J Ophthalmol* 2001; 85: 461-470.

**Eye Disease Case Control Study Group.** Risk factors for idiopathic rhegmatogenous retinal detachment. *Am J Epidemiol* 1993; 137: 749-757.

**Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR.** Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; 170: 2081-2095.

**Foos RY, Allen RA.** Retinal tears and lesser lesions of the peripheral retina in autopsy eyes. *Am J Ophthalmol* 1967; 64: 643-655.

**Fox GM, Crouse CA, Chuang EL, Plugfelder SC, Cleary TJ, Nelson SJ, et al.** Detection of herpesvirus DNA in vitreous and aqueous specimens by the polymerase chain reaction. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 266-271.

- Frau E**, Gregoire-Cassoux N, Lautier-Frau M, Labetoulle M, LeHoang P, Offret H. Toxoplasmic chorioretinitis complicated by retinal detachment. *J Fr Ophthalmol* 1997; 20: 749-752.
- Frenzel EM**, Neely KA, Walsh AW, Cameron JD, Gregerson DS. A new model of proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 2157-2164.
- Funatsu H**, Yamashita T, Yamashita H. Vitreous fluid biomarkers. *Adv Clin Chem* 2006; 42: 111-166.
- Girard P**, Mimoun G, Karpouzas I, Montefiore G. Clinical risk factor for proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery. *Retina* 1994; 14: 417-424.
- Giusti C**. Central serous chorioretinopathy: a new extragastric manifestation of *Helicobacter pylori*? analysis of a clinical case. *Clin Ter* 2001; 152: 393-397.
- Gonin J**. Le décollement de la retina. Lausanne: Librairie Payot et Cia.; 1934.
- Gonin J**. Le traitement du décollement rétinien. *Ann d'Ocul* 1921; 158: 175.
- Gonin J**. Pathogénie et anatomie pathologique des décollements rétiens. *Rapport Soc Fr Ophthalmol* 1920; 33: 1-102.
- Gragoudas ES**, Adamis AP, Cunningham Jr ET, Feinsod M, Guyer DR. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004; 351: 2805-2816.
- Häcker G**, Redecke V, Häcker H. Activation of the immune system by bacterial CpG-DNA. *Immunology* 2002; 105: 245-251
- Haumann MH**, Burton TC, Brown CK. Epidemiology of retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1982; 100: 289-292.
- Heinrich PC**, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signaling and its regulation. *Biochem J* 2003; 374: 1-20.
- Hernandez Da Mota SE**. Historia de la cirugía del desprendimiento de retina hasta Gonin. *Rev Mex Oftalmol* 2008; 82: 331-334.

**Hikichi T**, Trempe CL. Ocular condition associated with posterior vitreous detachment in young patients. *Ophthalmol Surg Lasers* 1996; 27: 782-786.

**Hilton GF**, Grizzard WS. Pneumatic retinopexy. A two-step outpatient without conjunctival incisión. *Ophthalmology* 1986; 93: 626-641.

**Hisatomi T**, Sakamoto T, Goto Y, Yamanaka I, Oshima Y, Hata Y, et al. Critical role of photoreceptor apoptosis in functional damage after retinal detachment. *Curr Eye Res* 2002; 24: 161-172.

**Hooks JJ**, Chan CC, Detrick B. Identification of the lymphokines, interferon-gamma and interleukin-2 in inflammatory eye diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 798-804.

**Horst Ibelgauf's COPE** (Cytokines & Cells Online Pathfinder Encyclopedia). Disponible en: <http://www.copewithcytokines.de>.

**Howard M**, Farrar J, Hilfiker M, Johnson B, Takatsu K, Hamaoka T, Paul WE. Identification of a T-cell derived B-cell growth factor distinct from interleukin 2. *J Exp Med* 1982; 155: 914-923.

**Isaacs A**, Lindenmann J. Virus interference II. Some properties of interferon. *Proc R Soc Lond B Biol. Sci* 1957; B147: 268-273.

**Jabs DA**, Enger C, Haller J, de Bustros S. Retinal detachments in patients with cytomegalovirus retinitis. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 794-799.

**Javitt JC**, Street DA, Tielsch JM, Wang Q, Kolb MM, Schien O, et al. National outcomes of cataract extraction. Retinal detachment and endophthalmitis after outpatient cataract surgery. The Cataract Patient Outcomes Research Team. *Ophthalmology* 1994; 101:100-105.

**Javitt JC**, Tielsch JM, Canner JK, Kolb MM, Sommer A, Steinberg EP. National outcomes of cataract extraction. Increased risk of retinal complications associated with Nd:YAG laser capsulotomy. The Cataract Patient Outcomes Research Team. *Ophthalmology* 1992; 99: 1487-1498.

**Johnson G**, Nelson S, Petric M, Tellier R. Comprehensive PCR-based assay for detection and species identification of human herpesviruses. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3274-3279.

**Johnson MW**. Posterior vitreous detachment: evolution and complications of its early stages. *Am J Ophthalmol* 2010; 149 (3). 371-382.

**Kanski JJ**. *Clinical Ophthalmology*. 2<sup>o</sup> ed. Londres: Butterworth & Co; 1989.

**Karlin DB**, Curtin BJ. Peripheral chorioretinal lesions an axial length of the myopic eye. *Am J Ophthalmol* 1976; 81: 625-635.

**Kauffmann DH**, van Meurs JC, Mertens DA, Peperkamp E, Master C, Gerritsen ME. Cytokines in vitreous humor: Interleukin-6 is elevated in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35 (3): 900-906.

**Kawaguchi M**, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK. IL-17 cytokine family. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114: 1265-1273.

**Kenarova B**, Voinov L, Apostolov C, Vladimirova R, Misheva A. Levels of some cytokines in subretinal fluid in proliferative vitreoretinopathy and rhegmatogenous retinal detachment. *Eur J Ophthalmol* 1997; 7: 64-67.

**Kishimoto T**. Interleukin-6. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4th ed. London: Academic press; 2003. 281-304.

**Kishimoto T**. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989; 74: 1–10.

**Kleppe K**, Ohtsuka E, Kleppe R, Molineux I, Khorana HG. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. *J Mol Biol* 1971; 56: 341-361.

**Kon CH**, Asaria RH, Occeleston NL, Khaw PT, Aylward GW. Risk factors for proliferative vitreoretinopathy after primary vitrectomy: a prospective study. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 506-511.

**Kon CH**, Occelestone NL, Aylward GW, Khaw PT. Expression of vitreous cytokines in proliferative vitreoretinopathy: A prospective study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40 (3): 705-712.

**Kumar A**, Nainiwal S, Choudhary I, Tewari HK, Verma LK. Role of daunorubicin in inhibiting proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery. *Clin Experiment Ophthalmol* 2002; 30 (5): 348-351.

**La Heij EC**, Van de Waarenburg M, Blaauwgeers H, Kessels A, Liem A, Theunissen C, et al. Basic fibroblast growth factor, glutamine synthetase, and interleukin-6 in vitreous fluid from eyes with retinal detachment complicated by proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2002; 134: 367-375.

**La Heij EC**, Van de Waarenburg M, Blaauwgeers H, Kessels A, Vente J, Liem A, et al. Levels of basic fibroblast growth factor, glutamine synthetase, and interleukin-6 in subretinal fluid from patients with retinal detachment. *Am J Ophthalmol* 2001; 132: 544-550.

**Larsson L**, Österlin S. Posterior vitreous detachment: a combined clinical and physiochemical study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1985; 223: 92-95.

**Lebber T**. Ueber die entstehung der netzhautablösung. *Ver Dtsch Ophthalmol Ges* 1882; 14: 18.

**Lei H**, Rheaume MA, Kazlauskas A. Recent developments in our understanding of how platelet-derived growth factor (PDGF) and its receptors contribute to proliferative vitreoretinopathy. *Exp Eye Res* 2010; 90: 376-381.

**Lewandowska-Furmanik M**, Pozarowska D, Pozarowski P, Matysik A. TH1/TH2 balance in the subretinal fluid of patients with rhegmatogenous retinal detachment. *Med Sci Monit* 2002; 8: CR526-528.

**Lightman S**, Towlwe H, Cooling R. Late-onset rhegmatogenous-traction retinal detachment due to candida chorioretinitis. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 731.

**Limb GA**, Hollifield RD, Webster L, Charteris DG, Chignell AH. Soluble TNF receptors in vitreoretinal proliferative disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1586-1591.

**Limb GA**, Little BC, Meager A, Ogilvie JA, Wolstencroft RA, Franks WA, et al. Cytokines in proliferative vitreoretinopathy. *Eye* 1991; 5: 686-693.

**Lincoff H**, Baras I, McLean J. Modifications to the Custodis procedure for retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1965; 73: 160-163.

**Lincoff H**, Gieser R. Findig the retinal hole. *Arch ophthalmol* 1971; 85: 565-569.

**Lin JX**, Leonard WJ. Interleukin-2. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 167-199.

**Lois N**, Wong D. Pseudophakic retinal detachment. *SurvOphthalmol* 2003; 48: 467-487.

**Lund-Andersen H**, Sander B. Cuerpo vítreo. En: Kaufman PL, Alm A, eds. *Adler Fisiología del ojo: aplicación clínica*. 10th ed. Madrid: Elsevier Science; 2004. 293-316.

**Machemer R**, Aaberg TM, Freeman HM, Irvine AR, Lean JS, Michels RM. An update classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 1991; 12 (2): 159-165.

**Machemer R**, Buettner H, Norton EW, Parel JM. Vitrectomy: a pars plana approach. *Trans Am Acad Ophthalmol* 1971; 75: 813-820.

**Maguire JJ**, Benson WE. Retinal injury and detachment in boxers. *JAMA* 1986; 255: 2451-2453.

**Mastropasqua L**, Carpineto P, Ciancaglini M, Falconio G, Gallenga P. Treatment of retinal tears and lattice degenerations in fellow eyes in high Risk patients suffering retinal detachment: a prospective study. *Br J ophthalmol* 1999; 83: 1046-1049.

**Mauget-Faysse M**, Kodjikian L, Quaranta M, BenEzra D, Trepsat C, Mion F, et al. *Helicobacter pylori* in central serous chorioretinopathy and diffuse retinal epitheliopathy. Results of the first prospective pilot study. *J Fr Ophthalmol* 2002; 25: 1021-1025.

**Maumenee IH**. The eye in the Marfan syndrome. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1981; 79: 684-733.

**Maumenee IH**. Vitreoretinal degeneration as a sign of generalized connective tissue diseases. *Am J Ophthalmol* 1979; 88: 432-449.

**Morgan DA**, Ruscetti FW, Gallo R. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 1976; 193: 1007–1008.

**Mullis KB**, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology* 1987; 155: 335-350.

**Murray PI**, Hoekzema R, van Haren MAC, De Hon FD, Kijlstra A. Aqueous humor interleukin-6 levels in uveítis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 917-920.

**Nagasaki H**, Shinagawa K, Mochizuki M. Risk factors for proliferative vitreoretinopathy. *Progress in Retinal and Eye Research* 1998; 17: 77-98.

**Nagpal M**, Nagpal K, Rishi P, Nagpal PN. Juvenile rhegmatogenous retinal detachment. *Indian J Ophthalmol* 2004; 52(4): 297-302.

**Nandi K**, Ranjan P, Therese L, Biswas J. Polymerase chain reaction in introcular inflammation. *Open Ophthalmol J* 2008; 2: 141-145.

**Ninn-Pedersen K**, Bauer B. Cataract patients in a defined Swedish population, 1986 to 1990. V. Postoperative retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 382-386.

**Ogata N**, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Matsumura M. Inverse levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in the vitreous of eyes with rhegmatogenous retinal detachment and proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 851-852.

**Okada H**, Bancherau J, Lotze MT. Interleukin-4. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 227-262.

**Okhravi N**, Adamson P, Carroll N, Dunlop A, Matheson MM, Towler H, et al. PCR-Based evidence of bacterial involvement in eyes with suspected intraocular infection. *Invest Ophthalmol Visc Sci* 2000; 41: 3474-3479.

**O'Malley P**, The pattern of vitreous syneresis: a study of 800 autopsy eyes. En: Irvine AR, O'Malley C, eds. *Advances in vitreous surgery*. Springfield IL: Charles C. Thomas; 1976: 17-33.

**Oriss TB**, McCarthy SA, Morel BF, Campana MAC, Morel PA. Crossregulation between T helper cell Th1 and Th2. Inhibition of Th2 proliferation by IFN- $\gamma$  involves interferencia with IL-1. *J Immunol* 1997; 158: 3666-3672.

**Pastor JC**, Rodriguez de la Rúa E, Martín F. Proliferative vitreoretinopathy: risk factors and pathobiology. *Progress in Retinal and Eye Research* 2002; 21: 127-144.

**Pastor JC**. Proliferative vitreoretinopathy: an overview. *Surv Ophthalmol* 1998; 43 (1): 3-18.

**Paul WE**. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood* 1991; 77: 1859-1870.

**Phelps CD**, Burton TC. Glaucoma and retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1997; 95: 418-422.

**Quintyn JC**, Brasseur G. Subretinal fluid in primary rhegmatogenous retinal detachment: physiopathology an composition. *Surv Ophthalmol* 2004; 49:96-108.

**Radtke ND**, Tano Y, ChandlerD, Machemer R. Simulation of massive periretinal proliferation by autotransplantation of retinal pigment cells in rabbits. *Am J Ophthalmol* 1981; 91: 76-87.

**Ricker L**, Kijlstra A, de Jager W, Liem A, Hendrikse F, La Heij EC. Chemokine levels in subretinal fluid obtained during scleral buckling surgery after rhegmatogenous retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 4143- 4150.

**Ricker L**, Kijlstra A, Kessels A, de Jager W, Liem A, Hendriksen F, et al. Interleukin and growth factor levels in subretinal fluid in rhegmatogenous retinal detachment: A case-control study. *Plos ONE* 2011; 6 (4): e19141.

**Rodriguez de la Rúa E**, Pastor JC, Aragon J, Mayo-Isca A, Martinez V, Garcia-Aruí J, et al. Interaction between surgical procedure for repairing retinal detachment and clinical risk factors for proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 2005; 30: 147-153.

**Rojas J**, Fernandez I, Pastor JC, Garcia-Gutierrez MT, Sanabria RM, Brion M, et al. Development of predictive models of proliferative vitreoretinopathy based on genetic variables: The retina 4 Project. *IOVS* 2009; 50 (5).2384-2390.

**Rosenfeld PJ**, Brown DM, Heier JS Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al: Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006; 355: 1419-1431.

**Rouvier E**, Luciani MF, Mattei MG, Denizot F, Golstein P. CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol* 1993; 150: 5445–5456.

**Ryan SJ**. The pathophysiology of proliferative vitreoretinopathy and its management. *Am J Ophthalmol* 1985; 100: 188-193.

**Saiki RK**, Scharf SJ, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnostic of sickle cell anemia. *Science* 1985;230: 1350-1354.

**Sanabria MR**, Pastor JC, Garrote JA, Telleria JJ, Yugueros MI. Cytokine gene polymorphisms in retinal detachment patients with and without proliferative vitreoretinopathy: a preliminary study. *Acta Ophthalmol Scand* 2006; 84:309-313.

**Sanchez Salorio M**. Historia Magistra Vitae. Noticia y reflexión sobre dos grandes maestros: Jules Gonin y Charles Schepens. *St Ophthal* 1998; XVII (1): 85-96.

**Scheie HG**, Morse PH, Aminlari A. Incidence of retinal detachment following cataract extraction. *Arch Ophthalmol* 1973; 89: 293-295.

**Schepens CL**. Prognosis and treatment of retinal detachment. The Mark J Schoenberg Memorial Lecture. A review by Kronenburg B, New York Society for Clinical Ophthalmology. *Am J Ophthalmol* 1953; 36: 1739-1756.

**Schreiber GH**, Schreiber RD. Interferon- $\gamma$ . En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 567-601.

**Schreiber S**, Heining T, Thiele HG, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995; 108: 1434-1444.

**Sebag J**. Age-related differences in the human vitreoretinal interface. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 966-971.

**Sebag J.** Anomalous posterior vitreous detachment: a unifying concept in vitreo-retinal disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004; 242: 690-698.

**Sebag J.** Vitreous biochemistry, morphology, and clinical examination. En: Tasman W, Jaeger E, eds. *Duane's Clinical Ophthalmology*. Philadelphia. New York: Lippincott-Raven; 1995. Vol 3 Cap 38.

**Sethi CS**, Lewis GP, Fisher SK, Leitner WP, Mann DL, Luther PJ, et al. Glial remodeling and neural plasticity in human retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46 (1): 329-342.

**Sharma MC**, Chan P, Kim RU, Benson WE. Rhegmatogenous retinal detachment in the fellow phakic eyes of patients with pseudophakic rhegmatogenous retinal detachment. *Retina* 2003; 23 (1): 37-40.

**Smith P**, Stark WJ, Maumenee A, Enger CL, Michels RG, Glasser BM. Retinal detachment after extracapsular cataract extraction with posterior chamber intraocular lens. *Ophthalmology* 1987; 94: 495-504.

**Sodhi A**, Leung LS, Do DV, Gower EW, Shein OD, Handa JT. Recent trends in the management of rhegmatogenous retinal detachment. *Surv Ophthalmol* 2008; 53 (1): 50-67.

**Stickler GB**, Hughes W, Houching P. Clinical features of hereditary progressive arthro-ophthalmopathy (Stickler syndrome): a survey. *Genet Med* 2001; 3: 192-196.

**Suarez A**, Mozo L, Gutiérrez Martín C. Citocinas y sus receptores. En *Inmunología en línea*. Peña J, coordinador. UCO. HURS. Córdoba 2009. Disponible en: <http://www.inmunologiaenlinea.es>.

**Sugita G**, Tano Y, Macheimer R, Abrams G, Claflin A, Fiorentino G. Intravitreal autotransplantation of fibroblasts. *Am J Ophthalmol* 1980; 89: 121-130.

**Tasman WS.** Posterior vitreous detachment and peripheral retinal breaks. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1968; 72: 217-224.

**Therese L**, Anand AR, Madhavan HN. Polymerase chain reaction in the diagnosis of bacterial endophthalmitis. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 1078-1082.

**The Retina Society Terminology Committee.** The classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmology* 1983; 90:121-125.

**Tokunaga T,** Yamamoto T, Yamamoto S. How BCG led to the discovery of immunostimulatory DNA. *Jpn J Infect Dis* 1999; 52: 1-11.

**Tolentino MJ,** Miller JW, Gragoudas ES, Jakobiec FA, Flynn E, Chatzistefanou K, et al. Intravitreal injections of vascular endothelial growth factor produce retinal ischemia and microangiopathy in an adult primate. *Ophthalmology* 1996; 103: 1820-1828.

**Tran THC,** Rozenberg F, Cassoux N, Rao NA, LeHoang P, Bodaghi B. Polymerase chain reaction analysis of aqueous humour samples in necrotising retinitis. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 79-83.

**Tuf SJ,** Minassian D, Sullivan P. Risk factor for retinal detachment after cataract surgery: a case-control study. *Ophthalmology* 1006; 113: 650-656.

**Turnbull AW,** Rivier CL. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev* 1999; 79: 1-71.

**Van Overdam KA,** Bettink-Remeijer MW, Mulder PG, van Meurs JC. Symptoms predictive for the later development of retinal breaks. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1483-1486.

**Vilcek J.** The cytokines: an overview. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 3-18.

**Wang H,** Czura CJ, Tracey KJ. Tumor necrosis factor. En: Thomson AW, Lotze MT eds. *The cytokine handbook*. 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press; 2003. 837-860.

**Weissenbach J,** Chernajovsky Y, Zeevi M, Shulman L, Soreq H, Nir U, et al. Two interferon mRNAs in human fibroblasts: in vitro translation and Escherichia coli cloning studies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 7152-7156.

**Weller M,** Wiedemann P, Heimann K. Proliferative vitreoretinopathy. Is it anything more than wound healing at the wrong place? *Int Ophthalmol* 1990; 14: 105-117.

**Wickham L**, Bunce C, Wong D, McGurn D, Charteris DG. Randomized controlled trial of combined 5-fluorouracil and low-molecular-weight heparin in the management of unselected rhegmatogenous retinal detachments undergoing primary vitrectomy. *Ophthalmology* 2007; 114: 698-704.

**Wiedemann P**, Hilgers RD, Bauer P, Heimann K. Adjunctive daunorubicin in the treatment of proliferative vitreoretinopathy: results of a multicenter clinical trial. Daunomycin Study Group. *Am J Ophthalmol* 1998; 126: 550-559.

**Wilkins RB**, Kulwin DR. Wound healing. *Ophthalmology* 1979; 86: 507-510.

**Winkinson CP**. Evidence-based analysis of prophylactic treatment of asymptomatic retinal breaks and lattice degeneration. *Ophthalmology* 2000; 107: 12-16.

**Yamamoto H**, Hayashi H, Uchida H, Kato H, Oshima K. Increased soluble interleukin-6 receptor in vitreous fluid of proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 2003; 26: 9-14.

**Yao Z**, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK et al. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol* 1995; 155: 5483–5486.

**Yeo JH**, Sadeghi J, Campochiaro PA, Green WR, Glaser BM. Intravitreal fibronectin and platelet-derived growth factor. *Arch Ophthalmol* 1986; 104:417-421.

**Yonemoto J**, Ideta H, Sasaki K, Hirose A, Oka C. The age of onset of posterior vitreous detachment. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994; 232: 67-70.

**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.

**Yoshino Y**, Ideta H, Nagasaki H, Uemura A. Comparative study of clinical factors predisposing patients to proliferative vitreoretinopathy. *Retina* 1989; 9: 97-100.

**Zamora MR**. DNA viruses (CMV, EBV, and the Herpesviruses). *Semin Respir Crit Care Med* 2011; 32: 454-470.

**Zauberman H**, de Guillebon H. Retinal traction in vivo and postmortem. *Arch Ophthalmol* 1972; 87:549-554.



## **9. - APÉNDICES**



DoH Oct2008

**DECLARACIÓN DE HELSINKI DE LA ASOCIACIÓN MÉDICA MUNDIAL**  
**Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos**

Adoptada por la

18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964

y enmendada por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000

Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea General de la AMM,  
Washington 2002

Nota de Clarificación del Párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM,  
Tokio 2004

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

**A. INTRODUCCIÓN**

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables. La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo no debe ser aplicado sin considerar todos los otros párrafos pertinentes.
2. Aunque la Declaración está destinada principalmente a los médicos, la AMM insta a otros participantes en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.
3. El deber del médico es promover y velar por la salud de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.
4. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".
5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos. Las poblaciones que están subrepresentadas en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.
6. En investigación médica en seres humanos, el bienestar de la persona que participa en la investigación debe tener siempre primacía sobre todos los otros intereses.

7. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones actuales deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.

8. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos.

9. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y necesitan protección especial. Estas incluyen a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos y a los que pueden ser vulnerables a coerción o influencia indebida.

10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.

## B. PRINCIPIOS PARA TODA INVESTIGACIÓN MÉDICA

11. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación.

12. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

13. Al realizar una investigación médica, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente.

14. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos debe describirse claramente en un protocolo de investigación. Este debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación. El protocolo debe describir los arreglos para el acceso después del ensayo a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o el acceso a otra atención o beneficios apropiados.

15. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación, a un comité de ética de investigación antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida.

El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración. El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ningún cambio en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité.

16. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la formación y calificaciones científicas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y cualificado apropiadamente. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

17. La investigación médica en una población o comunidad con desventajas o vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades y prioridades de salud de esta población o comunidad y si existen posibilidades razonables de que la población o comunidad, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.

18. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y las comunidades que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o comunidades afectadas por la enfermedad que se investiga.

19. Todo ensayo clínico debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

20. Los médicos no deben participar en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender inmediatamente el experimento en marcha si observan que los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.

21. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para la persona que participa en la investigación.

22. La participación de personas competentes en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona competente debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.

23. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física, mental y social.

24. En la investigación médica en seres humanos competentes, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posible conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento y todo otro aspecto pertinente de la investigación. La persona potencial debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada individuo potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestado formalmente.

25. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, el médico debe pedir normalmente el consentimiento para la recolección, análisis, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación o podría ser una amenaza para su validez. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

26. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.

27. Cuando el individuo potencial sea incapaz, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud de la población representada por el individuo potencial y esta investigación no puede realizarse en personas competentes y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.

28. Si un individuo potencial que participa en la investigación considerado incompetente es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del individuo potencial debe ser respetado.

29. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. En estas circunstancias, el médico

debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

30. Los autores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación de los resultados de su investigación. Los autores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

#### C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACIÓN MÉDICA SE COMBINA CON LA ATENCIÓN MÉDICA

31. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.

32. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con la mejor intervención probada existente, excepto en las siguientes circunstancias:

- El uso de un placebo, o ningún tratamiento, es aceptable en estudios para los que no hay una intervención probada existente.
- Cuando por razones metodológicas, científicas y apremiantes, el uso de un placebo es necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención que no implique un riesgo, efectos adversos graves o daño irreversible para los pacientes que reciben el placebo o ningún tratamiento. Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.

33. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio tienen derecho a ser informados sobre sus resultados y compartir cualquier beneficio, por ejemplo, acceso a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o a otra atención apropiada o beneficios.

34. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe perturbar la relación médico-paciente.

35. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas han resultado ineficaces o no existen, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales intervenciones deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO SEGÚN MODELO OFICIAL**

JUNTA DE ANDALUCIA

Consejería de Salud

Hoja1/4

**FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO ESCRITO**

Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de 6 de agosto de 2009) por a que se distan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al Consentimiento Informado

<b>HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA</b>		<b>SERVICIO DE OFTALMOLOGIA</b>
<b>1</b>	<b>DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA</b>	
	<b>CIRUGIA DEL DESPRENDIMIENTO DE RETINA</b>	
<p>Este documento sirve para que usted, o quien le represente, de su consentimiento para esta intervención. Eso significa que nos autoriza a realizarla.</p> <p>Puede retirar este documento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a hacerse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad de la atención recibida. Antes de firmar es importante que lea despacio la información siguiente.</p> <p><b>Díganos si tiene alguna duda o necesita más información.</b> Le atenderemos con mucho gusto.</p>		
<b>1.1.</b>	<b>LO QUE USTED DEBE SABER</b>	
<b>EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE:</b>		
<p>La retina es la capa interna del ojo. El desprendimiento de retina consiste en la separación de ésta del resto de las capas, ocasionado en la mayoría de las veces por uno o varios agujeros en la retina y en un porcentaje menor por una tracción, traumatismo, inflamación o tumor intraocular.</p> <p>La cirugía sirve para reapplicar la retina, existen diversos procedimientos que se realizarán en función del tipo, localización, tamaño y tiempo de evolución del desprendimiento y del estado general del paciente.</p>		
<b>CÓMO SE REALIZA:</b>		
<p>Las diferentes técnicas que se utilizan son:</p> <p><b>Vitrectomía:</b> Es una técnica quirúrgica en la que se elimina el humor vítreo y se manipula la retina “desde dentro” para proceder a su reaplicación. El vítreo se sustituye por suero, gases o aceite de silicona. Se puede asociar con el resto de las técnicas.</p> <p><b>Indentación escleral:</b> Consiste en la aplicación de un implante o banda sobre la esclera que provoca un abombamiento local de la pared ocular hacia el interior del ojo aproximándola a la retina con el fin de indentar los desgarros retinianos y reducir la tracción vítreo existente. Se trata el desprendimiento de retina “desde fuera”.</p> <p><b>Inyección intraocular de gas:</b> Se inyecta dentro del ojo una pequeña cantidad de gas que forma una burbuja que empuja la retina para facilitar su adherencia. Se acompaña de un tratamiento postural asociado a fotocoagulación o criopexia. Se suele aplicar asociado a la vitrectomía y/o c. extraescleral.</p> <p><b>Criopexia:</b> Aplicación de frío a través de una sonda que se pone en contacto con la esclera con el objeto de crear una cicatriz coriorretiniana que tapone el agujero causante del desprendimiento. Se suele aplicar asociado a la vitrectomía y/o c. extraescleral.</p> <p><b>Fotocoagulación:</b> Consiste, al igual que el frío, en la creación de una cicatriz coriorretiniana que tapone el agujero o desgarro retiniano; pero en este caso es mediante una quemadura originada por el láser. Se suele aplicar asociado a la vitrectomía.</p> <p>A veces es necesario asociar cirugía de cataratas.</p> <p>La elección de la anestesia, que puede ser general o local (inyección de anestésico local retrobulbar o peribulbar), va a depender de varios factores como pueden ser: el estado general del paciente, la técnica quirúrgica a emplear y la duración de la intervención.</p>		

**QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:**

Tras la cirugía el ojo presentará un grado de inflamación mayor o menor dependiendo del procedimiento realizado.

En los casos con inyección de gas intraocular el paciente deberá de realizar un tratamiento postural los siguientes días o semanas tras la cirugía.

**EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:**

La finalidad de las diferentes técnicas anteriormente descritas es la recuperación anatómica y funcional de la retina, tratando de alcanzar la mejor agudeza visual posible y evitar la recurrencia del cuadro.

Si la respuesta del ojo es buena, se irá recobrando visión progresivamente en el curso de los siguientes seis a doce meses.

El grado de visión final dependerá de varios factores, siendo el pronóstico peor en los casos que exista afectación de la mácula, la retina haya estado desprendida durante un largo periodo de tiempo, exista proliferación vitreoretiniana o se hayan necesitado dos o más intervenciones.

**OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:**

Por el momento, no existen otras alternativas a las descritas.

**QUÉ RIESGOS TIENE:****Los más frecuentes:**

Inflamación pasajera de los párpados, la córnea.

Dolor de leve a intenso en el postoperatorio que puede durar meses.

Aumento de la tensión intraocular. Cataratas.

Miopización del ojo (unas 2 dioptrías) cuando se realiza cirugía extraescleral.

**Los más graves:**

Hemorragia intraocular, algunas de ellas de gravedad como la hemorragia expulsiva que puede ocasionar la pérdida de visión o incluso la del globo ocular.

Endoftalmitis (infección intraocular grave), que podría acarrear la pérdida del globo ocular.

Hematoma de coroides. Alteración permanente de la transparencia corneal.

Nuevo desprendimiento de retina.

Imposibilidad de visualizar las roturas, que puede obligar a posponer la intervención.

Sorpresas refractivas, cuando se asocia a cirugía de catarata.

Por la anestesia: La hemorragia retrobulbar, oclusión de la arteria central de la retina, lesión del nervio óptico, perforación ocular, depresión cardiorrespiratoria, y reacción tóxica-alérgica.

Las patologías sistémicas asociadas como diabetes, hipertensión, cardiopatías, inmunodepresión y otras, aumentan el riesgo y la posibilidad de complicaciones intra y postoperatorias.

**Los derivados de sus problemas de salud:****SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:****OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional)**

Si no se realiza cirugía, el desprendimiento de retina suele progresar a pérdida de la visión y de la estructura anatómica del globo ocular.

**OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:**

- A veces, durante la intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.
- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usarán directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.
- También pueden hacer falta tomar imágenes, como fotos o videos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

<b>2</b>	<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO:</b>	
<b>2.1</b>	<b>DATOS DEL/ DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE (solo en caso de incapacidad del/de la paciente):</b>	
	APELLIDOS Y NOMBRE DEL PACIENTE	DNI / NIE
	APELLIDOS Y NOMBRE DEL/DE LA REPRESENTANTE LEGAL	DNI / NIE

<b>2.2</b>	<b>PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO</b>		
	APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA

<b>2.3</b>	<b>CONSENTIMIENTO</b>
<p>Yo, D/Dña. _____, manifiesto que estoy conforme con la intervención que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.</p> <p><input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo a que se realicen las actuaciones oportunas, incluyendo modificaciones en la forma de realizar la intervención, para evitar los peligros o daños potenciales para la vida o la salud, que pudieran surgir durante el curso de intervención.</p> <p><input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para cualquier posible <u>investigación relacionada directamente con la enfermedad que padezco.</u></p> <p><input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo que, en caso de que mis muestras biológicas vayan a ser utilizadas en otras investigaciones diferentes, los investigadores se pongan en contacto conmigo para solicitarme consentimiento.</p> <p><input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo la utilización de imágenes con fines docentes o de difusión del conocimiento científico.</p> <p>NOTA: Márquese con una cruz.</p> <p style="text-align: center;">En _____ a _____ de _____ de _____</p> <p>EL/LA PACIENTE _____ EL/LA REPRESENTANTE LEGAL( sólo en caso de incapacidad de/de la paciente)</p> <p>Fdo.: _____ Fdo.: _____</p>	
<b>2.4</b>	<b>RECHAZO DE LA INTERVENCIÓN</b>
<p>Yo, D/Dña. _____, no autorizo a la realización de esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.</p> <p style="text-align: center;">En _____ a _____ de _____ de _____</p> <p>EL/LA PACIENTE _____ EL/LA REPRESENTANTE LEGAL( sólo en caso de incapacidad de/de la paciente)</p> <p>Fdo.: _____ Fdo.: _____</p>	
<b>2.5</b>	<b>REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO</b>
<p>Yo, D/Dña. _____, de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para esta intervención. Asumo las consecuencias de que ello puedan derivarse para la salud o la vida.</p> <p style="text-align: center;">En _____ a _____ de _____ de _____</p> <p>EL/LA PACIENTE _____ EL/LA REPRESENTANTE LEGAL( sólo en caso de incapacidad de/de la paciente)</p> <p>Fdo.: _____ Fdo.: _____</p>	

## **PROTOCOLO DE RECOGIDA DE MUESTRAS**

PACIENTES (según criterios de inclusión y de exclusión):

- Desprendimiento de retina. Cirugía extraescleral
- Desprendimiento de retina y PVR. Cirugía endoocular (vpp)
- Controles. Sin otra patología ocular (vpp):
  - o Agujeros maculares
  - o Membranas epimaculares

MUESTRAS:

- Todos los pacientes: muestra de sangre periférica
  - o Tubos de heparina (Vacuette verde referencia 454247)
- Pacientes intervenidos mediante vitrectomía:
  - o Muestra de primera aspiración de vítreo sin diluir (infusión cerrada)
  - o Tubo Eppendorf (“estéril”)
- Pacientes intervenidos mediante cirugía extraescleral:
  - o Muestra de drenaje líquido subretiniano (aspirar con jeringa)
  - o Siempre sin sangre macroscópica (desechar si hemático)
  - o Tubo de Eppendorf (“estéril”)
- Etiquetar ambas (indentificadas con pegatina del paciente):
  - o muestra ocular
  - o sangre periférica
- CONSERVACIÓN TEMPORAL EN FRIGORIFICO (no congelar) en el recipiente ad hoc.
- Será transportada sin demora al laboratorio para su procesamiento.







**TABLAS DE RESULTADOS GLOBALES**

Pacientes	Edad	Sexo	Cuadrantes	Antigüedad	IL-17	IFN- $\gamma$	TNF	IL-10	IL-6	IL-4	IL-2
1	44 años	H	3 C	10 días	8,4	2,1	0,1	0,1	43,6	0,2	0,1
3	61 años	M	2 C	8 días	16,6	4,6	2,1	2,7	69,2	1,9	2,2
7	62 años	H	2 C	6 días	30,6	4,7	2,7	3,3	38,7	2,4	2,2
8	63 años	H	2 C	15 días	16,6	2,4	2,1	1,4	36,1	0,1	1,6
15	28 años	M	3 C	12 días	14,4	2,2	0,2	0,3	48,5	0,1	0,2
16	84 años	H	2 C	13 días	0,3	0,1	0,1	0,1	37,8	0,5	0,1
17	38 años	M	3 C	12 días	0,5	0,6	0,3	0,2	65,5	0,3	0,3
20	64 años	H	2 C	16 días	50,1	0,3	0,3	0,1	67,7	0,1	0,1
21	66 años	H	2 C	7 días	3,1	0,1	0,1	0,1	41,4	0,1	0,1
22	79 años	M	3 C	6 días	0,5	0,1	0,1	0,1	33,2	0,1	0,1
28	46 años	M	3 C	4 días	3,3	0,1	0,1	0,1	43,1	0,1	0,1
31	76 años	H	3 C	12 días	0,1	0,2	0,2	0,1	30,2	3,1	0,2
32	71 años	M	2 C	7 días	0,2	0,1	0,1	2,1	85,9	0,1	0,1
33	61 años	M	2 C	15 días	0,2	0,1	0,1	0,1	73,8	0,1	0,1
36	69 años	H	3 C	22 días	0,1	0,1	0,1	0,3	91,6	0,1	0,1
37	79 años	H	2 C	15 días	0,1	0,1	0,1	0,3	34	0,1	0,1
38	50 años	H	3 C	16 días	0,1	0,1	0,1	0,1	39,6	0,1	0,1
39	63 años	M	2 C	12 días	0,1	0,2	0,2	0,1	26,8	0,2	0,2
42	77 años	H	2 C	8 días	18,5	0,1	0,1	0,1	26,5	0,1	0,1
44	34 años	H	2 C	4 días	4,2	0,4	0,4	0,3	16,8	0,1	0,1
47	59 años	H	2 C	5 días	0,1	0,1	0,1	0,5	25,1	0,1	0,1
48	79 años	H	3 C	20 días	0,3	0,1	0,1	0,1	128,5	0,1	0,1
50	55 años	M	2 C	8 días	0,1	0,1	0,1	0,1	41,9	0,1	0,1
54	48 años	M	2 C	14 días	0,1	0,1	0,1	0,3	51,3	0,1	0,1
57	70 años	M	2 C	5 días	0,4	0,1	0,2	0,1	27,1	0,1	0,1

**Pacientes Grupo DR sin PVR. Resultados Humor Vítreo**

Pacientes	Edad	Sexo	Cuadrantes	Antigüedad	IL-17	IFN- $\gamma$	TNF	IL-10	IL-6	IL-4	IL-2
1	44 años	H	3 C	10 días	38,2	2,3	0,3	0,6	0,2	0,3	0,1
3	61 años	M	2 C	8 días	0,4	2,4	1,5	0,3	0,3	0,1	0,6
7	62 años	H	2 C	6 días	9,9	2,5	0,6	0,3	0,1	0,1	0,3
8	63 años	H	2 C	15 días	3,3	0,1	1,2	1,4	0,2	0,1	0,1
15	28 años	M	3 C	12 días	5,5	1,7	0,5	0,1	0,4	0,1	0,1
16	84 años	H	2 C	13 días	11,4	3,8	1,5	0,2	2	0,2	0,1
17	38 años	M	3 C	12 días	8,4	2,8	1,2	0,2	0,2	0,1	0,2
20	64 años	H	2 C	16 días	0,1	0,1	0,3	0,5	0,3	0,1	2,3
21	66 años	H	2 C	7 días	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0
22	79 años	M	3 C	6 días	0,1	2,6	0,1	0,1	0,1	1,3	0
28	46 años	M	3 C	4 días	0,5	1,7	0,4	0,2	1,3	2,7	0,1
31	76 años	H	3 C	12 días	0,1	0,2	1,6	0,1	0,1	0,2	0,1
32	71 años	M	2 C	7 días	0,2	0,5	2,3	0,1	4,5	0,5	0,2
33	61 años	M	2 C	15 días	0,5	2,9	0,1	0,1	5,3	1,8	0,1
36	69 años	H	3 C	22 días	0,1	0,6	0,7	0,1	2,3	1,3	3,8
37	79 años	H	2 C	15 días	0,1	0,1	0,8	3,5	4,7	0,1	1,4
38	50 años	H	3 C	16 días	0,4	0,1	3,6	6,4	0,1	0,1	1,9
39	63 años	M	2 C	12 días	0,7	0,1	0,1	7,3	0,1	0,1	0,5
42	77 años	H	2 C	8 días	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	1,2
44	34 años	H	2 C	4 días	0,1	2,7	0,2	0,2	4,1	6,1	1,5
47	59 años	H	2 C	5 días	57,5	0,1	0,1	3,6	0,5	0,1	1,4
48	79 años	H	3 C	20 días	138,7	0,1	0,1	0,5	6,2	0,1	2,1
50	55 años	M	2 C	8 días	0,1	0,3	0,2	0,1	0,3	0,3	1,2
54	48 años	M	2 C	14 días	85,3	0,2	3,7	0,1	0,2	0,2	2,6
57	70 años	M	2 C	5 días	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,4

**Pacientes Grupo DR sin PVR. Resultados Plasma**

## Apéndices

Pacientes	Edad	Sexo	Cuadrantes	Antigüedad	IL-17	IFN- $\gamma$	TNF	IL-10	IL-6	IL-4	IL-2
6	79 años	H	2 C	23 días	20,7	2,7	1,9	2,6	478,6	0,1	1,8
9	61 años	H	3 C	29 días	9,2	2,2	2	0,1	123,2	0,1	0,3
10	66 años	H	3 C	27 días	18,8	3	1,5	1,8	108,5	0,6	0,3
11	39 años	H	3 C	20 días	5	0,5	0,2	0,2	108,1	0,3	0,7
13	58 años	M	3 C	28 días	43,5	6,6	4,1	4,4	454,9	5,2	3,4
14	47 años	H	2 C	1 año	16,6	2,5	1,9	1,5	1585,4	1,8	1,3
18	88 años	M	3 C	22 días	16,6	2,7	2	0,4	140,4	0,2	0,1
23	39 años	H	2 C	22 días	0,1	0,1	0,1	0,1	454,9	0,8	0,2
24	74 años	H	2 C	30 días	0,1	0,1	0,1	0,1	873,3	0,1	0,1
26	66 años	M	2 C	27 días	2,1	0,3	0,3	0,1	157,4	0,3	0,3
40	44 años	M	3 C	42 días	0,1	0,3	0,3	1,6	535,3	0,1	0,1
45	34 años	H	4 C	35 días	0,1	0,2	0,2	5,3	868,8	0,3	0,6
46	54 años	H	3 C	30 días	0,1	0,1	0,1	0,1	296,5	0,1	0,1
49	67 años	H	2 C	23 días	0,1	0,1	0,1	0,1	432,3	0,1	0,1
52	66 años	H	3 C	40 días	1,5	7,2	4,9	0,2	419,3	0,1	0,1
53	63 años	H	4 C	60 días	0,1	0,1	0,1	0,1	410,9	0,1	0,1
55	68 años	H	2 C	28 días	0,1	0,1	0,1	0,1	382,6	0,1	0,1
56	68 años	M	3 C	40 días	0,1	0,1	0,1	0,1	338,5	0,1	0,1
58	46 años	M	3 C	25 días	7,6	3,1	0,3	0,6	546,4	2,1	1,3

### Pacientes Grupo DR con PVR. Resultados Humor Vítreo

Pacientes	Edad	Sexo	Cuadrantes	Antigüedad	IL-17	IFN- $\gamma$	TNF	IL-10	IL-6	IL-4	IL-2
6	79 años	H	2 C	23 días	0,1	0,4	0,4	0,1	0,8	0,1	0,2
9	61 años	H	3 C	29 días	0,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,3	0,2
10	66 años	H	3 C	27 días	0,2	1,9	0,3	0,4	0,1	0,1	0,1
11	39 años	H	3 C	20 días	12,2	1,4	1,2	0,3	2,6	0,8	0,6
13	58 años	M	3 C	28 días	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,6	0,2
14	47 años	H	2 C	1 año	7,6	0,1	0,1	0,5	0,5	0,1	0,5
18	88 años	M	3 C	22 días	11,1	1,9	1,6	1,7	2,7	0,3	1,2
23	39 años	H	2 C	22 días	0,5	0,5	0,1	0,4	0,1	0,5	2,9
24	74 años	H	2 C	30 días	0,8	0,4	0,2	0,2	73,8	0,4	1,8
26	66 años	M	2 C	27 días	0,2	0,6	0,5	0,1	13,2	0,6	0,1
40	44 años	M	3 C	42 días	0,6	0,5	6,1	0,1	0,1	0,5	1,2
45	34 años	H	4 C	35 días	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1
46	54 años	H	3 C	30 días	0,1	0,2	3,6	0,5	0,1	0,2	0,3
49	67 años	H	2 C	23 días	0,3	0,4	0,1	0,1	0,1	0,4	0,5
52	66 años	H	3 C	40 días	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,1	0,1
53	63 años	H	4 C	60 días	0,1	0,1	0,1	3,1	0,1	0,1	0,3
55	68 años	H	2 C	28 días	0,5	0,3	0,1	3,6	5,9	0,5	1,1
56	68 años	M	3 C	40 días	0,4	0,1	0,2	0,2	3,1	0,1	0,2
58	46 años	M	3 C	25 días	0,6	0,1	3,7	0,1	0,1	0,1	0,1

### Pacientes Grupo DR con PVR. Resultados Plasma

## Apéndices

Pacientes	Edad	Sexo	Diagnóstico	IL-17	IFN- $\gamma$	TNF	IL-10	IL-6	IL-4	IL-2
2	67 años	M	MEM	0,2	0,1	0,1	0,1	7,7	0,1	0,4
4	67 años	H	AMI	0,1	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1
5	71 años	M	MEM	20,3	3,4	2,8	2,3	5,6	0,3	1,8
12	64 años	M	AMI	10,3	2,2	2,3	1,6	5,5	0,4	1,4
19	73 años	M	AMI	15,1	3,2	0,1	1,8	1,8	0,1	0,1
25	74 años	M	AMI	0,1	0,2	0,2	0,4	15,8	0,2	0,2
27	74 años	H	MEM	14,4	0,3	0,3	0,1	6,8	1,4	0,3
29	71 años	M	MEM	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1
30	47 años	H	AMI	0,1	0,4	0,2	0,1	4,5	0,1	0,1
34	59 años	M	AMI	0,5	0,3	0,3	0,1	2,9	1,2	0,5
35	75 años	M	MEM	0,5	0,1	0,1	0,2	2,9	0,1	0,1
41	44 años	M	AMI	0,1	0,3	0,3	0,8	9	0,4	0,3
43	73 años	M	MEM	3,1	0,1	0,1	0,2	10	0,1	0,1
51	74 años	M	MEM	0,3	0,3	0,3	0,1	2,8	0,4	0,3

### Grupo Control. Resultados Humor Vítreo

Pacientes	Edad	Sexo	Diagnostico	IL-17	IFN- $\gamma$	TNF	IL-10	IL-6	IL-4	IL-2
2	67 años	M	MEM	0,3	2,5	0,4	1,9	0,2	0,1	0,4
4	67 años	H	AMI	6,4	1,7	0,1	1,5	0,1	0,4	0,1
5	71 años	M	MEM	6,8	0,3	0,2	0,2	0,6	0,9	0,2
12	64 años	M	AMI	5,5	0,2	2,1	0,7	0,1	0,2	0,4
19	73 años	M	AMI	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,5
25	74 años	M	AMI	0,1	0,3	0,1	0,1	5,3	0,3	1,5
27	74 años	H	MEM	0,1	0,4	0,1	1,3	0,1	0,4	0,1
29	71 años	M	MEM	0,3	0,2	0,8	0,5	0,2	0,2	1,1
30	47 años	H	AMI	0,1	3,3	1,2	3,4	0,2	3,5	0,1
34	59 años	M	AMI	0,3	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	1,5
35	75 años	M	MEM	0,2	0,1	0,4	4,4	0,1	0,1	0,1
41	44 años	M	AMI	0,4	0,8	0,1	0,1	0,2	0,6	0,1
43	73 años	M	MEM	0,3	0,6	0,4	0,1	4,3	0,6	0,1
51	74 años	M	MEM	643,9	0,1	4,1	0,2	0,1	0,1	1,9

### Grupo Control. Resultados Plasma