





**DEPARTAMENT DE CIRURGIA  
FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA**



**VNIVERSITAT  
ID VALÈNCIA**

---

**NIVELES DE TROMBOPOYETINA EN  
HUMOR ACUOSO DE PACIENTES CON  
UVEITIS ANTERIOR AGUDA NO  
INFECCIOSA**

---

**TESIS DOCTORAL**

**Dirigida por:**

**Prof. Dr. Manuel Díaz Llopis**

**Dr. David Salom Alonso**

**Presentada por:**

**D. José Juan Mondéjar García**

**Licenciado en Medicina y Cirugía**

**Curso de Doctorado: Cirugía en Otoneurooftalmología**

**Valencia, 2015**

Maquetación e impresión: Olelibros.com  
equipo@olelibros.com  
www.olelibros.com

Departament de Cirurgia. Facultat de Medicina i Odontologia

Título de Tesis Doctoral:

Niveles de trombopoyetina en humor acuoso de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa

Presentado por: D. José Juan Mondéjar García

Licenciado en medicina y Cirugía

Programa de Doctorado: 992-040G Cirugía en otoneurooftalmología

Directores: Prof. Dr. Manuel Díaz Llopis

Dr. David Salom Alonso

Valencia, 2015



MANUEL DIAZ LLOPIS, Doctor en Medicina y Cirugía, Catedrático de Oftalmología del Departamento de Cirugía de la facultat de Medicina i Odontología, de la Universidad de Valencia.

DAVID SALOM ALONSO, Doctor en Medicina y Cirugía y Jefe de Servicio de Oftalmología del Hospital de Manises, Valencia

CERTIFICAN QUE: La presente tesis doctoral presentada por el Licenciado en Medicina y Cirugía JOSE JUAN MONDEJAR GARCIA, que lleva por título “Niveles de trombopoyetina en humor acuoso de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa” ha sido realizada bajo nuestra dirección. Y para que así conste, y en cumplimiento de la legislación vigente, presentamos esta memoria y firmamos este certificado.



## **Agradecimientos:**

Mis más sincero agradecimiento a los Drs. Manuel Díaz Llopis y David Salom Alonso, por la dirección de esta tesis.

Quiero además expresar mi especial gratitud al Prof. Manuel Díaz Llopis, por enseñarnos a muchos algo tan importante como es “aprender a pensar”, y también a ser “eficientes” en nuestra práctica clínica, y como no, por habernos “contaminado” de alguna manera de su gran capacidad de trabajo, su afán investigador y descubrir cosas nuevas día a día.

También quiero agradecer muy sinceramente a los Drs. David Salom y Salvador García Delpech, por su inestimable ayuda en todo momento, por su apoyo y sobre todo por su optimismo, su constancia y su paciencia infinita. Mi agradecimiento especial al Dr Enrique España por sus valiosos consejos.

Por último agradecer a todos mis compañeros adjuntos, residentes y resto de compañeros del Servicio de Oftalmología del Hospital La Fe de Valencia, así como a todos los demás amigos y compañeros de los demás de los Hospitales donde he tenido ocasión de trabajar, sus consejos, ayuda y en especial su Amistad



*“La ciencia, a pesar de sus progresos increíbles, no puede ni podrá nunca explicarlo todo. Cada vez ganará nuevas zonas a lo que hoy parece inexplicable. Pero las rayas fronterizas del saber, por muy lejos que se eleven, tendrán siempre delante un infinito mundo de misterio”*

**Gregorio Marañón (1887-1960)**

*“Ciencia es el arte de crear ilusiones convenientes, que el necio acepta o disputa, pero de cuyo ingenio goza el estudioso, sin cegarse ante el hecho de que tales ilusiones son otros tantos velos para ocultar las profundas tinieblas de lo insondable”*

**Carl Gustav Lung (1875-1961)**



# Índice general

---



|   |      |
|---|------|
| INDICE GENERAL .....  | xi   |
| LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS .....  | xv   |
| INDICE DE ILUSTRACIONES .....   | xvii |
| INDICE DE TABLAS .....  | xix  |
| 1. INTRODUCCION .....   | 1    |
| LA SEÑALIZACION CELULAR Y LOS FACTORES DE CRECIMIENTO<br>CELULAR .....  | 3    |
| 1. Moléculas señalizadoras y sus receptores .....   | 3    |
| 2. Funciones de los receptores de la superficie celular .....   | 6    |
| 3. Vías de transduccion intracelular de señales .....   | 9    |
| 4. Transduccion de señales y citoesqueleto .....  | 12   |
| 5. Redes de señalización .....  | 14   |
| 6. Factores de crecimiento celular y mecanismos de respuesta celular .....                                    | 15   |
| 7. La trombopoyetina y otras citoquinas y factores de crecimiento en<br>polo anterior ocular .....            | 18   |
| 8. Los factores de crecimiento en los procesos inflamatorios y<br>cicatriciales oculares .....                | 29   |
| 9. Los factores de crecimiento en la fisiopatología de las enfermedades<br>del segmento anterior ocular ..... | 32   |
| 10. Factores de crecimiento celular y uveítis .....   | 33   |
| 11. Utilización de factores de crecimiento ocular en oftalmología .....                                       | 35   |
| LAS UVEITIS .....   | 36   |
| 1. Anatomía de la úvea .....  | 36   |
| 2. Características histológicas de la úvea .....  | 42   |
| 3. El humor acuoso .....  | 44   |
| 4. Respuesta inmunitaria en la úvea .....   | 48   |
| 5. Definición y clasificación de las uveítis .....  | 51   |
| 6. Epidemiología de las uveítis .....   | 56   |
| 7. Etiopatogenia de las uveítis .....   | 57   |
| 8. Clínica de las uveítis .....   | 63   |
| 9. Pruebas básicas clínicas y de laboratorio en el estudio de las uveítis ...                                 | 73   |
| 10. Uveítis anteriores no infecciosas (autoinmunitarias) .....  | 74   |
| 11. Bases del tratamiento de las uveítis anteriores no infecciosas .....                                      | 85   |
| 2. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO .....  | 105  |
| 3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO .....  | 117  |
| 3.1. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO .....  | 119  |
| 3.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO .....  | 119  |

## ÍNDICE GENERAL

---

|  |     |
|--|-----|
| 3.2.1. Objetivos principales .....   | 119 |
| 3.2.2. Objetivos secundarios .....   | 119 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODO .....   | 143 |
| 4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO .....  | 145 |
| 4.2. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES .....                               | 145 |
| 4.3. EXPLORACION CLINICA DE LOS PACIENTES .....                              | 125 |
| 4.3.1. Anamnesis .....   | 125 |
| 4.3.2. Exploración oftalmológica .....                                       | 125 |
| 4.3.3. Pruebas de laboratorio .....  | 126 |
| 4.3.4. Tomografía de coherencia óptica .....                                 | 127 |
| 4.4. OBTENCIÓN Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS .....                             | 129 |
| 4.5. ANALISIS ESTADÍSTICO .....  | 142 |
| 5. RESULTADOS .....  | 145 |
| 5.1. DATOS DEMOGRÁFICOS .....  | 147 |
| 5.2. RESULTADOS ANALITICOS .....   | 153 |
| 6. DESARROLLO ARGUMENTAL .....   | 165 |
| 6.1. LAS UVEÍTIS Y LOS FACTORES DE CRECIMIENTO CELULAR .....                 | 167 |
| 6.2. JUSTIFICACION DEL AUMENTO TPO. POSIBLES CAUSAS .....                    | 169 |
| 6.3. POSIBLES CONSECUENCIAS FUNCIONALES DEL AUMENTO<br>DE TPO .....          | 171 |
| 6.4. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS Y CONSIDERACIONES<br>TERAPEÚTICAS ..... | 172 |
| 7. CONCLUSIONES .....  | 177 |
| 7.1. CONCLUSIONES PRINCIPALES .....  | 179 |
| 7.2. CONCLUSIONES SECUNDARIAS .....  | 179 |
| 8. APENDICE DOCUMENTAL .....   | 181 |
| 8.1. Anexo 1 .....   | 183 |
| 8.2. Anexo 2 .....   | 185 |
| 8.3. Anexo 3 .....   | 191 |

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIMBOLOS Y SIGLAS**

ACAID. Anterior chamber-associated immune deviation

DMAE. Degeneración macular asociada a la edad .

EGF. Factor de crecimiento epidérmico

ELISA. Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

EPR. Epitelio pigmentario de la retina.

FasL. ligando Fas

FGF. Factor de crecimiento fibroblástico

HGF. Factor de crecimiento hepatocítico

HRPO. P eroxidasa de rábano.

IGF-I Factor de crecimiento similar a insulina

IL. Interleuquina

IRBP. interphotoreceptor retinoid binding protein

KGF. Factor de crecimiento queratinocítico

MAP. Proteín quinasa activada por mitógenos

MEC. Matriz extracelular

NGF. Factor de crecimiento nervioso

PDGF. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas

PEDF. Factor derivado del epitelio pigmentario.

PIP Fosfatidil inositol fosfato

PTQ. Proteín-tirosina quinasa

PVR. Proliferación vitreorretiniana

RGPC. Receptores G-protein-coupled

RTK. Receptores tirosin kinasa

SNC. Sistema nervioso central

SUN. Standardization of Uveítis Nomenclature

## **ÍNDICE GENERAL**

---

TGF- $\beta$  Factor de transformación del crecimiento

TNF. Factor de necrosis tumoral

TPO. Trombopoyetina

VEGF. Factor de crecimiento del endotelio vascular

**ÍNDICE DE ILUSTRACIONES**

Ilustración 1. Tipos de señales químicas intercelulares.....5

Ilustración 2. Algunos tipos de receptores con actividad enzimática.....9

Ilustración 3. Transducción intracelular de señales.....12

Ilustración 4. Transducción de señales.....13

Ilustración 5 La cascada de la señalización.....15

Ilustración 6. Cultivo celular de stem cells neurales en presencia de EGF.....20

Ilustración 7. Comparación de las cadenas de TPO (arriba) y Eritropoyetina (abajo)....25

Ilustración 8. Estructura tridimensional de la TPO.....25

Ilustración 9. Producción y actividad sistémica de la TPO.....26

Ilustración 10. Receptor de TPO.....27

Ilustración 10b. Relación de TPO con IL-6, TNF y otras citoquinas.....28

Ilustración 11. Factores de crecimiento y uveítis.....34

Ilustración 12. Úvea anterior y sus relaciones anatómicas.....36

Ilustración 13. Iris y sus capas.....37

Ilustración 14: Corte histológico del cuerpo ciliar.....38

Ilustración 15. Red vascular tracto uveal.....41

Ilustración 16. Corte histológico de Iris.....42

Ilustración 17. Corte histológico de coroides.....44

Ilustración 18. Procesos ciliares y sus relaciones anatómicas.....46

Ilustración 19. Corte histológico de Uveítis experimental en rata.....51

Ilustración 20. Precipitados queráticos (izquierda), y en grasa de carnero (derecha).....66

Ilustración 21. Hipopion en uveítis.....66

Ilustración 22. Fibrina en cámara anterior.....67

Ilustración 23. Efecto Tyndall en cámara anterior, visto en lámpara de hendidura.....68

Ilustración 23b. Enfermedad de Reiter. Artritis (izqda.) y queratoconjuntivitis (dcha.)....78

## ÍNDICE GENERAL

---

|  |     |
|--|-----|
| Ilustración 24. Queratopatía en banda en paciente con AIJ .....                        | 84  |
| Ilustración 25. Precipitados en estrella en uveítis heterocrómica de Fuchs .....       | 85  |
| Ilustración 26. Interferometría Michelson (izq). Funcionamiento técnico OCT (der) .... | 128 |
| Ilustración 27. OCT macular: Normal (arriba). Edema macular en uveítis (abajo) .....   | 128 |
| Ilustración 28. Fundamentos técnica de ELISA .....                                     | 131 |
| Ilustración 29. Pasos de la Técnica de ELISA.....                                      | 134 |
| Ilustración 30. Reacción entre substrato y enzima HRP .....                            | 139 |
| Ilustración 31. Resumen de la técnica ELISA completa .....                             | 141 |

ÍNDICE DE TABLAS

|  |     |
|--|-----|
| Tabla 1. Clasificación anatómica de las uveítis (SUN) .....                                      | 52  |
| Tabla 2. Parámetros descriptores de uveítis (SUN).....   | 53  |
| Tabla 3. Actividad de la uveítis. (SUN) .....  | 53  |
| Tabla 4. Etiopatogenia de las uveítis .....  | 58  |
| Tabla 5. Sistema de clasificación SUN de las células en cámara anterior .....                    | 68  |
| Tabla 6. Clasificación del Tyndall humoral, SUN Working Group.....                               | 68  |
| Tabla 7. Valores de los estándares.....  | 142 |
| Tabla 8. Rango de las curvas estándar y sensibilidad de la prueba .....                          | 142 |
| Tabla 9. Edad y sexo de los pacientes .....  | 147 |
| Tabla 10. Datos demográficos de pacientes del grupo de uveítis.....                              | 148 |
| Tabla 11. Datos demográficos de pacientes del grupo control.....                                 | 149 |
| Tabla 12. Estadística. Comparativa edad entre grupos. Pruebas Normalidad.....                    | 150 |
| Tabla 13. Niveles de TPO en suero de pacientes con uveítis .....                                 | 154 |
| Tabla 14. Niveles de TPO en suero de controles.....  | 155 |
| Tabla 15. Análisis estadístico. TPO plasma de pacientes con uveítis .....                        | 156 |
| Tabla 16. Análisis estadístico. TPO plasma del grupo control.....                                | 156 |
| Tabla 17. Análisis estadístico. Comparativa TPO plasma uveitis y grupo control .....             | 157 |
| Tabla 18. Niveles de TPO en humor acuoso en pacientes con uveítis .....                          | 158 |
| Tabla 19. Niveles de TPO en humor acuoso en controles.....                                       | 159 |
| Tabla 20. Análisis estadístico. Niveles TPO en humor acuoso entre pacientes<br>con uveítis ..... | 160 |
| Tabla 21. Análisis estadístico. Niveles TPO en humor acuoso grupo control .....                  | 160 |
| Tabla 22a. Diferencias TPO en humor acuoso entre pacientes con uveítis y controles...161         |     |
| Tabla 22b. Rangos TPO en humor acuoso, uveítis y grupo control.....                              | 161 |
| Tabla 23. Análisis estadístico. Comparativa TPO, humor acuoso uveitis y controles..162           |     |
| Tabla 24. Comparativa TPO humor acuoso uveitis y grupo control.....                              | 163 |



# 1. Introducción

---



### **LA SEÑALIZACION CELULAR Y LOS FACTORES DE CRECIMIENTO CELULAR.**

#### **1. Moléculas de señalización celular y sus receptores**

Todas las células reciben señales desde su medio y responden a estas señales. La unión de la mayoría de estas moléculas señalizadoras a sus receptores provoca una cascada de reacciones intracelulares que son las que regulan, en gran medida, los diferentes aspectos del comportamiento celular, incluyendo su metabolismo, la motilidad, la proliferación, su supervivencia y la diferenciación. La comprensión de los mecanismos moleculares que constituyen estas vías de señalización celular se han convertido, por tanto, en un área prioritaria de investigación. Son muchos los diferentes tipos de moléculas que transmiten información entre las células de los organismos pluricelulares. Aunque todas ellas actúan como ligandos que se unen a receptores expresados por las células diana, existe una variabilidad considerable en la estructura y función de los distintos tipos de moléculas que actúan como transmisión de señales. La mayoría de estas moléculas señalizadoras se unen a receptores que son expresados en la superficie de las células diana, aunque algunas son capaces de atravesar la membrana plasmática y unirse a receptores intracelulares en el citoplasma o en el núcleo <sup>1</sup>.

La señalización celular tiene lugar bien a través de la interacción directa entre una célula y la célula vecina, o bien mediante la acción de moléculas señalizadoras secretadas. La señalización directa célula-célula (o célula-matriz extracelular) desempeña un papel crítico en la regularización del comportamiento de las células humanas. Las integrinas y cadherinas, funcionan como moléculas de adhesión celular y también como moléculas señalizadoras que regulan la proliferación y supervivencia

## 1 - INTRODUCCION

---

celular en respuesta al contacto célula-célula y célula-matriz extracelular. Este tipo de señalización directa es fundamental tanto en el periodo embrionario, como en el mantenimiento de los tejidos adultos<sup>2</sup>.

Existen tres tipos de señalización mediante moléculas secretadas. La señalización endocrina, en el cual las moléculas señalizadoras son las hormonas, que son secretada por células endocrinas especializadas, y se trasportan a través de la circulación, actuando sobre células diana alejadas, como por ejemplo las hormonas esteroideas. La señalización paracrina , en la cual la molécula liberada por una célula actúa localmente afectando a células diana muy próximas, como por ejemplo los neurotransmisores en las sinapsis. La tercera, sería la señalización autocrina, en la cual la célula responde a una molécula señal producida por ella misma, por ejemplo los linfocitos T, que responden a la estimulación antigénica sintetizando un factor de crecimiento, que induce su propia proliferación<sup>3</sup>. Ilustración 1

En el ser humano, las moléculas señalizadoras más diversas son los péptidos, cuyo tamaño oscila entre sólo unos pocos hasta más de cien aminoácidos. Este grupo de moléculas señalizadoras incluye a las hormonas peptídicas, neuropéptidos y un amplio espectro de factores de crecimiento polipeptídicos<sup>4</sup>.

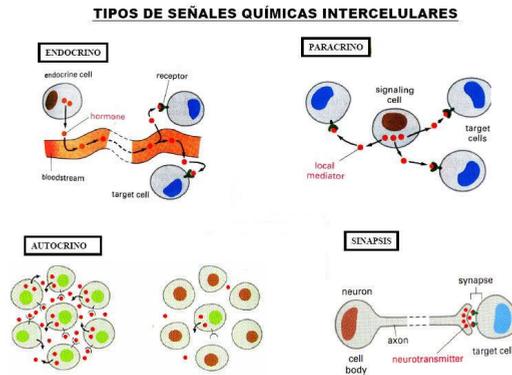


Ilustración 1. Tipos de señales químicas intercelulares

**Los factores de crecimiento polipeptídicos** incluyen una amplia gama de moléculas señalizadoras que controlan el crecimiento y la diferenciación de las células. El primero de estos factores fue el factor de crecimiento nervioso (NGF), descubierto por Rita Levi-Montalcini en los años 50, posteriormente Stanley Cohen trabajando sobre el anterior factor descubrió casualmente el factor de crecimiento epidérmico (EGF), que estimula la proliferación celular, este es un polipéptido de 53 aminoácidos que se considera el prototipo de una amplia serie de factores de crecimiento que desempeñan un papel fundamental en el control de la proliferación celular, tanto durante el desarrollo embrionario como en el organismo adulto<sup>5</sup>.

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), es un excelente ejemplo de la acción de los factores de crecimiento sobre la cicatrización de las heridas. El PDGF se almacena en las plaquetas y se libera durante la coagulación sanguínea en el lugar de la herida. Entonces estimula la proliferación de fibroblastos en la proximidad del coágulo, lo que contribuye a la regeneración del tejido dañado.

## 1 - INTRODUCCION

---

Otro gran grupo de factores de crecimiento polipeptídicos son las citoquinas, que regulan el desarrollo y la diferenciación celular sanguínea y controlan la actividad de los linfocitos durante la respuesta inmune.

Los factores de crecimiento anclados a la membrana, permanecen asociados a la membrana plasmática en vez de ser secretados al fluido extracelular, por lo que actúan específicamente como moléculas señalizadoras en la interacción directa célula-célula<sup>6</sup>.

Los factores de crecimiento, al igual que los neuropéptidos y las hormonas peptídicas, no siempre pueden atravesar la membrana plasmática por lo que actúan mediante la unión a receptores de superficie celular.

Los factores de crecimiento desempeñan un papel crucial en el control de la proliferación celular, por lo que existen múltiples patologías derivadas de alteraciones de la señalización celular mediada por factores de crecimiento. Es de esperar que actuando por ejemplo sobre los receptores de los distintos factores podemos modular de alguna manera la enfermedad<sup>7</sup>.

### **2. Funciones de los receptores de la superficie ocular**

La mayoría de los ligandos responsables de la señalización célula-célula (incluidos neurotransmisores, hormonas peptídicas y factores de crecimiento), se unen a receptores de la superficie de las células diana. Es muy importante conocer los mecanismos por los cuales los receptores celulares de superficie transmiten las señales iniciadas por la unión del ligando.

Los receptores de los factores de crecimiento, actúan regulando la actividad de las proteínas intracelulares. Estas proteínas, a su vez, transmiten las señales desde el receptor a un conjunto de dianas intracelulares adicionales, que suelen ser frecuentemente factores de transcripción. Así, la unión a un receptor en la superficie celular genera una cascada de reacciones intracelulares, que acaban alcanzando al núcleo celular y que dan lugar a alteraciones programadas de la expresión génica. Existen diferentes tipos de receptores de superficie celular, como los receptores asociados a la proteína G, los receptores proteína-tirosina quinasa, los receptores de citoquinas y proteína-tirosina no receptora y los receptores asociados a otras actividades enzimáticas. Los receptores asociados a la proteína G, son la mayor familia de receptores de superficie celular, e incluye la mayoría de los receptores de hormonas y neurotransmisores, transmiten las señales a las dianas intracelulares a través de la acción de proteínas G. Los receptores proteína-tirosina quinasa, son los receptores para la mayoría de los factores de crecimiento. Los receptores de citoquinas y proteína-tirosina no receptoras son los utilizados por muchas citoquinas y por último hay otro tipo de receptores de superficie celular asociados a otras actividades enzimáticas como son las proteínas-tirosina fosfatasa, proteína-serina /treonina quinasa y las guanilato ciclasas<sup>8</sup>.

Los receptores de la mayoría de factores de crecimiento polipeptídicos son los proteína-tirosina quinasa, que son receptores acoplados a enzimas, y fosforilan las proteínas sustrato en los residuos de tirosina. Tiene gran importancia su estudio, ya que al ser un mecanismo de señalización que se involucra en el control del crecimiento y diferenciación celular. La primera proteína-tirosina quinasa, fue descubierta en 1980 por Tony Hunter y Bartholomew Sefton, y Stanley Cohen descubrieron que el receptor del EGF, actuaba como una proteína-tirosina quinasa, estableciendo así que la fosforilación

## 1 - INTRODUCCION

---

de las tirosinas de las proteínas era un mecanismo de señalización esencial en la respuesta celular a la estimulación por factores de crecimiento<sup>9</sup>. Ilustración 2

Los diversos receptores PTQ de los factores de crecimiento están codificados por el genoma celular, y comparten todos una estructura común, que es un dominio N-terminal extracelular de unión al ligando, una única hélice  $\alpha$  transmembrana, y un dominio citosólico C-terminal con actividad proteína-tirosina quinasa. La mayoría de los receptores PTQ están formados por un único polipéptido. La unión del factor de crecimiento (ligando), al dominio extracelular del receptor activa el dominio quinasa citosólico, dando lugar a la fosforilación del propio receptor y de las proteínas diana intracelulares, que propagan la señal iniciada por la unión del factor de crecimiento<sup>10</sup>.

El primer paso de la señalización en la mayoría de los receptores PTQ es la dimerización del receptor por parte del ligando (en este caso el factor de crecimiento). En concreto el PDGF o el NGF, son dímeros constituidos por dos cadenas polipeptídicas idénticas; estos factores de crecimiento inducen la polimerización a través de la unión simultánea a dos moléculas diferentes del receptor, sin embargo el EGF es un monómero, que desencadena la dimerización del receptor como resultado de la inducción de cambios conformacionales que facilitan las interacciones proteína-proteína entre los polipéptidos de los receptores.

Tras la dimerización comienza la autofosforilación del receptor. La fosforilación de los residuos de tirosina desempeña dos papeles fundamentales en la señalización a través de estos receptores, ya sea regulando el incremento de la actividad PTQ del receptor o por generación de sitios específicos para otras proteínas, con objeto de transmitir la señal al interior celular.

La asociación de estas moléculas señal intracelulares con los receptores PTQ se lleva a cabo a través de un dominio de la proteína que se une a péptidos específicos del receptor que contenga fosfotirosinas. Los dominios mejor conocidos son los SH2 y el PTB. La asociación de estas proteínas con los receptores autofosforilados supone el primer paso en la transmisión intracelular de señales, que comenzó con la unión de los factores de crecimiento a la superficie celular<sup>11</sup>.

## Receptores con actividad enzimática intrínseca.

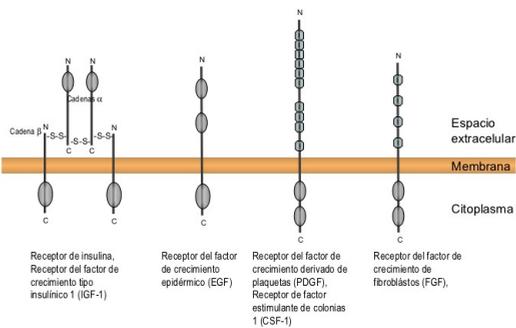


Ilustración 2. Algunos tipos de receptores con actividad enzimática

### 3. Vías de transducción intracelular de señales

La mayoría de los receptores de superficie celular activan enzimas diana intracelulares, las cuales pueden estar, bien unidas directamente a los receptores, o bien asociadas a ellos mediante proteínas G. Las enzimas intracelulares sirven como elementos que transmiten la señal hacia lugares posteriores en el interior celular, propagando y amplificando la señal iniciada por la unión del factor de crecimiento (ligando). Existe una cascada de reacciones que transmite la señal desde la superficie celular hasta diversas dianas intracelulares (transducción intracelular de señales), siendo las dianas de estas vías de señalización intracelular los factores de transcripción cuya función es regular la transcripción génica. En definitiva los mecanismos de señalización

## 1 - INTRODUCCION

---

intracelular conectan la superficie celular con el núcleo, dando lugar a variaciones en la expresión génica como respuesta a los estímulos extracelulares<sup>12</sup>.

El AMPc es un segundo mensajero importante en la respuesta de las células a diversas hormonas y a moléculas olorosas, la mayoría de sus acciones están mediadas por la proteína quinasa A, que fosforila tanto a enzimas metabólicas como al factor de transcripción CREB<sup>13</sup>. Ilustración 3

El GMP cíclico es un segundo mensajero muy importante en la recepción visuales en el ojo de los vertebrados.

Los fosfolípidos y el  $\text{Ca}^{2+}$  son segundos mensajeros encargados de activar con posterioridad a receptores asociados a proteínas G y proteína quinasa. Los niveles elevados de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular activan algunas proteínas diana, incluyendo las proteínas quinasa dependientes de calcio/calmodulina.

El segundo mensajero  $\text{PIP}_3$ , es el resultado de la fosforilización del  $\text{PIP}_2$  (fosfatidil inositol 4,5-bisfosfonato), desencadenando la activación de la proteína-serina/treonina quinasa Akt, que desempeña un papel clave en la supervivencia celular. La proteína quinasa mTOR, es una de las dianas de la señalización de Akt, y es un importante regulador central del crecimiento celular y acopla la síntesis proteica a la disponibilidad de factores de crecimiento, nutrientes y energía celular<sup>14</sup>.

La vía de las quinasas MAP (proteínas quinasa activada por mitógenos) es una cadena de proteínas quinasas que se activa a partir de varias señales extracelulares. Estas

se acoplan a los receptores del factor de crecimiento por la proteína de unión a GTP, denominada Ras, que inicia la cascada de proteínas quinasas que conduce a la activación de la quinasa MAP (ERK), posteriormente ERK fosforila a varias proteínas citosólicas y nucleares, incluyendo a factores de transcripción que inducen la expresión de genes tempranos inmediatos. Otras vías de los MAP quinasas median respuestas de las células a la inflamación y el estrés.

Las proteínas STAT son factores de transcripción con dominios SH2, que pueden ser activadas directamente por proteína-tirosina quinasas asociadas a receptores de citoquinas y a receptores de factores de crecimiento. Los receptores de TGF- $\beta$  son proteína-serina/treonina quinasas que fosforilan y activan directamente factores de transcripción Smad.

Los factores de transcripción NF- $\kappa$ B se activan en respuesta a citoquinas, factores de crecimiento y otros estímulos, esta activación está mediada por la fosforilación y degradación de subunidades inhibitorias I $\kappa$ B.

Las vías Hedgehog, Wnt y Notch juegan papeles clave en la determinación del destino celular y la formación de patrones en el desarrollo. La prevención de la degradación de los factores de transcripción que forman complejos en citoplasma tiene lugar mediante las vías Hedgehog y Wnt. Las interacciones directas célula-célula median la señalización celular de la Vía Notch, basada en una escisión proteolítica de Notch, con una posterior traslocación del dominio intracelular de Notch al núcleo donde interacciona con un factor de transcripción para afectar a la expresión de los genes diana<sup>15</sup>.

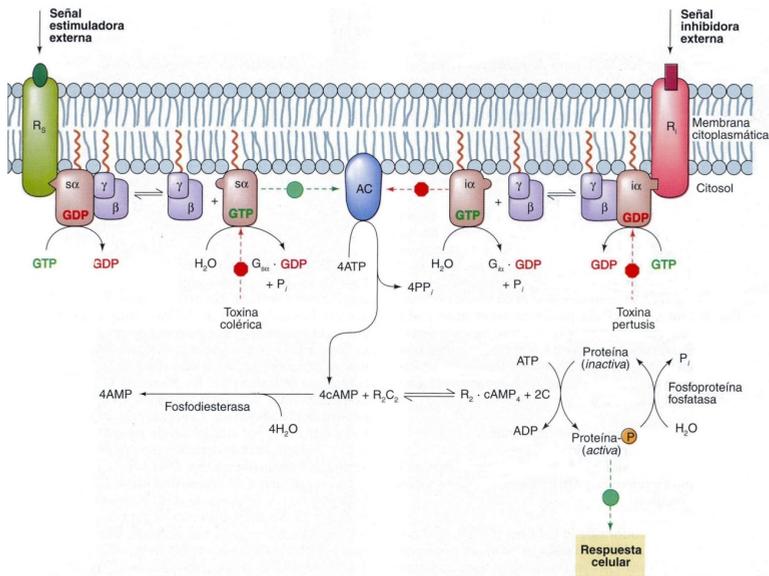


Ilustración 3. Transducción intracelular de señales

## 4. Transducción de señales y citoesqueleto

Las funciones de las células también están influidas directamente por la adhesión celular y por la organización del citoesqueleto. Los receptores responsables de la adhesión celular inician vías de señalización intracelular que regulan otros aspectos del comportamiento celular que incluyen la expresión génica. Los factores de crecimiento inducen con frecuencia alteraciones en el citoesqueleto, que causan el movimiento de la célula o cambios en su forma. Los componentes del citoesqueleto actúan tanto como receptores y como dianas en las vías de señalización celular, integrando la variación de la forma y el movimiento celular con otras respuestas celulares<sup>16</sup>. Ilustración 3.

Las **integrinas** son los principales receptores responsables del anclaje de las células a la matriz extracelular, en dos tipos de uniones célula-matriz (adhesiones focales y hemidesmosomas), pero las integrinas también interactúan con componentes

del citoesqueleto, promoviendo un vínculo estable entre la matriz extracelular y las células adheridas. A parte de este papel estructural, las integrinas actúan como receptores que activan vías de señalización intracelular, por lo que controlan la expresión génica y otros aspectos del comportamiento celular en respuesta a la adhesión celular. La unión de las integrinas a la matriz extracelular estimula las proteína-tirosina quinasas no receptoras FAK y Scr, dando lugar a la activación de la fosfolipasa C, la PI3-quinasa y las vías de señalización Ras/Raf/ERK<sup>17</sup>.

La señalización desde las integrinas además de a partir de los receptores de factores de crecimiento también juega un papel central en el control del movimiento celular regulando el comportamiento dinámico del citoesqueleto de **actina**. Los factores de crecimiento inducen alteraciones en el movimiento y en la forma celular mediante la remodelación del citoesqueleto de actina. Estas alteraciones del citoesqueleto se producen a través de miembros de la subfamilia Rho de proteínas pequeñas de unión a GTP<sup>18 19</sup>

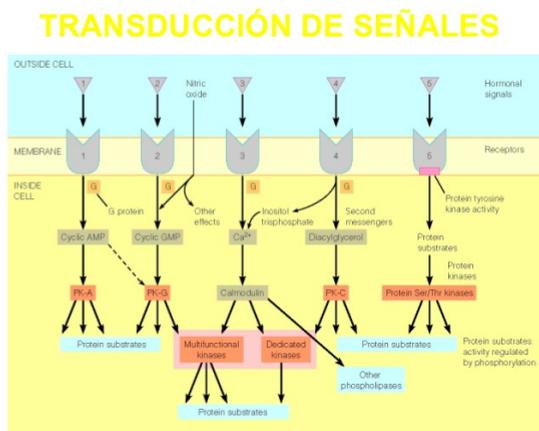


Ilustración 4. Transducción de señales

### 5. Redes de señalización

Ya dentro de la célula, la señalización es mucho más complicada. Las actividades de las vías individuales están reguladas mediante lazos de retroalimentación que controlan la extensión y duración de la actividad señalizadora, de manera similar a la regulación retroalimentaria principal de las vías metabólicas. Por otra parte las vías de señalización no operan de manera aislada, sino que existen frecuentes relaciones cruzadas entre diferentes vías, la transducción de la señal intracelular debe entenderse como una red integrada de vías conectadas, o redes de señalización. Las intersecciones entre las diferentes vías pueden ser positivas, en las que una vía estimula a la otra o negativas, donde una vía inhibe a la otra. También se han descrito los *feedforward relays* o transmisión de alimentación delantera en los que la actividad de un componente de una vía estimula un componente distante corriente abajo. El conocimiento preciso de estas redes de señalización, y su expresión en términos cuantitativos empleando enfoques matemáticos e informáticos que visualicen la célula como un sistema biológico integrado, es un reto para la biología celular, en su camino por comprender la respuesta dinámica de las células en su ambiente<sup>20 21 22</sup>. Ilustración 5

## CASCADA DE SEÑALIZACIÓN

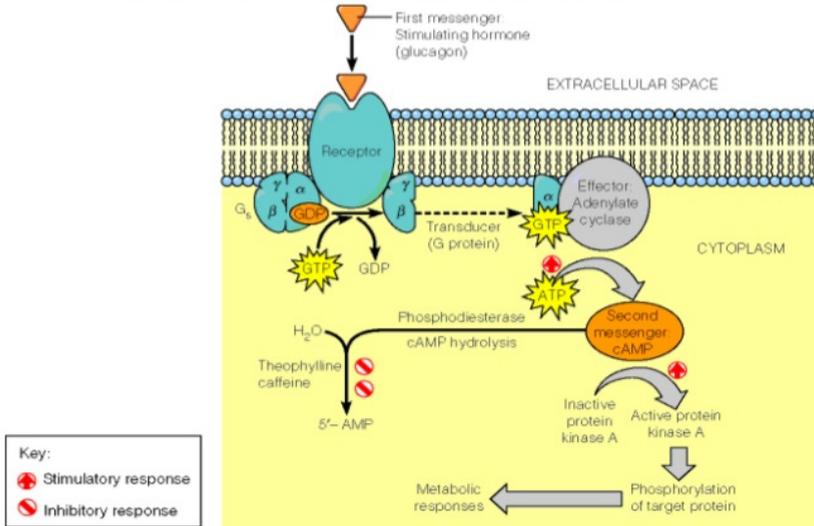


Ilustración 5. La cascada de la señalización

### 6. Los factores de crecimiento celular y mecanismos de respuesta celular

La integridad de los diferentes tejidos oculares exige un adecuado y fino balance entre los procesos de proliferación, diferenciación y apoptosis celular. El epitelio, el estroma, el endotelio corneal y otros tejidos oculares producen una serie de factores de crecimiento celular que tienen por objeto regular estas decisivas funciones celulares, jugando un papel decisivo en el funcionamiento ocular óptimo. La misma capa lagrimal sobre la córnea proporciona, además de un importante número de nutrientes, una fuente de factores de crecimiento que regulan de forma activa el recambio de células epiteliales de la superficie ocular. En humor acuoso se encuentran distintos factores de crecimiento que tienen por objeto mediar en el funcionamiento adecuado de la córnea, y en definitiva mantener una correcta homeostasis en todo el segmento anterior ocular<sup>23 24 25</sup>

## 1 - INTRODUCCION

---

Los factores de crecimiento son péptidos solubles, que están producidos por distintos tipos celulares. En ocasiones son responsables de la inhibición de la proliferación, migración y supervivencia celular, pero también pueden promoverla. Estas acciones pueden ser realizadas a través de mecanismos autocrinos, yuxtacrinos o más frecuentemente paracrinos. Para realizar su acción precisan de unas glicoproteínas transmembrana, como receptores de superficie celular, que son receptores tirosin Kinasa (RTK), o receptores G-protein-coupled (RGPC) <sup>26 27 28</sup>. Tras la unión del factor de crecimiento al receptor, se inicia una cascada de reacciones que pueden iniciar la fase celular de síntesis de DNA(S), con ulterior proliferación celular. La activación de los receptores puede a su vez producir una fosforilación de la AKT, que es una quinasa responsable de la señalización antiapoptótica, y una alteración de la morfología y motilidad celular mediante la acción sobre el citoesqueleto de actina. Los factores de crecimiento no comparten todas las acciones, pero si interactúan entre sí para fomentar determinadas acciones como por ejemplo diferentes procesos de cicatrización o proliferación ocular <sup>29 30</sup>

Sin embargo, aunque no está claramente especificada la interrelación entre los factores de crecimiento celular y la respuesta celular, conocemos algunas cuestiones importantes como los derivados de los estudios de la estimulación que ejerce por ejemplo el factor de crecimiento epidérmico (EGF), sobre de los fibroblastos humanos. Aquí se ha demostrado la relación existente entre proliferación celular y número de complejos factor de crecimiento- receptor, y que además el factor de crecimiento ha de ocupar el receptor al menos 6-8 horas, que es el periodo de tiempo de la progresión del ciclo celular. Posteriormente los complejos ligando-receptor sufren una rápida endocitosis cuando se alcanza el nivel de utilización máximo, pudiendo los receptores

ser reciclados en membrana plasmática o ser lisados, con la consiguiente disminución de la disponibilidad de estos. No es necesaria la internalización de los complejos ligando-receptor al núcleo celular para la proliferación celular<sup>31</sup>.

Otro aspecto decisivo es el **ambiente extracelular**, que puede hacer variar de forma notoria los efectos de los factores de crecimiento sobre los determinados tipos celulares. La unión de los factores de crecimiento a la matriz extracelular (MEC)<sup>32</sup>, regula de forma importante los efectos de estos. A su vez la matriz extracelular puede ser alterada por acción de los factores de crecimiento, mediante un aumento de la expresión o afinidad de la integrina, o de las interacciones del citoesqueleto<sup>33 34</sup>. Esto se complica si son varios los factores de crecimiento interactuantes, con diferentes respuestas basadas en concentraciones relativas de estos, como por ejemplo cuando el TGF- $\beta$  inhibe la proliferación celular epitelial, promovida a su vez por el factor de crecimiento hepatocítico (HGF) de forma dosis dependiente<sup>35</sup>.

Una vez conocido el papel importante que juegan los factores de crecimiento en el mantenimiento y modulación de los tejidos, es crucial un conocimiento profundo de la presencia de los factores de crecimiento en los tejidos oftalmológicos, así como un adecuado entendimiento de sus acciones, de cara a mejorar los conocimientos sobre el óptimo funcionamiento de las diferentes estructuras oculares, así como poder intentar modular sus efectos en procesos de reparación, mediante potenciales nuevas alternativas terapéuticas.

### **7. La trombopoyetina y otras citoquinas y factores de crecimiento en polo anterior ocular**

El termino citoquina, es un genérico utilizado para definir a cualquier mediador polipeptídico soluble sintetizado y liberado por las células en proceso de señalización y comunicación celular. Las citoquinas se liberan para transmitir señales a las células próximas (acción paracrina), estimular un receptor localizado en la superficie de la célula productora (acción autocrina), o bien actuar en un lugar distante al que acceden através del torrente circulatorio (acción hormonal). Las citoquinas se dividen en familias con actividades, orígenes y dianas relacionadas, que se conocen como factores de crecimiento, interleuquinas, linfoquinas, interferones, monoquinas y quimioquinas. El término factor de crecimiento se aplica a citoquinas implicadas en procesos de proliferación y diferenciación celular.

Tanto las respuestas innatas como las adaptativas inducen la síntesis de citoquinas, como los factores de crecimiento celular. Los linfocitos T constituyen las células características productoras de estas moléculas en la inmunidad adaptativa, y los macrófagos, los mastocitos y los polimorfonucleares son capaces de sintetizar muchas citoquinas al ser estimulados. Estas moléculas además no se limitan a actuar como mediadores y amplificadores de la inflamación en la respuesta inmunitaria innata y adaptativa, sino que son capaces de modular el comienzo de estas, por lo que su función reguladora puede tener gran importancia <sup>36</sup>.

Se han descrito un gran número de de citoquinas que actúan de forma relevante en la inmunología ocular, como son las interleuquinas, las quimioquinas  $\alpha$  y las  $\beta$  , los

factores de necrosis tumoral, los interferones, algunos neuropéptidos y los factores de crecimiento celular.

La interleuquina IL-6, producida en macrófagos, linfocitos T, mastocitos y mastocitos específicos del epitelio ocular, actúa sobre linfocitos y diversas células oculares, y se ha detectado en concentraciones altas en numerosas variantes de uveítis. La interleuquina IL-2 está producida por linfocitos T y linfocitos T HD CD4, actúa sobre los propios linfocitos T, activando los linfocitos T cD4 y CD8, y ha sido detectada en algunas uveítis. Recientemente se han observado en algunos trabajos niveles séricos elevados de las interleukinas IL-6 e IL-8 en uveítis anteriores no infecciosas, que decrecen paulatinamente con la evolución de la enfermedad, y que podrían sugerir la implicación de mecanismos inmunes asociados a la enfermedad aguda, e incluso la relación de la IL-6 con la modulación de la respuesta inmunitaria<sup>37</sup>

En diferentes trabajos y publicaciones aparecen descripciones de una serie de factores de crecimiento celular, que aparecen en las diferentes estructuras del polo anterior ocular, los más significativos son los siguientes:

### **Factor de crecimiento epidérmico (EGF)**

El EGF es un polipéptido compacto de 6 KDa, de conocida actividad mitógena sobre las células epiteliales, se une a las células que expresan el receptor para EGF (EGFR). esta unión activa la RTK, con la subsecuente síntesis de DNA, producción de las moléculas de la MEC como la fibronectina y el ácido hialurónico, y una ulterior proliferación celular<sup>38</sup>. La activación del receptor también produce una reorganización de la actina del citoesqueleto, promotora de la motilidad celular. La fibronectina además

## 1 - INTRODUCCION

---

facilita intercambios entre las integrinas y los EGFR así como la polarización, y en definitiva la migración<sup>39 40</sup>. Ilustración 6. En las células del epitelio corneal, especialmente en la región limbar, y en el endotelio corneal, se encuentran receptores de alta y baja afinidad para el EGF. En las células lesionadas del cristalino podemos encontrar niveles elevados de receptores de EGF, por lo que se ha propuesto a este como posible responsable de la opacificación de la cápsula anterior tras la cirugía de la catarata. Por otra parte se ha encontrado mRNA de EGF en los diferentes tipos de células corneales, además el hallazgo de este factor en glándula lagrimal y lágrima, contribuye a comprobar sus efectos sobre córnea. Sin embargo existen más controversias sobre la presencia de este factor en humor acuoso, apareciendo sólo en algunos estudios, especialmente cuando se asociaba a traumatismos de las células epiteliales cristalinas, o en el borde de la capsulotomía en la cirugía de la catarata, por lo que se deduce que la presencia en tejidos oculares podría obedecer a su liberación en estos casos por estructuras oculares circundantes. Se ha descrito in vitro así mismo la capacidad del EGF para inhibir la diferenciación terminal de las células epiteliales corneales y de aumentar la proliferación de forma dosis dependiente<sup>41</sup>. In vivo la aplicación tópica de EGF a concentraciones entre 10 a 20 microgramos  $\text{ml}^{-1}$  puede mejorar la velocidad de cicatrización de las heridas corneales.

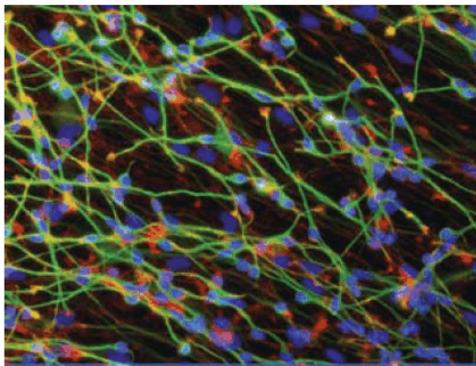


Ilustración 6. Cultivo celular derivado de stems cell neurales en presencia de EGF

### **Factor de crecimiento queratinocítico (KGF)**

El KGF forma parte de los factores de crecimiento fibroblástico, está constituido por una única cadena polipéptica de 28 kDa. Es un conocido nitrógeno para queratinocitos, en especial para células epiteliales, y podría actuar a través de una vía de activación que compartiría con el factor de crecimiento epitelial, el TGF- $\alpha$  y el factor de crecimiento fibroblástico. Se ha detectado mRNA del receptor de KGF en las células corneales epiteliales in vitro. La administración de KGF genera la activación de síntesis de ADN y promueve el crecimiento del epitelio corneal in vitro a concentraciones de 10-100 ng ml<sup>-1</sup>. La expresión de bajos niveles de KGF por los queratinocitos en córneas sanas contribuye a mantener el epitelio corneal, pudiendo ser aumentados por la producción de KGF por la glándula lagrimal<sup>42 43 44</sup>

### **Factor de crecimiento hepatocítico (HGF)**

El HGF es una glicoproteína de 90 kDa, de secuencia muy similar al plasminógeno, sintetizada por células de origen mesenquimal como un precursor inactivo, y se activan formando heterodímeros en heridas, estímulos inflamatorios o por las proteasas de la cascada de la coagulación. Se produce fundamentalmente en los fibroblastos, influyendo en las células epiteliales mediante mecanismos paracrinos clásicos. Además de un efecto mitógeno sobre los hepatocitos, también produce un aumento de la motilidad y cambio de forma en muchas células epiteliales, endoteliales y melanocíticas, transformando a las células epiteliales en un fenotipo fibroblástico. Está presente en la glándula lagrimal y en las lágrimas a concentraciones de 200 pg ml<sup>-1</sup>, contribuyendo al mantenimiento de la capa epitelial. En humor acuoso podría jugar un papel en la preservación de la integridad celular endotelial, mediante su secreción autocrina y uniéndose a células endoteliales<sup>45 46</sup>

### **Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)**

El PDGF es un dímero de cisteína de 35 kDa, compuesto de las cadenas A y B, que se puede presentar como los isómeros PDGF-AA, PDGF-AB y PDGF-BB. Se encuentra principalmente en los gránulos  $\alpha$  de plaquetas, y también de monocitos. La coagulación sanguínea en el lugar de una lesión da lugar a la liberación del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, por parte de las plaquetas sanguíneas, el PDGF activa un receptor proteína-tirosina quinasa, estimulando tanto la proliferación de los fibroblastos y su migración hacia el interior de la herida donde su proliferación y secreción de colágeno contribuye a la reparación y cicatrización del tejido dañado. También se han encontrado receptores para PDGF en los fibroblastos corneales y en las células endoteliales, y se conoce que el PDGF-BB, que es producido por el epitelio en la zona de unión a la membrana basal, incrementa la proliferación de células endoteliales e incrementa la migración de fibroblastos, además junto con el PDGF-AA estimula la quimiotaxis de las células epiteliales en presencia de fibronectina. El PDGF es capaz de mediar en la respuesta proliferativa de los fibroblastos hacia el TGF- $\beta$  <sup>47</sup>

### **Factor de transformación del crecimiento $\beta$ (TGF- $\beta$ )**

La familia del TGF- $\beta$  ( $\beta$  1,  $\beta$  2,  $\beta$  3) son polipéptidos de unos 25 kDa producidos por una gran variedad de tejidos, se secreta con un péptido asociado de latencia en forma de complejo inactivo, con gran afinidad de unión a la matriz extracelular para crear depósitos de factores de crecimiento latentes. El TGF- $\beta$  es el prototipo de una familia de factores de crecimiento polipeptídicos que controlan la proliferación y diferenciación de varios tipos celulares, se considera que generalmente inhibe el crecimiento epitelial, endotelial y leucocitario y estimula la proliferación de fibroblastos. Se han detectado receptores de este factor en las células corneales

estromales y en el epitelio corneal limbar y central, en humor acuoso se ha hallado la forma  $\beta 2$  y también se ha hallado TGF  $\beta$  latente en altas concentraciones en las lágrimas. Sabemos que el TGF- $\beta$  inhibe la angiogénesis en el segmento anterior del ojo a las concentraciones en la que aparece en humor acuoso, y también es responsable del aislamiento inmune característico de la cámara anterior, que impide el desarrollo en esta de inflamación mediada por células<sup>48 49 50</sup>.

### **Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)**

La familia FGF son un grupo de más de 20 proteínas de unos 20 kDa que están distribuidas por una gran variedad de tejidos, regulando la proliferación, diferenciación, migración, depósitos de matriz extracelular y angiogénesis mediante varias vías. Se han detectado cantidades variables en endotelio y epitelio corneal y en las membranas de Descemet y Bowman de FGF ácido, y de FGF básico en todos los tipos celulares corneales así como en humor acuoso. Se sabe que ambas formas son mitogénicas para las tres estirpes celulares corneales, y parece tener un importante papel promotor de la migración celular endotelial en la cicatrización de heridas, además la administración de FGF aumenta la proliferación y migración de las células estromales<sup>51</sup>.

### **Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)**

VEGF es un grupo de isoformas derivadas de un mismo gen, las más conocidas son el VEGF121, VEGF 165 y VEGF 189, según el número de aminoácidos que tiene la proteína secretada. La proteína se une a receptores de alta afinidad como es el VEGFR1 (Flt-1) y el VEGFR2 (KDR) que son miembros de la familia de los receptores quinasa, y se encuentran fundamentalmente, aunque no solo, en las células endoteliales. Existe además un receptor específico, la neuropilina, para la isoforma VEGF 165. In

## 1 - INTRODUCCION

---

in vitro el VEGF induce proliferación celular endotelial y quimiotaxis, y su producción está aumentada en condiciones de hipoxia. El VEGF fue identificado inicialmente como un angiogénico, con poder mitógeno endotelial y como factor de permeabilidad vascular, con gran capacidad para formar nuevos vasos ya sean fisiológicos como patológicos, y responsable de la rotura de la barrera hematorretiniana que acompaña a la neovascularización. Participa en procesos de inflamación y a su vez su expresión se encuentra inducida por citoquinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 y el receptor soluble de IL-2, es además un potente estimulador de la producción de óxido nítrico. También se le ha atribuido un papel neuroprotector sobre las células neuronales frente a la isquemia<sup>52 53</sup>.

### **Factores de crecimiento neurotrófico**

Diversos factores de crecimiento tipo neurotrófico como las neurotrofinas 3 y 4, el factor neurotrófico derivado de las células gliales y en especial el factor de crecimiento nervioso (NGF) están presentes en córnea y son capaces de promover la proliferación celular epitelial. NGF y su receptor de alta afinidad TrKA se han detectado en las tres capas corneales y también en el humor acuoso. Se ha demostrado que este último factor aumenta la proliferación y diferenciación de las células epiteliales corneales in vitro. La aplicación tópica de este factor in vivo promueve claramente la curación de las úlceras corneales asociadas a alteraciones nerviosas sensitivas<sup>54</sup>.

### **Trombopoyetina (TPO)**

La TPO, que fue descrita en 1994 por varios grupos de investigadores<sup>55</sup>, es un factor de crecimiento sintetizado principalmente en el hígado, de 95-kd, de una única cadena de 353 aminoácidos, incluidos los 21 aminoácidos del péptido señal. En su

forma madura tiene, una zona N-terminal de 153-aminoácidos que se une al receptor y que es idéntica en secuencia a la eritropoyetina en un 23%, y también posee otra zona C-terminal de 179 aminoácidos muy rica en carbohidratos responsable de la estabilidad de la proteína<sup>56 57</sup>. Ilustración 7 y 8

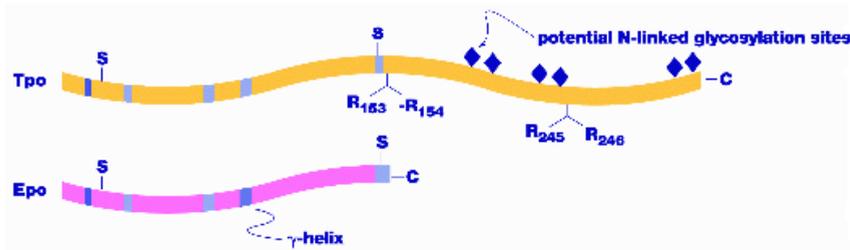


Ilustración 7. Comparación de las cadenas de TPO (arriba) y Eritropoyetina (abajo)

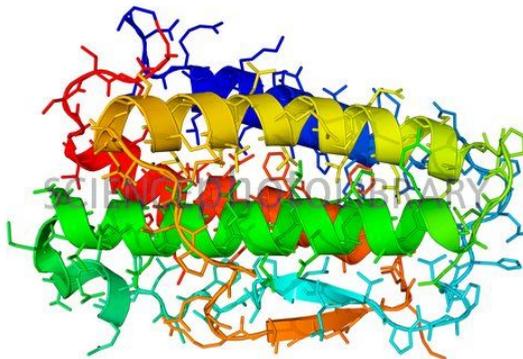


Ilustración 8. Estructura tridimensional de la TPO

Aparte del hígado, donde se sintetiza entre un 70-100%, también se sospecha su producción en otros órganos aunque no se ha demostrado de forma precisa. Viaja por el torrente sanguíneo, hasta llegar a la médula ósea, donde estimula de forma primaria y temprana el desarrollo de la hematopoyesis y la megacariocitopoyesis. La TPO también se puede unir a las plaquetas en el torrente sanguíneo, este complejo es proteolizado y posteriormente degradado, y eliminado<sup>58</sup>. Ilustración 9

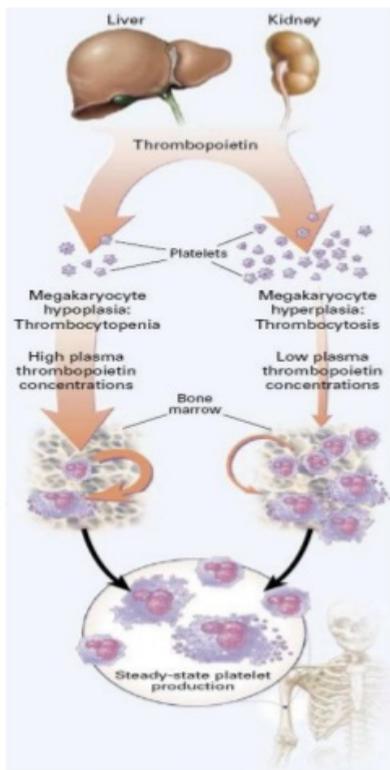


Ilustración 9. Producción y actividad sistémica de la TPO

Su concentración sanguínea está regulada por la cantidad de su receptor, el c-Mpl, en plaquetas y megacariocitos. Independientemente de esta regulación de la TPO, por la presencia de mRNA de TPO en médula ósea, el mismo procesado proteolítico de la molécula de TPO genera formas truncadas que son más activas<sup>59</sup>.

La TPO, es el principal regulador de la proliferación y maduración de los megacariocitos y producción de plaquetas, aunque su actuación no es directa sobre los megacariocitos maduros, actúa en la regulación y expansión de las *stem cell* hematopoyéticas<sup>60</sup>.

El receptor de trombopoyetina, es una citoquina denominada c-Mpl que se une a la mitad NH<sub>2</sub> terminal de la molécula de TPO, en este dominio hay dos puentes disulfuro esenciales para su actividad biológica. Por otra parte el dominio COOH terminal está altamente glicosilado, circunstancia probablemente necesaria para su supervivencia en la circulación sanguínea<sup>3</sup>. Una vez unido al receptor se induce una fosforilización secuencial de Akt a p70S6kinasa y a mTOR<sup>61</sup>. Ilustración 10

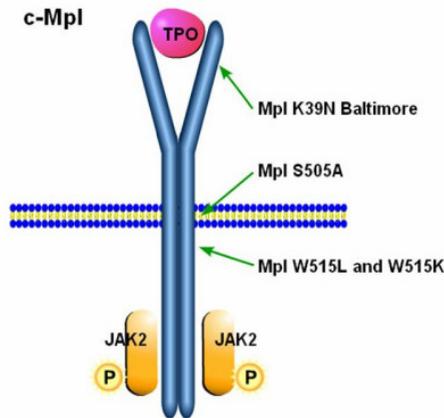


Ilustración 10. Receptor de TPO

La TPO a parte de un regulador fisiológico de los megacariocitos y el desarrollo de las plaquetas, también es un regulador positivo multifuncional en hematopoyesis, y quizás en otros procesos, como por ejemplo la vasculogénesis. Se ha demostrado su relación con el VEGF, que es vital para para las *stem cell*, induciendo su producción, en concreto promueve la producción de dos isoformas del VEGF-A, las isoformas VEGF<sub>121</sub> y VEGF<sub>165</sub>. Pero a su vez el VEGF modula los efectos de TPO sobre las *stem cell* hematológicas, en un *loop* autocrino .

El receptor de trombopoyetina fue descubierto en 1991 y La trombopoyetina fue purificada en 1994. En los últimos meses han aparecido nuevos productos que

## 1 - INTRODUCCION

mimetizan el efecto de TPO, como por ejemplo el Romiplostim que se utiliza vía subcutánea, o el Eltrombopag que se administra via oral <sup>62 63</sup>.

La producción plaquetaria está regulada por el nivel de la actividad del TPO, especialmente tras la proteólisis de este. Al disminuir el número de plaquetas como resultado de la coagulación, moléculas maduras de TPO, son procesadas por escisión proteolítica a formas truncadas con mayor actividad biológica, desembocando en una estimulación de la megacariopoyesis, y aumento de la producción de plaquetas.

Hallazgos de laboratorio indican que la expresión del gen de TPO, se incrementa de forma importante durante los procesos inflamatorios, lo que nos puede llevar a pensar que se comporta como una proteína de fase aguda. También conocemos que su síntesis puede ser inducida por la IL-6 en hígado, a la vez la IL-6 estimularía la trombopoyesis mediante la acción de la TPO, y que en determinados procesos inflamatorios, la trombocitosis existente esta mediada por la IL-6 a través de la acción de la TPO <sup>64 65 66</sup>. Ilustración 10b

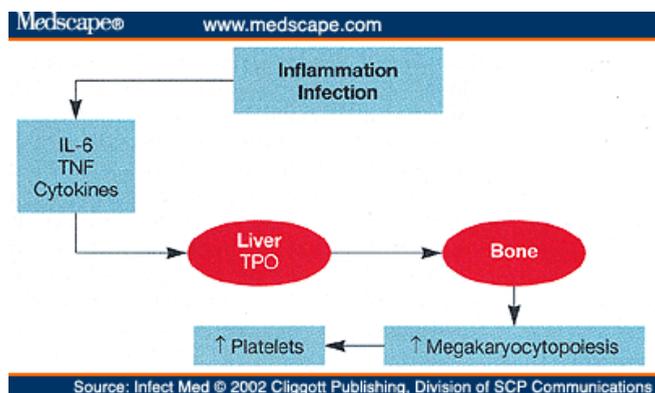


Ilustración 10b. Relación de TPO con IL-6, TNF y otras citoquinas

La trombocitosis reactiva de las enfermedades inflamatorias se acompaña de aumento del TPO, por el hígado<sup>67</sup>. También se ha comunicado su función reguladora en la diferenciación de los mastocitos, con el posible papel en los procesos alérgicos<sup>68</sup>.

Ya conocemos la importancia de las plaquetas como importantes agentes en la defensa de la infección y en la inducción de la inflamación y reparación de tejidos. Se ha documentado la elevación de IL-6 y TPO en el plasma de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, así como en pacientes con artritis reumatoide<sup>69 70 71</sup>.

TPO y su receptor TPOR se expresan en el sistema nervioso central, y se ha sugerido el posible papel proapoptótico, de TPO en sistema nervioso central, pudiendo contribuir al daño cerebral<sup>72</sup>.

### **8. Los factores de crecimiento en los procesos inflamatorios y cicatriciales oculares**

Es precisa una adecuada integración de los procesos de proliferación, migración, diferenciación, apoptosis y comunicación intercelular para que se produzca la reparación correcta de los tejidos oculares. Para ello se requiere la participación de distintos factores de crecimiento y otras citoquinas, que se encuentran presentes en muchos tejidos oculares como la superficie ocular y la lágrima, y que son importantísimos reguladores de los procesos de reparación. Los factores de crecimiento actúan tras su liberación inicial en la herida, inducen una posterior mitosis o una alteración fenotípica en la célula diana y por último regulan la actividad del proceso cicatricial mediante complejos circuitos de retroalimentación<sup>73</sup>.

## 1 - INTRODUCCION

---

Las células epiteliales son capaces a los pocos minutos de producirse el daño de secretar citoquinas como la IL-1 y el TNF- $\alpha$ , que provocan una apoptosis de las células del estroma. El regulador clave del proceso es la IL-1, que es capaz de activar el aumento de expresión de determinados factores de crecimiento implicados en el proceso, en epitelio y estroma. Se ha detectado una producción elevada de KGF, HGF y EGF, que estimulan la proliferación celular epitelial y a su vez activan su propia expresión. A todo esto contribuye además un aumento de la producción de lágrimas, que aumenta la concentración a su vez de estas proteínas, se ha demostrado un aumento del mRNA para HGF y EGF en la glándula lagrimal tras el daño y hay una expresión en las células epiteliales y en los queratocitos de los receptores para HGF y KGF<sup>74</sup>.

También han sido detectados niveles elevados de NGF y de sus receptores en las heridas. Por otra parte también se ha observado un aumento de la plasmina, por lo que se piensa que esta podría además regular el efecto proliferativo de otros posibles factores de crecimiento en las células epiteliales y en la migración de los fibroblastos. Las células limbares proliferan en respuesta al EGF y KGF, las células epiteliales son inducidas a migrar por el HGF y el EGF sobre una matriz provisional de fibronectina que se acumula en la zona de la herida, ya que la fibronectina no forma parte de la membrana basal epitelial, pero se piensa que promovería la adhesión y migración celular, la secreción de proteasas y la reconstrucción de uniones integrina-matriz que permiten la migración de las células epiteliales, una vez se consigue la confluencia, las células son activadas para proliferar y eventualmente para diferenciarse formando un epitelio normal estratificado, en el que la matriz de de fibronectina desaparece y la composición normal de la membrana basal en colágeno y laminina se restaura. Sabemos que la presencia de del TGF- $\beta$  en las últimas fases es el responsable de la prevención de

un exceso de proliferación epitelial al inhibir la expresión del HGF y el KGF, y también que la aplicación tópica de los factores de crecimiento EGF y KGF acelera el proceso de cicatrización en heridas corneales<sup>75 76</sup>.

La proliferación de queratinocitos comienza 12-24 horas tras la lesión y continúa varios días, responden a la IL-1, producen a su vez más IL-1, y entran en un bucle autopropagado que modula la producción de factores de crecimiento, la cicatrización epitelial y la remodelación de la matriz. A su vez los queratinocitos quiescentes son activados por la lesión para diferenciarse en fibroblastos migratorios y miofibroblastos, que expresan actina de músculo liso- $\alpha$  y aumentan la producción de HGF, KGF, heparan y queratán sulfato, colágeno y metaloproteinasas de matriz, fundamentales a su vez para la remodelación estromal. También es necesaria la estimulación sinérgica del PDGF junto a la presencia del TGF- $\beta$  para inducir la diferenciación al fenotipo del miofibroblasto<sup>77 78</sup>.

Existe un flujo de células inflamatorias hacia la córnea tras 12-24 horas de producirse la lesión, provenientes de los vasos sanguíneos limbares y de la propia película lagrimal. El epitelio afectado libera citoquinas, que se unen a receptores de los queratinocitos, capaces de estimular la producción de múltiples factores quimiotácticos por las células inflamatorias. Tiene una adicional importancia el TGF- $\beta$  que atrae fibroblastos, monocitos y macrófagos al foco inflamatorio. Las células inflamatorias además eliminan los restos de las células apoptóticas y liberan PDGF, que es fundamental para el proceso de cicatrización. En definitiva es vital una correcta combinación de factores de crecimiento para la adecuada cicatrización, ya que la

recuperación incompleta o anómala provocaría un daño tisular añadido y consecuentemente un malfuncionamiento ocular<sup>79 80</sup>.

### **9. Los factores de crecimiento en la fisiopatología de las enfermedades del segmento anterior ocular**

Tanto en la función corneal normal como en la cicatrización de las heridas, los factores de crecimiento juegan un papel crucial regulador. Aunque son muchos los trabajos que avalan que los factores de crecimiento presentes en humor acuoso son responsables del perfecto funcionamiento del microambiente del polo anterior ocular, también es conocido que a su vez estos factores son responsables, al menos en parte, de algunos procesos patológicos, como lo atestigua el hecho de que la composición de estos factores de crecimiento presentes en humor acuoso varía significativamente en distintos procesos inflamatorios o en patologías como el glaucoma.

Durante el proceso de reparación ante infecciones o traumatismos, el desarrollo de una excesiva matriz extracelular (MEC) con excesiva infiltración celular inflamatoria e invasión de neovasos, conlleva la aparición de edema y opacificación, y es el TGF- $\beta$  un factor probablemente asociado a esta circunstancia, al ser un potente estimulador de la producción de MEC y quimiotaxis celular inflamatoria, y de hecho, la inhibición de este factor mediante un receptor soluble es capaz de disminuir el edema y la opacificación. Además la inhibición de la inflamación mediada por el TGF- $\beta$  también previene la neovascularización corneal, porque las células inflamatorias también producen VEGF y FGF. En algunas patologías concretas como el penfigoide ocular cicatricial, o como en el síndrome de Stevens-Johnson se ha observado una activación del TGF- $\beta$ <sup>81 82</sup>.

En los procesos oculares con neovascularización, como son entre otros, la neovascularización iridiana o corneal, la retinopatía diabética proliferante, la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) o la proliferación vitreoretiniana (PVR) es precisa la participación del VEGF. A nivel de polo anterior se ha demostrado que la invasión de vasos sanguíneos y células globet en córnea tras la destrucción de las células limbares, esta mediada por el VEGF, describiéndose receptores para este factor tanto en el epitelio normal como en el inflamado, y su mRNA en niveles basales corneales. Se podría prevenir la consiguiente conjuntivalización corneal bloqueando este factor de crecimiento<sup>83 84</sup>.

En la patogénesis del glaucoma primario de ángulo abierto se ha implicado al factor de crecimiento TGF- $\beta$ , ya que existe un aumento significativo del nivel de TGF- $\beta$  total y activado en el humor acuoso de pacientes glaucomatosos, frente a sujetos normales. El TGF- $\beta$  es un promotor de la síntesis de MEC, inhibidor de la degradación proteolítica, y reductor de la proliferación y motilidad celular de la malla trabecular, y parece que en la patogénesis del glaucoma primario de ángulo abierto existe un exceso de depósito de la MEC, y una reducción de la celularidad en la malla trabecular, que produciría la elevación de la presión intraocular ante la resistencia a la salida del humor acuoso por esta malla. Todas las técnicas encaminadas a la inhibición del TGF- $\beta$  podrían por tanto ser efectivas en el tratamiento de este tipo de glaucoma<sup>85</sup>.

### **10. Factores de crecimiento celular y uveítis**

Hasta la fecha no se ha estudiado mucho sobre la interrelación existente entre los factores de crecimiento y las uveítis. Han sido estudiados algunos factores de crecimiento: el factor derivado del epitelio pigmentario (*pigment epithelium derived*

## 1 - INTRODUCCION

*factor* –PEDF-) y el VEGF. También se han encontrado niveles elevados de diferentes interleuquinas y factores de crecimiento como TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , e Interferon- $\gamma$ . Por otra parte conocemos que el edema macular está estrechamente relacionado con niveles elevados de VEGF, y también existe una correlación directa entre la elevación del PEDF y los niveles antioxidantes, que serían protectores frente a la inflamación <sup>86,87</sup>.

Sin embargo se desconocen una serie de cuestiones como cuáles son los niveles de la mayoría de los principales factores de crecimiento, si existe algún patrón específico de alteración según el subtipo de uveítis, si están correlaciones entre los distintos factores de crecimiento o sencillamente si existe alguna correlación entre los niveles de los factores de crecimiento en humor acuoso y los parámetros clínicos. Últimamente se han publicado algunos esquemas que tratan de explicar cómo estos cambios descritos pueden participar en la patogenia de las uveítis, Van Laar JA, Van Hagen PM, Cytokines in Uveitis. Clin Med Res. 2006; 4: 248–249, y Chen W, Zhao B, Jiang R, et al. Cytokine Expression Profile in Aqueous Humor and Sera of Patients with Acute Anterior Uveitis. Curr Mol Med. 2015;15:543-9. Ilustración 11

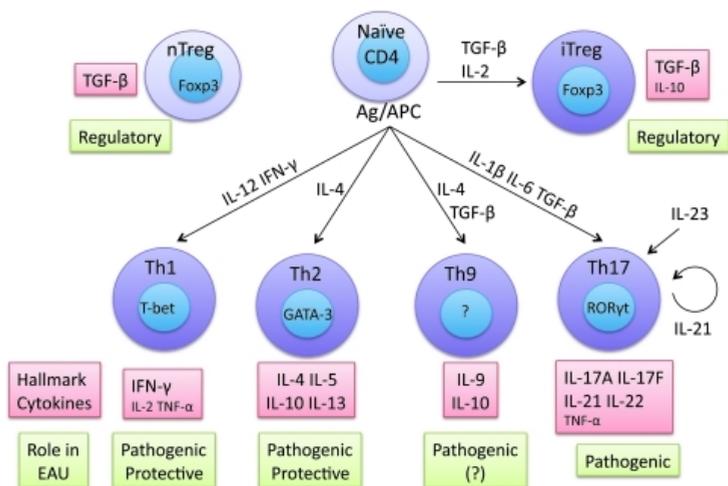


Ilustración 11. Citoquinas, factores de crecimiento celular y uveítis

### 11. Utilización de factores de crecimiento en oftalmología

Es conocida la capacidad del suero autólogo, rico en plaquetas y factores de crecimiento para el tratamiento de úlceras corneales refractarias. Entre los componentes del suero con mayor importancia están el EGF, el factor transformante de crecimiento beta (TGF-  $\beta$ ), la vitamina A, la fibronectina, la albúmina, la  $\alpha 2$  macroglobulina, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-AB), neuropéptidos como la sustancia P<sup>88 89</sup>. Por otra parte muchos de los avances en córneas artificiales se basan en la utilización de factores de crecimiento para su integración<sup>90</sup>. También se han utilizado factores de crecimiento como el EGF tópico, in vivo para promover la proliferación y migración de células epiteliales sobre la superficie de polímeros corneales, siendo demostrada su capacidad para acelerar el cierre de las heridas corneales traumáticas<sup>91</sup>. Ultimamente se han demostrado excelentes resultados con el uso neuroprotectoer del factor PEDF, aplicado para la regeneración corneal. He J, Cortina MS, Kakazu A, et al. The PEDF Neuroprotective Domain Plus DHA Induces Corneal Nerve Regeneration After Experimental Surgery. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015 Jun;56:3505-13.

# LAS UVEITIS

### 1. Anatomía de la úvea

La úvea es una capa vascular y pigmentada que se encuentra entre la retina y la esclerótica. Está formada por el iris, el cuerpo ciliar y la coroides. El iris y el cuerpo ciliar poseen unas estructuras musculares muy especializadas, el resto del tracto uveal también se ocupa de la nutrición ocular a través de la secreción de humor acuoso por parte del epitelio del cuerpo ciliar, y del mantenimiento y nutrición de la retina externa por parte de la circulación coroidea. Las extirpes celulares características son las que forman el epitelio pigmentario del iris y de la retina y derivan del neuroectodermo de la cúpula óptica, y por otra parte están los melanocitos, que están dispersos por todo el tracto uveal y derivan de la cresta neural, estos contienen melanina en los melanosomas, que puede variar entre individuos, y es la causante del color del iris y del grado de pigmentación del fondo de ojo <sup>92</sup>. Ilustración 12

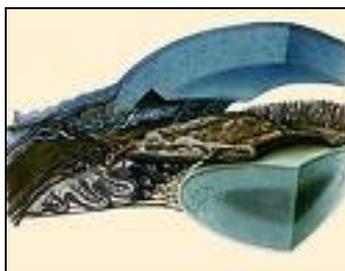


Ilustración 12. Úvea anterior y sus relaciones anatómicas

### El iris

Su función principal es el control del grado de iluminación que llega a la retina, y esto se logra mediante el tono del esfínter, derivado del neuroectodermo y controlado por el parasimpático y de los músculos dilatadores, derivados también del neuroectodermo y controlados por el simpático. Por otra parte el epitelio pigmentario de

la superficie posterior evita la entrada de luz extraña no axial, contribuyendo a mejorar la óptica ocular, uno de los motivos por los cuales en los albinos hay baja agudeza visual. El tejido conjuntivo iridiano de sostén procede de la cresta neural craneal y los vasos de la cresta neural y del mesodermo<sup>93</sup>. Ilustración 13

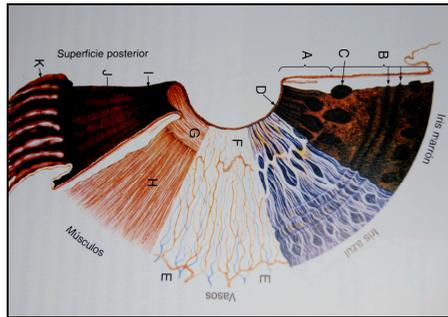


Ilustración 13. Iris y sus capas

### El cuerpo ciliar

El cuerpo ciliar se une a la esclera anteriormente en el espolón escleral, a 1,5 mm del limbo, y lateralmente mediante las láminas supraciliares al iris y al cristalino meialmente, y a la ora serrata y la coroides posteriormente. Se divide en dos partes fundamentales, la **pars plicata** o *corona ciliaris*: porción anterior de 2 mm de anchura que contiene entre 70 y 80 procesos ciliares, procesos intermedios más pequeños y los anclajes celulares, y la **pars plana** o *orbiculus ciliaris*: porción posterior de 3,3-4,5 mm de anchura que empieza 3-4 mm por detrás del limbo, y que también contiene anclajes zonulares. Existe una densa inserción de la base del vítreo en esta área y en la retina ecuatorial anterior. El **músculo ciliar**, que se encuentra en el parte anterior, es el responsable del control de la acomodación, teniendo en un corte transversal forma triangular. Las fibras del músculo ciliar son radiales y se disponen en su parte interna en forma circunferencial, mientras que las fibras más externas son longitudinales, y su contracción transfiere tensión indirecta a la malla trabecular a través del espolón escleral

## 1 - INTRODUCCION

---

(lo que explica en alguna manera el efecto hipotensor de la pilocarpina). Los **procesos ciliares**, poseen un estroma vascular y están cubiertos por dos capas de epitelio pigmentario que son la continuación posterior del epitelio iridiano y la continuación anterior del de la retina. La capa interna más superficial, tiene unas uniones intercelulares estrechas y no está pigmentada, es la responsable de la secreción del humor acuoso, los capilares de los procesos ciliares son fenestrados. Las **fibras zonulares**, sustentan el cristalino y se disponen radialmente desde los surcos situados entre los procesos ciliares<sup>94</sup>.



Ilustración 14: Corte anatómico macroscópico del cuerpo ciliar

### **La coroides**

La coroides se adhiere internamente a la retina, a la esclera a través de las láminas supracoroideas, a las venas vorticosas por fuera, al cuerpo ciliar por delante y al nervio óptico posteriormente. La lámina supracoroidea es un área de delicado tejido conjuntivo que forma un espacio potencial inmediatamente por debajo de la esclerótica, en este espacio se localizan los vasos y nervios ciliares largos, y es donde se reúnen los derrames coroides y donde además tiene lugar el drenaje uveoescleral del humor acuoso. La coroides posee un extenso lecho vascular derivado de la cresta neural y el mesodermo, en el que los mayores vasos se localizan externamente, las arterias son

cortas y de gran calibre, y todo ello forma la coriocapilar, una red de capilares fenestrados situados inmediatamente por debajo de la membrana de Bruch. Es la responsable del aporte vascular a la retina externa mediante el epitelio pigmentario de la retina (EPR). El estroma de la coroides procede de la cresta neural y contiene además linfocitos, melanocitos y fibras de colágeno <sup>95</sup>.

### **Aporte sanguíneo al tracto uveal**

La úvea, y en especial la coroides tienen un flujo sanguíneo muy elevado. La coroides ha de suministrar oxígeno al epitelio pigmentario y a los fotorreceptores de la retina por difusión, los metabolitos son transportados a través del epitelio pigmentario desde, y hacia la retina mediante procesos de transporte activo.

Los vasos del tracto uveal proceden de la circulación ciliar posterior, que se anastomosa por delante con las arterias ciliares anteriores. Las arterias ciliares posteriores cortas abandonan la arteria oftálmica en la zona posterior de la órbita y se dirigen hacia delante para penetrar circunferencialmente en la esclerótica, alrededor de la papila, en alrededor de 12-15 ramificaciones. Estas ramas llegan a la papila óptica, al nervio retrobulbar y a la coroides. En la papila, dos ramas ciliares posteriores largas discurren medial y lateralmente hacia adelante por la lámina supracoroidea, hasta anastomosarse con las arterias ciliares anteriores adyacentes al círculo mayor del iris. Las arterias ciliares anteriores también derivan de la arteria oftálmica, se sitúan en los músculos oculares externos, dos arterias en los rectos medial superior e inferior y una en el lateral, y penetran en la esclerótica a nivel de las inserciones de estos músculos. Contribuyen a la irrigación del iris, cuerpo ciliar y coroides anterior.

## 1 - INTRODUCCION

---

Las arterias coroideas se dividen rápidamente para formar los coriocapilares situados debajo de la membrana de Bruch, estos capilares tienen fenestraciones entre las células endoteliales que permiten la extravasación del plasma al espacio extracelular. Aunque existen anastomosis anatómicas entre los vasos coroideos, fisiológicamente los coriocapilares funcionan según una base lobular, en la que el segmento más pequeño es el lóbulo coriocapilar, irrigado por una arteriola coroidea terminal. El retorno venoso coroideo drena en las venas orbitarias, a través de cuatro venas vorticosas (una por cada cuadrante), que atraviesan la esclerótica en el ecuador.

El iris está irrigado por ramas del círculo arterial mayor del iris, que está situado en el cuerpo ciliar, y que se extiende desde la periferia del iris hacia la pupila, la mayoría de vasos son radiales y forman anastomosis arteriales, que se denominan círculo arterial menor del iris y se localizan en el collarete de este, en la zona pupilar se dividen en redes capilares. El drenaje venoso va al cuerpo ciliar.

El cuerpo ciliar también está irrigado por ramas del círculo mayor arterial del iris, el drenaje se efectúa a través de las venas vorticosas y por las venas episclerales.

El retorno venoso coroideo drena en las venas orbitarias, a través de cuatro venas vorticosas (una por cada cuadrante), que atraviesan la esclerótica en el ecuador <sup>96</sup>.

Ilustración 15.

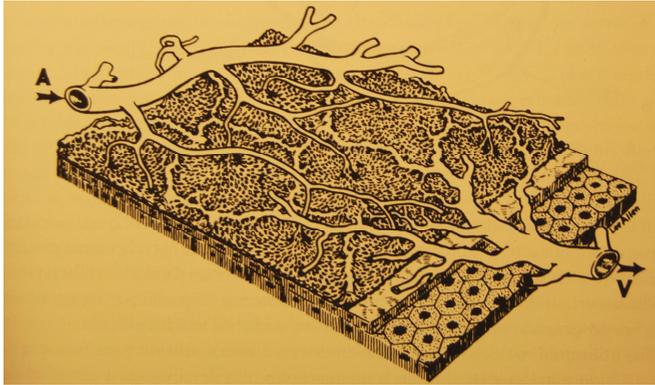


Ilustración 15. Red vascular tracto uveal

### **Inervación de la úvea**

En el **iris** existen tres tipos de terminaciones nerviosas. Las fibras simpáticas provenientes del ganglio cervical superior discurren junto a la artería carótida y se unen a la división oftálmica del trigémino, luego pasan al nervio nasociliar y entran al ojo a través de los nervios ciliares posteriores largos, se encargan de la dilatación pupilar. Las fibras parasimpáticas del III par craneal penetran en el ojo desde el ganglio ciliar a través de los nervios ciliares cortos y son los responsables de la contracción pupilar. Los nervios sensitivos proceden de la rama oftálmica del trigémino, son terminaciones no especializadas que se distribuyen difusamente por el estroma iridiano.

En el **cuerpo ciliar**, también actúan las fibras parasimpáticas del III par, y se encargan de la acomodación, la inervación sensitiva deriva del trigémino.

En **coroides**, existe una estimulación simpática de los vasos coroideos encargada de evitar la hiperperfusión de la coroides durante el estrés y también hay fibras

## 1 - INTRODUCCION

---

parasimpáticas, que vienen del nervio facial y controlan la vasodilatación. La inervación sensitiva también depende de la división oftálmica del trigémino <sup>97</sup>.

### 2. Características histológicas de la úvea

#### Iris

En el iris se distinguen cuatro capas: La **capa anterior**, constituida por fibroblastos y melanocitos, la **capa estromal**, costituida por vasos sanguíneos, nervios, melanocitos (responsable del color del iris), células redondas (melanocitos con pigmento fagocitado), tejido conjuntivo, colágeno, matriz mucopolisacárida y musculo liso (esfínter del iris); **la capa del músculo dilatador**, constituida por células musculares lisas, cuyos núcleos constituyen la capa anterior del epitelio pigmentado del iris y la **capa pigmentada posterior**, costituida por células densamente pigmentadas <sup>98</sup>.

Ilustración 16.

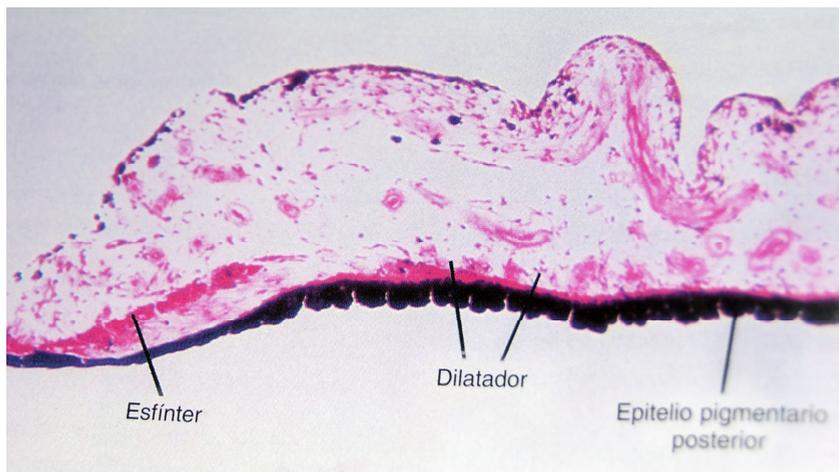


Ilustración 16. Corte histológico de Iris

### **Cuerpo ciliar**

En el cuerpo ciliar se distinguen siete capas: La membrana basal del epitelio ciliar no pigmentado o membrana basal interna, que limita con el humor acuoso, el epitelio ciliar no pigmentado, que es el productor del humor acuoso y que se continúa con la capa posterior del epitelio pigmentado del iris, el epitelio ciliar pigmentado, que se continúa con la capa anterior del epitelio pigmentado del iris, la membrana basal del epitelio ciliar pigmentado o membrana basal externa y que recubre el estroma, el propio estroma con sus vasos y fibroblastos, el músculo liso ciliar con sus porciones longitudinal, radial y circular y por último la lámina fusca, que es el espacio potencial entre la esclera y el cuerpo ciliar y que contiene láminas superficiales de colágeno.

### **Coroides**

La coroides está constituida por cuatro capas principales: la primera es la **membrana de Bruch**, que está compuesta a su vez por por la lámina basal del EPR, la capa colágena interna, la capa elástica media, la capa colágena externa y la lámina basal de la coriocapilar, la segunda es la **coriocapilar**, compuesta de capilares fenestrados dispuestos en lóbulos con una arteriola central, la tercera capa es el **estroma** (capas vasculares media de Sattler y externa de Haller) en la que se hallan las arterias y venas no fenestradas, colágeno, fibras nerviosas, melanocitos, macrófagos y linfocitos, y por último la cuarta capa, que es la **lámina fusca** o espacio supracoroideo, que corresponde a un espacio potencial entre la coroides y la esclera que contiene las láminas supracoroideas de tejido conectivo, fibras nerviosas, plexos coroideos, células ganglionares, melanocitos y fibrocitos. Ilustración 17.

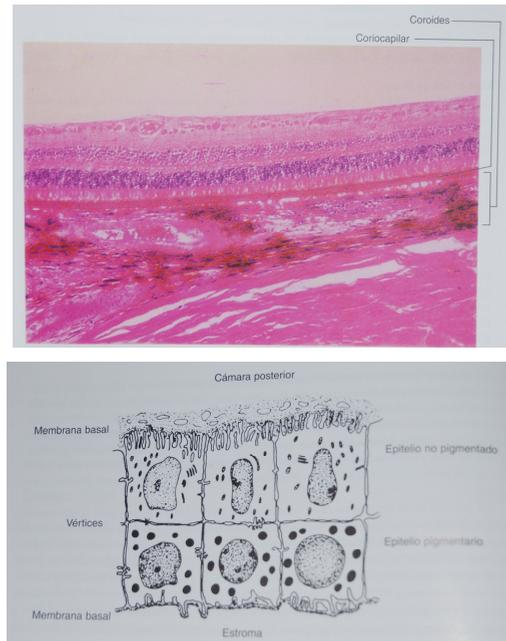


Ilustración 17. Corte histológico de coroides (arriba) . Esquema (abajo)

### 3. El humor acuoso

El humor acuoso es secretado por el epitelio ciliar con una tasa de 2-3 microlitros por minuto y proporciona nutrientes para dar soporte a la función de los tejidos del segmento anterior ocular, como el cristalino avascular, la cornea y la malla trabecular, pero también elimina los desechos metabólicos de estos tejidos. También ayuda a mantener la presión intraocular adecuada. Está compuesto por líquidos y electrolitos de forma muy similar al plasma, aunque la secreción acuosa no es un ultrafiltrado del plasma, como anteriormente se pensaba, ya que está producido por la capa epitelial del cuerpo ciliar por procesos dependientes de energía <sup>99</sup>.

La composición iónica del humor acuoso está determinada por sistemas de transporte activo selectivo que participan en la secreción del humor acuoso por el

epitelio ciliar. La actividad de estos sistemas y su distribución celular a lo largo de las membranas celulares de las células del epitelio ciliar pigmentado y del epitelio ciliar no pigmentado determinan la secreción neta unidireccional desde el estroma hasta la cámara anterior mediante tres pasos: captación de solutos y agua en la superficie estromal por células del epitelio ciliar pigmentado, transferencia desde las células del epitelio ciliar pigmentado hasta las del epitelio ciliar no pigmentado a través de uniones intercelulares comunicantes y transferencia de solutos y agua por las células del epitelio ciliar no pigmentado hasta la cámara posterior. De la misma forma se piensa que hay un mecanismo para transportar solutos y agua desde la cámara posterior de nuevo hacia el estroma. En esta reabsorción unidireccional puede participar otro grupo de transportadores para devolver el  $\text{Na}^+$ , el  $\text{K}^+$  y el  $\text{Cl}^-$  de nuevo al estroma<sup>100</sup>.

Las propiedades secretoras del epitelio ciliar no están limitadas a iones y electrolitos, sino que también se extienden a una amplia gama de moléculas de diferente masa molecular, muchas de ellas se sintetizan a nivel local en el epitelio ciliar y después son secretadas por las células del epitelio ciliar no pigmentado a través de la vía reguladora hacia el humor acuoso.

El epitelio ciliar muestra propiedades neuroendocrinas que se relacionan directamente con la elaboración del humor acuoso y su regulación. La composición del humor acuoso está en un equilibrio dinámico determinado tanto por su velocidad de producción y de flujo de salida como por intercambios con los tejidos del segmento anterior. Ilustración 18

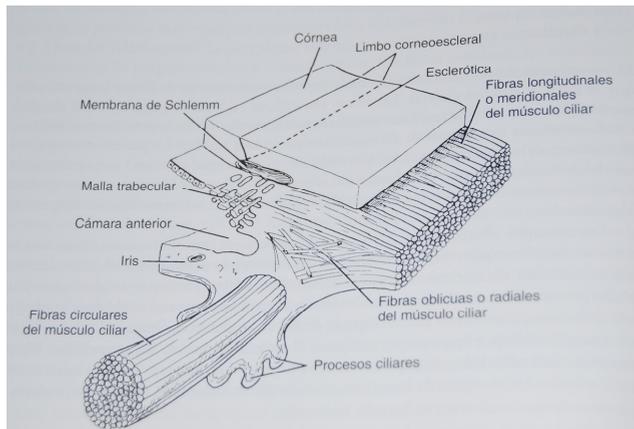


Ilustración 18. Procesos ciliares y sus relaciones anatómicas

El humor acuoso contiene iones inorgánicos y aniones orgánicos (fundamentalmente lactato), carbohidratos, glutatión y urea, oxígeno y dióxido de carbono, gran variedad de proteínas (el 50% albúmina y transferrina) y factores de crecimiento.

Existe sodio, potasio y magnesio a concentraciones similares al plasma, y calcio a mitad de concentración, también se encuentra fosfato, cobre, hierro y cinc, los dos aniones principales son el cloruro y el bicarbonato. El lactato es el anión orgánico más frecuente y el ácido ascórbico el constituyente más específico. La concentración de glucosa es el 70% de la plasmática, y aumenta en diabéticos, existe diez veces más inositol que en plasma.

Posiblemente las proteínas plasmáticas penetran en el humor acuoso a través de la raíz del iris, ya que la capa celular del epitelio ciliar no pigmentado establece una barrera hematoacuosa. La concentración de proteínas en humor acuoso es de 0,02 g/ 100 ml (7 g/100 ml en plasma), las más abundantes son la albúmina y la transferrina.

Existen datos de que muchas proteínas se podrían sintetizar dentro del cuerpo ciliar, como el componente del complemento C4, la  $\alpha$  2- macroglobulina, la apolipoproteína D, la selenoproteína P, peroxidasas de glutatión plasmáticas, angiotensinógeno. Se ha encontrado catepsina D y O, plasminógeno, activador del plasminógeno (aunque se han detectado sólo mínimas cantidades de plasmina), y también existen algunas enzimas que juegan un papel importante, como la hialuronidasa, la anhidrasa carbónica y la lisozima. También sabemos que las enzimas procesadoras de neuropéptidos y los péptidos bioactivos son sintetizados y secretados por las células epiteliales ciliares hacia el humor acuoso <sup>101</sup>.

Las propiedades físicas y químicas del humor acuoso tienen un papel sustancial en la modulación de la proliferación, diferenciación, viabilidad funcional y curación de las heridas de los tejidos oculares. Estas propiedades están mediadas en parte por diversos **factores de crecimiento**, que han sido hallados en humor acuoso. Se ha identificado la secreción por parte del epitelio ciliar no pigmentado, del *factor derivado del epitelio pigmentario* (que tiene actividad neuroprotectora sobre las neuronas) en el humor acuoso. Los factores de crecimiento del humor acuoso realizan diversas actividades biológicas sinérgicas o a veces opuestas. El hecho de que exista una ausencia de mitosis significativas en el endotelio corneal y en la malla trabecular probablemente está relacionado con un fino equilibrio entre los distintos factores de crecimiento, así como también la respuesta hiperplásica anormal del tejido epitelial del cristalino y del endotelio corneal que se produce en muchas inflamaciones y agresiones traumáticas oculares podría estar causada por la alteración del equilibrio de distintos factores de crecimiento en el humor acuoso. No obstante la biodisponibilidad de un determinado factor de crecimiento está directamente determinada por la expresión de

## 1 - INTRODUCCION

---

receptores en los tejidos específicos, las interacciones con componentes de la matriz extracelular y la concentración de proteasas circulantes y unidas a la matriz <sup>102</sup>.

Se conoce que en algunas enfermedades como la diabetes mellitus, las proteínas de unión al factor de crecimiento similar a insulina (IGF-I) están muy elevadas en el vítreo de pacientes diabéticos, incluso antes de producirse una retinopatía diabética, y la IGF-I está muy elevada cuando existe una retinopatía diabética <sup>103</sup>.

También es conocido que tanto en retinopatía proliferativa, como en oclusión de la vena central de la retina o en la neovascularización del iris hay un aumento del de la concentración del VEGF, por lo que este factor es un mediador de la respuesta vasoproliferativa a estímulos hipóxicos observados en distintas enfermedades sistémicas oculares

### **4 . La respuesta inmunitaria en la úvea.**

En la cámara anterior ocular, el humor acuoso es un medio especial para la señalización celular, la comunicación intercelular entre citoquinas o células inmunitarias y las células residentes en los tejidos del iris, el cuerpo ciliar y el endotelio corneal. Aunque el humor acuoso no contiene una concentración alta de proteínas en comparación con el suero, es capaz de participar en la reacción inmune. Algunas macromoléculas plasmáticas son capaces de superar la barrera creada por el epitelio no pigmentado y atraviesan la úvea mediante difusión penetrando en cámara anterior a través del iris. La inoculación de un antígeno en cámara anterior puede desencadenar una eficaz respuesta inmune sistémica <sup>104</sup>.

El iris y el cuerpo ciliar contienen numerosos macrófagos y células dendríticas que actúan como células presentadoras de antígenos y como posibles células efectoras. Aunque no es muy probable la existencia de un procesamiento inmunitario local, las células presentadoras de antígeno abandonan el ojo a través de la malla trabecular y se dirigen al bazo, cuyo procesamiento favorece las respuestas T H2 y la activación preferente de los linfocitos T supresores CD8. En la úvea anterior normal se pueden encontrar algunos linfocitos T, y algunos pocos mastocitos, pero aparentemente no hay linfocitos B, eosinófilos, ni neutrófilos polimorfonucleares<sup>105</sup>.

El sistema inmunorregulador existente en cámara anterior denominado como **privilegio inmunitario**, se basa en la observación de una mayor supervivencia de los implantes tumorales o los aloinjertos en esta región, este privilegio se observa en muchas posibles moléculas antigénicas, como los antígenos de trasplantes, los antígenos tumorales, los haptenos, proteínas solubles, autoantígenos, bacterias y virus. El privilegio inmunitario depende tanto de la fase aferente como de la eferente del arco de respuesta inmunitaria. La fase aferente se inicia con el contacto del antígeno en cámara anterior cuando ciertos macrófagos especializados del iris reconocen y captan esta molécula. La función de presentación de antígenos de estos macrófagos de la úvea se ha alterado como consecuencia de su exposición a citoquinas inmunorreguladoras que se encuentran en el humor acuoso y el tejido uveal, en particular el TGF- $\beta$ 2. Los macrófagos oculares estimulados por antígenos y expuestos por a TGF- $\beta$  atraviesan la malla trabecular y el canal de Schlemm hasta alcanzar la circulación venosa, donde migran a bazo. En el bazo tiene lugar el procesamiento de la señal antigénica, lo que da lugar a la activación tanto de linfocitos T, B y linfocitos T supresores. Los linfocitos T

## 1 - INTRODUCCION

---

supresores CD8 modifican las respuestas de linfocitos T cooperadores CD4 frente al antígeno inmunizador específico en todas las localizaciones corporales <sup>106</sup>.

En definitiva la respuesta efectora así desencadenada se distingue por la supresión selectiva de respuestas de hipersensibilidad retardada frente al antígeno implicado y la disminución selectiva de isotipos de anticuerpo fijadores de complemento. La fase efectora secundaria del segmento anterior es también inmunodepresora y recibe el nombre de **inhibición efectora**. Los linfocitos T de hipersensibilidad retardada T H1, los linfocitos T citotóxicos, los linfocitos T citolíticos naturales y la activación del complemento parecen actuar con una eficiencia menor en la úvea que en otras localizaciones <sup>107</sup>.

El **ligando Fas** (FasL), o ligando CD95, se expresa propiamente en el iris y en el endotelio corneal. Habitualmente FasL, se expresa en el timo (y en algunas otras regiones también caracterizadas por el privilegio inmunitario como los testículos), y es una molécula con capacidad para desencadenar la muerte celular programada (apoptosis) de los linfocitos. En conclusión FasL puede inducir la destrucción apoptótica de los linfocitos T infiltrantes con el fin de inhibir la función efectora de estas células. La desaparición por lo tanto de este preciado mecanismo protector sería el precedente para el desarrollo de las uveítis. Ilustración 19

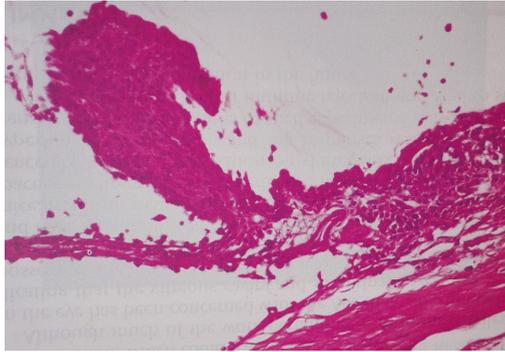


Ilustración 19. Corte histológico de Uveítis experimental en rata

### 5. Definición y clasificación de las uveítis

Las estructuras vasculares pigmentadas de la capa media del ojo forman la úvea, que incluye la coroides, el cuerpo ciliar y el iris. De forma sencilla y general definimos uveítis como la inflamación de la úvea, pero son muy variadas las causas que pueden llevar a crear una inflamación de estas estructuras internas oculares, y a su vez algunas entidades pueden afectar tanto a la úvea como a otras estructuras oculares adyacentes.

Así mismo, las uveítis pueden estar asociadas a enfermedades sistémicas, por lo que es importante investigar esta posibilidad como primer paso para un aproximación a la enfermedad. Las uveítis a su vez se clasifican en subclases teniendo en cuenta la clasificación anatómica de la uveítis, y la clasificación etiológica, fundamentalmente en dos grandes grupos: infecciosas y no infecciosas (autoinmunes) <sup>108, 109, 110, 111,</sup>

Clásicamente han existido diferentes sistemas de clasificación para las uveítis, fundamentados en variados criterios anatómicos (región uveal afectada), clínicos (aguda, crónica o recurrente), etiológicos (infecciosa o no infecciosa) o anatomopatológicos (granulomatosa o no granulomatosa), pero recientemente en el 2005 y por parte del *Standardization of Uveítis Nomenclature(SUN) Working Group* se han

## 1 - INTRODUCCION

---

desarrollado un nuevo sistema de clasificación anatómica, elementos descriptores y sistemas normalizados de cuantificación, y terminología aplicable para el seguimiento de las uveítis. Ahora se dividen las uveítis en categorías etiológicas (infecciosa o no), y se subclasifican de forma anatómica básica en uveítis anterior, posterior, intermedia y difusa o panuveítis. A su vez se incluyen elementos descriptores basados en el proceso clínico evolutivo, y ofrece una serie de recomendaciones necesarias acerca de la terminología específica utilizada en cuanto a cuantificación, caracterización y seguimiento de la enfermedad <sup>112 113</sup>.

Tabla 1. Clasificación anatómica de las uveítis (SUN)

| Tipo               | Inflamación primaria                         | Entidades  |
|--------------------|--|--|
| Uveítis anterior   | Cámara anterior                              | Iritis, iridociclitis, ciclitis anterior   |
| Uveítis intermedia | Vítreo                                       | Pars planitis, ciclitis posterior, hialitis  |
| Uveítis posterior  | Retina o coroides                            | Coroiditis focal, multifocal o difusa, coriorretinitis, retinocoroiditis, retinitis, neurorretinitis |
| Panuveítis         | Cámara anterior, vítreo, y retina o coroides |  |

Tabla 2. Parámetros descriptores de uveítis (SUN)

| Categoría | Descriptor            | Características  |
|-----------|-----------------------|--|
| Comienzo  | Repentino,<br>gradual |  |
| Duración  | Limitada              | Menor o igual 3 meses  |
|           | Persistente           | Mayor a 3 meses  |
| Evolución | Aguda                 | Inicio súbito, duración limitada   |
|           | Recurrente            | Episodios de recurrencia separados periodos de inactividad sin tratamiento de $\geq 3$ meses         |
|           | Crónica               | tratamiento de $\geq 3$ meses<br><br>Recidivas en plazos menores a 3 meses tras suprimir tratamiento |

Tabla 3. Actividad de la uveítis. (SUN)

| Concepto                           | Definición  |
|------------------------------------|---|
| Inactiva                           | Celularidad 0 en cámara anterior  |
| Actividad tendente a empeoramiento | Aumento de 2 niveles en intensidad de inflamación (células en cámara anterior, opacidad vítrea...)o incremento de grado 3+ a 4+ |
| Actividad tendente a mejoría       | Disminución de 2 niveles de intensidad de inflamación (células en cámara anterior, opacidad vítrea...) o disminución a grado 0  |
| Remisión                           | Enfermedad inactiva igual o más de 3 meses tras interrupción de todos los tratamientos oculares                                 |

### **Uveitis anterior**

Definimos Uveítis anterior, según el grupo de trabajo SUN, la uveítis cuya localización primaria está en cámara anterior. Las manifestaciones clínicas pueden ser muy variadas, abarcando desde un ojo prácticamente sin aparentes alteraciones, hasta un ojo rojo con grados variables de dolor e inflamación, pudiendo ser estas muy severas. Clásicamente se utiliza el término iritis cuando la inflamación se limita a cámara anterior e iridociclitis cuando se extiende a cámara posterior. Si se afecta córnea o la esclerótica se denominan respectivamente queratouveitis o esclerouveitis.

Las uveítis anteriores, al contrario de las uveitis posteriores, suelen ser en su mayoría estériles, es decir, no se relacionan con agentes infecciosos, y por lo tanto no observaremos hipopion a excepción de los cuadros no infecciosos relacionados con el HLA-B27 y el Síndrome de Behçet. La mayoría de los casos de Uveítis anteriores son aislados y remiten en aproximadamente 6 semanas, son las llamadas iritis idiopáticas, las crisis glaucomatociclíticas, que asocian elevación de la presión intraocular y tras traumatismos oculares anteriores, todos ellos autolimitados. Otro cuadro importante es la Uveítis asociada a Artritis Idiopática Juvenil, o como se denomina en Estados Unidos, artritis reumatoide juvenil, que aunque aparentemente al observar un ojo blanco y tranquilo en el niño, pueda asociar un grave cuadro inflamatorio en cámara anterior. Por otra parte cuadros como la Uveítis heterocrómica de Fuchs pueden presentar pequeñas inflamaciones en cámara anterior, pero asociar en la evolución a largo plazo de la enfermedad glaucoma o cataratas.

### **Uveitis intermedias**

Esta entidad queda definida, según el grupo de trabajo SUN como una inflamación fundamentalmente localizable en vítreo. La sintomatología principal es la percepción de moscas volantes que pueden afectar al eje visual, y posteriormente un déficit visual por edema macular cistoide crónico asociado, o por la formación de cataratas. No se objetiva ninguna alteración a nivel externo.

### **Uveítis posterior**

Se define, según el sistema de clasificación SUN, como la inflamación ocular que afecta fundamentalmente a retina y coroides. Podemos encontrar focos de inflamación activa a estos niveles, así como células inflamatorias sobre estos en el vítreo. Existen áreas focales, multifocales o difusas de coroiditis o retinitis asociados a diferentes grados de actividad celular en vítreo. Se pueden manifestar clínicamente como una retinitis focal o multifocal o bien afectar más a coroides y manifestarse secundariamente como retinitis, afectar o no vítreo o vasculatura retiniana. A modo de ejemplo, la infección por citomegalovirus cursa con una retinitis multifocal, con escasas células vítreas; la toxoplasmosis provoca retinocoroiditis focal con vitritis intensa, mientras la histoplasmosis se manifiesta como una corirretinitis multifocal sin afectación vítreo.

### **Panuveítis**

En las panuveítis o uveitis difusas, la inflamación se localiza primariamente en cámara anterior, vítreo, retina y coroides. Existen múltiples enfermedades infecciosas o no, que se manifiestan como una inflamación ocular difusa, como la tuberculosis, la enfermedad de Lyme, la sífilis, o la sarcoidosis, la oftalmia simpática, la enfermedad de

Vogt-Koyanagi-Harada y la enfermedad de Behçet. Existen algunas entidades como la uveítis inducida por el cristalino o las toxocariasis que pueden iniciarse como un cuadro anterior o posterior y después evolucionar a un cuadro difuso.

### 6. Epidemiología de las uveítis

La incidencia de uveítis depende de la comunidad estudiada y del centro. La prevalencia más alta de todas las uveítis es la uveítis anterior, seguido de panuveítis, uveítis posterior y por último uveítis intermedia. En general es más frecuente el origen idiopático en las uveítis anteriores, mientras que las causas infecciosas predominan en la afectación posterior <sup>114</sup>. En el estudio de Gritz en EEUU en 2004, las uveítis anteriores eran el 70,2 % del total de uveítis, en el estudio de Bodaghi en Francia en 2001 el 28,5 %, en el de Sengun en Turquía en 2005 el 43,5 %, según Yang en China en 2005 el 45,6%, para Islam en Arabia Saudí en 2002 fue 59,5%, y para Singh en India en 2004 el 49,2% <sup>115 116 117 118 119</sup>. Frecuentemente se desconoce o no se puede detectar el suceso o agente desencadenante de la inflamación, no es posible aislar ningún patógeno específico. La uveítis anterior es la forma más frecuente de uveítis, aglutinando la mayoría de casos de esta enfermedad. Tiene una incidencia global anual entre 8-52 casos por 100.000 habitantes <sup>120</sup>. Esta tasa se incrementa con la edad siendo superior a 102 y hasta 341 por 100.000 habitantes en mayores de 65 años. La etiología varía mucho con la distribución geográfica, y aunque la etiología idiopática es la más frecuente sobretodo en uveítis anteriores, en algunos países hay algunas etiologías con una especial incidencia, como por ejemplo el síndrome de Behçet que es mucho más elevado en Turquía y en China, o la retinocoroidopatía en perdigonada que es más frecuente en Europa occidental. El síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada es más frecuente en China y Japón, y en la India tiene una etiología destacada la tuberculosis,

mientras que la uveítis vírica y la toxoplasmosis tiene un papel importante en Oriente Medio y Francia<sup>121</sup>.

Existen muy pocos estudios poblacionales que permitan conocer la incidencia y prevalencia de uveítis en España, no obstante es de suponer que las cifras deben ser similares a los estudios realizados en Europa. Destacan dos estudios epidemiológicos sobre uveítis realizados en España, el primero se realizó sobre datos de la década de los ochenta del siglo XX, sobre doscientos pacientes y demostró un predominio de las formas anteriores con un 61% de los casos, seguido de las uveítis posteriores con un 20,5 %, las panuveítis un 15% y las intermedias un 3,5%. En cuanto a la etiología la mayoría se catalogaron de idiopáticas con un 50,5 %, siendo la causa infecciosa más frecuente la toxoplasmosis y la causa no infecciosa la espondilitis anquilosante<sup>122</sup>.

El segundo estudio se realizó en la década de los 90, sobre 402 pacientes que acudían por primera vez a una consulta especializada en uveítis, durante cuatro años. Los datos obtenidos fueron similares al estudio anterior con un 61 % de localización anterior, un 13 % posterior, un 19 % de panuveítis y un 6 % de uveítis intermedia<sup>123</sup>.

### **7. Etiopatogenia de las uveítis**

En general las causas de uveítis se dividen en infecciosas y no infecciosas, siendo estas últimas denominadas “autoinmunes”. Esta primera distinción inicial implica el descartar en general cualquier causa infecciosa, lo que además supone una condición indispensable a la hora de establecer el tratamiento que, en general, suelen ser los esteroides o los inmunosupresores, ya que estos podrían empeorar los cuadros infecciosos. Esta circunstancia obvia a veces no es fácil en la práctica clínica, ya que

## 1 - INTRODUCCION

muchas uveítis infecciosas cursan con síntomas y signos idénticos a los cuadros no infecciosos, y además las respuestas inmunes a cuadros infecciosos y no infecciosos son iguales.

Tabla 4. Etiopatogenia de las uveítis

| AUTOINMUNES  |  |  |
|--|--|--|
| INFECCIOSAS  | LOCALES  | SISTÉMICAS   |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Bacterianas</li><li>• Virus</li><li>• Hongos</li><li>• Protozoos</li><li>• Helmintos</li><li>• Otros</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Pars planitis</li><li>• Sd. Manchas blancas</li><li>• Coroiditis serpiginosa</li><li>• Coroidopatía en perdigonada</li><li>• Oftalmia simpática</li><li>• Uve heterocrómica de Fuchs</li><li>• Crisis Glaucomatociclíticas</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Sarcoidosis</li><li>• Vogt-Koyanagi-Harada</li><li>• Behçet</li><li>• Vasculitis</li><li>• Esclerosis múltiple</li><li>• Artropatías inflamatorias</li></ul> |

En las uveítis infecciosas, además de la invasión directa de los tejidos intraoculares por gérmenes a través de soluciones de continuidad en las paredes (endofthalmitis exógenas), estos también pueden llegar al ojo por vía endógena, denominándose endofthalmitis infecciosas endógenas o a cuadros más delimitados como las uveítis por toxoplasma, toxocara, micobacterias, virus, sífilis, borrelia, *Bartonella henselae* o *Tropheryma whippelli*. Estos cuadros suelen acompañarse de mayor o menor grado de enfermedad sistémica acompañante<sup>124</sup>.

Las uveítis no-infecciosas o “autoinmunes”, el 50% estarán circunscritas al ojo y el resto formarán parte de un cuadro generalizado como las artropatías inflamatorias, las enfermedades del colágeno, las vasculitis o las enfermedades granulomatosas multisistémicas no-infecciosas. Curiosamente se ha propuesto un posible papel de determinados agentes infecciosos en la etiopatogenia, tanto en su inicio como en su perpetuación, de estas uveítis supuestamente no-infecciosas. Estos cuadros estarían iniciados por una respuesta inmune anómala o desviada, genéticamente determinada frente a una invasión por un agente infeccioso. Existen altas sospechas de que la uveítis anterior aguda recurrente, especialmente la HLA B<sub>27</sub> +, puede estar relacionada con infecciones por bacterias gramnegativas del tracto urinario o digestivo<sup>125 126</sup>. Habría una respuesta inmune autorreactiva que estaría ocasionada por una reacción cruzada entre antígenos bacterianos y proteínas propias de nuestro organismo (autoantígenos)<sup>127</sup>. En circunstancias normales esto debería evitarse mediante el denominado fenómeno de tolerancia a los autoantígenos que se produce en el timo en las primeras etapas del desarrollo, como se describe en la teoría de la selección del desarrollo de Burnet, y posteriormente en la vida adulta extratímicos, en periferia por mecanismos que incluyen la delección clonal, la anergia clonal y la supresión activa, todo ello dirigido a evitar respuestas potencialmente dañinas, y productoras de enfermedad. En definitiva la inducción de la autoinmunidad representa un fallo en los mecanismos reguladores extratímicos responsables del control de la autorreactividad. Serían los agentes infecciosos los desencadenantes de la autoinmunidad al romper el mecanismo regulador<sup>128 129 130</sup>.

También existen uveítis en las que hay linfocitos T autorreactivos o autoanticuerpos relacionados con autoantígenos específicos, como por ejemplo la

## 1 - INTRODUCCION

---

uveítis por oftalmia simpática o en la enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada. Es de suponer que existen personas con una predisposición genética a desarrollar respuestas inmunes alteradas.

En otras uveítis no-infecciosas, como el síndrome de manchas blancas, también se han propuesto mecanismos que incluyen infecciones virales.

Las características clínicas de las uveítis no suelen orientar hacia la naturaleza infecciosa o no infecciosa. Las uveítis no infecciosas forman parte de un espectro de respuestas autoinmunes que poseen mecanismos inmunes efectores productores de daño tisular comunes. Aunque las uveítis no infecciosas se consideran procesos mediados por linfocitos T colaboradores CD4+, y estos linfocitos activados se encuentran en muchos pacientes, no existen evidencias completas de autoinmunidad en la mayoría de los casos de las llamadas uveítis “autoinmunes”<sup>131</sup>.

Las células T CD4+ reconocedoras de autoantígenos serían normalmente eliminadas por selección clonal en el timo durante las primeras etapas de la vida, o posteriormente si escapan a este mecanismo, por otros de tolerancia extratímicos. En las uveítis, las respuestas autoinmunes patogénicas se producirían tras un fallo en la tolerancia periférica por distintos estímulos externos. Los linfocitos CD4+ iniciarán la enfermedad autoinmune tras la expansión clonal periférica y la presentación antigénica a los tejidos diana, independientemente de cual sea el agente desencadenante. En las uveítis estos procesos activan los CD4+ iniciándose una cascada proinflamatoria con el ulterior daño tisular. Los CD4+ producen respuestas Th1 o Th2, dependiendo del tipo predominante de citoquinas producidas. En las uveítis, como en la mayoría de enfermedades organoespecíficas, se acepta que están mediadas predominantemente por

el tipo Th1. Los linfocitos T activados expresan en su superficie algunos marcadores como IL-2R, CD69, CD45Ro y el ICAM-1, y secretan citoquinas proinflamatorias como la IL-2, la IL-10, el IFN- $\gamma$  y el TNF- $\alpha$ . Todas estas moléculas han sido encontradas en pacientes con uveítis, tanto en sangre periférica como en fluidos oculares<sup>132 133</sup>.

No se conoce con exactitud el papel de las respuestas celulares específicas intraoculares para un determinado antígeno, y tampoco se ha demostrado definitivamente ningún antígeno, como autoantígeno provocador de uveítis. Se han provocado modelos experimentales de uveítis tras la inyección de determinados antígenos, generalmente antígenos retinianos y de la demostración en animales de experimentación de células T autorreactivas y autoanticuerpos frente a dichos antígenos<sup>134</sup>.

Además de los antígenos retinianos provocadores de uveítis, se han demostrado otros, sobre todo en las pars planitis, como diversos componentes de vítreo (proteoglicanos y colágeno) y una proteína DE 36 kd que muestra similitud con una proteína de ciertos hongos, no obstante ninguno de estos u otros autoantígenos potenciales han sido demostrados ser los agentes causantes, o al menos desencadenantes de uveítis<sup>135</sup>.

Existe una asociación clara y largamente reconocida entre las enfermedades autoinmunes y los factores genéticos, también se está prestando atención a los polimorfismos de genes de diversas citoquinas y reguladores de la muerte celular como el FasL, y su contribución a estas patologías. Las dos asociaciones más fuertes entre marcadores genéticos y uveítis son las existentes entre el HLA-B27 en raza blanca, HLA-B7 y HLA-B8 en raza negra, y varias artropatías inflamatorias, especialmente la espondilitis anquilosante en blancos, y también el HLA-A29 y la coroidopatía en

## 1 - INTRODUCCION

---

perdigonada. Se han descrito otras asociaciones más débiles, como el HLA-B51 y la Enfermedad de Behçet, el HLA-B7 y el síndrome de presunta histoplasmosis ocular, entre el HLA-DRB1\*04001 y \*0405 y la oftalmia simpática y el síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, o entre el HLA-DR15 y la asociación con esclerosis múltiple en la pars planitis <sup>136</sup>.

La existencia de muchas subcategorías de uveítis, la rareza de algunas entidades y la heterogenicidad de las poblaciones ha creado una problemática a la hora de poder comprender y avanzar en el conocimiento de los mecanismos etiopatogénicos de las uveítis, por lo que buena parte de los datos que conocemos de estas enfermedades han sido deducidos de los modelos experimentales. Los más utilizados son los denominados como **uveítis experimentales autoinmunes**, estos modelos permiten variaciones muy interesantes, que afectan a la presencia o ausencia de enfermedad y su gravedad, utilizando diversas razas de animales de experimentación genéticamente modificadas, que aportan información más específica respecto al comportamiento de la uveítis ante la ausencia de un determinado gen o molécula, o por variaciones en el protocolo de inmunización.

De todos los modelos de uveítis autoinmunes experimentales, los que afectan al polo posterior usan predominantemente AgS e *interphotoreceptor retinoid binding protein* (IRBP), si se usan endotoxina u otros antígenos, se puede obtener una panuveítis o una uveítis anterior. Todos estos modelos están predominantemente mediados por linfocitos CD4+ Th1 y por ello por las citoquinas proinflamatorias derivadas principalmente del subtipo Th1 (IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ ), junto a una intensa infiltración leucocitaria<sup>137</sup>.

La interpretación de los hechos que ocurren en las uveítis experimentales se relaciona con la hipótesis actual sobre el desarrollo de las enfermedades autoinmunes en el ser humano: existiría una activación sistémica de linfocitos T autorreactivos específicos para un determinado antígeno que llegarían a los tejidos oftalmológicos, donde las células presentadoras de antígeno locales les presentarían dicho antígeno. Posteriormente la secreción de las citoquinas inflamatorias derivadas de dichos linfocitos Th1 se perpetuaría por la atracción quimiotáctica de otras células inflamatorias al foco y por la secreción dichas moléculas por otras células residentes, como las células del epitelio pigmentario de la retina, activadas por las citoquinas previamente liberadas.

A pesar de que el ojo es un órgano que goza de privilegio inmune (ACAID) y privilegio inmune asociado a otros espacios intraoculares), en las uveítis ocurren toda esta cascada cíclica de fenómenos inflamatorios, probablemente cuando por algún motivo se rompe este privilegio inmune. Los linfocitos circulantes, si están activados se podrán unir a las paredes de los vasos coroideos y retinianos, llegando así a los tejidos oculares diana y pudiendo provocar inflamación. En animales de experimentación dicha activación linfocitaria ocurre tras inmunización sistémica con un antígeno capaz de inducir uveítis, pero en el ser humano aún se desconoce por qué en determinadas circunstancias se inicia el proceso <sup>138</sup>

### **8. Clínica de las uveítis**

#### **Sintomatología de la uveítis**

La sintomatología depende de la zona uveal afectada, la rapidez de instauración, la duración del proceso y la evolución del cuadro.

## 1 - INTRODUCCION

---

Las uveítis anteriores de inicio agudo como las iridociclitis, cursan con dolor, epífora, fotofobia, ojo rojo y visión borrosa, mientras que las iridociclitis crónicas por ejemplo de los casos de artritis reumatoide juvenil pueden ser bastante asintomática, o cursar con una disminución de agudeza visual, que a veces está producida más bien por complicaciones como queratopatía en banda, cataratas o edema macular cistoide, más que por la propia uveítis. Otros cuadros como la uveítis anterior recurrente puede establecer periodos de inactividad de 3 meses o más, sin tratamiento seguidos de otros de reaparición de la sintomatología.

En la uveítis intermedia la sintomatología principal es debida a la aparición de sombras en la retina por acúmulo de células inflamatorias (bolas de nieve) en vítreo, que el paciente percibe como miodesopsias. También puede producirse una disminución de la agudeza visual que puede ser debida a las opacidades sobre el eje visual o a un edema macular cistoide asociado.

Las uveítis posteriores, se manifiestan fundamentalmente por una pérdida de agudeza visual indolora, asociada a una combinación de síntomas que incluyen moscas volantes, fotopsias, metamorfopsias, escotomas o nictalopia. La pérdida de visión es debida a una afectación macular directa por la coroiditis o la retinitis, o a una complicación posterior como la formación de una membrana epirretiniana, isquemia retiniana o neovascularización coroidea. A veces el edema macular también puede inducir un cambio de refracción miópico o hipermetrópico con la consecuente disminución de agudeza visual. La presencia de células inflamatorias, fibrina o proteínas en el eje visual producen a su vez alteraciones visuales.

Cuando aparece dolor en una uveítis aguda este es debido a la inflamación del iris, o a la presencia de un glaucoma secundario. Si se produce por un posible espasmo ciliar en el contexto de una uveítis anterior aguda, este se irradia al área del V par craneal.

### **Signos de uveítis**

Diferentes procesos infecciosos, traumáticos, neoplásicos o autoinmunitarios, crean una respuesta inflamatoria, que se traduce en unos determinados signos oculares en las uveítis. Los mediadores químicos más importantes de la fase aguda de la inflamación son la serotonina, el complemento y la plasmina. Los leucotrienos, las kininas y las prostaglandinas modulan la siguiente fase de la fase aguda antagonizando la vasoconstricción. El complemento activado actúa como un complemento leucotáctico. Los polimorfonucleares, eosinófilos y mastocitos forman parte en la producción de los signos inflamatorios, pero son los linfocitos las células inflamatorias más decisivas en el proceso inflamatorio de las uveítis. En definitiva se produce una dilatación vascular que se traduce en una inyección ciliar, un incremento de la permeabilidad vascular que produce una turbidez en el humor acuoso y una quimiotaxis de células inflamatorias hacia los tejidos oculares con la consiguiente reacción celular en vítreo y humor acuoso.

Los principales signos de uveítis en el segmento anterior son la miosis, los precipitados queráticos endoteliales, la presencia de células, turbidez (flare), fibrina e hipopion en cámara anterior, la dispersión de pigmento o la aparición de nódulos iridianos, las sinequias anteriores y posteriores o una queratopatía en banda en las uveítis de larga evolución. Los precipitados queráticos son acúmulos de células

## 1 - INTRODUCCION

---

inflamatorias en el endotelio corneal, en ocasiones son de gran tamaño y amarillentos, denominándose en “grasa de carnero” y asociándose en general a procesos inflamatorios granulomatosos. Ilustración 20. Se observa además una inyección ciliar característica por congestión de los vasos perilimbicos, acompañada en ocasiones por una inyección conjuntival o epiescleral difusa.



Ilustración 20. Precipitados queráticos (izquierda), y en grasa de carnero (derecha)

La reacción de la cámara anterior puede ser serosa, por afluencia de proteínas, purulenta (hipopion) por la presencia de leucocitos polimorfonucleares y residuos necróticos, fibrinosa con exudados de fibrina e incluso hemática al acompañarse las células inflamatorias de eritrocitos. Ilustraciones 21 y 22



Ilustración 21. Hipopion en uveítis

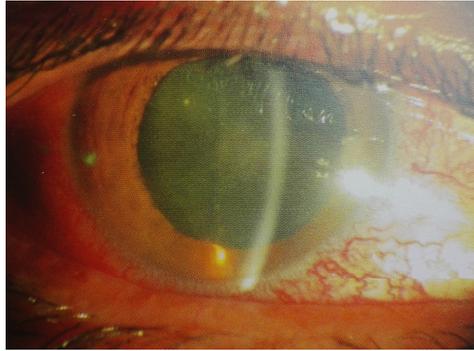


Ilustración 22. Fibrina en cámara anterior

Existe un método específico para cuantificar la intensidad de la reacción inflamatoria en cámara anterior mediante la cuantificación de las células y proteínas presentes en esta, que se realiza mediante el recuento del número de células presentes bajo gran aumento en lámpara de hendidura en un área de 1x1 mm con un ángulo de luz de 45°-60°. De forma similar también se puede cuantificar el Tyndall proteico o turbidez. Tablas 4 y 5. En iris se pueden encontrar sinequias anteriores y posteriores, nódulos de Koeppé en margen pupilar, nódulos de Busacca en el estroma iridiano y nódulos de Berlín en el ángulo, y en ocasiones granulomas de heterocromia característicos de la iridociclitis heterocrómica de Fuchs o atrofia del estroma en la uveítis herpética. También se puede ver afectado el cuerpo ciliar y la malla trabecular, disminuyendo la producción de humor acuoso y aumentando el flujo alternativo, lo que se traduce habitualmente en un descenso de la presión intraocular, aunque a veces pueden haber aumentos bruscos de la presión como consecuencia de la obstrucción de la malla por células y residuos inflamatorios, inflamación directa de esta (trabeculitis) o obstrucción pupilar al flujo por iris abombado y cierre angular<sup>139</sup>.

Tabla 5. Sistema de clasificación SUN de las células en cámara anterior

| Grado | Células por campo |
|-------|-------------------|
| 0     | <1                |
| 0,5+  | 1-5               |
| 1+    | 6-15              |
| 2+    | 16-25             |
| 3+    | 26-50             |
| 4+    | >50               |

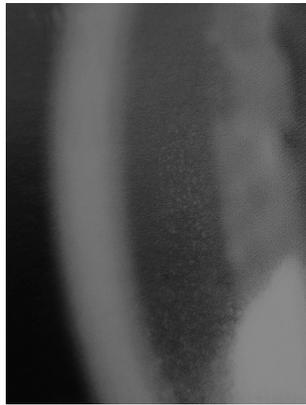


Ilustración 23. Efecto Tyndall en cámara anterior, visto en lámpara de hendidura.

Tabla 6. Clasificación del Tyndall humoral en cámara anterior  
según SUN Working Group.

| Grado | Descripción                                  |
|-------|--|
| 0     | Ausente                                      |
| 1+    | Leve   |
| 2+    | Moderado (detalles claros iris y cristalino) |
| 3+    | Acusado (se ve borroso de iris y cristalino) |
| 4+    | Intenso (fibrina, humor acuoso plasminoide)  |

En el **segmento intermedio** ocular se observan niveles variables de turbidez vítrea, debidos a la presencia de células y material proteico, se emplean fotografías normalizadas para realizar comparaciones del nivel de actividad. Podemos así mismo encontrar en vítreo filamentos o también opacidades en bola de nieve, especialmente en cuadros de uveítis intermedias asociadas a sarcoidosis, otras veces encontramos exudados en la *pars plana* (también denominados bancos de nieve) que cuando están activos adquieren un aspecto difuminado o irregular. En cuadros crónicos pueden aparecer membranas ciclíticas con posterior desprendimiento de cuerpo ciliar e hipotonía.

Los signos que aparecen en el **segmento posterior** pueden ser la consecuencia de la aparición de un foco único, múltiple o una afectación difusa. Se han descrito infiltrados retinianos o coroideos, infiltraciones o envainamientos arteriales o venosos, presencia de atrofia o hipertrofia del epitelio pigmentario de la retina, atrofia o inflamación de papila, retina o coroides, fibrosis retiniana o subretiniana, desprendimientos de retina, ya sean exudativos traccionales o regmatógenos y la neovascularización retiniana o coroidea.

### **Valoración sistémica del paciente con uveítis**

Para una adecuada valoración y abordaje etiológico del paciente con uveítis es preciso investigar mediante una anamnesis completa que incluye una revisión de los diferentes sistemas orgánicos, para ello se han propuesto distintos cuestionarios clínicos dirigidos al paciente con uveítis, como el que propone Foster y Vitale (Foster, Saunders 2002). En este cuestionario se investiga sobre los antecedentes familiares, ya que algunas enfermedades reumáticas o del tejido conectivo asociadas a inflamación ocular

## 1 - INTRODUCCION

---

pueden tener cierta predisposición genética y afectar a varios miembros de una familia; en ocasiones pueden detectarse en sangre marcadores, como determinados antígenos de histocompatibilidad (HLA), cuya presencia predispone a padecer episodios de inflamación ocular.

A veces también podemos descubrir procesos infecciosos adquiridos vía materno-fetal durante la gestación o el parto como la toxoplasmosis, sífilis, citomegalovirus o herpes. La existencia en el entorno familiar de tuberculosis, también puede ser un dato importante para poder establecer un posible diagnóstico.

Los datos demográficos son de gran ayuda, deben incluir la edad, sexo y raza ya que determinados cuadros son más frecuentes en algunos grupos de edad, las enfermedades reumáticas son más frecuentes en mujeres o por ejemplo en blancos caucásicos es más frecuente padecer uveítis anteriores relacionadas con el HLA-B27, en negros africanos la oncocercosis, en negros americanos la sarcoidosis, en amerindios el síndrome de presunta histoplasmosis ocular, en mediterráneos y orientales la enfermedad de Behçet, en japoneses la enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada y en judíos la enfermedad inflamatoria intestinal.

Así mismo realizaremos una historia geográfica y social encaminada a investigar el contacto con animales domésticos o salvajes, los hábitos dietéticos, la profesión, residencia o viajes a determinadas áreas geográficas, antecedentes traumáticos, picaduras de insectos, historia sexual o consumo de drogas. El contacto con animales puede resultar útil si sospechamos toxoplasmosis, toxocariasis, brucelosis, criptococosis, enfermedad de Lyme, leptoespirosis o neurorretinitis subaguda unilateral difusa.

Determinadas profesiones o actividades pueden estar relacionadas con algunas formas de uveítis, como por ejemplo la uveítis por leptospiras en poceros, la enfermedad de Lyme en cazadores, las enfermedades de transmisión sexual en prostitutas, o la criptococosis en criadores de aves. Los hábitos dietéticos también nos pueden servir de ayuda, por ejemplo en casos de ingesta de aguas contaminadas, personas que ingieren carne cruda o productos lácteos no controlados, en los casos de giardiasis, cisticercosis, brucelosis o toxoplasmosis.

El lugar de residencia o los viajes a determinadas zonas con un endemismo concreto puede sernos de utilidad ante determinadas uveítis. No debemos olvidar los posibles antecedentes de picaduras de artrópodos vectores como las garrapatas y mosquitos de patologías como la enfermedad de Lyme, la fiebre nodosa, la oncocercosis o la uveítis por pelos de procesionaria.

La adicción a drogas por vía parenteral, puede ser un importante dato a tener en cuenta en especial en casos de infecciones fúngicas o infecciones oportunistas en pacientes VIH+.

Por último y de gran importancia son los hábitos y prácticas sexuales, especialmente en casos de elevada promiscuidad, homosexualidad y prostitución, relacionándose entre otros cuadros con las uveítis luéticas, síndrome de Reiter o los casos de uveítis por SIDA.

En la anamnesis del paciente se debe determinar si el inicio del cuadro es brusco o progresivo, ya que esta circunstancia nos puede ayudar a delimitar el cuadro entre un amplio grupo de posibles diagnósticos. También la presencia de una inflamación intensa o leve influirá en la clasificación y el pronóstico. La distribución de la afectación ocular,

## 1 - INTRODUCCION

---

ya sea focal, multifoca, o difusa, o si afecta a un ojo o a los dos, tiene una gran importancia. Las uveítis crónicas se definen habitualmente como granulomatosas o no granulomatosas, las no granulomatosas se suelen acompañar de infiltrados formados por linfocitos y células plasmáticas, mientras que las granulomatosas incluyen en el infiltrado además células epitelioides y células gigantes. Los granulomas aislados son típicos de la sarcoidosis; la inflamación granulomatosa más difusa se asocia más al síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada y a la oftalmia simpática. La enfermedad granulomatosa zonal se observa más en la uveítis inducida por el cristalino. No obstante es importante destacar que el aspecto clínico granulomatoso o no granulomatoso de la uveítis no se correlaciona necesariamente con su descripción histopatológica y puede relacionarse más con el estado de la enfermedad en ese momento, de la cantidad de antígeno presentado o del estado de inmunocompetencia del organismo.

No debemos olvidar que las uveítis además de ser un proceso aislado, pueden representar una parte de un proceso sistémico, aunque frecuentemente con poca relación con la actividad inflamatoria en otras partes del cuerpo, o incluso preceder a la aparición de la inflamación en otras localizaciones. Esto obliga en ocasiones a un preciso estudio sistémico, y a realizar una adecuada anamnesis, que como se comentó anteriormente incluya de forma detallada los antecedentes personales y familiares.

La evaluación del estado de salud del paciente es fundamental ya que la existencia de una inmunodeficiencia, el consumo de drogas por vía parenteral, la nutrición parenteral y la profesión del sujeto representan algunos factores de riesgo que nos pueden orientar en el proceso diagnóstico. Muchos trastornos neoplásicos, en ocasiones se presentan como un proceso inflamatorio, el linfoma de células gigantes, el

retinoblastoma, la leucemia y el melanoma maligno pueden aparentar una uveítis. El xantogranuloma juvenil, el síndrome de dispersión pigmentaria, la retinitis pigmentosa y la isquemia deben formar parte del diagnóstico diferencial de la uveítis<sup>140 141 142 143</sup>

### **9. Pruebas básicas clínicas y de laboratorio en el estudio de las uveítis.**

No se dispone actualmente de ninguna batería normalizada de pruebas para la uveítis. Para el diagnóstico es necesario realizar una evaluación analítica y médica orientada por los antecedentes y la exploración física, todo ello adaptado a las etiologías más probables en cada paciente. Las pruebas complementarias necesarias deberían ser solicitadas tras la realización de un adecuado diagnóstico diferencial. En general cuando no hay una sospecha clara de las causas de la uveítis, las pruebas clásicas básicas solicitadas incluyen el hemograma completo, la velocidad de sedimentación globular, las concentraciones de la enzima convertidora de la angiotensina y la lisozima, la serología de sífilis y una radiografía de tórax, y si hay factores de riesgo pruebas de detección de tuberculosis y enfermedad de Lyme.

Algunas pruebas complementarias pueden tener bastante utilidad en la evaluación de los pacientes con algunos tipos de uveítis. La angiografía con fluoresceína permite detectar la afectación del polo posterior como por ejemplo el edema macular cistoide, la vasculitis retiniana, la neovascularización coroidea, la inflamación del nervio óptico, retina o coroides. La angiografía con verde de indocianina, revela coroidopatía o vasculopatías de forma más específica. Con la ecografía podemos observar engrosamientos coroides, desprendimientos de retina opacidades vítreas o membranas cicloticas en pacientes con mala visualización por la presencia de opacidad de medios. La tomografía de coherencia óptica, como método de

imagen transversal aporta información decisiva en pacientes con uveítis y edema macular, engrosamiento retiniano, neovascularización coroidea o desprendimiento seroso de retina, a la vez que evalúa de forma precisa los defectos de fibras nerviosas y campo visual en pacientes con glaucoma y uveítis. Mediante la paracentesis de cámara anterior se pueden obtener muestras de humor acuoso, con mucha utilidad para evaluar por ejemplo la producción local de anticuerpos mediante el coeficiente de Goldmann-Witmer en el diagnóstico de la toxoplasmosis o para el diagnóstico mediante PCR de otros muchos cuadros de uveítis infecciosas, o también ante sospecha de linfomas intraoculares primarios. En ocasiones son necesarias técnicas más complejas que incluyen biopsias de vítreo o coriorretinianas, para casos complicados, en los que no hemos podido llegar a un diagnóstico con las técnicas convencionales <sup>144 145</sup>.

### **10. Uveítis anteriores no infecciosas (autoinmunitarias)**

Muchas formas de uveítis anteriores, intermedias, posteriores y panuveítis pueden ser debidas a una serie de estímulos ambientales, genéticos e inmunitarios innatos y adaptativos. En muchas ocasiones desconocemos o no podemos detectar el suceso o agente desencadenante de la inflamación. Son casos de uveítis en los cuales no es posible aislar ningún patógeno específico. Estas entidades autoinmunes no infecciosas habitualmente se tratan con fármacos antiinflamatorios una vez que se ha descartado el origen infeccioso por microorganismos habituales e identificado cualquier trastorno autoinmunitario sistémico subyacente por medio de pruebas adecuadas.

La **uveítis anterior** es la forma más frecuente de todas las uveítis, tiene una incidencia anual de ocho casos por cien mil habitantes, incrementándose la tasa con la edad hasta llegar a 102-340 por cien mil habitantes en mayores de 65 años. En primer

lugar las dividiremos en uveítis anteriores agudas y uveítis anteriores crónicas, dentro de las primeras se incluyen todas las denominadas iritis o iridociclitis no granulomatosas agudas<sup>146</sup>

### **Clasificación de la Uveítis Anteriores Autoinmunitarias:**

#### **1. Uveítis anterior aguda**

- a. Uveítis relacionadas con HLA B-27**
  - i. Espondilitis Anquilosante**
  - ii. Síndrome de Reiter**
  - iii. Enfermedad intestinal Inflamatoria**
  - iv. Artritis psoriásica**
  - v. Artritis postinfecciosa o reactiva**
- b. Uveítis y enfermedad tubulointersticial**
- c. Crisis glaucomatociclíticas.**
- d. Uveítis asociadas a cristalino**
- e. Inflamación postoperatoria asociada a lentes intraoculares**
- f. Uveítis inducida por fármacos**

#### **2. Uveítis anteriores crónicas**

- a. Artritis Reumatoide Juvenil o Artritis Idiopática Juvenil**
- b. Iridociclitis Heterocrómica de Fuchs**
- c. Iridociclitis Idiopática**

### **Uveítis anteriores agudas (iritis e iridociclitis no granulomatosas agudas)**

Estas uveítis se caracterizan por presentar una sintomatología caracterizada por dolor, enrojecimiento y fotofobia más o menos súbita a menudo junto a una disminución de visión. Son característicos los precipitados queráticos finos y fibrina dispersa por el endotelio corneal. Se puede observar un edema corneal agudo por la disfunción endotelial. Hay una reacción inflamatoria en cámara anterior, caracterizada por una intensa respuesta celular y manifestada por un Tyndall humoral variable, en casos graves se observa además coágulos proteicos en humor acuoso e incluso más raramente hipopion. A veces también se forman membranas de seclusión e iris abombados, como consecuencia de la formación de mallas de fibrina sobre el margen pupilar. En ocasiones se puede observar una dilatación de los vasos iridianos y más raramente un hiphema. Es posible también observar discreta celularidad en vítreo anterior y muy infrecuente una vitritis difusa.

El proceso, que puede durar pocos días o semanas, se caracteriza por presentarse en forma de crisis, agudas y de forma unilateral, aunque con frecuentes episodios de recidivas que a menudo alternan un ojo u otro, siendo muy infrecuente la presentación bilateral. En ocasiones los vasos pueden sufrir daños importantes, con un aumento permanente de la permeabilidad, por lo que la evolución intermitente aguda puede convertirse en un proceso crónico. Existe una segunda forma de presentación, aguda y bilateral que característicamente se presenta asociada a una nefritis tubulointersticial<sup>147 148</sup>.

El tratamiento se fundamenta en el uso de corticoides tópicos, que se administran con mucha frecuencia cada 1 o 2 horas, complementándose si fuera necesario con el uso

de estos de forma periocular u orales, el tratamiento se mantendrá hasta controlar completamente la inflamación, también se asocian ciclopléjicos y midriáticos, tanto para controlar los síntomas, como para evitar algunas complicaciones como la formación de sinequias. El diagnóstico rápido y eficaz, así como el tratamiento inicial agresivo son básicos para evitar el aumento de la permeabilidad vascular permanente, que conlleva una cronificación del cuadro. Por otra parte la administración de fármacos inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNF) reducen de manera eficaz las recidivas de las uveítis anteriores en pacientes con uveítis asociadas al alelo HLA-B27<sup>149</sup>.

El **HLA-B27** es un alelo localizado en el brazo corto el cromosoma 6, está presente sólo en el 1,4%-8% de la población. El 50-60 % de los pacientes con uveítis anterior aguda tienen este gen. Está indicado conocer la presencia de este alelo en casos de uveítis anteriores no granulomatosas recurrentes, aunque su positividad no establezca un diagnóstico de certeza. Existe un grupo de espondiloartropatías, por otra parte seronegativas para el factor reumatoide, que se asocian con la positividad para este alelo y con la presencia de episodios de uveítis (ver tabla clasificación de uveítis):

La **espondilitis anquilosante**, se caracterizan por lumbalgias y rigidez en la región lumbar, que característicamente mejoran con el ejercicio, en las radiografías de sacroiliacas se puede observar esclerosis y pérdida del espacio interarticular, así como osificación ligamentosa y cambios similares en sínfisis de pubis. El 90% de los pacientes con espondilitis anquilosante son HLA-B27 positivos, pero la posibilidad de que un individuo HLA-B27 positivo desarrolle una artritis o una enfermedad ocular es solo del 25 %, de igual manera que es frecuente que pacientes con uveítis y resultados positivos muchas veces no tienen sintomatología de afectación articular. Las espondilitis son de

## 1 - INTRODUCCION

---

gravedad muy variable, pudiendo ser casi asintomáticas a muy severas e incapacitantes. Otras manifestaciones sistémicas descritas son la fibrosis apical pulmonar e insuficiencia valvular aórtica. La enfermedad se trata con AINES, y en casos más severos con sulfasalacina<sup>150 151 152</sup>

En el **Síndrome de Reiter**, el HLA-B27 es positivo en el 90% de los casos, es más frecuente en hombres y está caracterizado por la clásica triada de uretritis inespecífica, poliartritis y conjuntivitis, aunque en ocasiones también se pueden observar uveítis. Se ha propuesto, que episodios de gastroenteritis puedan desencadenar el cuadro, microorganismos como *Chamydia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* y *U urealyticum* se han asociado a este síndrome. Un mes tras el episodio inicial descrito aparecería una artritis oligoarticular asimétrica que afecta preferentemente a rodillas, tobillos, pies y manos, y en casi un 70 % a sacroiliacas. A parte de la triada clásica se ha descrito una erupción eritematosa descamativa en palmas y plantas (queratodermia blenorragica), y un exantema eritematoso descamativo en glande (balanitis circinada), ambos también criterios diagnósticos. Aunque son las conjuntivitis (mucopurulentas y papilares) las lesiones oculares más frecuentemente asociada a este síndrome, en un 10 % de pacientes se han descritos uveítis anteriores agudas, que en ocasiones son bilaterales y en otras se cronifican al alterarse de forma grave la barrera hematoacuosa. Ilustración 23b



Ilustración 23b. Enfermedad de Reiter. Artritis (izquierda) y queratoconjuntivitis (derecha)

En el 5% -12% de los pacientes con **Colitis Ulcerosa** y el 2,5 % de los de **Enfermedad de Crohn**, se ha descrito la presencia de uveítis aguda, siendo la enfermedad intestinal muchas veces asintomática o manifestarse tras la aparición de la uveítis. A su vez el 20% de pacientes con enfermedad intestinal inflamatoria puede presentar sacroileítis, siendo más del 60% positivos para el HLA-B27, especialmente si presentan conjuntamente uveítis, curiosamente los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal que desarrollan esclerouveítis suelen ser HLA-B27 negativos, asemejándose más a los síntomas de la artritis reumatoide y sin asociar sacroileitis.<sup>153</sup>.

En la **artritis psoriásica**, a parte de las manifestaciones cutáneas típicas de la psoriasis, existe inflamación de las articulaciones interfalángicas terminales y afectación ungueal, y se han descrito hasta un 25 % de casos de uveítis anteriores agudas, un 20 % asocian sacroileítis, y también un porcentaje significativo enfermedad inflamatoria intestinal. También se han descrito casos de uveítis en pacientes con psoriasis, sin afectación articular, con un comportamiento diferente, a menudo bilateral, más prolongado y con mayor frecuencia de asociación con vasculitis retiniana, edema macular quístico y papilitis<sup>154</sup>.

Dentro de las uveítis anteriores agudas, existe un cuadro que se asocia a la **Nefritis tubulointersticial**, y que afecta a mujeres adolescentes y jóvenes, entre 12 a 30 años. Generalmente, aunque no siempre, los síntomas sistémicos de fiebre, artralgias, exantemas y nefritis tubulointersticial preceden al desarrollo de la uveítis anterior, que suele cursar con enrojecimiento y dolor ocular, fotofobia y visión borrosa en un primer brote, siendo más severos en los siguiente, pudiendo desarrollar mayor reacción de cámara anterior, fibrina precipitados queráticos y sinequias posteriores. En ocasiones se

## 1 - INTRODUCCION

---

asocia a alteraciones posteriores como opacidad vítrea, papilitis y exudados o edema retiniano. Se establecen unos criterios diagnósticos que incluyen la elevación de la creatinina o la disminución de su aclaramiento, la anormalidad del sedimento urinario y la sintomatología general de fiebre, pérdida de peso, anorexia, fatiga, artralgias y mialgias. La causa de la enfermedad es desconocida, aunque se presupone su origen autoinmune, y el tratamiento se base en dosis altas de corticoides<sup>155</sup>.

El **síndrome de Posner- Schlossman** o **crisis glaucomatociclítica**, es una uveítis unilateral anterior aguda leve, que se caracteriza por un gran aumento de la presión intraocular, edema corneal, precipitados queráticos, células en cámara anterior y Tyndall humoral de bajo grado, junto a una pequeña dilatación pupilar, dura desde horas a pocos días, y característicamente es muy recidivante. Se ha asociado al locus génico HLA-B54. No se conoce la causa y su diagnóstico es de exclusión. El tratamiento se basa en corticoides tópicos y antiglaucomatosos tópicos u orales.

En ocasiones las uveítis se producen por una reacción inmunitaria frente al **material cristalino**, como consecuencia de una alteración de la cápsula anterior de este ya sea traumática, quirúrgica o incluso degenerativa en las cataratas maduras. El mecanismo preciso se desconoce, pero se supone una reacción autoinmunitaria frente a las proteínas del cristalino. Clínicamente se manifiesta por una uveítis granulomatosa o no, con precipitados queráticos, con grados variables de reacción en cámara anterior, con incluso la formación de hipopion, son frecuentes las sinequias posteriores y el aumento de la presión intraocular, y también se observa discreta inflamación en vítreo anterior<sup>156</sup>.

La **uveítis** asociada a la implantación de **lentes intraoculares**, incluye cuadros inflamatorios leves o la forma severa del síndrome UGH (uveitis-glaucoma-hifema). La manipulación quirúrgica y la implantación de lentes puede activar la cascada del complemento y favorecer la quimiotaxis de neutrófilos. Hoy en día es muy poco frecuente la aparición de uveítis por estos dispositivos, por la mejora en el acabado de las lentes y por la fabricación de materiales más biocompatibles, no obstante el síndrome de UGH, se sigue describiendo de forma ocasional<sup>157</sup>.

Se han descrito casos de **uveítis inducidas por fármacos**. Para poder determinar si un determinado fármaco es el causante de una uveítis se aplican una serie de criterios generales aplicados, que incluyen el que la reacción sea frecuente y documentada, que el cese del cuadro se produzca tras la interrupción del fármaco, el que se hayan excluido otras posibles etiologías, que la Intensidad del cuadro sea mayor con dosis mayores del fármaco en cuestión, que hayan Indicios objetivos que confirmen la reacción adversa, que podamos observar efectos similares en pacientes determinados que usan fármacos semejantes, y que la nueva exposición al fármaco de sospecha haga reaparecer el cuadro <sup>158 159</sup>.

Dentro de los tratamientos sistémicos, los más relacionados han sido la rifabutina, un derivado muy eficaz semisintético de la rifamicina y la rifampicina que se utiliza para el tratamiento del *Mycobacterium aviae intracellulare*, los bifosfonatos, que son inhibidores de la resorción ósea las sulfonamidas, la dietilcarbamacina, que se usa para la filariasis, los anticonceptivos orales y el topiramato, un antiepiléptico que se usa para epilepsias rebeldes, migrañas y pérdida de peso. Son muy frecuentes los tratamientos tópicos que pueden provocar uveítis, como el metipranolol, un

## 1 - INTRODUCCION

---

antiadrenérgico, inhibidores de la colinesterasa, y análogos de las prostaglandinas (Travoprost, latanoprost y brimatoprost) y los corticoides tópicos <sup>160</sup>. Los fármacos inyectados en el ojo también pueden producir uveítis, destacan los anticuerpos, la uroquinasa, y el cidofovir. Para el tratamiento se utilizan los corticoides tópicos, los ciclopléjicos, y en casos recidivantes la suspensión del fármaco sistémico causante del cuadro. También se han descrito algunas uveítis en pacientes que han recibido vacunas como la de la gripe o la vacuna con el Bacilo de Calmette-Guérin, o tras la prueba cutánea de la tuberculina con el derivado proteico purificado (PPD) <sup>161</sup>.

### Uveítis anteriores crónicas

Dentro de las uveítis anteriores crónicas, destacan las **Uveítis asociada a Artritis Reumatoide Juvenil (ARJ)**, este cuadro también se denomina artritis idiopática juvenil, como la denomina la *International League of Associations of Rheumatologists* y antes se denominó artritis crónica juvenil. La ARJ es la enfermedad sistémica que más se asocia a uveítis anteriores en la población pediátrica, se caracteriza por una artritis de comienzo antes de los 16 años, y se mantiene al menos 6 semanas. Así mismo se pueden presentar en **tres categorías**, en las que hay afectación ocular, como son:

La **enfermedad de Still**, que son el 20 % de todos los casos de ARJ, se ha descrito en menores de 5 años, su comienzo es sistémico con fiebre, exantema, linfadenopatía y hepatoesplenomegalia, pudiendo la afectación articular ser mínima o ausente inicialmente. La afectación ocular es poco frecuente, solo el 6%.

La **poliarticular**, que son el 40 % de todas las ARJ, aunque sólo un 7-14 % desarrollan uveítis anteriores, y en la que la afectación es de 5 o más articulaciones

inicialmente durante las 6 primeras semanas de evolución. Significativamente las factor reumatoide +, no producen uveítis.

El tercer grupo, las de inicio **pauciarticular** (afectación de cuatro o menos articulaciones inicialmente), son la mayoría, alrededor del 80-90 % de todas las ARJ. Se subdivide en el *tipo 1*, en el que se afecta mayoritariamente a niñas menores de 5 años y suelen tener el anticuerpo antinuclear (ANA) +, y en un 25% desarrollan uveítis anteriores, y el *tipo 2*, que es más frecuente en niños mayores y suelen desarrollar uveítis más bien agudas y recurrentes que crónicas, además tienen un tendencia elevada a padecer posteriormente espondilopatías seronegativas para el factor reumatoide y positivas para el HLA B27 <sup>162</sup>.

En general, las uveítis son más frecuentes en el grupo pauciarticular, en los ANA+ y en niñas, siendola mayoría negativos para el factor reumatoide. La correlación existente entre el proceso ocular y articular es escasa o nula. Clínicamente son uveítis poco sintomáticas, con ojo blaquécino y poco inflamado, presentan en ocasiones dolor moderado, fotofobia y visión borrosa, en la exploración se pueden observar precipitados queráticos finos, queratopatía en banda, tyndall humoral y celular, sinequias anteriores y posteriores y cataratas. Dado que la sintomatología es escasa, es muy importante realizar una exploración minuciosa en estos niños, ya que las complicaciones pueden ser muy severas. Muchas veces el cuadro sistémico es muy leve o está ausente al principio, por lo que tiene gran valor una exploración reumatológica precisa y la detección de los ANA <sup>163</sup>. El tratamiento se basa en un principio en el uso de corticoides tópicos y midriáticos, pero frecuentemente en los casos más graves son necesarios los corticoesteroides sistémicos y perioculares. Ya que la utilización crónica de corticoides

## 1 - INTRODUCCION

---

en niños es problemática se están utilizando dosis bajas de metrotexate de mantenimiento <sup>164</sup>. Los nuevos inhibidores del TNF- $\alpha$  , como el anticuerpo monoclonal quimérico infliximab <sup>165</sup> , u otros más novedosos como el adalimumab, representan una modalidad terapéutica muy interesante en estos niños, ya que reduce el número de recidivas. Por otro parte el manejo de las complicaciones como son las cataratas y el glaucoma, todavía permanece muy controvertido, ya que no existe consenso sobre, a parte de la lensectomía y vitrectomía anterior aconsejada, si se debe implantar lente intraocular o no, o cuál es la mejor técnica quirúrgica para el manejo de los glaucomas que no se controlan con la medicación tópica <sup>166</sup>. Ilustración 24



Ilustración 24. Queratopatía en banda en paciente con AIJ.

**Otro grupo importante dentro de las uveítis crónicas es la Iridociclitis heterocrómica de Fuchs.** En algunas series representa hasta el 3 % de los pacientes remitidos a unidades hospitalarias especializadas en uveítis, sin embargo muchas veces el cuadro puede pasar desapercibido. Se trata de un cuadro poco sintomático, bilateral, caracterizado por grados variables de visión borrosa y molestias leves. En la exploración se aprecia una heterocromía, por atrofia difusa del estroma iridiano con atrofia variable también del epitelio pigmentario, acompañado de pequeños precipitados queráticos estrellados y de distribución difusa, y células inflamatorias en cámara anterior y espacio vítreo anterior. Es rara la aparición de sinequias, pero es frecuente el

glaucoma y las cataratas. Aunque no se conoce la etiología se le ha vinculado a infecciones oculares por toxoplasma o virus del herpes simple, y recientemente con el virus de la rubeola <sup>167</sup>. Para el tratamiento, cuando es necesario, se utilizan corticoides tópicos que reducen la inflamación aunque no suelen hacer desaparecer el cuadro, que en ocasiones suele durar décadas, aún así el pronóstico es favorable, salvo las complicaciones de cataratas y glaucoma que suelen responder correctamente al tratamiento quirúrgico <sup>168</sup>. Ilustración 25



Ilustración 25. Precipitados en estrella en uveítis heterocrómica de Fuchs

### 11. Bases del tratamiento de las uveítis anteriores no infecciosas

Ante una uveítis, lo primero que tenemos que tener en cuenta, de cara al tratamiento, es saber si la inflamación de origen afecta exclusivamente a la úvea anterior o si se extiende a úvea intermedia o úvea posterior, ya que el manejo será completamente diferente. Una vez se han descartado otras causas específicas de uveítis, como la herpética, comenzaremos el tratamiento.

El tratamiento de cualquier uveítis inmune se comenzará de forma tópica utilizando corticoides y ciclopléjico-midriáticos. La mayor parte de los pacientes tienen una buena respuesta, y un excelente pronóstico, pero siempre que se instaure el

## 1 - INTRODUCCION

---

tratamiento adecuado de la forma más precoz posible. El tratamiento debe ser rápido y agresivo, debe considerarse una urgencia médica, ya que el diferirlo puede crear complicaciones, a veces irreversibles como las sinequias, el glaucoma, las cataratas o el edema macular quístico. Existen varias excepciones al uso inicial de sólo tratamiento tópico, como son la uveítis asociada a la artritis crónica juvenil o la uveítis asociada a la enfermedad de Behçet, en las que suele existir una actividad muy severa y requieren por lo general asociar inmunosupresión sistémica<sup>169</sup>.

Comenzaremos con corticoides tópicos en forma de colirio y pomada antes de acostarse, el tipo de corticoide a utilizar ha de ser de alta potencia antiinflamatoria y fácil penetración ocular, por lo que se suele utilizar preferentemente la dexametasona en formulación alcohol, también pueden usarse la betametasona y la prednisolona, esta última aunque de menor potencia antiinflamatoria dado que va formulada en acetato tiene una muy buena penetración intraocular<sup>170</sup>.

Es muy importante mantener una frecuencia muy elevada de instilación, que dependiendo de la severidad del cuadro puede requerir cada 1 - 3 horas, e incluso en cuadros muy severos se puede utilizar la pauta cada 15 minutos. El tratamiento se mantendrá hasta que el proceso comience a remitir, momento en el cual comenzaremos a bajar el corticoide de forma gradual y lenta, no retirándolo nunca antes de 4-6 semanas, para evitar el efecto rebote de la inflamación. Cuanto más recurrentes sean los episodios más lentamente iremos bajando el tratamiento, incluso existen pacientes que requieren dosis mínimas de corticoides tópicos durante largos periodos de tiempo. No debemos además vigilar de forma continuada al paciente por los posibles efectos adversos que pueden producir estas altas dosis de corticoides,

como son la hipertensión ocular, las cataratas o mayor susceptibilidad a presentar infecciones asociadas <sup>171</sup>.

Ocasionalmente se precisa la infiltración de corticoides perioculares, cuando se asocia un edema macular quístico, hay una mala respuesta inicial al tratamiento o sospechamos un incumplimiento. Excepcionalmente son necesarios los corticoides sistémicos o los inmunosupresores, especialmente en casos de artritis crónica juvenil y enfermedad de Behçet<sup>172</sup>

También deben usarse colirios ciclopléjico-midriáticos tanto para controlar el dolor producido por el espasmo del músculo ciliar como para prevenir la formación de sinequias posteriores o romper las ya presentes. Generalmente se comienza con atropina al 1% cada 8-12 horas por su mayor potencia y duración de acción, especialmente en inflamaciones intensas con mucho dolor, y posteriormente cuando el cuadro va remitiendo se sigue con tropicamida que permite cierto juego pupilar, o con homatropina, en pautas descendentes hasta terminar con una única administración nocturna, para permitir la acomodación diurna<sup>173</sup>.

En los casos de uveítis anteriores agudas unilaterales recidivantes asociadas a HLA B-27 se ha comunicado que el uso de sulfasalazina podría reducir la frecuencia y severidad de las crisis, y en pacientes con uveítis agudas y espondilitis anquilosantes se ha observado también un menor número de cuadros de uveítis cuando están siendo tratados con infliximab <sup>174</sup>. Ultimamente se está utilizando los nuevos anti-TNF, de última generación, como el Adalimumab y otros, con notable éxito, en algunos casos de uveítis no infecciosas persistentes o resistentes a los tratamientos clásicos.

### BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Cooper GM, Hausman E. The cell: A molecular Approach. Washington, DC: ASM Press 2007 .
- <sup>2</sup> Alonso JM, Stepanova AN. The ethylene signaling pathway. Science 2004; 306: 1513-1515.
- <sup>3</sup> Arai K, Lee A, Miyajima S et al. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. Ann Rev Biochem 1990; 59:783-836.
- <sup>4</sup> Carpenter G, Cohen S. Epidermal Growth factor. J Biol Chem 1990; 265:7009-7712.
- <sup>5</sup> Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. Science 1987; 237: 1154-1152.
- <sup>6</sup> Massagué J, Pandiella A. Membrane-anchored growth factors. Ann Rev Biochem 1993; 62:515-541.
- <sup>7</sup> Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. Cell 1986; 46:155-169.
- <sup>8</sup> Alonso A, Sasin J, Bottini N, et al. Protein tyrosine phosphatases in the human genome. Cell 2004; 117: 699-711.
- <sup>9</sup> Lefkowitz RJ. Historical review: a brief history and personal retrospective of seven transmembrane receptors. Trends Pharmacol Sci 2004; 25:413-422.
- <sup>10</sup> Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell 2000;103: 211-225
- <sup>11</sup> Schlessinger J. Common and distinct elements in cellular signaling via EGF and FGF receptors. Science 2004;306: 1506-1507
- <sup>12</sup> Brivanlou AH, Darnell Jr JE. Signal transduction and the control of gene expression. Science 2002; 295; 813-818.

- <sup>13</sup> Hunter T. Protein kinases and phosphatases. Then yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell* 1995;80:225-236.
- <sup>14</sup> Scheid MP, Woodgett JR. Functional insights from genetic models. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2001;2:760-768.
- <sup>15</sup> Yoon K, Gaiano N. Notch signaling in the mammalian central nervous system: Insights from mouse mutants. *Nature Neurosci* 2005;8:709-715.
- <sup>16</sup> Schwartz MA, Ginsberg MH. Networks and crosstalk. Integrin signalling spreads. *Nature Cell Biol* 2002;4:471-477.
- <sup>17</sup> Mitra SK, Hanson DA, Schlaepfer D. Focal adhesion kinase: In command and control of cell motility. *Nature Rev Moll Cell* 2005; 6:56:68.
- <sup>18</sup> DeMali KA, Wennerberg K, Burridge K. Integrin signaling to the actin cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol* 2003;15:572-582.
- <sup>19</sup> Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. *Science* 1999;285:1028-1032.
- <sup>20</sup> Eungdamrong N, Iyengar R. Computational approaches for modeling regulatory cellular networks. *Trends Cell Biol* 2004;14:661-669.
- <sup>21</sup> Levchenko A. Dynamic and integrative cell signaling: Challenges for the new biology. *Biotechnol Bioeng* 2003; 84:773-782.
- <sup>22</sup> Papin JA, Hunter T, Palsson BO, Subramanian S. Reconstruction of cellular signaling networks and analysis of their properties. *Nature Rev Cell Biol* 2005;6:99-111.
- <sup>23</sup> Trinkaus-Randall, V. Cornea. In: Lanza RP, Langer R, Vacanti J. Principles of tissue engineering. San Diego: Academic Press; 2000: 471-491.
- <sup>24</sup> Rolando, M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 45:203-10.
- <sup>25</sup> Welge-Lussen U, May CA. Role of tissue growth factors in aqueous humor homeostasis. *Curr Opin Ophthalmol* 12:94-9

## 1 - INTRODUCCION

---

- <sup>26</sup> Jones SM, Kazlauskas A. Connecting signaling and cell cycle progression in growth factor-stimulated cells. *Oncogene* 2000; 19:558-767.
- <sup>27</sup> Lauffenburger D, Lindermann JJ. Receptors: Models of binding, trafficking and signaling. New York: Oxford University Press 1993.
- <sup>28</sup> Sorkin A, Von Zastrow. Signal transduction and endocytosis close encounters of many kinds. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:600-14.
- <sup>29</sup> Yanai R, Yamada N. Mitogenic and antiapoptotic effects of various growth factors on human corneal fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2122-6.
- <sup>30</sup> Roberts AB. The ever-increasing complexity of TGF- $\beta$  signaling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13:3-5.
- <sup>31</sup> Kuhl PR, Griffith-Cima G. Tethered epidermal growth factor as a paradigm for growth factor-induced stimulation from the solid phase. *Nat Med* 1996; 2: 1022-7.
- <sup>32</sup> Dinbergs ID, Brown L. Cellular response to transforming growth factor  $\beta$  1 and basic fibroblast growth depends on release kinetics and extracellular matrix interactions. *J Biol Chem* 1996; 271: 29822-9.
- <sup>33</sup> Nathan C, Sporn M. Cytokines in context. *J Cell Biol* 1991; 113:981-6.
- <sup>34</sup> Maldonado B, Furcht LT. Epidermal growth factor stimulates integrin-mediated cell migration of cultured human corneal epithelial cells on fibronectin and arginine-glycine-aspartic acid peptide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36:2120-6.
- <sup>35</sup> Imanishi J, Kamiyama K. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19: 113-29.
- <sup>36</sup> Pepose JS, Holland GN, Wilhelmus KR, eds. Ocular infection and immunity. St Louis: Mosby;1996.
- <sup>37</sup> Kramer M, Monselise Y, Bahar I, et al. Serum cytokine levels in active uveitis and remission. *Curr Eye Res* 2007; 32:669-75.

- <sup>38</sup> Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *Annu Rev Biochem* 1979; 48: 193-216.
- <sup>39</sup> Kitazawa T, Kinoshita S. The mechanism of accelerated corneal epithelial healing by human epidermal growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31:1773-8
- <sup>40</sup> Jorissen RN, Walker F. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res* 2003; 284: 31-53.
- <sup>41</sup> Hongo M, Itoi M. distribution of epidermal growth factor receptors in rabbit corneal epithelial cells, keratocytes and endothelial cells and the changes induced by transforming growth factor-beta 1. *Exp Eye Res* 54:9-16.
- <sup>42</sup> Rubin JS, Osada H. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:802-6.
- <sup>43</sup> Sotozono C, Kinoshita S. Paracrine role of keratinocyte growth factor in rabbit corneal epithelial cell growth. *Exp Eye Res* 1994;59:385-91
- <sup>44</sup> Wilson SE, He YG. Effect of epidermal growth factor, hepatocyte growth factor, and keratinocyte growth factor on proliferation, motility and differentiation of human corneal epithelial cells. *Exp Eye Res* 59:665-78
- <sup>45</sup> Wilson SE, Liang Q. lagrimal gland HGF, KGF, and EGF mRNA levels increase after corneal epithelial wounding. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40:2185-90
- <sup>46</sup> Grierson IL, Heathcote L. Hepatocyte growth factor/scatter factor in the eye. *Prog Retin Eye Res* 19:779-802.
- <sup>47</sup> Jester JV, Huang J. TGF  $\beta$  induced myofibroblast differentiation of rabbit keratocytes requires synergistic TGFbeta, PDGF and integrin signaling. *Exp Eye res* 75:645-57
- <sup>48</sup> Kokawa N, Sotozono C. High total TGF-beta2 levels in normal human tears. *Curr Eye Res* 1996; 15:341-3.
- <sup>49</sup> Ohji M, Mandarino L. Corneal epithelial cell attachment with endogenous laminin and fibronectin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34:2487-92.

## 1 - INTRODUCCION

---

- <sup>50</sup> Tripathi RC, Li CJ. Aqueous humor in glaucomatous eyes contains an increased level of TGF-beta2. *Exp Eye Res* 1994; *Exp Eye Res* 59:723-7.
- <sup>51</sup> Saghizadeh M, Chwa M. Altered expression of growth factors and cytokines in keratoconus, bullous keratopathy and diabetic human corneas. *Exp Eye Res* 2001; 73:179-89
- <sup>52</sup> Ferrara N, Houck K. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev*1992;13:
- <sup>53</sup> Adamis AP, Shima Dt. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. *Retina* 2005;25:111-118.
- <sup>54</sup> You L, Kruse LE. Neurotrophic factors in the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:692-702.
- <sup>55</sup> deSauvage FJ, Hass PE, Spencer SD, et al. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-mpl ligand. *Nature* 1994; 369: 533-538.
- <sup>56</sup> Willm J, Akkerman N. Thrombopoietin and platelet function. *Semin Thromb Hemost* 2006;32:295-304.
- <sup>57</sup> Begley CG, Bassar RL. Biologic and structural differences of thrombopoietin growth factors. *Semin Hematol* 2000;37:19-27
- <sup>58</sup> Kuter DJ, Begley CG. Recombinant human thrombopoietin basic biology and evaluation of clinical studies. *Blood* 2002;100:3547-3469.
- <sup>59</sup> Feese MD, Tamada T, Kato Y, et al. Structure of the receptor-binding domain of human thrombopoietin determined by complexation with a neutralizing antibody fragment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:1816-1821.
- <sup>60</sup> Kaushansky K. Thrombopoietin and the hematopoietic stem cell. *Ann NY Acad Sci* 2005;1044:139-141.

- <sup>61</sup> Eguchi M, Masuda H, Kwon S, et al . Lesion-targeted thrombopoietin potentiates vasculogenesis by enhancing motility and enlivenment of transplanted endothelial progenitor cells via activation of Akt/mTOR/p70s6kinase signaling pathway. *J Mol Cell cardiol* 2008; 45:661-9
- <sup>62</sup> Wadhwa M, Thorpe R. Haematopoietic growth factors and their therapeutic use. *Thromb Haemost* 2008;99:863-73.
- <sup>63</sup> Kuter DJ. Thrombopoietin and thrombopoietin mimetics in the treatment of thrombocytopenia. *Annu Rev Public Health* 2008.
- <sup>64</sup> Burmester H, Wolber EM, Freitag P, et al. Thrombopoietin production in wild-type and interleukin-6 knockot mice with acute inflammation. *J Interferon Cytokine Res* 2005;25:407-13.
- <sup>65</sup> Kaser A, Brandacher G, Steurer W, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis though thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood* 2001;98:2720-5.
- <sup>66</sup> Cerutti A, Custodi P, Duranti M, et al. Circulating thrombopoietin in reactive conditions behaves like an acute phase reactant 1999;21(4):271-5
- <sup>67</sup> Wolber EM, Fandrey J, Frackowski V, Jelkmann W. Hepatic thrombopoietin mRNA is increased in acute inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86:1421-4.
- <sup>68</sup> Migliaccio AR. Role of thrombopoietin in mast cell differentiation. *Ann NY Acad Sci* 2007;27.
- <sup>69</sup> Klinger MH, Jeikmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res* 2007;22:913-22.
- <sup>70</sup> Heits F, Stahl M, Ludwig D, et al . Elevated serum thrombopoietin and intreleukin-6 concentrations in thrombocytosis associated with inflammatory bowel disease. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:757-60.

## 1 - INTRODUCCION

---

- <sup>71</sup> Ertenli I, Kiraz S, Oztürk MA, et al. Pathologic thrombopoiesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2003; 23:49-50.
- <sup>72</sup> Reinhol A, Zhang J, Gessner R, et al. High thrombopoietin concentration in the cerebrospinal fluid of neonate with sepsis and intraventricular hemorrhage may contribute to brain damage. *J Interferon Cytokine Res* 2007; 27:137-145.
- <sup>73</sup> Baldwin HC, Marshall J. Growth factors in corneal wound healing following refractive surgery: A review. *Act Ophthalmol Scand* 2002 ;80:255-66
- <sup>74</sup> Li D, Tseng SC. Differential regulation of keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor/scatter factor by different cytokines in human corneal and limbal fibroblasts. *J Cell Physiol* 1997;172:361-72.
- <sup>75</sup> Tervo T, Vesaluoma M. Tear hepatocyte growth factor (HGF) availability increases markedly after excimer laser surface ablation. *Exp Eye Res* 1997 ;64:501-4
- <sup>76</sup> Lim M, Goldstein MH. Growth factor, cytokine and protease interactions during corneal wound healing. *Ocul Surf* 2003;1:53-65.
- <sup>77</sup> Fini ME. Keratocyte and fibroblast phenotypes in the repairing cornea. *Prog Retin Eye Res* 1999;18:529-51.
- <sup>78</sup> Maltseva O, Folger P. Fibroblast growth factor reversal of the corneal myofibroblast phenotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42:2490-5.
- <sup>79</sup> Wilson SE, Mohan RR. The corneal wound healing response cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res* 2001; 20:625-37.
- <sup>80</sup> Honma Y, Nishida K. Effect of transforming growth factor- beta1 and -beta2 on in vitro rabbit corneal epithelial cell proliferation promoted by epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, or hepatocyte growth factor. *Exp Eye Res* 1997; 63:391-6.

- <sup>81</sup> Sakamoto T, Ueno H. Blockade of TGF-beta by in vivo gene transfer of a soluble TGF-beta type II receptor in the muscle inhibits corneal opacification, edema and angiogenesis. *Gene Ther* 2000;7:1915-24.
- <sup>82</sup> Fujikawa LS, Foster CS. Basement membrane components in healing rabbit corneal epithelial wounds: immunofluorescence and ultrstructural studies. *J Cell Biol* 1984;98:128-38
- <sup>83</sup> Jousseaume AM, Poulaki V. VEGF-dependent conjunctivalization of the corneal surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:117-23.
- <sup>84</sup> Philipp W, Speicher L. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in inflamed and vascularized human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:2514-22.
- <sup>85</sup> Tripathi RC, Chan WF. Trabecular cells express the TGF-beta2 gene and secrete the cytokine. *Exp Eye Res* 1994; 58:523-8
- <sup>86</sup> Yoshida Y, Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Imaizumi T, Yoshimura K, Yamakawa R. Increased levels of pigment epithelium derived factor in aqueous humor of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol* 2007; 91:149-50
- <sup>87</sup> Yoshida Y, Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Imaizumi T, Yoshimura K, Yamakawa R. Positive correlation of pigment epithelium derived factor and total antioxidant capacity in aqueous humor of patients with uveitis and proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2007; 91:1133-4.
- <sup>88</sup> van Setten GB, Tervo T, Tervo K, Tarkkanen A. Epidermal growth factor (EGF) in ocular fluids: presence, origin and therapeutical considerations. *Acta Ophthalmol Suppl* 1992; 202: 54-59.
- <sup>89</sup> Alio JL, Abad M, Artola A. Use of Autologous Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Dormant Corneal Ulcers. *Ophthalmology* 2007;114:1286-93

- <sup>90</sup> Trinkaus-Randall V, Nugant MA. Biological response to a synthetic cornea. *J Control release* 1998; 53:205-14.
- <sup>91</sup> Pastor JC, Calonge M. Epidermal growth factor and corneal wound healing. A multicenter study. *Cornea* 1992; 11: 311-314.
- <sup>92</sup> Green WR. The uveal tract. In: Spencer WH, ed. *Ophthalmic pathology: An atlas and text*. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1996: chap 10.
- <sup>93</sup> Damato BE, Spalton DJ. The uveal tract. In: Spalton DJ, Hitchings RA, Hunter PA, eds. *Atlas of clinic ophthalmology*. Baltimore, Mosby; 1995 chap 9.
- <sup>94</sup> Scales DK, Fryczykowski AW, Opremcak EM. The choroid. In: Albert DM, Jakobiec FA, eds. *Principles and practice of ophthalmology: basic sciences*. Philadelphia, Pa: WB Saunders; 1994:chap 14.
- <sup>95</sup> Hayreh SS. The choriocapillaris. *Graefe Arch Ophthalmol* 1974;192:165-79
- <sup>96</sup> Hayreh SS. In vivo choroidal circulation and its watershed zones. *Eye* 1990;4:273-89.
- <sup>97</sup> Hart WM, ed. *Adler's Physiology of the Eye: clinical application*. Baltimore, Mosby; 1992.
- <sup>98</sup> Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE, eds. *Histology of the humane ye: An atlas and textbook*. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1971: chap 6-8.
- <sup>99</sup> Macknight AD, MacLaughlin CW, Peart D, et al. Formation of the aqueous humor. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:100-106.
- <sup>100</sup> Krupin T, Civan MM. The physiologic basis of aqueous humor formation. In Ritch R, Shields MB, Krupin T, eds. *The glaucomas*. 2nd ed. St Louis: Mosby; 1996.
- <sup>101</sup> Cowdrey G, Firth M, Mosse R, et al. The analysis of aqueous humor constituents using capillary zone electrophoresis. *Exp Eye Res* 1998;67:449-455.
- <sup>102</sup> Klenkler B, Sheardown H. Growth factors in the anterior segment: role in tissue maintenance, wound healing and ocular pathology. *Exp Eye Res* 2004;79:677-88.

- <sup>103</sup> Shaw LC, Grant MB. Insuline-like growth factor-1 and isuline-like growth factor binding proteins: their possible roles in both maintaining normal retinal vascular function and in promoting retinal pathology. *Rev Endocr Metab Disord* 2004;5:199-207.
- <sup>104</sup> Fosters CS, Streilein JW. Basic immunology. In: Foster CS, Vitale AT, eds. *Diagnosis and treatment of uveitis*. Philadelphia: Saunders; 2002:34-78.
- <sup>105</sup> Sugita S, Ng TF, Lucas Pj, et al. B7+ iris pigment epithelium induce CD8+ T regulatory cells; both suppress CTLA-4+ T cells. *J Immunol* 2006;176:118-27.
- <sup>106</sup> Zamiri P, Masli S, Kitaichi N, et al. Thrombospondin plays a vital role in the immune privilege of the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46:908-19.
- <sup>107</sup> Ferguson TA, Griffith TS. A vision of cells death: insights into immune privilege. *Innunol Rev* 1997;156:167-184.
- <sup>108</sup> Albert DM, Jakobiec FA, eds. *Principles and practice of ophthalmology*. Philadelphia: Saunders;1999.
- <sup>109</sup> Foster CS, Vitale AT. *Diagnosis and treatment of uveitis*. Philadelphia: Saunders 2002.
- <sup>110</sup> Michelson JB. *Color atlas of uveitis*. St Louis: Mosby 1991.
- <sup>111</sup> Rao NA, Foster DJ, Augsburger JJ. *The uvea: Uveitis and intraocular neoplasms*. New York: Gower; 1992.
- <sup>112</sup> Nussenblatt RB, Whitcup SM, Palestine AG. *Uveitis:Fundamentals and clinicla practice*. Philadelphia: Mosby;2004
- <sup>113</sup> Jabs DA, Nussenblatt JT. The standardization of uveitis nomenclature (SUN) Working group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the firstinternational workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509-5016.
- <sup>114</sup> McChannel, Holland GN, Helm, et al. causes of uveitis in the general practice of ophthalmology. UCLA Community-Based Uveitys Study Group. *Am J Ophthalmol* 1996;121:35-46.

## 1 - INTRODUCCION

---

- <sup>115</sup> Bodaghi B, Cassoux N, Wechsler B, et al. Chronic severe uveitis: etiology and visual outcomes in 927 patients from a single center *Medicine* 2001;80:263-270.
- <sup>116</sup> Islam SM, Tabbara KF. Causes of uveitis at The Eye Center in Saudi Arabia: a retrospective review. *Ophthalmic Epidemiol* 2002; 9:239-49.
- <sup>117</sup> Sengun A, Karadag R, Karakurt A, et al. Causes of uveitis in a referral hospital in Ankara, Turkey. *Ocul Immunol Inflamm* 2005;13:45-50
- <sup>118</sup> Singh R, Gupta V, Gupta A. Patterns of uveitis in a referral eye clinic in North India. *Indian J Ophthalmol* 2004;52:121-25.
- <sup>119</sup> Yang P, Zhang Z, Zhou H, et al. Clinical patterns and characteristics of uveitis in a tertiary uveitis center in China. *Curr Eye Res* 2005;30:943-48.
- <sup>120</sup> Gritz DC, Wong IG. Incidence and prevalence of uveitis in Northern California. The Northern California Epidemiology of Uveitis study. *Ophthalmology* 2004; 111:491-500.
- <sup>121</sup> Rodriguez A, Calonge M, Pedroza-Seres M, et al. Referral patterns of uveitis in a tertiary eye care center. *Arch Ophthalmol* 1996;114:593:99.
- <sup>122</sup> Santin M, Badrinas F, Mascaró J, et al. Uveitis: an etiological study of 200 cases following a protocol. *Med Clin* 1991;96:641-4
- <sup>123</sup> Bañares A, Jover JA, Fernández B, et al. Patterns of uveitis as a guide in making rheumatologic and immunologic diagnosis. *Arthritis Rheum* 1997;40:358-70.
- <sup>124</sup> Nussenblatt RE, Whitcup SM, Palestine AG. Uveitis: fundamentals and clinical practice. Mosby, St Louis, 1996.
- <sup>125</sup> Wakefield D, Stahlberg TH, Tiovanen A. Serological evidence of Yersinia infection in patients with anterior uveitis. *Arch Ophthalmol* 1990;108:219-221.
- <sup>126</sup> Sprengels SH, Van Kregten E, Feltkamp TE. IgA antibodies against Klebsiella and another gram-negative bacteria in ankylosing spondylitis and acute anterior uveitis. *Clin Rheumatol* 1996;15:48-51.

- <sup>127</sup> Bjorkman PJ, Sayer MA, Samaraoui B. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* 1987;329:566-572.
- <sup>128</sup> Read S, Mauze S, asseman C, et al. CD38+CD45RB(low) CD4+ T cells: a population of T cells with immune regulatory activitis in vitro. *Eur J Ophthalmol* 1998;28:3435-3437.
- <sup>129</sup> Miller JB, Basten A. Mechanisms of tolerance to self. *Curr Opin Immunol* 1996;8:815-821.
- <sup>130</sup> Hausmann S, Wucherpfenning KW. Activation of autoreactive T cells by peptides. *Curr Opin Immunol* 1996;9:831-838.
- <sup>131</sup> Dick AD, Cheng YF, Purdie AT, et al . Immunocytochemical analysis of blood lymphocytes in uveitis. *Eye* 1992;6: 643-47.
- <sup>132</sup> Feron EJ, Calder VL, Lightman SL. Distribution of IL-2R and CD45Ro expression on CD4+ and CD8+ T lymphocytes in the peripheral blood of patients with posterior uveitis. *Curr Eye Res* 1992; 11:167-173.
- <sup>133</sup> Deschenes J, Charr DH, Kaliter S. Activated T Lymphocytes in uveitis. *Br J Ophthalmol* 1988;72:83-87.
- <sup>134</sup> Forrester JV, Liversidge J, Dua HS, et al. Comparasion of clinical and experimental uveitis. *Curr Eye Res* 1990;9:75-84.
- <sup>135</sup> Bora NS, Bora PS, Kaplan HJ. Identification, quantification and purification of a 36 kDa circulating protein associated with active pars planitis. *Invest Ophthalmol Clin Sci* 1996;37:1870-76.
- <sup>136</sup> Yabuki K, Imoko H, Ohno S. HLA testing in patients with uveitis. *Int Ophthalmol Clin* 2000; 40:19-35.
- <sup>137</sup> Caspi RR, Roberge FG, Macallister, et al. T cells lines mediating experimental autoimmune neuroretinitis in the rat. *J immunol* 1986;136:928-33

## 1 - INTRODUCCION

---

- <sup>138</sup> Dick AD. Immune mechanism of uveitis: insights into disease and pathogenesis and treatment. *Int Ophthalmol Clin* 2000;40:1-18.
- <sup>139</sup> Hogan MJ, Kimura SJ, Thygeson P. Signs and symptoms of uveitis. Anterior uveitis. *Am J Ophthalmol* 1959;47:155-170.
- <sup>140</sup> Messerli J. Intraocular inflammations. Anamnesis and clinical study. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1989;194:368-372.
- <sup>141</sup> Rosenbaum JT. Uveitis: An internist's view. *Arch Intern Med* 1989;149:1173-76.
- <sup>142</sup> Rothova A, Buitenhuis HJ, Meenken C, et al. Uveitis and systemic disease. *Br J Ophthalmol* 1992;76:137-141.
- <sup>143</sup> Smith RE, Nozik RA. Uveitis: a clinical approach to diagnosis and management. 2<sup>nd</sup> ed. Baltimore: William and Wilkins 1989.
- <sup>144</sup> Ciardella AP, Prall FR, Borodoker N, et al. Imaging techniques for posterior uveitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2004;15:519-30.
- <sup>145</sup> De Groot-Mijnes JD, Rothova A, van Loon AM, et al: Polymerase chain reaction and Goldmann-Witmer coefficient analysis are complementary for the diagnosis of infectious uveitis. *Am J Ophthalmol* 2006;141:313-18
- <sup>146</sup> Reeves SW, Sloan FA, Lee PP, Jaffe GJ. Uveitis in the elderly; epidemiological data from the National Long-term care Survey Medicare cohort. *Ophthalmology* 2006;113:307-321.
- <sup>147</sup> Cunningham ET Jr. Diagnosis and management of anterior uveitis. Focal points: Clinical Modules for Ophthalmologists. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2002.
- <sup>148</sup> D'Alessandro LP, Foster DJ, Rao NA. Anterior uveitis and hypopyon. *Am J Ophthalmol* 1991;112:317-321.

- <sup>149</sup> Braun J, Baraliakos X, Listing J, Sieper J. Decreased incidence of anterior uveitis in patients with ankylosing spondylitis treated with the anti-tumor necrosis factor agents infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum* 2005;53:2447-51.
- <sup>150</sup> Power WJ, Rodriguez A, Pedroza-Seres M, et al. Outcomes in anterior uveitis associated with the HLA-B27 haplotype. *Ophthalmology* 1998;105:1646-1651.
- <sup>151</sup> Chang JH, McCluskey PJ, Wakefield D. Acute anterior uveitis and HLA-B27. *Surv Ophthalmol* 2005;50:364-388.
- <sup>152</sup> Tay-Kearney M, Schwam B, Lowder C, et al. Clinical features and associated systemic diseases of HLA-B27 uveitis. *Am J Ophthalmol* 1996;121:47-56.
- <sup>153</sup> Salmon JF, Wright JP, Murray AD. Ocular inflammation in Crohn's disease. *Ophthalmology* 1991;98:480-84.
- <sup>154</sup> Durrani K, Foster CS. Psoriatic uveitis: a distinct clinical entity? *Am J Ophthalmol* 2005; 139:106-111
- <sup>155</sup> Goda C, Kotake S, Ichiisi A, et al. Clinical features in tubulointerstitial nephritis and uveitis (TINU) syndrome. *Am J Ophthalmol* 2005;140:637-41.
- <sup>156</sup> Meisler DM. Intraocular inflammation and extracapsular cataract surgery. *Focal Points: Clinical Modules for Ophthalmologists*. San Francisco: American Academy of Ophthalmology 1990.
- <sup>157</sup> Ravalico G, Baccara F, Lovisato A, et al. Postoperative cellular reaction on various intraocular lens materials. *Ophthalmology* 1997;104:1084-1091.
- <sup>158</sup> Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981;30:239-245
- <sup>159</sup> Moorthy RS, Vallury S, Jampol LM. Drug induced uveitis. *Surv Ophthalmol* 1998;42:557-70

## 1 - INTRODUCCION

---

- <sup>160</sup> Faulkner WJ, Burk SE. Acute anterior uveitis and corneal edema associated with travoprost. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1054-55
- <sup>161</sup> Cano-Parra J, Diaz-Llopis M. Uveitis inducida por fármacos. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2005; 80:137-150.
- <sup>162</sup> Kanski JJ. Juvenile Arthritis and uveitis. *Surv Ophthalmol* 1990;34:253-267.
- <sup>163</sup> Cunningham ET Jr. Uveitis in children. *Ocul Immunol Inflamm* 2000;8:251-61.
- <sup>164</sup> Weiss AH, Wallace CA, Sherry DD. Methotrexate for resistant chronic uveitis in children with juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr* 1998;133:266-268.
- <sup>165</sup> Rajaraman RT, Kimura Y, Li S, et al. Retrospective case review of pediatric patients with uveitis treated with infliximab. *Ophthalmology* 2006; 113:308-14.
- <sup>166</sup> BenEzra D, Cohen E. Cataract surgery in children with chronic uveitis. *Ophthalmology* 2000;107:1255-60.
- <sup>167</sup> de Groot-Mijnes JD, de Visser L, Rothova A, et al. Rubella virus is associated with Fuchs heterochromic iridocyclitis. *Am J Ophthalmol* 2006; 141:212-214.
- <sup>168</sup> Jones NP. Fuchs' heterochromic uveitis: a reappraisal of the clinical spectrum. *Eye* 1991; 5:649-661.
- <sup>169</sup> Muñoz-Fernández S, Martín-Mola E. Uveitis. *Best practice and research clinical Rheumatology* 2006;20:487-505
- <sup>170</sup> Diaz Llopis M, Tratamiento de las uveitis. GEMU SEO. Santiago de Compostela 1993.
- <sup>171</sup> Smith JR. Management of uveitis. *Clin Exp Med* 2004;3:21-29.
- <sup>172</sup> Thach AB, Dugel PU, Flindall RJ, et al. A comparasion of retrobulbar versus sub-Tenon's corticosteroid therapy for cystoids macular edema refractory to topical medications. *Ophthalmology* 1997;104:2003-8
- <sup>173</sup> Vitale AT, Foster CS. Mydriatic and cyclopegic agents. In: Vitale AT, Foster CS, eds. *Diagnosis and treatment of uveitis*. Philadelphia: WB Saunders, 2001:159-166.

<sup>174</sup> Braun J, Baraliakos X, Listing J, Sieper J. Decreased incidence of anterior uveitis in patients with ankylosing spondylitis treated with the anti-tumor necrosis factor agents infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum* 2005;52:2447-51.



## 2. Justificación del estudio

---



La organización mundial de la salud (OMS), define la ceguera como la situación en la que el mejor ojo alcanza una agudeza visual máxima corregida de 0,05, o un campo visual inferior a 10°, mientras que se define déficit visual severo cuando la mejor visión corregida en el mejor ojo es superior a 0,05 e inferior a 0,1.

En 2001 el número de ciegos era de 44,8 millones de personas en el mundo. Las causas más frecuentes de ceguera en los países desarrollados en adultos menores de 60 años son las degeneraciones tapetoretinianas, las enfermedades congénitas y la diabetes, cada una con el 20 % de los casos, las uveítis con el 10% , y los accidentes con el 5 % de los casos. Por otra parte en los países en desarrollo la uveítis puede representar hasta el 20 % de las causas de ceguera. En algunos trabajos se han descrito hasta un 4% de pacientes con ceguera por uveítis <sup>1</sup>.

En las uveítis la principal causa de ceguera o pérdida visual profunda es el edema macular quístico, y se han descrito complicaciones derivadas de la uveítis en más de la mitad de los pacientes, requiriendo hasta el 23 %, algún procedimiento quirúrgico. También es cierto, que en las uveítis anteriores las complicaciones severas son mucho más infrecuentes que en el resto de las uveítis.

En la mayoría de las uveítis la morbilidad ocular está relacionada con la repetición de los episodios o por el mantenimiento de la actividad inflamatoria, incluso siendo esta de bajo grado. Además la actividad inflamatoria prolongada puede producir daños a nivel de la malla trabecular con el consiguiente desarrollo de un glaucoma secundario inflamatorio de difícil control, o la producción de cataratas, e incluso puede haber un daño ocular o sistémico por la yatrogenia producida por un tratamiento prolongado <sup>2 3 4</sup>.

## **2 - JUSTIFICACION DEL ESTUDIO**

---

La uveítis es la causa más común de enfermedad inflamatoria ocular, la incidencia anual varía mucho según las poblaciones estudiadas, variando entre 8-52 personas por cada 100.000 habitantes , y tiene una prevalencia entre 1,7 y 714 casos por 100.000 habitantes<sup>5</sup>. La uveítis anterior es la forma más frecuente de uveítis aglutinando la mayoría de casos de esta enfermedad. Existen muy pocos estudios poblacionales que permitan conocer la incidencia y prevalencia de uveítis en nuestro España, en el último estudio realizado en nuestro país se confirmaba que la mayor parte de las uveítis eran anteriores y de causa idiopática, con resultados similares a los realizados en el resto de Europa, en los que el 52-64 % eran uveítis anteriores y entre 35-71 % eran de causa idiopática<sup>6</sup>.

Aunque las uveítis anteriores no infecciosas o autoinmunes se describen como procesos de origen idiopático, desconociéndose el suceso o el agente desencadenante de la inflamación , si conocemos que son el resultado de una respuesta autoinmune tras la activación sistémica de linfocitos T autorreactivos específicos y la mediación de diferentes citoquinas como las interleuquinas, el factor de necrosis tumoral, el interferon y algunos factores de crecimiento, habiéndose encontrado todas estas moléculas en pacientes con uveítis, tanto a nivel ocular como en sangre periférica<sup>7</sup>.

Los factores de crecimiento no comparten todas las acciones, pero sí interactúan entre sí para fomentar determinadas acciones como por ejemplo diferentes procesos de cicatrización o proliferación celular<sup>8</sup>. Son muchos los trabajos que avalan que los factores de crecimiento presentes en humor acuoso son responsables del perfecto funcionamiento del microambiente del polo anterior ocular, y también es conocido que a su vez estos factores son responsables, al menos en parte, de algunos procesos patológicos, como lo atestigua el hecho de que la composición de estos factores de

crecimiento presentes en humor acuoso varíe significativamente en distintos procesos inflamatorios o en patologías como el glaucoma <sup>9 10</sup>. Las citoquinas proinflamatorias juegan un papel crítico en la iniciación y la propagación de numerosas enfermedades autoinmunes originadas por una disregulación de la respuesta autoinmune. Todas estas citoquinas interfieren activamente entre los mediadores celulares, inmunológicos y bioquímicos a muchos niveles. Parece que la regulación de esta actividad proinflamatoria puede estar mediada por citoquinas antiinflamatorias e inmunosupresoras como la IL4,IL-10 o el TGF- $\beta$  <sup>11</sup>

Los factores de crecimiento son elementos reguladores clave de la función corneal normal y en la cicatrización de las heridas, aunque también algunas formas son responsables de diversas patologías <sup>12</sup>. También es conocida la capacidad del suero autólogo, rico en plaquetas y en diversos factores de crecimiento para el tratamiento de úlceras corneales refractarias <sup>13</sup>. Por otra parte muchos de los avances en córneas artificiales se basan en la utilización de factores de crecimiento para su integración y también se han utilizado factores de crecimiento como el EGF tópico, para promover la proliferación y migración de células epiteliales sobre la superficie de polímeros corneales, e igualmente ha sido demostrada su capacidad para acelerar el cierre de las heridas corneales traumáticas <sup>14 15</sup>.

Se ha intentado relacionar a determinados factores de crecimiento celular con numerosos procesos patológicos del polo anterior ocular, al haberse encontrado elevados en distintas circunstancias, y al conocerse su participación en muchos procesos patológicos en esta área, ya sea de forma directa o promocionando a otras proteínas implicadas en procesos inflamatorios y de reparación, también se ha propuesto que el control de estos factores podría modificar un determinado suceso patológico, como por

## **2 - JUSTIFICACION DEL ESTUDIO**

---

ejemplo sería el intentar inhibir TGF- $\beta$ , como una parte de la estrategia terapéutica en el tratamiento del glaucoma, o el bloqueo del VEGF, para prevenir la neovascularización.

La TPO, aparte de ser el principal regulador de la proliferación y maduración de los megacariocitos y de la producción de plaquetas, también es un regulador positivo multifuncional en la hematopoyesis <sup>16</sup>, y probablemente en otros procesos, como por ejemplo la vasculogénesis, demostrándose su estrecha relación con el VEGF <sup>17</sup>.

Distintos trabajos indican que la expresión del gen de TPO, se incrementa de forma importante durante los procesos inflamatorios, lo que nos puede llevar a pensar que se comporta como una proteína de fase aguda. Se han encontrado correlaciones positivas entre la TPO y la PCR sin que parezca influir el número de plaquetas, por lo que la TPO actuaría como una proteína de fase aguda, y además parece íntimamente relacionada con la acción de la IL6, en procesos inflamatorios. En este sentido también conocemos que su síntesis puede ser inducida por la IL-6 en hígado, a la vez la IL-6 estimularía la trombopoyesis mediante la acción de la TPO, y que en determinados procesos inflamatorios, la trombocitosis reactiva existente esta mediada por la IL-6 a través de la acción de la TPO<sup>18 19 20</sup>.

La TPO ha sido relacionado en numerosos estudios con determinados procesos inflamatorios e inmunoalérgicos, en los que podría jugar un importante papel regulador <sup>21 22</sup>. Se ha comunicado por ejemplo su función reguladora en la diferenciación de los mastocitos, y el aumento de TPO en pacientes con asma alérgica, lo que también nos sugiere la posibilidad de su participación en procesos inmunoalérgicos <sup>23 24</sup>. También es conocida la importancia de las plaquetas como destacados agentes en la defensa de la infección y en la inducción de la inflamación y reparación de tejidos, y se ha

documentado la elevación de IL-6 y TPO en el plasma de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, así como en pacientes con artritis reumatoide <sup>25 26 27 28</sup>.

Por otra parte en otros estudios se ha relacionado con los cambios inflamatorios que suceden en algunas infecciones del sistema nervioso central (SNC), sugiriendo una actividad proapoptótica, así como una distinta regulación de su producción en SNC a la que sucede en el hígado, órgano donde esta se produce en mayor medida<sup>29</sup>.

La integridad ocular depende del adecuado balance entre proliferación, diferenciación, motilidad y apoptosis celular. Los distintos tejidos oculares, y entre ellos el humor acuoso, contienen y producen una gran variedad de factores de crecimiento, que pueden regular muchas funciones celulares y determinar un papel decisivo en el mantenimiento de la actividad ocular normal.

Entendiendo la producción y la función de los factores de crecimiento en los tejidos oculares mejorará el conocimiento del mantenimiento de los tejidos, y la modulación de los procesos inflamatorios, donde los factores de crecimiento juegan un papel significativo dirigiendo el comportamiento celular y finalmente conseguir regímenes terapéuticos más efectivos.

Sobre las uveítis en concreto no se sabe demasiado sobre la posible relación con los factores de crecimiento, aunque si sabemos algunos hechos, como por ejemplo que determinadas citoquinas podrían influir sobre la evolución de la enfermedad, ya que hay una elevación sérica de algunas citoquinas como IL6 e IL 8. En concreto la elevación de la IL 8 podría sugerir un mecanismo inmune innato en la enfermedad aguda, mientras que la IL 6 participaría en la modulación de la inflamación en la enfermedad crónica <sup>30 31</sup>. Por otra parte también sabemos que se utilizan con gran eficacia para el tratamiento de algunas uveítis, terapias biológicas basadas en fármacos que bloquean

## **2 - JUSTIFICACION DEL ESTUDIO**

---

determinadas citoquinas y factores del crecimiento <sup>32</sup>. Es conocida además la relación entre la elevación del factor de crecimiento VEGF y el edema macular, y también se conoce la relación entre la elevación del factor de crecimiento PEDF y el nivel antioxidante protector en la inflamación <sup>33</sup>. Sin embargo se desconocen cuestiones determinantes como son los niveles de la mayoría de los principales factores de crecimiento, si presentan alguna correlación entre ellos, si existe algún patrón específico de alteración para cada determinado tipo de uveítis, o si se puede definir alguna relación entre el nivel de los factores en humor acuoso y los parámetros clínicos. Es de esperar que un desequilibrio de los factores de crecimiento pueda aumentar el riesgo de desarrollar una uveítis.

Actualmente se dispone de nuevas moléculas sintéticas que mimetizan el efecto de TPO, como por ejemplo el Romiplostim y el Eltrombopag.

Hechos, como el conocimiento del papel que juega la apoptosis en la resolución de las uveítis, y el conocimiento de la participación de la TPO en los procesos proapoptóticos de órganos como el SNC, donde además se ha demostrado una regulación de la producción de TPO, distinta a la hepática habitual ya conocida; nos llevan a pensar además en una posibilidad terapéutica a medio plazo en el tratamiento de las uveítis. Todo ello si se confirmara la hipótesis de que la elevación significativa obtenida de los niveles de TPO en nuestros pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa frente al grupo control, sería una consecuencia del proceso reparador de la uveítis y no una causa <sup>34 35 36 37</sup>.

### BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Resnikoff S et al. Global data on visual impairment in the year 2002. Bulletin of the World Health Organization, 2004, 82:844–51.
- <sup>2</sup> Simons K, Visual acuity and the functional definition of blindness. In: Tasman W, Jaeger E, eds. Duane's clinical ophthalmology. Philadelphia JB: Lippincott;1990
- <sup>3</sup> The World Health Report. Data on visual inpairment. Prevention of blindness. <http://www.who.int/pdb/pbl/data.htm#definitions>.
- <sup>4</sup> Rothova A, Suttorp-Van Schulten MS, Treffers WF, et al. Causes and frecueny of blindness in patients with intraocular inflammatory disease. Br J Ophthalmol 1996;80:332-36.
- <sup>5</sup> Gritz DC, Wong IG, Incidence and prevalence of uveitis in Nothern California. The Nothern California Epidemiology of Uveitis study. Ophthalmology 2004; 111:491-500.
- <sup>6</sup> Bañares A, Jover JA, Fernández B, et al. Patterns of uveitis as a guide in making rheumathologic and immunologic diagnosis. Arthritis Rheum 1997;40:358-70.
- <sup>7</sup> Welge-Lussen U, May CA, et al. Role of tissue growth factors in acqueous humor homeostasis. Curr Opin Ophthalmol 2001;12(2):94-9.
- <sup>8</sup> Jones SM, Kazlauskas A. Connecting signaling and cell cycle progression in growth factor-stimulated cells. Oncogene 19(49):5558-67.
- <sup>9</sup> Yanai RN, Yamada N, et al. Mitogenic and antiapoptotic effects of various growth factors on human corneal fibroblasts. Invest Ophthalmol Vis Sci 43(7): 2122-6.
- <sup>10</sup> Salom D, Diaz-Llopis, M, García-Delpech S, Udaondo P, Sancho-Tello M, Romero J. Aqueous humor levels of vascular endotelial Growth factor in retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci.

## **2 - JUSTIFICACION DEL ESTUDIO**

---

- <sup>11</sup> Kim EY, Moudgil KD. Regulation of autoimmune inflammation by pro-inflammatory cytokines *Immunol Lett.* 2008 Oct 30;120(1-2):1-5.
- <sup>12</sup> Trinkaus-Randall V. Cornea. *Principles of Tissue Engineering.* Lanza RP, Langer R and Vacanti J. San Diego: Academic Press, 2000; 471-491.
- <sup>13</sup> Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; suppl 2: 203-10
- <sup>14</sup> Trinkaus-Randall V, Nugant MA. Biological response to a synthetic cornea. *J Control release* 1998; 53:205-14.
- <sup>15</sup> Pastor JC, Calonge M. Epidermal growth factor and corneal wound healing. A multicenter study. *Cornea* 1992; 11: 311-314.
- <sup>16</sup> Migliaccio AR. Role of Thrombopoietin in Mast Cell Differentiation. *Ann N Y Acad Sci* 2007.
- <sup>17</sup> Eguchi M, Masuda H, Kwon S, et al . Lesion-targeted thrombopoietin potentiates vasculogenesis by enhancing motility and enlivenment of transplanted endothelial progenitor cells via activation of Akt/mTOR/p70s6kinase signaling pathway. *J Mol Cell cardiol* 2008; 45:661-9
- <sup>18</sup> Ceresa IF, Noris P, Ambaglio C, et al. Thrombopoietin is not uniquely responsible of thrombocytosis in inflammatory disorders. *Platelets* 2007;18:579-582.
- <sup>19</sup> Custodi P, Duranti M, et al. Circulating thrombopoietin in reactive conditions behaves like an acute phase reactant 1999;21(4):271-5
- <sup>20</sup> Kaser A, Brandacher G, Steurer W, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis though thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood* 2001;98:2720-5.
- <sup>21</sup> Kaushansky K. Thrombopoietin and the hematopoietic stem cell. *Ann NY Acad Sci* 2005;1044:139-141.

- <sup>22</sup> Burmester H, Wolber EM, Freitag P. Thrombopoietin production in wild-type and interleukin-6 knockout mice with acute inflammation. *J Interferon Cytokine Res* 2005; 25(7):407-13.
- <sup>23</sup> Kemon-Chetnik I, Bodzenta-Lukaszyk A, Butkiewicz A, et al. Thrombocytopoiesis in allergic asthma. *Pol Arch Med* 2007;117:9-13.
- <sup>24</sup> Wolber EM, Fandrey J, Frackowski V, Jelkmann W. Hepatic thrombopoietin mRNA is increased in acute inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86:1421-4.
- <sup>25</sup> Klinger MH, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res* 2007;22:913-22.
- <sup>26</sup> Heits F, Stahl M, Ludwig D, et al. Elevated serum thrombopoietin and interleukin-6 concentrations in thrombocytosis associated with inflammatory bowel disease. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:757-60.
- <sup>27</sup> Ertenli I, Kiraz S, Oztürk MA, et al. Pathologic thrombopoiesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2003; 23:49-50
- <sup>28</sup> Ishiguro A, Suzuki Y, Mito M, et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in acute infections. *Br J Haematol*. 2002 Mar;116(3):612-8.
- <sup>29</sup> Reinhol A, Zhang J, Gessner R, et al. High thrombopoietin concentration in the cerebrospinal fluid of neonate with sepsis and intraventricular hemorrhage may contribute to brain damage. *J Interferon Cytokine Res* 2007; 27:137-145
- <sup>30</sup> Kramer M, Monselise Y, Bahar I, et al. Serum cytokine levels in active uveitis and remission. *Curr Eye Res*. 2007 Jul-Aug;32(7-8):669-75
- <sup>31</sup> Menezo V, Bond SK, Towler HM, et al. Cytokine gene polymorphisms involved in chronicity and complications of anterior uveitis. *Cytokine*. 2006;35(3-4):200-6.
- <sup>32</sup> Jap A, Chee SP. Immunosuppressive therapy for ocular diseases. *Curr Opin Ophthalmol*. 2008 Nov;19(6):535-40.

## **2 - JUSTIFICACION DEL ESTUDIO**

---

<sup>33</sup> Franchini A, Malagoli D, Ottawiani E. Cytokines and Invertebrates: TGF- B and PDGF. *Current Pharmaceutical Design* 2006; 12: 3025-31

<sup>34</sup> Wadhwa M, Thorpe R. Haematopoietic growth factors and their therapeutic use. *Thromb Haemost* 2008;99:863-73.

<sup>35</sup> Kuter DJ. Thrombopoietin and thrombopoitin mimetics in the treatment of thrombocytopenia. *Annu Rev Public Health* 2008.

<sup>36</sup> Fukushima-Shintani M, Suzuki KI, Iwatsuki Y, et al. AKR-501 (YM477) a novel orally-active thrombopoietin receptor agonist. *Eur J Haematol*. 2009 Jan 16

<sup>37</sup> Erickson-Miller CL, Delorme E, Tian SS, et al. Preclinical Activity of Eltrombopag (SB-497115), an Oral, Non-peptide Thrombopoietin Receptor Agonist.

*Stem Cells*. 2008 Nov 26

# 3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

---



### 3.1 Hipótesis del estudio

Es muy probable que los factores de crecimiento celular estén implicados de alguna forma en la fisiopatología de las uveítis, ya sea en la patogenia, en el proceso inflamatorio o más bien en los procesos de reparación y recuperación de la homeostasis tisular.

Se plantea la posibilidad de conocer si existe en el humor acuoso de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa, un aumento de los niveles del factor de crecimiento celular TPO, frente a los niveles obtenidos en los mismos pacientes en sangre.

La confirmación de este hallazgo contribuiría a confirmar la hipótesis de que el perfil de factores de crecimiento en este tipo de uveítis podría ser una consecuencia con fines reparadores y de recuperación de la homeostasis tisular en las uveítis.

### 3.2 Objetivos del estudio

#### 3.2.1 Objetivos principales

El objetivo principal del estudio es comparar entre los niveles de TPO en humor acuoso y los de suero, en pacientes con uveítis anteriores agudas no infecciosas, determinando si existen diferencias estadísticamente significativas

#### 3.2.2 Objetivos secundarios

1. Intentar obtener evidencias de una posible implicación de TPO en la patogenia de la enfermedad, y las posibles implicaciones diagnósticas o terapéuticas que esto podría acarrear en un futuro.
2. Intentar obtener evidencias de una posible producción local de TPO, a nivel uveal.



# 4. Materiales y método

---



### 4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño del trabajo es un estudio de casos y controles, prospectivo, observacional, comparativo, controlado, no aleatorizado y monocéntrico, que investiga los niveles de TPO en humor acuoso y en suero de 16 pacientes con uveítis anteriores no infecciosas, remitidos a la Unidad de Uveítis del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario La Fe de Valencia, centro de referencia en el estudio y tratamiento de esta patología, con un área poblacional de 805.000 habitantes.

Los controles se obtuvieron del humor acuoso y del suero de otros 16 pacientes que iban a ser intervenidos de cataratas, que cumplían los criterios de inclusión y exclusión, además de no tener antecedentes de patología inflamatoria intraocular, enfermedad sistémica, ni que estuvieran sometidos a tratamiento farmacológico general.

El protocolo de estudio cumplía los requisitos de la Declaración de Helsinki, y fue revisado y aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital Universitario La Fe de Valencia. Se obtuvo un consentimiento informado de cada paciente, que especificaba el motivo del estudio. Apéndice 2.

### 4.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES

Los criterios de inclusión y exclusión de los pacientes a incluir en el estudio fueron los siguientes:

#### **Criterios de inclusión:**

1. Padecer una uveítis anterior aguda clásica, excluyendo las hipertensivas y las granulomatosas.

2. Pacientes no tratados, en un primer episodio de uveítis anterior clásica, dentro de los primeros 2-7 días de inicio de los síntomas.
3. Cumplir un criterio mínimo de inflamación ocular (grado de celularidad) catalogado como moderado a grave (grados 2 a 4) según criterios de la *International Ocular Inflammation Society* y de la *Standardization Uveitis Nomenclature*. Tabla 5

### **Criterios de exclusión:**

1. Cualquier uveítis hipertensiva o granulomatosa.
2. Entidades clínicas definidas como la *Heterocromia de Fuchs* o el *Síndrome de Posner-Schlossman*, o uveítis con positividad para la familia herpesvirus o toxoplasma en el análisis por polymerase chain reaction (PCR) de la muestra tomada de humor acuoso.
3. Cirugía ocular previa en los seis meses anteriores a la muestra.
4. Pacientes con serología positiva para HIV, lúes o sarcoidosis (este último mediante detección de ECA).
5. Edema macular quístico, mediante técnica de *optical coherence tomography* (OCT).
6. Pacientes con historia clínica previa de enfermedad sistémica asociada como tuberculosis, artropatías, enfermedad granulomatosa intestinal, sarcoidosis y escleritis múltiple, mediante anamnesis o exploración clínico-radiológica, o prueba de HLA B27.

Los **criterios selección de los pacientes** del grupo control fueron los siguientes:

1. Presentar cataratas que precisen una intervención quirúrgica

2. No presentar ninguna otra patología ocular o sistémica
3. Emparejamiento por la edad con al menos un paciente del grupo con uveítis anterior aguda ( $\pm$  10 años)

### 4.3. EXPLORACIÓN CLÍNICA DE LOS PACIENTES

#### 4.3.1 Anamnesis.

Se realizó una anamnesis que incluía:

- Edad al diagnóstico y tiempo de evolución de la enfermedad
- Tratamiento al que está sometido el paciente.
- Hábitos tóxicos
- Antecedentes personales y tratamientos asociados.
- Antecedentes familiares
- Anamnesis dirigida para uveítis

Se investigó mediante anamnesis completa que incluyó una revisión de los diferentes sistemas orgánicos, y para ello se utilizó una adaptación del cuestionario clínico propuesto por Foster y Vitale (Foster, Saunders 2002), encaminado a descartar entidades clínicas definidas. Anexo 1

#### 4.3.2 Exploración Oftalmológica.

Se realizó a todos los pacientes una exploración oftalmológica completa en ambos ojos, según protocolos estandarizados, incluyendo:

- Agudeza visual, mediante optotipos EDTRS

- Exploración mediante bimiocropía con lámpara de hendidura en busca de los signos clínicos de la enfermedad como son miosis, precipitados queráticos endoteliales, presencia de células, turbidez (flare), fibrina e hipopion en cámara anterior, dispersión de pigmento o la aparición de nódulos iridianos, las sinequias anteriores y posteriores o una queratopatía en banda en las uveítis de larga evolución. El método específico que se utilizó para cuantificar la intensidad de la reacción inflamatoria en cámara anterior fue la cuantificación de las células y el Tyndall proteico, que se realiza mediante el recuento del número de células presentes bajo gran aumento en lámpara de hendidura en un área de 1x1 mm con un ángulo de luz de 45°-60°, según criterios del *Standardization of Uveítis Nomenclature Working Group*. Tablas 5 y 6
- Tonometría ocular, mediante tonómetro de aplanación de Goldmann,
- estimada en milímetros de mercurio (mmHg).
- Oftalmoscopía. La dilatación pupilar se realizó mediante la instilación de
- colirios de Tropicamida y Fenilefrina, en dos dosis, con intervalos entre ellas de 10 minutos y exploración a los 30 minutos tras la primera dosis. La valoración del fondo de ojo se llevó a cabo con lámpara de hendidura y lente de 78 Dioptrías.

### 4.3.3 Pruebas de laboratorio.

- Prueba de la PCR. Se realizó la prueba de *polymerase chain reaction* (PCR), a las muestras de humor acuoso con objeto de descartar uveítis con positividad para la familia herpesvirus o toxoplasma. La PCR es una técnica que permite la amplificación del ADN a partir de pequeñas cantidades del

material. La PCR ha sido empleada en el diagnóstico de uveítis viral, viral endoftalmitis y enfermedad ocular parasitaria. El proceso requiere ADN de un organismo que es presumiblemente patógeno o genes objetivo del huésped. Los iniciadores o *primers* (hebras cortas de ADN que marcan la sección del ADN objetivo que va a ser copiada) son empleadas con una enzima polimerasa (que cataliza la replicación de los genes) para crear numerosas copias del gen objeto de sospecha, de manera que se genere suficiente material como para ser visualizado en un gel de electroforesis. De esta la PCR es una herramienta muy sensible, que puede ser utilizada para identificar la presencia de organismos que no pueden ser ni observados directamente ni cultivados fácilmente, como el CMV, virus del herpes zoster y herpes simplex, virus de Epstein-Barr, y algunas bacterias como *Mycobacterium spp*, *Borrelia burgorferi*, o parásitos como *Toxoplasma gondii* <sup>1</sup>.

- Serología. Se realizó serología de los pacientes con objeto de descartar positividad para enfermedades como el VIH y lúes
- Bioquímica. Se realizó una bioquímica básica y una detección de ECA a los pacientes con objeto de descartar sarcoidosis.

### 4.3.4 Tomografía de Coherencia Óptica

La **Tomografía de Coherencia Óptica** OCT es un método empleado para lograr la visualización de alta resolución del tejido en cortes transversos. Es una manera no invasiva de evaluar el espesor retiniano. Está basada en la interferometría de baja coherencia y nos permite valorar mediante imágenes bi y tridimensionales las diferentes capas histológicas retinianas y su grosor, así como valorar el espesor, el volumen medio y el perfil macular. Ilustración 26

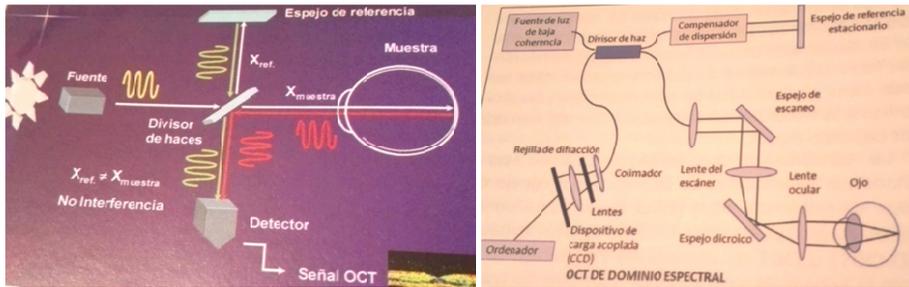


Ilustración 26. Interferometría de Michelson (izquierda).

Funcionamiento técnico OCT (derecha).

El edema macular cistoideo es una de las complicaciones potenciales de una inflamación intraocular de larga evolución, que lleva a pérdida visual, se ha descrito una mayor correlación entre el espesor retiniano en OCT y la agudeza visual que con la angiografía con fluoresceína, especialmente en uveítis<sup>2</sup>. Se realizó una OCT centrado en mácula, para descartar la presencia de edema macular asociado a la uveítis<sup>3</sup>.

Ilustración 27

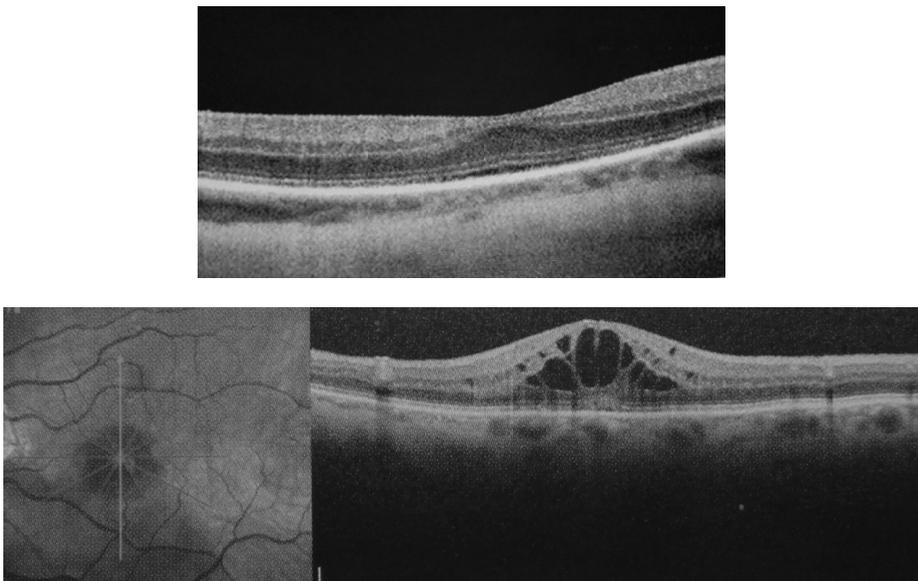


Ilustración 27. OCT macular normal (arriba). OCT macular con edema macular en paciente con uveítis anterior aguda no infecciosa (abajo).

### 4.4 OBTENCIÓN Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Los pacientes fueron sometidos a extracción de humor acuoso, previa profilaxis pre y post-extracción. La profilaxis consistió en la aplicación tópica conjuntival de colirio de ofloxacina durante 3 días antes y tres días después de la paracentesis. Inmediatamente antes y después de la extracción se aplicó povidona yodada en saco conjuntival en dilución oftálmica del 50%. La paracentesis para la extracción de la muestra se realizó con aguja de 30 G, en lámpara de hendidura y en consulta. Los tamaños muestrales eran al menos de 0,05-0,2 ml de humor acuoso, y se depositaron en tubos estériles de Eppendorf, en dos alícuotas diferentes de 0,1 ml, para ser congeladas a  $-80^{\circ}$  C, una para su posterior procesado de factores de crecimiento y la otra para realizar las pruebas de PCR rutinarias para descartar procesos infecciosos intraoculares. Las muestras se etiquetaron y clasificaron de forma enmascarada con respecto al grupo al que pertenecían.

En el grupo control, pacientes que iban a ser sometidos a cirugía de cataratas, se realizaría de igual forma la extracción de humor acuoso y suero, esta vez en quirófano, en el momento previo a la cirugía.

Las muestras de suero se obtuvieron mediante extracción estándar de sangre periférica, tanto en pacientes con uveítis como en los controles.

La determinación cuantitativa de la concentración de las proteínas en suero y humor acuoso se realizó mediante la técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), comercializada por *Searchlights Human Angiogenesis Array*<sup>®</sup> (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, USA).

La técnica utilizada es altamente específica para la cuantificación entre otros de citoquinas en solución. Cuando se añade el sustrato se produce una reacción de color que se desarrollara de forma proporcional a la cantidad de citoquina unida. La concentración de citoquinas se determina por comparación con las curvas estándar de concentraciones conocidas de la citoquina. La sensibilidad del test depende principalmente de la afinidad de los anticuerpos y de la amplificación del sistema usado. El test de ELISA es capaz de detectar picogramos/ml.

### **Descripción de la técnica de ELISA:**

El procedimiento de ELISA (acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*: ‘ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas’) es un test de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, que se puede detectar generalmente por un cambio de coloración. En definitiva un anticuerpo primario que reconoce al antígeno y que a su vez es reconocido por un anticuerpo secundario que lleva enlazado la enzima anteriormente mencionada. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra.

Se usa en muchos laboratorios para determinar si un anticuerpo particular está presente en la muestra de sangre de un paciente. Aunque el procedimiento es rutinario y sencillo, involucra a un gran número de variables, tales como selección de reactivo, temperatura, medición de volumen y tiempo, que si no se ajustan correctamente, puede afectar los pasos sucesivos y el resultado de la prueba.

Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto y simple en su realización, mediante el uso de la fase sólida, una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre.

Además se han propuesto y desarrollado diferentes métodos de amplificación de la señal (luminiscentes, cascadas enzimáticas...) que han permitido elevar la sensibilidad de algunos ELISA a la obtenida en el RIA (radioinmunoensayo) hormonal. Ilustración 28

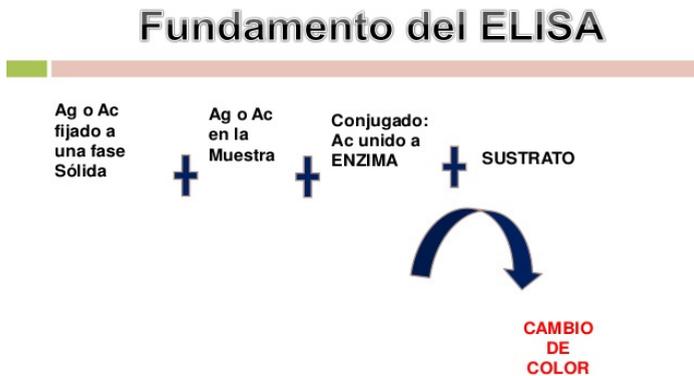


Ilustración 28. Fundamento de la técnica de ELISA

Este método ha tenido una enorme aplicación en todos aquellos campos en los que se precisaba la cuantificación de productos mediante anticuerpos: diagnóstico clínico, detección viral, clasificación de anticuerpos en isotipos, búsqueda de anticuerpos monoclonales, etc.

En cuanto a los dispositivos empleados en la técnica de ELISA, se han ensayado numerosas fases sólidas, desde los tubos de cristal de los orígenes hasta las actuales microplacas de 96 pocillos de plástico tratado, para aumentar su capacidad de adsorción

#### 4 – MATERIALES Y METODO

---

(en su superficie) de moléculas, y con fondos de pocillo ópticamente claros que permitan realizar las medidas de densidad óptica en instrumentos específicos, espectrofotómetros de lectura de placas que han recibido el nombre de lectores ELISA. Actualmente se están desarrollando dispositivos de mayor capacidad —por ejemplo, con 384 y 1536 pocillos—, adecuados para los sistemas *descreening* masivo de los sistemas robotizados (HTS, *High-throughput system*).

La técnica está basada en los lectores ELISA que son espectrofotómetros capaces de realizar lecturas seriadas de cada uno de los pocillos de la placa ELISA. A diferencia de un espectrofotómetro convencional, con capacidad de leer todas las longitudes de onda del ultravioleta y el visible de manera continua, los lectores de ELISA disponen de sistemas de filtros que solo permiten la lectura de una o pocas longitudes de onda; son la que se corresponden con las necesarias para determinar la densidad óptica de los cromógenos más comúnmente utilizados.

Las cuatro fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

1. Conjugación del anticuerpo o del antígeno con una enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina...). El anticuerpo conjugado a la enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, sandwich, etc. El antígeno marcado se emplea en ensayos de competición de antígeno. Dicha unión anticuerpo-enzima o antígeno-enzima ha de producirse durante un determinado período de tiempo en aras de producir una solución coloreada y que pueda ser valorada visualmente o cuantificada por medio de un espectrofotómetro (normalmente a una longitud de onda de 414 nm). Si no transcurre el tiempo adecuado para que se dé la

reacción, no se evidenciará ningún color, interpretándose este resultado como un falso negativo y disminuyendo la sensibilidad de la técnica.

2. Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos. La unión de anticuerpos o antígenos se realiza con facilidad a la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas. Así, el procedimiento de recubrimiento de los pocillos debe realizarse cuidadosamente. Si se usa mucho antígeno, se pueden obtener falsos positivos. Por el contrario, si se usa poco antígeno, el exceso dará lugar a una reacción falsa negativa.
3. Formación de una o más capas de inmunocomplejos. En el caso del antígeno unido a la placa, se puede detectar mediante un anticuerpo anti-antígeno marcado (ELISA directo) o empleando un anticuerpo primario anti-antígeno y un secundario anti-primario marcado (ELISA indirecto). Este segundo método permite la amplificación de la señal al poderse unir uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario. En el caso del anticuerpo unido a la placa, se incuba con una mezcla de antígeno y antígeno marcado. Se ensayan diferentes relaciones de antígeno frío frente a una cantidad fija de antígeno marcado. Es el ensayo de competición del antígeno. En esta etapa es muy importante controlar los factores tiempo y temperatura de incubación para evitar la aparición de falsos negativos. En el caso del tiempo, si es inferior a 15 minutos, no ocurrirá la interacción antígeno-anticuerpo y el color no será evidente al final del ensayo, dando un falso negativo. Por su parte, si la temperatura de incubación es muy baja, la formación del complejo antígeno-anticuerpo tampoco se completará en el tiempo establecido, mientras que si es muy alta, las proteínas (antígeno y anticuerpo) se desnaturalizan y, por tanto, disminuyen su capacidad para interactuar, dando igualmente falsos negativos.

4. Revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos, se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee la densidad óptica mediante espectrofotometría. Ilustración 29

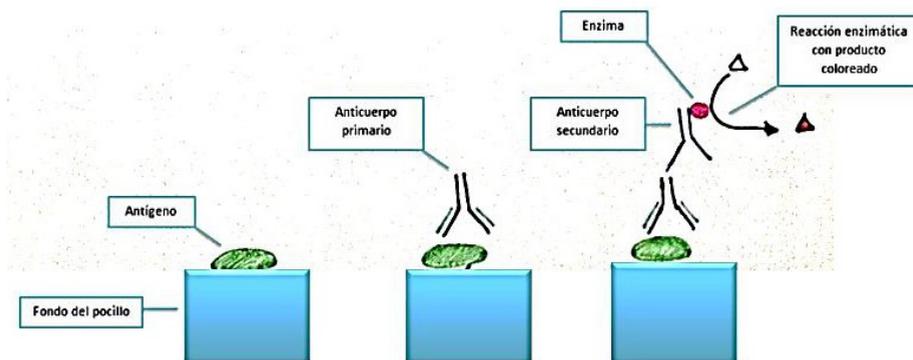


Ilustración 29. Pasos de la técnica de ELISA

Se han desarrollado múltiples variantes de ensayos ELISA que permiten la cuantificación de un antígeno en solución, la detección de un anticuerpo en una solución (por ejemplo en el clonaje de anticuerpos monoclonales) o la determinación de la subclase (idiotipo) de un anticuerpo. Las técnicas de ELISA más utilizadas son:

- ELISA directo (ensayo ELISA simple de dos capas). Las placas ELISA se preparan recubriendo los pocillos con las soluciones en las que se sospecha se encuentra el antígeno. Se incuban con anticuerpos marcados. Indican la presencia de antígeno en la solución analizada. Es necesario incluir controles negativos que serán muestras del mismo tipo que las analizadas (sangre, orina...), pero en las que se tenga la

certeza de la ausencia del antígeno buscado. Asimismo se incluyen controles positivos (soluciones donde se encuentra el antígeno buscado).

- ELISA indirecto. Las placas ELISA se preparan de la misma forma a la anterior. Los controles positivos y negativos son los mismos. El sistema de detección emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno y uno secundario marcado contra el primario. La detección tiene mayor sensibilidad por presentar una amplificación de señal debida a la unión de dos o más anticuerpos secundarios por cada primario. Es el ensayo más popular, como lo es la inmunofluorescencia indirecta, pues un mismo secundario marcado y un mismo sistema enzimático permiten cuantificar una gran variedad de antígenos; por eso es un método más polivalente y barato, aunque se pierda algo de precisión por tener un eslabón más con respecto al método directo. La dilución de la solución que contiene el anticuerpo primario —por ejemplo, suero sanguíneo— es un factor muy importante a tener en cuenta para evitar la aparición de falsos negativos, ya que si la muestra está muy diluida, no saldrá positiva si la titulación de anticuerpos es muy baja. (Es decir, aunque los anticuerpos están presentes, la prueba no da positivo porque la concentración de anticuerpos específicos contra el antígeno que está pegado en el fondo del pocillo no es suficiente como para dar una señal detectable.). El ELISA indirecto es el método de elección para detectar la presencia de anticuerpos séricos contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), agente causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Según esta técnica, proteínas recombinantes de la envoltura y el núcleo del VIH se absorben como antígenos en fase sólida a los pocillos. Las personas afectadas de VIH producen anticuerpos séricos contra epítomos en estas proteínas víricas. En general, el ELISA indirecto permite detectar anticuepos séricos contra VIH desde las primeras seis semanas de una infección.

#### 4 – MATERIALES Y METODO

---

- ELISA «sándwich» (Ensayo de captura de antígeno y detección mediante inmunocomplejos). Se trata de un ensayo muy empleado en el que se recubre el pocillo con un primer anticuerpo anti-antígeno. Después de lavar el exceso de anticuerpo, se aplica la muestra problema en la que se encuentra el antígeno, que será retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo. Después de un segundo lavado que elimina el material no retenido, se aplica una solución con un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado. Así, pues, cada molécula de antígeno estará unida a un anticuerpo en la base que lo retiene y un segundo anticuerpo, al menos, que lo marca. Este ensayo tiene una gran especificidad y sensibilidad debido a la amplificación de señal que permite el segundo anticuerpo.

La **Quimiluminiscencia**, se base en que durante determinadas reacciones químicas, la luz generada por este fenómeno constituye una alternativa conveniente y muy sensible para las mediciones de absorbancia en ELISA. Los tipos de ELISA que recurren a la quimioluminiscencia utilizan un sustrato que genera luz, en lugar del sustrato cromógeno de las reacciones ELISA ordinarias. Tales son los casos de la oxidación del compuesto luminol por peróxido de hidrógeno y la enzima peroxidasa de rábano (HRP), que producen luz. La luz que se genera en dichas reacciones puede detectarse gracias a su capacidad de sensibilizar una película fotográfica. La medición cuantitativa de la emisión de luz puede hacerse mediante el uso de un luminómetro. La ventaja de las pruebas de quimioluminiscencia sobre las cromógenas es la mejoría de la sensibilidad. En general, el límite de detección puede aumentarse al menos diez veces si se cambia un sustrato cromógeno por uno que emita luz, y más de doscientas veces cuando se adicionan agentes potenciadores.

Los marcadores enzimáticos más comúnmente utilizados y los los sustratos que se emplean para su revelado y el modo de prepararlos, son:

- HRPO (peroxidasa de rábano) OPD 10 mg/25 mL de tampón citrato sódico 0,15 M pH 5; añadir microL de 30 % peróxido de hidrógeno 30 %.
- TMB 2,5 mg/250 microL de DMSO; hasta 25 ml con tampón citrato sódico 0,1 M pH 6; añadir 5 microL de peróxido de hidrógeno 30 %.
- ABTS 60 mg/100 mL de tampón citrato sódico 0,1 M pH 6; añadir 35 microL de peróxido de hidrógeno 30 %; parar con fluoruro sódico 1,25 %; leer a 405 nm.
- DAB 10 mg/20 mL de tampón Tris 50 mM pH 7,4; filtrar y añadir 20 microL de peróxido de hidrógeno 1 %.
- CNP 6 mg en 1 mL de metanol; añadir 10 mL de tampón Tris 50 mM pH 7,4; filtrar y añadir 40 microL de peróxido de hidrógeno 30 %.
- AEC 80 mg en 1 mL de N,N'-dimetilformamida + 200 microL de tampón acetato 0,1 M pH 4,5; filtrar y añadir 50 microL de peróxido de hidrógeno 30 %.
- ASA 80 mg/100 mL de agua destilada caliente; ajustar a pH 6,0 con 1 mM NaOH y añadir 10 % por volumen de 0,05 % peróxido de hidrógeno; parar con 25 microL de NaOH 1 M.
- AP (fosfatasa alcalina) PNPP 5 mg/5 mL de tampón dietanolamina-HCl 0,1 M pH 9,8 + 1 mM cloruro de magnesio.
- NAPFB (A) 4 mg de fosfato de naftol en 200 microL de dimetilformamida en un tubo de vidrio (B) 10 mg de sal Fast Blue BB/10 ml de tampón Tris 0,05 M pH 9,2 - 2 mM cloruro de magnesio. Mezclar A + B y filtrar.

#### 4 – MATERIALES Y METODO

---

- NAPR (A) 4 mg de fosfato de naftol en 200 microL de dimetilformamida en un tubo de vidrio (B) 10 mg de sal Red BB/ 10 ml de tampón Tris 0,05M pH 9,2 - 2 mM cloruro de magnesio. Mezclar A + B y filtrar.
- BCIP 1 mg/mL en solución AMP (2-amino-2-metil-propanol).
- beta-G ONPG 2,5 mg/ml en tampón fosfato sódico 0,1 M pH 7,0 + 1 mM cloruro de magnesio + 0,1 M beta-mercaptoetanol.
- ureasa BP 8 mg/1,48 ml de 0,01 M NaOH; llevarlo a 100 ml con agua desionizada; añadir 100 mg de urea y EDTA a 0,2 mM; ajustar el pH a 4,8 con 1 mM NaOH o HCl; almacenar a 4 °C.
- PG IS Añadir a cada placa de ELISA 25 microL de cada uno de los reactivos siguientes en secuencia: (A) 1 % (peso/vol) gelatina en 0,1 M tampón fosfayo pH 7,0; (B) 1 % (peso/vol) almidón en agua destilada caliente; (C) 3,04 mg/mL de benzil-penicilina en 0,1 M tampón fosfato pH 7,0 (5000 U/mL); (D) 0,01 N ioduro en 0,1 M KI solución stock (en una botella oscura)

##### **Procedimiento de la técnica de ELISA en nuestro estudio.**

La determinación cuantitativa de la concentración de las proteínas en suero y humor acuoso se realizó mediante la técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), comercializada por *Searchlights Human Angiogenesis Array*<sup>®</sup> (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, USA), que contiene anticuerpos específicos para las proteínas diana TPO, estos anticuerpos se unen a las proteínas específicas que contienen las muestras y los estándares. Las proteínas que no se unieron a los anticuerpos fueron eliminadas mediante lavado. A continuación se añadió el anticuerpo biotinilado detector, el cual se une a un segundo lugar en las proteínas diana. Después de eliminar

el exceso anticuerpo biotinilado, se añadió Streptavidin-HRP Reagent. Se utilizó sustrato quimiluminiscente femto Supersignal® ELISA, la reacción entre el sustrato y el enzima HRP produce una señal luminiscente que es detectada con una cámara CCD de refrigeración. La cantidad de señal producida es proporcional a la cantidad de cada una de las proteínas diana presentes en las muestras o los estándares.

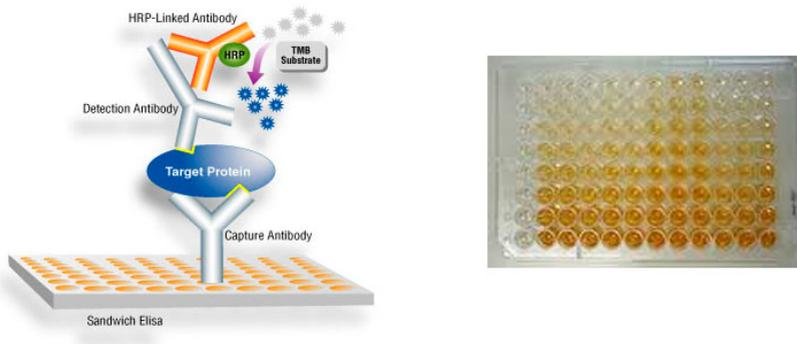


Ilustración 30. Reacción entre sustrato y enzima HRP

Para la preparación de las muestras de humor acuoso, se realizaron diluciones de 1:5 de las muestras de suero y plasma antes del proceso de ensayo. El almacenamiento se hizo a temperatura entre 2-8°C cuando se van a utilizar las muestras durante las siguientes 24 horas, pero es preciso hacerlo a -70 °C, si se prevé una utilización posterior, para el óptimo estado de éstas.

La preparación de los estándares se realizó de la siguiente manera:

Primero se reconstituyen los estándares de las dos proteínas diana, utilizando para ello el diluyente de las muestras, el volumen necesario de diluyente queda indicado en el vial de cada una de las proteínas diana. Tablas 7 y 8

#### 4 – MATERIALES Y METODO

---

Se añade 50 µl de cada estándar reconstituido al tubo marcado como estándar 1 y 1.150 µl de diluyente de muestras.

Se pipetea 300 µl del diluyente de muestras a los tubos marcados como estándar 2 al 6. Después se pipetea 100 µl del estándar 1 en el tubo estándar 2 y mezclar, posteriormente pipetea 100 µl del estándar 2 en el estándar 3 y mezclar. Este proceso se repite sucesivamente hasta el estándar 5. El tubo 6 no recibe estándar reconstituido (proteína diana), y nos sirve como valor cero.

**El procedimiento general de la técnica consiste en** añadir 50 µl de estándar y de muestra. Incubar la bandeja cubierta a temperatura ambiente (20-25°C) durante una hora agitando a 200 rpm. Lavar la bandeja tres veces. Añadir 50 µl del preparado *Biotinylated Antibody Reagent* en cada pocillo. Incubar la bandeja cubierta a temperatura ambiente (20-25°C) durante 30 minutos agitando a 200 rpm. Lavar la bandeja tres veces. Añadir 50 µl de *streptavidin-HRP Reagent* a cada pocillo. Incubar la bandeja cubierta a temperatura ambiente (20-25°C) durante 30 minutos agitando a 200 rpm. Lavar la bandeja tres veces. Preparar *SuperSignal® Substrate* y añadir 50 µl de este substrato a cada pocillo y leer en 1-10 minutos. Leer la luminiscencia usando una cámara de refrigeración CCD y calcular los resultados. Ilustración 31

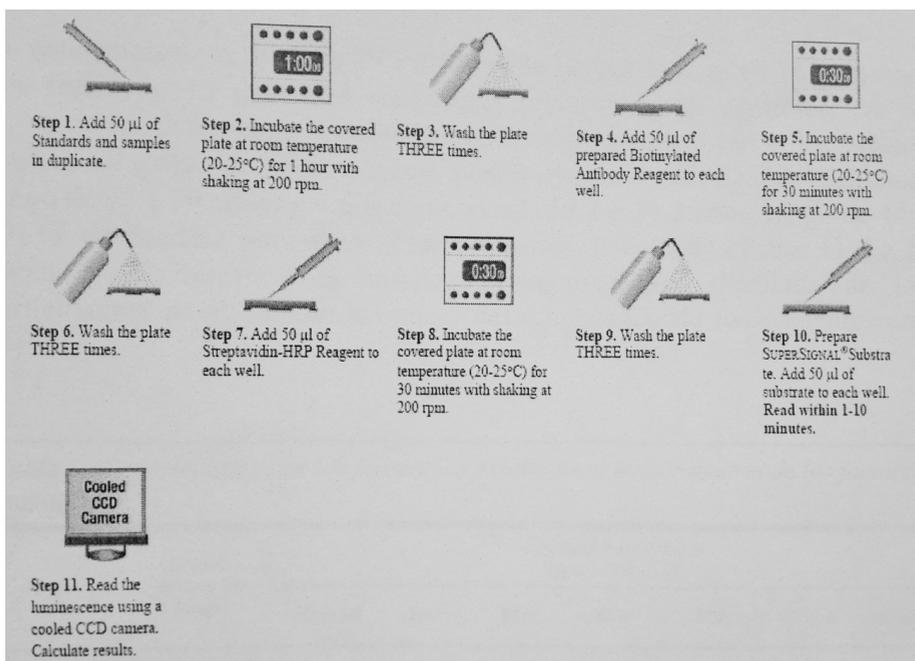


Ilustración 31. Resumen de la técnica ELISA completa

En tabla 7 y 8 aparecen respectivamente, todos los valores obtenidos de los estándares y de los rangos de las curvas y sensibilidad.

El **procedimiento de lavado** de la placa consiste en primer lugar en el vaciamiento del contenido de los pocillos en la pila, a continuación se llenan los pocillos con tampón de lavado y después se vuelca en la pila. Por último, se sacude la placa en papel absorbente. Los lavados se hacen de forma vigorosa y se deben repetir tres veces

Tabla 7. Valores de los estándares

|            | TPO pg/ml |
|------------|-----------|
| Estándar 1 | 3000      |
| Estándar 2 | 750       |
| Estándar 3 | 188       |
| Estándar 4 | 47        |
| Estándar 5 | 11,7      |
| Estándar 6 | 0         |

Tabla 8 . Rango de las curvas estándar y sensibilidad de la prueba

|              | TPO en pg/ml |
|--------------|--------------|
| Rango        | 3000-12      |
| Sensibilidad | 5,9          |

### 4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos demográficos del estudio fueron analizados usando el paquete estadístico de Windows, Versión 19.0 (IBM Corp., Armonk, NY,USA).

Los datos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar de la media

Se realizaron pruebas de normalidad de las variables. Los datos de edad se compararon estadísticamente utilizando t de Student, para datos independientes.

Para comparar los datos de los niveles de TPO de los diversos grupos, se utilizó el test de Mann-Whitney *U* para datos independientes. Aceptando  $P < 0,05$  como un valor estadísticamente significativo.

## BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Van Gelder RN. Application of the polymerase chain reaction to diagnosis of ophthalmic disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 46:248-58.
- <sup>2</sup> Hee MR, Puliafito CA, Wong C, et al. Quantitative assesment of macular edema with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 1995, 113.1019-29.
- <sup>3</sup> Antcliff RJ, Stanford MR, Chauhan DS, et al. Comparison between optical coherence tomography and fundus fluorescein angiography for the detection of cystoid macular edema in patients with uveitis. *Ophthalmology* 2000; 107:593-99.



# 5. Resultados

---



### 5.1. Datos demográficos

Se obtuvieron un total de 32 muestras de suero y de humor acuoso de 16 pacientes con uveítis (9 hombres y 7 mujeres) y de 16 pacientes sanos que sirvieron como controles (10 hombres y 6 mujeres).

Todos los pacientes eran de raza caucásica.

La edad media del grupo de pacientes con uveítis fue de 51,6 años (media  $\pm$  DE; 51,6  $\pm$  12,5 años, rango de 35 a 79 años)

La edad media del grupo control fue de 59,2 años (59,2  $\pm$  11,2 años, rango de 44 a 79 años)

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las edades medias del grupo de pacientes con uveítis y del grupo control. T de Student para datos independientes, P=0,08.

Sexo : En el grupo uveítis 9 hombres y 7 mujeres, en el grupo control 11 hombres y 6 mujeres. Tabla 9

Tabla 9. Edad y sexo de los pacientes

| Grupo                       | Edad media (años) $\pm$ DE (rango) | Sexo (Hombre/mujer) |
|-----------------------------|------------------------------------|---------------------|
| <b>Uveítis<br/>(n= 16)</b>  | 51,6 $\pm$ 12,5 (35-79)            | 9:7                 |
| <b>Control<br/>(n = 16)</b> | 59,2 $\pm$ 11,2 (44-77)            | 11:5                |
|                             | P= 0.08                            |                     |

## 5 - RESULTADOS

---

En la Tabla 10 se detallan todas las características demográficas, edad y sexo, de todos los pacientes del grupo de uveítis que intervinieron en el estudio.

Tabla 10. Resultados demográficos: edad y sexo, en pacientes con uveítis

| Nº paciente | Edad | Sexo   |
|-------------|------|--------|
| Uveítis1    | 59   | Hombre |
| Uveítis 2   | 53   | Mujer  |
| Uveítis 3   | 55   | Mujer  |
| Uveítis 4   | 40   | Hombre |
| Uveítis 5   | 70   | Hombre |
| Uveítis 6   | 47   | Hombre |
| Uveítis 7   | 45   | Mujer  |
| Uveítis 8   | 58   | Hombre |
| Uveítis 9   | 79   | Hombre |
| Uveítis 10  | 49   | Mujer  |
| Uveítis 11  | 68   | Hombre |
| Uveítis 12  | 47   | Mujer  |
| Uveítis 13  | 38   | Hombre |
| Uveítis 14  | 43   | Mujer  |
| Uveítis 15  | 35   | Hombre |
| Uveítis 16  | 40   | Mujer  |

En la Tabla 11 se detallan todas las características demográficas, edad y sexo, de todos los pacientes del grupo control.

Tabla 11. Características demográficas: edad y sexo, grupo control.

| Nº de paciente | Edad | Sexo   |
|----------------|------|--------|
| Control 1      | 50   | Hombre |
| Control 2      | 48   | Hombre |
| Control 3      | 52   | Hombre |
| Control 4      | 46   | Mujer  |
| Control 5      | 50   | Hombre |
| Control 6      | 52   | Hombre |
| Control 7      | 69   | Hombre |
| Control 8      | 75   | Mujer  |
| Control 9      | 77   | Hombre |
| Control 10     | 55   | Hombre |
| Control 11     | 44   | Mujer  |
| Control 12     | 55   | Mujer  |
| Control 13     | 71   | Mujer  |
| Control 14     | 64   | Hombre |
| Control 15     | 70   | Hombre |
| Control 16     | 70   | Hombre |

A continuación se detallan los resultados de las pruebas estadísticas de Normalidad.

Tabla 12

Tabla 12. Estadística. Comparativa edad entre grupos. Pruebas Normalidad

| Pruebas de Normalidad                |   |         |   |
|--------------------------------------|---|---------|---|
| Serie #1 ( Edad Uveitis)             |   |         |   |
| Tamaño muestral                      | 16 Media 51,625                               |         |   |
| Desviación Típica                    | 12,55322 Mediana 0,                           |         |   |
| Sesgamiento                          | 0,70991 Kurtosis 2,60027                      |         |   |
| Sesgamiento Alterno (de Fisher)      | 0,78556 Kurtosis Alterna (de Fisher) -0,06555 |         |   |
| Prueba                               | Estadísticas de la Prueba                     | nivel p | Conclusión: (5%)                          |
| Test de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor | 0,09093                                       | 0,97685 | Evidencia nula en contra de la normalidad |
| W de Shapiro-Wilk                    | 0,93802                                       | 0,32544 |   |
| D'Agostino Sesgamiento               | 1,42016                                       | 0,15556 |   |
| D'Agostino Kurtosis                  | 0,16215                                       | 0,87119 |   |
| D'Agostino Omnibus                   | 2,04314                                       | 0,36003 |   |

Tabla 12. Estadística. Comparativa edad entre grupos. Pruebas Normalidad (cont.)

| <b>Serie #2 (Edad Controles)</b> |   |
|----------------------------------|---|
| Tamaño muestral                  | 16 Media 59,25                                |
| Desviación Típica                | 11,24574 Mediana 0,                           |
| Sesgamiento                      | 0,23456 Kurtosis 1,50219                      |
| Sesgamiento Alterno (de Fisher)  | 0,25956 Kurtosis Alterna (de Fisher) -1,60408 |

|                                      | <b>Estadísticas de la Prueba</b> | <b>nivel p</b> | <b>Conclusión: (5%)</b>                   |
|--------------------------------------|----------------------------------|----------------|---|
| Test de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor | 0,11953                          | 0,78333        | Evidencia nula en contra de la normalidad |
| W de Shapiro-Wilk                    | 0,8957                           | 0,06861        |   |
| D'Agostino Sesgamiento               | 0,48518                          | 0,62755        |   |
| D'Agostino Kurtosis                  | -2,37768                         | 0,01742        |   |
| D'Agostino Omnibus                   | 5,88878                          | 0,05263        |   |

## 5 - RESULTADOS

Tabla 12. Estadística. Comparativa edad entre grupos. Pruebas Normalidad (cont.)

### Comparación de Medias [ Con el Test T Suponiendo Varianzas Iguales (homoscedasticidad) ]

#### Estadística Descriptiva

| VAR            | Tamaño muestral | Media  | Varianza  |
|----------------|-----------------|--------|-----------|
| Edad Uveitis   | 16              | 51,625 | 157,58333 |
| Edad Controles | 16              | 59,25  | 126,46667 |

#### Resumen

|                           |         |                                   |         |
|---------------------------|---------|-----------------------------------|---------|
| Grados de Libertad        | 30      | Diferencia de Medias Hipotetizada | 0,      |
| Estadísticas de la Prueba | 1,80968 | Varianza Combinada                | 142,025 |

#### Distribución de Dos Colas

|         |         |                      |         |
|---------|---------|----------------------|---------|
| nivel p | 0,08037 | t Valor Crítico (5%) | 2,04227 |
|---------|---------|----------------------|---------|

#### Distribución de Una Cola

|         |         |                      |         |
|---------|---------|----------------------|---------|
| nivel p | 0,04019 | t Valor Crítico (5%) | 1,69726 |
|---------|---------|----------------------|---------|

#### Criterio G

|                           |         |         |         |
|---------------------------|---------|---------|---------|
| Estadísticas de la Prueba | 0,19805 | nivel p | 0,02996 |
| Valor Crítico (5%)        | 0,17    |         |         |

#### Criterio de Pagurova

|                                    |         |                    |         |
|------------------------------------|---------|--------------------|---------|
| Estadísticas de la Prueba          | 1,80968 | nivel p            | 0,91948 |
| Parámetro de relación de varianzas | 0,55477 | Valor Crítico (5%) | 0,06324 |

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las edades medias del grupo de pacientes con uveítis y del grupo control. T de Student para datos independientes,  $P=0,08$ .

### 5.2. Resultados analíticos

Los niveles medios de TPO en muestras de suero fueron  $35,4 \pm 12,94$  pg/mL (rango 21,1-61,2 pg/mL) en el grupo de pacientes con uveítis.

Los niveles medios de TPO en muestras de suero de pacientes del grupo control fueron de  $32,87 \pm 9,8$  pg/mL (rango 15,3-50,7 pg/mL).

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de TPO en suero entre el grupo de pacientes con uveítis y el grupo de pacientes control, prueba de *U* Mann-Whitney,  $P=0,82$ .

En las tablas 13 y 14 , se detallan respectivamente todos los valores obtenidos de TPO en el suero de los pacientes con uveítis y los valores del grupo control.

## 5 - RESULTADOS

---

Tabla 13. Resultados de TPO en suero de pacientes con uveítis

| Nº Paciente | diagnóstico | edad | sexo   | TPO suero pg/mL |
|-------------|-------------|------|--------|-----------------|
| 1           | uveítis     | 59   | hombre | 35,6            |
| 2           | uveítis     | 53   | mujer  | 28,2            |
| 3           | uveítis     | 55   | mujer  | 21,1            |
| 4           | uveítis     | 40   | hombre | 31,2            |
| 5           | uveítis     | 70   | hombre | 26,5            |
| 6           | uveítis     | 47   | hombre | 61,2            |
| 7           | uveítis     | 45   | mujer  | 23,1            |
| 8           | uveítis     | 58   | hombre | 37,6            |
| 9           | uveítis     | 79   | hombre | 54,6            |
| 10          | uveítis     | 49   | mujer  | 33,5            |
| 11          | uveítis     | 68   | hombre | 32,6            |
| 12          | uveítis     | 47   | mujer  | 26,6            |
| 13          | uveítis     | 38   | hombre | 23,2            |
| 14          | uveítis     | 43   | mujer  | 51,4            |
| 15          | uveítis     | 35   | hombre | 25,3            |
| 16          | uveítis     | 40   | mujer  | 54,7            |

Tabla 14. Resultados de TPO en suero de pacientes del grupo control

| Nº Paciente | diagnóstico | edad | sexo   | TPO suero pg/mL |
|-------------|-------------|------|--------|-----------------|
| 1           | control     | 50   | hombre | 45,2            |
| 2           | control     | 48   | hombre | 43,4            |
| 3           | control     | 52   | hombre | 23,9            |
| 4           | control     | 46   | mujer  | 30,5            |
| 5           | control     | 50   | hombre | 50,7            |
| 6           | control     | 52   | hombre | 32,0            |
| 7           | control     | 69   | hombre | 40,1            |
| 8           | control     | 75   | mujer  | 22,2            |
| 9           | control     | 77   | hombre | 29,3            |
| 10          | control     | 55   | hombre | 23,9            |
| 11          | control     | 44   | mujer  | 28,4            |
| 12          | control     | 55   | mujer  | 15,3            |
| 13          | control     | 71   | mujer  | 41,0            |
| 14          | control     | 64   | hombre | 42,3            |
| 15          | control     | 70   | hombre | 29,2            |
| 16          | control     | 70   | hombre | 28,6            |

En las tablas 15 y 16, se muestra respectivamente el análisis estadístico de los resultados de las muestras de TPO en el plasma de los pacientes con uveítis, y el de los controles

## 5 - RESULTADOS

Tabla 15. Análisis estadístico de los valores de TPO en plasma de pacientes con uveítis.

| Serie #1 (TPO en plasma Uveítis ) |           |                                |              |
|-----------------------------------|-----------|--------------------------------|--------------|
| Recuento                          | 16        | Sesgamiento                    | 0,82781      |
| Media                             | 35,4      | Error Estándar del Sesgamiento | 0,52786      |
| Media LCL                         | 26,98063  | Kurtosis                       | 2,27187      |
| Media UCL                         | 43,81937  | Error Estándar de la Kurtosis  | 0,88231      |
| Desviación Típica                 | 12,94053  | Sesgamiento Alterno (de Fishe. | 0,91602      |
| Error Estándar (de la Media)      | 3,23513   | Kurtosis Alterna (de Fisher)   | -0,52568     |
| Mínimo                            | 21,1      | Coefficiente de Variación      | 0,36555      |
| Máximo                            | 61,2      | Desviación Media               | 10,3375      |
| Rango                             | 40,1      | Segundo Momento                | 156,99125    |
| Suma                              | 566,4     | Tercer Momento                 | 1.628,33138  |
| Error Estándar de la Suma         | 51,76212  | Cuarto Momento                 | 55.993,04544 |
| Suma de Cuadrados Total           | 22.562,42 | Mediana                        | 31,9         |
| Suma de Cuadrados Ajustada        | 2.511,86  | Error de la Mediana            | 1,01366      |
| Media Geométrica                  | 33,43311  | Percentil 25% (Q1)             | 26,5         |
| Media Armónica                    | 31,76131  | Percentil 75% (Q2)             | 51,4         |
| Moda                              | #N/A      | IQR                            | 24,9         |
| Varianza                          | 167,45733 | MAD                            | 6,15         |

Tabla 16. Análisis estadístico de los valores de TPO en plasma de los controles

| Serie #3 (TPO plasma Controles) |           |                                |              |
|---------------------------------|-----------|--------------------------------|--------------|
| Recuento                        | 16        | Sesgamiento                    | 0,1522       |
| Media                           | 32,875    | Error Estándar del Sesgamiento | 0,52786      |
| Media LCL                       | 26,49496  | Kurtosis                       | 2,10532      |
| Media UCL                       | 39,25504  | Error Estándar de la Kurtosis  | 0,88231      |
| Desviación Típica               | 9,80609   | Sesgamiento Alterno (de Fishe. | 0,16842      |
| Error Estándar (de la Media)    | 2,45152   | Kurtosis Alterna (de Fisher)   | -0,75903     |
| Mínimo                          | 15,3      | Coefficiente de Variación      | 0,29828      |
| Máximo                          | 50,7      | Desviación Media               | 8,18125      |
| Rango                           | 35,4      | Segundo Momento                | 90,14938     |
| Suma                            | 526,      | Tercer Momento                 | 130,27397    |
| Error Estándar de la Suma       | 39,22435  | Cuarto Momento                 | 17.109,76629 |
| Suma de Cuadrados Total         | 18.734,64 | Mediana                        | 29,9         |
| Suma de Cuadrados Ajustada      | 1.442,39  | Error de la Mediana            | 0,76813      |
| Media Geométrica                | 31,43733  | Percentil 25% (Q1)             | 28,4         |
| Media Armónica                  | 29,93263  | Percentil 75% (Q2)             | 42,3         |
| Moda                            | 23,9      | IQR                            | 13,9         |
| Varianza                        | 96,15933  | MAD                            | 6,85         |

En la tabla 17, se muestra el análisis estadístico realizado de la comparativa entre los valores de TPO encontrados en el plasma de los pacientes con uveítis frente

al grupo control . No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de TPO en suero entre el grupo de pacientes con uveítis y el grupo de pacientes control, prueba de *U* Mann-Whitney,  $P=0,82$ .

Tabla 17. Análisis estadístico. Comparativa entre valores TPO en plasma entre pacientes con uveítis y grupo control .

| <b>COMPARACION DE 2 MUESTRAS INDEPENDIENTES<br/>PLASMA UVEITIS FRENTE A CONTROLES</b> |                           |
|---|---------------------------|
| <b>TAMAÑO MUESTRAL AMBAS SERIES= 16</b>   |                           |
| <b>TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY</b>   |                           |
| W1 SUMA RANGOS, SERIE 1, 270  | U MAYOR 122               |
| W2 SUMA RANGOS, SERIE 2<br>258  | U 134                     |
| MEDIA W1<br>264   | MEDIA W2<br>264           |
| DESVIACION TÍPICA W<br>26,53071   | MULTIPLICITY FACTOR<br>6  |
| Z<br>0,22613  | <b>NIVEL P<br/>0,8211</b> |
| <b>TEST DE KOLMOGOROV-SMIRNOV</b>   |                           |
| DIFERENCIA MAXIMA<br>0,25   | NIVEL P<br>0,63251        |
| <b>TEST DE RACHAS DE WALD-WOLFOWITZ</b>   |                           |
| RECuento DE RACHAS R<br>31  | Z<br>2,42593              |
| NIVEL P<br>0,01527  |                           |
| <b>CRITERIO DE ROSENBAUM</b>  |                           |
| Q DE ROSENBAUM<br>5   | VALOR CRITICO (2%)<br>N/A |

Los niveles de TPO en humor acuoso fueron de  $54,46 \pm 16,24$  (media  $\pm$  DE) pg/dl (rango 32,50-86,30 pg/mL) en los ojos de los pacientes con uveítis. Tabla 18

## 5 - RESULTADOS

Tabla 18. Niveles de TPO en humor acuoso en pacientes con uveítis

| Nº paciente | Diagnóstico | Edad | Sexo   | Nivel de TPO<br>en pg/ml |
|-------------|-------------|------|--------|--------------------------|
| 1           | Uveítis     | 59   | Hombre | 49,20                    |
| 2           | Uveítis     | 53   | Mujer  | 44,50                    |
| 3           | Uveítis     | 55   | Mujer  | 32,50                    |
| 4           | Uveítis     | 40   | Hombre | 47,80                    |
| 5           | Uveítis     | 70   | Hombre | 40,00                    |
| 6           | Uveítis     | 47   | Hombre | 86,30                    |
| 7           | Uveítis     | 45   | Mujer  | 38,60                    |
| 8           | Uveítis     | 58   | Hombre | 65,20                    |
| 9           | Uveítis     | 79   | Hombre | 71,40                    |
| 10          | Uveítis     | 49   | Mujer  | 77,10                    |
| 11          | Uveítis     | 68   | Hombre | 46,10                    |
| 12          | Uveítis     | 47   | Mujer  | 47,50                    |
| 13          | Uveítis     | 38   | Hombre | 43,00                    |
| 14          | Uveítis     | 43   | Mujer  | 69,70                    |
| 15          | Uveítis     | 35   | Hombre | 41,70                    |
| 16          | Uveítis     | 40   | Mujer  | 70,90                    |

Los niveles de TPO en humor acuoso del grupo control fueron de  $34,32 \pm 11,63$  pg/ml (rango 14,80-51,20 pg/mL). Tabla 19

Tabla 19. Niveles de TPO en humor acuoso en el grupo control

| Nº Paciente | Diagnóstico | Edad | Sexo   | Nivel de TPO<br>en pg/ml |
|-------------|-------------|------|--------|--------------------------|
| 17          | Control     | 50   | Hombre | 50,80                    |
| 18          | Control     | 48   | Hombre | 51,20                    |
| 19          | Control     | 52   | Hombre | 25,40                    |
| 20          | Control     | 46   | Mujer  | 33,70                    |
| 21          | Control     | 50   | Hombre | 50,90                    |
| 22          | Control     | 52   | Hombre | 35,00                    |
| 23          | Control     | 69   | Hombre | 39,50                    |
| 24          | Control     | 75   | Mujer  | 23,20                    |
| 25          | Control     | 77   | Hombre | 30,80                    |
| 26          | Control     | 55   | Mujer  | 24,00                    |
| 27          | Control     | 44   | Hombre | 27,80                    |
| 28          | Control     | 55   | Mujer  | 14,80                    |
| 29          | Control     | 71   | Mujer  | 39,00                    |
| 30          | Control     | 64   | Hombre | 39,2                     |
| 31          | Control     | 70   | Hombre | 34,1                     |
| 32          | Control     | 70   | Hombre | 29,6                     |

En las tablas 20 y 21, se muestran respectivamente el análisis estadístico de los resultados de las muestras de TPO en humor acuoso de los pacientes con uveítis, y el de los controles.

## 5 - RESULTADOS

Tala 20. Análisis estadístico de los niveles de TPO en humor acuoso de pacientes con uveítis.

| Serie #2 (TPO en acuoso Uveitis) |           |                                 |             |
|----------------------------------|-----------|---------------------------------|-------------|
| Recuento                         | 16        | Sesgamiento                     | 0,55146     |
| Media                            | 54,46875  | Error Estándar del Sesgamiento  | 0,52786     |
| Media LCL                        | 43,9004   | Kurtosis                        | 1,95612     |
| Media UCL                        | 65,0371   | Error Estándar de la Kurtosis   | 0,88231     |
| Desviación Típica                | 16,24351  | Sesgamiento Alterno (de Fisher) | 0,61023     |
| Error Estándar (de la Media)     | 4,06088   | Kurtosis Alterna (de Fisher)    | -0,96807    |
| Mínimo                           | 32,5      | Coefficiente de Variación       | 0,29822     |
| Máximo                           | 86,3      | Desviación Media                | 14,22344    |
| Rango                            | 53,8      | Segundo Momento                 | 247,3609    |
| Suma                             | 871,5     | Tercer Momento                  | 2.145,41118 |
| Error Estándar de la Suma        | 64,97404  | Cuarto Momento                  | #####       |
| Suma de Cuadrados Total          | 51.427,29 | Mediana                         | 47,65       |
| Suma de Cuadrados Ajustada       | #####     | Error de la Mediana             | 1,27239     |
| Media Geométrica                 | 52,32368  | Percentil 25% (Q1)              | 43,         |
| Media Armónica                   | 50,35769  | Percentil 75% (Q2)              | 70,9        |
| Moda                             | #N/A      | IQR                             | 27,9        |
| Varianza                         | 263,85163 | MAD                             | 8,35        |

Tabla 21. Análisis en humor acuoso de TPO de los controles

| Serie #4 (TPO acuoso Controles) |            |                                 |              |
|---------------------------------|------------|---------------------------------|--------------|
| Recuento                        | 16         | Sesgamiento                     | 0,18657      |
| Media                           | 34,3125    | Error Estándar del Sesgamiento  | 0,52786      |
| Media LCL                       | 27,44176   | Kurtosis                        | 2,36139      |
| Media UCL                       | 41,18324   | Error Estándar de la Kurtosis   | 0,88231      |
| Desviación Típica               | 10,5603    | Sesgamiento Alterno (de Fisher) | 0,20645      |
| Error Estándar (de la Media)    | 2,64007    | Kurtosis Alterna (de Fisher)    | -0,40026     |
| Mínimo                          | 14,8       | Coefficiente de Variación       | 0,30777      |
| Máximo                          | 51,2       | Desviación Media                | 8,17656      |
| Rango                           | 36,4       | Segundo Momento                 | 104,54984    |
| Suma                            | 549,       | Tercer Momento                  | 199,44838    |
| Error Estándar de la Suma       | 42,24118   | Cuarto Momento                  | 25.811,52964 |
| Suma de Cuadrados Total         | 20.510,36  | Mediana                         | 33,9         |
| Suma de Cuadrados Ajustada      | 1.672,7975 | Error de la Mediana             | 0,82721      |
| Media Geométrica                | 32,69609   | Percentil 25% (Q1)              | 27,8         |
| Media Armónica                  | 30,95788   | Percentil 75% (Q2)              | 39,5         |
| Moda                            | #N/A       | IQR                             | 11,7         |
| Varianza                        | 111,51983  | MAD                             | 5,85         |

Se encontró una diferencia significativa entre ambos grupos en humor acuoso (Test *U* de Mann-Whitney,  $P=0,0008$ ) en el que los pacientes con uveítis presentaron niveles significativamente superiores en comparación con el grupo control. Tabla 22a

Tabla 22a. Diferencias TPO en humor acuoso entre pacientes con uveítis y controles

| Grupo de pacientes    | Niveles TPO en humor acuoso (pg/ml),<br>media ± DE |
|-----------------------|--|
| Pacientes con uveítis | 54,46 ± 16,24                                      |
| Grupo control         | 34,32 ± 11,63                                      |
|                       | P = 0,001  |

Los rangos obtenidos se expresan en la tabla 22b

Tabla 22b. Rangos promedio de los resultados de TPO en humor acuoso de grupo de pacientes con uveítis y grupo control.

| Rangos |         |    |                |                |
|--------|---------|----|----------------|----------------|
|        | Grupo   | N  | Rango promedio | Suma de rangos |
| EDAD   | uveítis | 16 | 13,44          | 215,00         |
|        | control | 16 | 19,56          | 313,00         |
|        | Total   | 32 |                |                |
| TPO    | uveítis | 16 | 22,06          | 353,00         |
|        | control | 16 | 10,94          | 175,00         |
|        | Total   | 32 |                |                |

En las tabla 23, se muestra el análisis estadístico realizado de la comparativa entre los valores de TPO encontrados en el humor acuoso de los pacientes con uveítis frente al grupo control

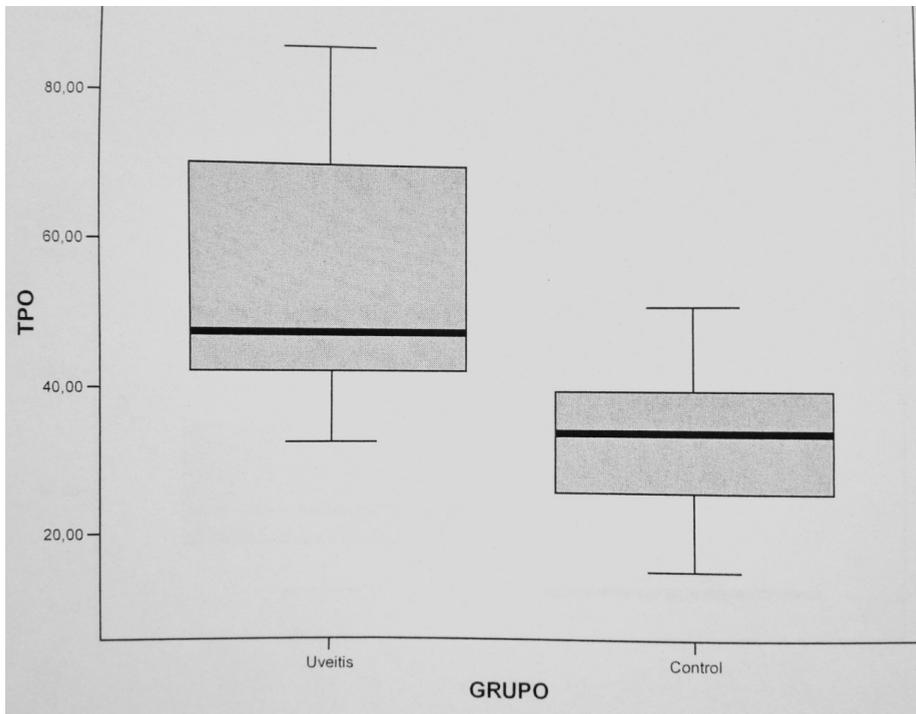
## 5 - RESULTADOS

Tabla 23. Análisis estadístico. Comparativa TPO, humor acuoso uveítis y controles

| <b>COMPARACION DE 2 MUESTRAS INDEPENDIENTES<br/>ACUOSO UVEITIS FRENTE A CONTROLES</b> |                              |
|---|------------------------------|
| TAMAÑO MUESTRAL AMBAS SERIES= 16  |                              |
| <b>TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY</b>   |                              |
| W1 SUMA RANGOS, SERIE 1, 353  | U MAYOR 39                   |
| W2 SUMA RANGOS, SERIE 2<br>175  | U 217                        |
| MEDIA W1<br>264   | MEDIA W2<br>264              |
| DESVIACION TÍPICA W<br>26,533   | MULTIPLICITY FACTOR<br>0,E+0 |
| Z<br>3,35431  | <b>NIVEL P<br/>0,0008</b>    |
| <b>TEST DE KOLMOGOROV-SMIRNOV</b>   |                              |
| DIFERENCIA MAXIMA<br>0,6875   | NIVEL P<br>0,00043           |
| <b>TEST DE RACHAS DE WALD-WOLFOWITZ</b>   |                              |
| RECUENTO DE RACHAS R<br>32  | Z<br>2,60563                 |
| NIVEL P<br>0,00917  |                              |
| <b>CRITERIO DE ROSENBAUM</b>  |                              |
| Q DE ROSENBAUM<br>13  | VALOR CRITICO (2%)<br>N/A    |

En esta serie de casos estudiada de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa se ha encontrado incrementado en humor acuoso, en comparación con los controles, el valor del factor del crecimiento celular trombopoyetina, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Por otra parte no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos para TPO en suero, entre los pacientes con uveítis y entre los pacientes controles. Tabla 24

Tabla 24. Diagrama de cajas y bigotes. Comparativa nivel de TPO en humor acuoso entre pacientes con uveítis y grupo control.





## 6. Desarrollo argumental

---



En este estudio se han medido los niveles del factor de crecimiento TPO, en humor acuoso y en suero de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa, demostrando un incremento significativo de los niveles de TPO en humor acuoso y no en suero.

El hecho de haber encontrado estos niveles significativamente elevados de TPO en el humor acuso de los pacientes con uveítis, nos plantea diferentes cuestiones relacionadas con la causa y las posibles consecuencias de este hecho.

A continuación expondremos la discusión de las observaciones antes presentadas

### **6.1 Las uveítis y los factores de crecimiento celular**

Las uveítis anteriores, las formas más frecuente de uveítis, son frecuentemente idiopáticas, y desconocemos en la mayoría de los casos el agente desencadenante. La integridad de los diferentes tejidos oculares exige un perfecto equilibrio entre los procesos de proliferación, diferenciación y apoptosis celular, y ello depende del delicado balance entre los factores de crecimiento celular, producidos muchos de ellos en estos mismos tejidos. En el humor acuoso se encuentran distintos factores de crecimiento que tienen por objeto mantener una correcta homeostasis en todo el segmento anterior ocular <sup>1 2 3</sup>.

Los factores de crecimiento celulares, en ocasiones son responsables de la inhibición de la proliferación, migración y supervivencia celular, pero también pueden promoverla, jugando un papel importante en el mantenimiento y modulación de los tejidos. Aunque no está claramente especificada la interrelación entre los factores de

## **6 - DESARROLLO ARGUMENTAL**

---

crecimiento celular y la respuesta celular, conocemos algunas cuestiones importantes como las derivadas de los estudios de la estimulación que ejerce, por ejemplo el factor de crecimiento epidérmico (EGF), sobre de los fibroblastos humanos <sup>4</sup>.

Por otra parte el hecho de que para el tratamiento de las uveítis se estén utilizando cada vez con más éxito terapias con agentes biológicos, que van dirigidas contra diversas, y cada vez nuevas citoquinas y factores de crecimiento, refuerza la idea de la importancia que tienen estos en la fisiopatología de las uveítis<sup>5</sup>.

El ambiente extracelular también puede hacer variar de forma notoria los efectos de los factores de crecimiento sobre los determinados tipos celulares, la unión de los factores de crecimiento a la matriz extracelular (MEC), regula de forma importante los efectos de estos, y a su vez la matriz extracelular puede ser alterada por acción de los factores de crecimiento <sup>6</sup>.

Como ya se ha comentado, existen múltiples estudios que han medido los niveles de diferentes citoquinas en humor acuoso, incluso en pacientes con uveítis, pero previamente a nuestro estudio no existen publicaciones conocidas sobre los niveles de TPO en humor acuoso.

Los niveles séricos de TPO que obtuvimos en nuestro estudio son similares a los publicados y descritos en otros estudios (Takase H, Futagami Y, Yoshida T, et al. Cytokine profile in aqueous humor and será of patients with infectious or noninfectious uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006;47:1557-61)

### 6.2 Justificación del aumento de TPO. Posibles causas

En el presente estudio se evaluaron los niveles en humor acuoso del factor de crecimiento celular TPO, en pacientes que estaban diagnosticados de uveítis anterior aguda no infecciosa o inmunológica.

Se encontraron unos niveles significativamente aumentados, en relación con otros pacientes libres de esta enfermedad. Anteriormente no se había determinado analíticamente la presencia de TPO en el humor acuoso de pacientes con uveítis anterior aguda

Al hacer patente que los niveles de TPO en los paciente con uveítis anteriores agudas no infecciosas son superiores al de los controles se establecen dos cuestiones fundamentales: Primero ¿cuáles serían las causas? y ¿cuáles serían las consecuencias?

La TPO es el principal regulador de la proliferación, maduración de los megacariocitos y de la producción de plaquetas, actuando sobre las *stem cell* hematopoyéticas, pero también es un regulador positivo multifuncional en hematopoyesis, y quizás en otros procesos, como la vasculogénesis, al interactuar con el VEGF<sup>7</sup>. La trombopoyetina se activa a través de la liberación de diferentes citoquinas proinflamatorias como la IL-1, IL-3, IL-6 e IL-11.

Las citoquinas proinflamatorias juegan un papel crítico en la iniciación y la propagación de numerosas enfermedades autoinmunes originadas por una disregulación de la respuesta autoinmune. Todas estas citoquinas interfieren activamente entre los mediadores celulares, inmunológicos y bioquímicos a muchos niveles. Parece que la regulación de esta actividad proinflamatoria puede estar mediada por citoquinas antiinflamatorias e inmunosupresoras como la IL4, IL-10 o el TGF- $\beta$ <sup>8</sup>. Distintos trabajos indican que la expresión del gen de TPO, se incrementa de forma importante

## **6 - DESARROLLO ARGUMENTAL**

---

durante los procesos inflamatorios, lo que nos puede llevar a pensar que se comporta como una proteína de fase aguda.

También conocemos que su síntesis puede ser inducida por la IL-6 en hígado, a la vez la IL-6 estimularía la trombopoyesis mediante la acción de la TPO, y que en determinados procesos inflamatorios, la trombocitosis reactiva existente esta mediada por la IL-6 a través de la acción de la TPO <sup>9 10 11</sup>.

Otro dato que nos habla de la importante interrelación entre IL-6 y la TPO, es el hecho de que la administración de IL-6 en pacientes con cáncer se traduce en un incremento de los niveles séricos de TPO <sup>12</sup>

Se han hallado correlaciones positivas entre la la TPO y la PCR sin que parezca influir el número de plaquetas, el TPO actúa como una proteína de fase aguda, y parece íntimamente relacionada con la acción de la IL6, en procesos inflamatorios <sup>13 14</sup>.

En algunas enfermedades inflamatorias como en la Enfermedad de Schönlein – Henoch, también se ha observado este aumento de la IL-6, que se postula como un reactante de fase aguda, y además con un incremento secundario en la producción de TPO <sup>15</sup>

También se ha comunicado la función reguladora de la TPO en la diferenciación de los mastocitos, y su aumento en pacientes con asma alérgica, lo que también nos sugiere la posibilidad de su participación en procesos inmunoalérgicos <sup>16 17</sup>.

Es conocida la importancia de las plaquetas como importantes agentes en la defensa de la infección y en la inducción de la inflamación y reparación de tejidos.

Se ha documentado la elevación de IL-6 y TPO en el plasma de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, así como en pacientes con artritis reumatoide <sup>18 19 20</sup>

Todo ello nos podría hacer pensar que este aumento de la TPO, podría entenderse dentro del proceso inflamatorio de las uveítis.

### **6.3 Aumento de la TPO. Potenciales consecuencias funcionales**

En cuanto a las consecuencias que podría suponer este aumento significativo de la TPO en las uveítis, o cómo esperamos que este aumento afecta al cuadro, o las consecuencias que la elevación de la TPO puede tener sobre la enfermedad nos obliga a comentar algunos aspectos derivados de algunas investigaciones que implican a la TPO en el proceso de algunas entidades:

En diversos estudios en modelos experimentales de uveítis anteriores autoinmunes se ha sugerido el importante papel que puede jugar la apoptosis en la resolución de las uveítis, ya que la apoptosis seguida de la fagocitosis juega un papel crítico en la disminución del infiltrado celular y la posterior resolución del cuadro <sup>21 22</sup>  
<sup>23 24 25 26</sup>

Por otra parte otros estudios han demostrado un incremento de la TPO en los cambios inflamatorios que suceden en algunas infecciones del sistema nervioso central (SNC), sugiriendo una actividad proapoptótica, así como una distinta regulación de su producción en SNC a la que sucede en el hígado, órgano donde esta se produce en mayor medida <sup>27</sup>

Como consecuencia práctica de esta elevación de la TPO y si se confirma que el aumento de la TPO, puede jugar un papel en la resolución del cuadro, podemos utilizarla para modular el proceso de reparación ya que la tenemos disponible

La trombopoyetina ya fue purificada en 1994, y recientemente se han sintetizado nuevas moléculas que mimetizan el efecto de TPO, como por ejemplo el Romiplostim que se utiliza vía subcutánea, o el Eltrombopag que se administra via oral. Todas estas circunstancias nos podrían hacer suponer una posibilidad terapéutica a medio plazo en el tratamiento de las uveítis, si se confirmara la hipótesis que la elevación significativa obtenida de los niveles de trombopoyetina en nuestros pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa frente al grupo control, sería una consecuencia del proceso reparador de la uveítis y no una causa<sup>28 29 30</sup>.

### **6.4 Líneas de investigación futura. Aplicaciones del estudio**

Los factores de crecimiento se postulan como componentes decisivos en el mantenimiento de los diferentes tejidos y la relación con su entorno, mediante una estrecha regulación de los fenómenos de proliferación, migración, diferenciación y apoptosis celular. El propio fenómeno de cicatrización también exige un correcto balance de factores de crecimiento, implicados en la coordinación de los procesos de crecimiento epitelial y estromal.

Al igual que el conocimiento de la relación del TGF- $\beta$  y el glaucoma, ha hecho variar los enfoques terapéuticos en el glaucoma, todos estos nuevos conocimientos en relación con los diferentes factores de crecimiento en las uveítis, puede ayudarnos en el conocimiento de la patología y en su manejo.

La elevación estadísticamente significativa ( $P < 0,001$ ), del factor de crecimiento celular TPO, en humor acuoso de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa, nos hace pensar en un primer momento si esta circunstancia es consecuencia o quizás causa del proceso inflamatorio intraocular.

En definitiva el hallazgo de estos niveles extraordinariamente elevados de este factor de crecimiento revelaría un posible papel de este factor en el proceso reparador de la enfermedad inflamatoria y en la recuperación de la adecuada homeostasis tisular. De forma secundaria un mayor conocimiento de este y otros factores de crecimiento celular, nos ayudaría a conocer mejor la fisiopatología de las uveítis y otras entidades inflamatorias oculares, y contribuiría a poder idear nuevas estrategias terapéuticas<sup>31 32</sup>  
<sup>33 34</sup>

Es innegable lo atractiva que resulta la posibilidad de poder controlar la actividad de los factores de crecimiento, con las connotaciones terapéuticas que esto conlleva, como podría ser por ejemplo en el manejo de ciertas patologías, el poder controlar el proceso de cicatrización, promoviéndolo o inhibiéndolo según el caso concreto, pero no debemos olvidar, que el actuar sobre un determinado factor de crecimiento, puede inducir un desequilibrio entre factores, que desemboque, por ejemplo, en la pérdida del importantísimo fenómeno ACAID, o inmunoprivilegio de cámara anterior, con el consiguiente aumento del riesgo de desarrollar una uveítis, o un aumento de la proliferación del endotelio corneal o la instauración de una neovascularización.

Los avances en ingeniería genética y de tejidos, y el uso de células capaces de producir determinados y específicos factores de crecimiento nos ofrece un panorama prometedor y apasionante.

### BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Trinkaus-Randall, V. Cornea. In: Lanza RP, Langer R, Vacanti J. Principles of tissue engineering. San Diego: Academic Press; 2000: 471-491
- <sup>2</sup> Welge-Lussen U, May CA. Role of tissue growth factors in aqueous humor homeostasis. *Curr Opin Ophthalmol* 12:94-9.
- <sup>3</sup> Jones SM, Kazlauskas A. Connecting signaling and cell cycle progression in growth factor-stimulated cells. *Oncogene* 2000; 19:558-767.
- <sup>4</sup> Dinbergs ID, Brown L. Cellular response to transforming growth factor  $\beta$  1 and basic fibroblast growth depends on release kinetics and extracellular matrix interactions. *J Biol Chem* 1996; 271: 29822-9.
- <sup>5</sup> Jap A, Chee SP. Immunosuppressive therapy for ocular diseases. *Curr Opin Ophthalmol*. 2008 Nov;19(6):535-40
- <sup>6</sup> Rolando, M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 45:203-10.
- <sup>7</sup> Eguchi M, Masuda H, Kwon S, et al. Lesion-targeted thrombopoietin potentiates vasculogenesis by enhancing motility and enlivenment of transplanted endothelial progenitor cells via activation of Akt/mTOR/p70s6kinase signaling pathway. *J Mol Cell cardiol* 2008; 45:661-9
- <sup>8</sup> Kim EY, Moudgil KD. Regulation of autoimmune inflammation by pro-inflammatory cytokines *Immunol Lett*. 2008 Oct 30;120(1-2):1-5.
- <sup>9</sup> Burmester H, Wolber EM, Freitag P, et al. Thrombopoietin production in wild-type and interleukin-6 knockot mice with acute inflammation. *J Interferon Cytokine Res* 2005;25:407-13.
- <sup>10</sup> Kaser A, Brandacher G, Steurer W, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis though thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood* 2001;98:2720-5.
- <sup>11</sup> Ceresa IF, Noris P, Ambaglio C, et al. Thrombopoietin is not uniquely responsible of thrombocytosis in inflammatory disorders. *Platelets* 2007;18:579-582.

- <sup>12</sup> Hollen CW, Henthorn J, Koziol JA, et al. Elevated serum interleukin-6 levels in patients with reactive thrombocytosis. *Br J Haematol* 1991; 79:286-90.
- <sup>13</sup> Cerutti A, Custodi P, Duranti M, et al. Circulating thrombopoietin in reactive conditions behaves like an acute phase reactant 1999;21(4):271-5
- <sup>14</sup> Ishiguro A, Suzuki Y, Mito M, et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in acute infections. *Br J Haematol*. 2002 Mar;116(3):612-8.
- <sup>15</sup> Lin CY, Yang YH, Lee CC, et al. Thrombopoietin interleukin-6 levels in Henoch-Schönlein purpura. *J Microbiol Immunol Infect* 2006;39: 476-482.
- <sup>16</sup> Wolber EM, Fandrey J, Frackowski V, Jelkmann W. Hepatic thrombopoietin mRNA is increased in acute inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86:1421-4.
- <sup>17</sup> Migliaccio AR. Role of thrombopoietin in mast cell differentiation. *Ann NY Acad Sci* 2007;27.
- <sup>18</sup> Kemon-Chetnik I, Bodzenta-Lukaszyk A, Butkiewicz A, et al. Thrombocytopoiesis in allergic asthma. *Pol Arch Med* 2007;117:9-13.
- <sup>19</sup> Heits F, Stahl M, Ludwig D, et al. Elevated serum thrombopoietin and interleukin-6 concentrations in thrombocytosis associated with inflammatory bowel disease. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:757-60.
- <sup>20</sup> Klinger MH, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res* 2007;22:913-22.
- <sup>21</sup> Yu HG, Chung H, Lee WJ. Apoptosis of CD4<sup>+</sup> T cells occurs in experimental autoimmune anterior uveitis (EAAU). *Clin Exp Immunol*. 1999;118:357-363.
- <sup>22</sup> Yang P, Herzberg NH, Zhou H, Broersma L, de Smet M, Kijlstra A. Apoptosis of infiltrating cells in experimental autoimmune uveoretinitis. *Chin Med J (Engl)*. 2000;113:643-646.
- <sup>23</sup> Poulaki V, Mitsiades N, Mastorakos G, Caspi RR, Chrousos GP, Bouzas E. Fas/Fas ligand-associated apoptosis in experimental autoimmune uveoretinitis in rodents: role of proinflammatory corticotropin-releasing hormone. *Exp Eye Res*. 2001;72:623-629.

- <sup>24</sup> Smith JR, Hart PH, Standfield SD, Coster DJ, Wing SJ, Williams KA. Apoptosis is a prominent feature of acute anterior uveitis in the Fischer 344 rat. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:205–211.
- <sup>25</sup> Li Q, Sun B, Matteson DM, O'Brien TP, Chan CC. Cytokines and apoptotic molecules in experimental melanin-protein induced uveitis (EMIU) and experimental autoimmune uveoretinitis (EAU). *Autoimmunity.* 1999;30:171–182.
- <sup>26</sup> Jha P, Matta B, Lyzogubov L, et al. Crucial role of apoptosis in the resolution of experimental autoimmune anterior uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5091-100.
- <sup>27</sup> Ertenli I, Kiraz S, Oztürk MA, et al. Pathologic thrombopoiesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2003; 23:49-50.
- <sup>28</sup> Reinhol A, Zhang J, Gessner R, et al. High thrombopoietin concentration in the cerebrospinal fluid of neonate with sepsis and intraventricular hemorrhage may contribute to brain damage. *J Interferon Cytokine Res* 2007; 27:137-145
- <sup>29</sup> Wadhwa M, Thorpe R. Haematopoietic growth factors and their therapeutic use. *Thromb Haemost* 2008;99:863-73.
- <sup>30</sup> Kuter DJ. Thrombopoietin and thrombopoietin mimetics in the treatment of thrombocytopenia. *Annu Rev Public Health* 2008.
- <sup>31</sup> Haznedaroglu IC, Goker H, Turgut M, Buyukasik Y, Benekli M. Thrombopoietin as a drug: Biological expectations, clinical realities, and future directions. *Clin Appl Thrombosis / Hemostasis* 2002, 8, 193-212.
- <sup>32</sup> Kaushansky K. Thrombopoietin and the hematopoietic stem cell. *Ann NY Acad Sci* 2005; 1044: 139-41
- <sup>33</sup> Fukushima-Shintani M, Suzuki KI, Iwatsuki Y, et al. AKR-501 (YM477) a novel orally-active thrombopoietin receptor agonist. *Eur J Haematol.* 2009 Jan 16
- <sup>34</sup> Erickson-Miller CL, Delorme E, Tian SS, et al. Preclinical Activity of Eltrombopag (SB-497115), an Oral, Non-peptide Thrombopoietin Receptor Agonist. *Stem Cells.* 2008 Nov 26

# 7. Conclusiones

---



### 7.1 CONCLUSIONES PRINCIPALES

- Existe un aumento significativo del factor de crecimiento celular Trombopoyetina, en el humor acuoso de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa en nuestro estudio.
- No existe un aumento significativo del factor de crecimiento celular Trombopoyetina en el suero de pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa, en nuestro estudio.

### 7.2 CONCLUSIONES SECUNDARIAS

- El aumento de los niveles de Trombopoyetina en el humor acuoso de pacientes con uveítis anteriores agudas no infecciosas, puede intuirse como el resultado de su posible producción local, y podría además, de alguna manera, suponerse su participación en el proceso inflamatorio de las uveítis. La TPO, como citoquina ligada a procesos proapoptóticos y reparativos, jugaría un papel en la resolución de esta patología.
- Dada la disponibilidad comercial de la TPO, podría ser utilizada en el tratamiento de este tipo de uveítis.



# Apéndice Documental

---



Apéndice 1

**Consentimiento Informado para el estudio:**

**“Niveles intraoculares de Trombopoyetina en pacientes con uveítis anterior aguda no infecciosa”**

**Fecha:**

**D.** \_\_\_\_\_ **de** \_\_\_\_\_ **años de edad,**

**con domicilio**

**en** \_\_\_\_\_

**y DNI** \_\_\_\_\_

**DECLARO:**

Se me ha explicado por parte del médico y he entendido que:

1. Se me va a extraer una muestra de humor acuoso del ojo para incluirla en un estudio de factores de crecimiento asociados a uveítis anterior aguda.
2. El propósito del estudio es estudiar la asociación de estos factores de crecimiento con la patogenia de la uveítis anterior aguda.

## **APÉNDICE DOCUMENTAL**

---

3. La investigación consiste en determinar los niveles de estos factores de crecimiento en el humor acuoso del ojo.

4. La extracción del humor acuoso del ojo consiste en realizar una punción de la parte más anterior del ojo previa anestesia tópica.

5. El/la Dr./Dra. ....me ha explicado el procedimiento arriba indicado incluyendo la naturaleza y propósito del mismo así como las diferentes alternativas, riesgos, y posibilidades de complicaciones pese a las precauciones habituales.

6. El servicio de oftalmología guardara confidencialidad de los resultados y las muestras no se utilizaran para otros estudios, y en ese caso se solicitaría un nuevo consentimiento al paciente.

Doy mi consentimiento para su realización y participación en este estudio.

El paciente

El investigador

**APENDICE 2**

**CUESTIONARIO PARA EL PACIENTE**

**ANAMNESIS PARA DIAGNÓSTICO UVEÍTIS**

**Nombre**

**Número de Historia/SIP**

**Fecha**

**CUESTIONARIO DIAGNÓSTICO PARA UVEÍTIS**

**ANTECEDENTES FAMILIARES**

**¿Ha presentado alguien de su familia alguna de estas enfermedades?**

- Cáncer
- Diabetes
- Alergias
- Artritis o reuma
- Sífilis
- Tuberculosis
- Anemia o rasgo falciforme
- Gota

**¿Ha presentado alguien de su familia algún problema en algún área de las siguientes?**

- Ojos
- Piel
- Riñones
- Pulmones
- Estomago o intestino
- Sistema nervioso o cerebro

## APÉNDICE DOCUMENTAL

### ANTECEDENTES SOCIALES

- Edad
- Profesión actual
- ¿Ha residido alguna vez fuera de España?
- Si lo ha hecho. ¿Dónde?
- ¿Ha tenido perro?
- ¿Ha tenido gato?
- ¿Ha consumido carne cruda?
- ¿Ha consumido leche o queso no pausterizados?
- ¿Ha estado en alguna ocasión con animales enfermos?
- ¿Bebe agua no tratada procedente de ríos, pozos o lagos?
- ¿Fuma tabaco?
- ¿Ha consumido drogas por vía intravenosa?
- ¿Ha mantenido alguna vez relación bisexual u homosexual?
- ¿Ha tomado alguna vez píldoras anticonceptivas?

### ANTECEDENTES MÉDICOS PERSONALES

¿Es alérgico a algún medicamento?

- Si es así, ¿a cuál o cuáles?

Enumere todos los medicamento que utilice, con y sin receta.

Enumere todas las operaciones sobre los ojos y la fecha de ellas

Enumere todas las operaciones sobre el resto del cuerpo y la fecha de ellas

¿Se le ha diagnosticado alguna vez de alguna de estas enfermedades?

- Anemia
- Cáncer
- Diabetes
- Hepatitis
- Hipertensión
- Pleuresía
- Neumonía
- Úlceras
- Herpes o calentura
- Varicela
- Herpes zoster
- Rubeola
- Sarampion
- Parotiditis o paperas

- Clamydias o Tracoma
- Sífilis
- Gonorrea
- Enfermedad de transmisión Sexual
- Tuberculosis
- Lepra
- Leptospirosis
- Enfermedad de Lyme
- Histoplasmosis
- Cándidas
- Coccidioidomicosis
- Esporotricosis
- Toxoplasmosis
- Toxocariasis
- Cisticercosis
- Triquinosis
- Enfermedad de Whipple
- SIDA
- Rinitis alérgica
- Alergias
- Vasculitis
- Artritis
- Artritis Reumatoide
- Lupus
- Esclerodermia

**¿Ha padecido alguna de estas enfermedades ?**

- Síndrome de Reiter
- Colitis
- Enfermedad de Crohn
- Colitis Ulcerosa
- Enfermedad de Behçet
- Sarcoidosis
- Espondilitis Anquilosante
- Eritema nodoso
- Arteritis de células gigantes
- Esclerosis Múltiple
- Coroiditis serpinginosa
- Iridociclitis Heterocrómica de Fuchs
- Síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada

**¿Ha padecido alguna de estas enfermedades?**

## APÉNDICE DOCUMENTAL

---

### Salud General

- Escalofríos
- Fiebre (persistente o recurrente)
- Sudoración nocturna
- Fatiga
- Falta de apetito
- Pérdida de peso espontánea
- Mal estar general, sensación de enfermedad

### Cabeza

- Dolor de cabeza
- Desmayos
- Falta de sensibilidad u hormigueos
- Parálisis
- Epilepsia o convulsiones

### Oído

- Pérdida de audición
- Zumbidos, ruidos
- Infecciones
- Dolor o hinchazón lóbulo de las oreja

### Nariz y Garganta

- Irritación nariz o boca
- Hemorragias nasales
- Estornudos frecuentes

### Piel

- Erupciones
- Úlceras
- Facilidad para quemadura solar (fotosensibles)
- Placas blancas en piel o cabello
- Caída del cabello
- Picaduras de garrapatas o insectos
- Dedos fríos y dolorosos
- Picor intenso

**Respiratorio**

- Resfriados graves o frecuentes
- Tos constante
- Expulsión de sangre con la tos (hemoptosis)
- Gripe o infección por virus reciente
- Ataques de estornudos o asma
- Dificultad para respirar

**¿Ha presentado alguna vez algunos de estos síntomas?**

**Cardiovasculares**

- Dolor pecho
- Falta de aliento
- Hinchazón de piernas

**Sanguíneos**

- Moratones
- Hemorragias
- Transfusiones sanguíneas

**Gastrointestinales**

- Dificultad para tragar
- Diarrea
- Heces con sangre
- Úlceras de estómago
- Ictericia, piel amarillenta

**Huesos y articulaciones**

- Articulaciones rígidas
- Gánglios dolorosos o inflamados
- Rigidez espalda baja
- Dolor de espalda al dormir o despertarse
- Dolor muscular

**Genitourinarios**

- Problemas riñón
- Problemas de vejiga
- Sangre al orinar
- Pérdidas de orina
- Lesiones o úlceras en genitales

## APÉNDICE DOCUMENTAL

---

- Prostatitis
- Dolor testicular

**¿Está embarazada?**

**¿Planea quedarse embarazada?**

## APENDICE 3

## ARTICULO PUBLICADO CON LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO



Clin Ophthalmol. 2015; 9: 1285–1290.

Published online 2015 Jul 13. doi: [10.2147/OPTH.S56350](https://doi.org/10.2147/OPTH.S56350)

PMCID: PMC4508089

## Levels of thrombopoietin in aqueous humor of patients with noninfectious acute anterior uveitis

[José-Juan Mondejar](#),<sup>1,4</sup> [David Salom](#),<sup>1,3</sup> [Salvador Garcia-Delpech](#),<sup>1,2</sup> and [Manuel Diaz-Llopis](#)<sup>1</sup>

### Abstract

#### Introduction

The annual incidence of anterior uveitis in the United States is 8 per 100,000 inhabitants.<sup>1</sup> Its origin is generally idiopathic; the event or agent that triggers the inflammation is unknown.<sup>1</sup> There is no direct evidence that noninfectious anterior acute uveitis is an autoimmune disease, but various environmental and genetic stimuli, along with innate and adaptive immune responses, relate to this type of uveitis. Some cytokines are found in the eyes and peripheral blood of patients with uveitis.<sup>2–5</sup> Some recent studies have reported increased levels of cell growth factors, such as pigment epithelium derived factor (PEDF)<sup>6–8</sup> and vascular endothelial growth factor (VEGF), in the aqueous humors of patients with uveitis – both with and without macular edema, and even during periods of disease inactivity.<sup>9,10</sup>

Cell growth factors control cell growth and differentiation; regulating development and cell survival. They perform a crucial role in controlling cell proliferation. Alterations in signaling mediated by growth factors may be related to several inflammatory diseases. They also mutually interact to promote various healing or cell proliferation processes.<sup>11–18</sup>

Thrombopoietin (TPO) is a growth factor synthesized mainly in the liver. It is the main regulator of the proliferation and maturation of megakaryocytes and of the production of platelets, by which hematopoietic stem cells are regulated. It is also a positive vasculogenesis regulator,<sup>19–21</sup> and its relationship with VEGF has been shown to be essential for stem cells, inducing their production and specifically

promoting the production of two VEGF-A isoforms, VEGF121 and VEGF165 isoforms. VEGF also modulates the effects of TPO on hematological stem cells in an autocrine loop.<sup>22</sup> It has also been implicated in the pathophysiology of multiple inflammatory and immunoallergic conditions such as allergic asthma or inflammatory bowel disease, in which it appears to play a significant immunoregulatory role.<sup>23,24</sup> Studies with experimental mice models have demonstrated that VEGF acts as an acute-phase protein, and that its synthesis is induced by interleukin (IL)-6.<sup>25</sup> However, no studies of TPO levels in the aqueous humors of patients with uveitis have been reported to date.

This factor has been implicated in the pathophysiology of multiple inflammatory and immunoallergic conditions, where it could play an immunoregulatory role. The objective of the present study was to quantitatively measure TPO levels in the aqueous humors of patients with noninfectious acute anterior uveitis to establish whether or not they are impaired in these conditions.

### Materials and methods

---

This is a single-center, non-randomized, controlled, prospective, observational, comparative case study which evaluates TPO levels in the serum and aqueous humors of patients with noninfectious anterior uveitis referred to the Uveitis Unit of the Department of Ophthalmology of the Hospital Universitario La Fe (Valencia, Spain), a center of national reference for the study and treatment of this condition. Controls were obtained from the serum and aqueous humors of patients who were due to have cataract surgery, and who had no history of intraocular inflammatory disease, systemic disease or long-term drug therapy.

The study protocol met the requirements of the Declaration of Helsinki, and was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Hospital Universitario La Fe. Informed consent was obtained from all participants and specified the reason for the study.

The patient inclusion and exclusion criteria for the study were as follows:<sup>26</sup>

Inclusion criteria:

1. Diagnosis of classic acute anterior uveitis.
2. Untreated patients in the first episode of classic anterior uveitis, within the first 2–7 days of symptomatology. Eye inflammation (slit lamp microscopy grading of cells) rated moderate to severe (grade 2 to 4) according to the criteria of the International Ocular Inflammation Society and the Standardization Uveitis Nomenclature.<sup>26,27</sup>

Exclusion Criteria:

1. Diagnosis of hypertensive or granulomatous uveitis.
2. Specific clinical conditions, including Fuchs heterochromic iridocyclitis or Posner-Schlossman syndrome, uveitis caused by herpes, or toxoplasma in the aqueous humor sample, revealed by polymerase chain reaction (PCR).
3. Eye surgery in the 6 months prior to obtaining the sample.

4. Serology positive for HIV, syphilis or sarcoidosis (the latter revealed by angiotensin converting enzyme serum detection).
5. Cystoid macular edema, detected using optical coherence tomography (OCT).
6. Associated systemic diseases in the clinical history or revealed by clinical-radiological examination, or by HLA-B27 test.

Serum was obtained from peripheral blood of patients and controls.

Anterior chamber paracentesis prophylaxis, consisting of topical application of ofloxacin eye drops for three days, was performed before and after removal of aqueous humors. Immediately before removal, iodinated povidone in an ophthalmic dilution was applied to the conjunctival sac.<sup>28</sup> Paracentesis for sampling was performed at the clinic with a 30 G needle, with the aid of a slit lamp. Samples of at least 0.05–0.2 mL of aqueous humor were collected from each patient, and placed in sterile tubes and were stored immediately at  $-80^{\circ}\text{C}$  for subsequent processing. The specimens were classified and labeled in a masked fashion. All specimens were assayed for TPO in a double-blind arrangement with respect to their group. In the control group, composed of patients due to undergo cataract surgery, aqueous humors were removed immediately prior to surgery. The control group was age-matched with the uveitis group.

Quantitative measurement of protein concentrations in serum and aqueous humor samples was performed using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), marketed by Searchlights Human Angiogenesis Array<sup>®</sup> (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, USA).

The TPO value in standard curves was in the range of 12–3,000 pg/mL and the sensitivity of TPO measurement was 5.9 pg/mL. All procedures were performed on the same day, and according to the manufacturer's instructions.

The demographic data of the subjects were analyzed using the Windows statistical package SPSS Statistics for Windows, Version 19.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). The Mann–Whitney *U*-test for independent data was used to compare TPO levels in the groups, accepting  $P < 0.05$  as a significant value.

## Results

A total of 32 serum and aqueous humor samples were obtained from 16 patients with uveitis (nine male and seven female), and 16 controls (ten male and six female). All patients were Caucasian. No statistically significant differences were detected between the mean ages of the patients with uveitis (mean  $\pm$  standard deviation [SD];  $51.6 \pm 12.5$  years, range 35–79 years), and controls ( $59.2 \pm 11.2$  years, range 44–79 years), Student's *t*-test for independent data,  $P = 0.08$ .

With respect to the control group, the sensitivity of the ELISA test used was 5.9 pg/mL. [Table 1](#) shows the values obtained for TPO levels according to the ELISA technique in both groups. The mean TPO level measured in serum samples was  $35.4 \pm 12.94$  pg/mL (range 21.1–61.2 pg/mL) in patients with uveitis, and  $32.87 \pm 9.8$

pg/mL (range 15.3–50.7 pg/mL) in controls. No statistically significant difference was found between the control group and the individualized patients with anterior uveitis (Mann–Whitney *U*-test, *P*=0.82).

**Table 1**  
TPO levels in the serum and aqueous humor of uveitis patients and the control group: a noninfectious study, presented along with the age and sex of subjects

| Subject | Uveitis group |     |                                    | Control group              |             |     |                                    |
|---------|---------------|-----|------------------------------------|----------------------------|-------------|-----|------------------------------------|
|         | Age (years)   | Sex | Aqueous humor level of TPO (pg/mL) | Serum level of TPO (pg/mL) | Age (years) | Sex | Aqueous humor level of TPO (pg/mL) |
| 1       | 59            | M   | 49.2                               | 35.6                       | 50          | F   | 50.6                               |
| 2       | 53            | F   | 43.5                               | 29.2                       | 46          | M   | 51.2                               |
| 3       | 55            | F   | 33.5                               | 23.4                       | 52          | M   | 28.4                               |
| 4       | 48            | M   | 47.8                               | 31.2                       | 46          | F   | 33.7                               |
| 5       | 70            | M   | 40.0                               | 26.5                       | 50          | M   | 50.9                               |
| 6       | 47            | M   | 86.3                               | 61.2                       | 52          | M   | 35.0                               |

**Table 1**

TPO levels in the serum and aqueous humor of uveitis patients and the control group measured by enzyme-linked immunosorbent assay, presented along with the age and sex of subjects

The mean TPO level measured in the aqueous humor samples was 54.46±16.24 pg/mL (range 32.50–86.30 pg/mL) in patients with uveitis, and 34.32±11.63 pg/mL (range 14.80–51.20 pg/mL) in controls. A significant difference was found between the two groups (Mann–Whitney *U*-test, *P*=0.0008), with the patients with uveitis exhibiting significantly higher levels of TPO than the control group ([Figure 1](#)).



**Figure 1**

Thrombopoietin (TPO) levels in the aqueous humors of 16 patients with uveitis and 16 controls.

**Discussion**

The observation of higher levels of TPO in patients with noninfectious acute anterior uveitis raises questions relating to the cause and possible consequences of this condition.

Although TPO plays an important multifunctional regulatory role in hematopoiesis and vasculogenesis that is closely related to VEGF<sup>29</sup> there are many data that also relate it to inflammatory conditions. TPO is activated through the release of various proinflammatory cytokines, such as IL-1, IL-3, IL-6 and IL-11. These proinflammatory cytokines play a critical role in the triggering and development of multiple autoimmune conditions caused by dysregulation of the autoimmune response. All these cytokines interfere actively with cell immune and biochemical mediators at many levels. The regulation of this proinflammatory activity appears to be mediated by anti-inflammatory and immunosuppressive cytokines, such as IL-4,

IL-10 or transforming growth factor (TGF)- $\beta$ .<sup>30</sup> There are several reports of a significant increase in the expression of the *TPO* gene under inflammatory conditions, which suggests that it acts as an acute-phase protein.<sup>31</sup> It is also established that the synthesis of TPO in the liver can be induced by IL-6, while IL-6 stimulates thrombopoiesis through the action of TPO, and that the reactive thrombocytosis associated with some inflammatory conditions is mediated by IL-6 through the action of TPO.<sup>32–34</sup> A significant correlation between IL-6 and TPO is evident in the fact that the administration of IL-6 in patients with cancer produces an increase in TPO serum levels.<sup>35</sup>

Positive correlations have been found between TPO and C-reactive protein (CRP), but do not appear to affect platelet count. TPO acts as an acute-phase protein, and appears to be closely related to the action of IL-6 in inflammatory conditions.<sup>36,37</sup>

In some inflammatory diseases, such as Schönlein–Henoch disease, an increase in TPO has also been described along with IL-6, which is thought to be an acute-phase reactant; in fact, a secondary increase in the production of TPO has been reported in this condition.<sup>38</sup> TPO increases related to IL-6 have also been reported in the coronary disease inflammatory condition.<sup>39</sup>

The regulatory function of TPO has also been described in the differentiation of mast cells and its increase in patients with allergic asthma, which points to its involvement in immunoallergic conditions.<sup>21,22,40,41</sup> The importance of platelets as major agents in the defense against infection and the induction of tissue inflammation and repair has been confirmed.<sup>42</sup> Increases of IL-6 and TPO in the plasma of patients with inflammatory bowel disease and in sufferers of rheumatoid arthritis have also been documented.<sup>42,43</sup>

This body of evidence suggests that the increase of TPO – characteristic of uveitis, is associated with increments of other growth factors present in the aqueous humors of patients with this inflammatory condition, such as PEDF and VEGF.<sup>6–9</sup>

Compared to the control group, TPO levels in the aqueous humor in patients with noninfectious acute anterior uveitis were significantly higher, but there was no difference detected between plasma levels of TPO in patients vs controls.

We cannot directly determine the source of TPO in aqueous humors, but we think it is possible that its increase is not a result of the rupture of the blood–aqueous barrier, but rather derived from an increase in local production. It would be important to know whether this may be related to the pathophysiology of the disease, either as a cause or consequence, since many studies have shown that TPO expression increases during many inflammatory processes. Further studies are required to consider this possibility.

On the other hand, we should also contemplate the consequences that this increase in TPO may cause in the outcome of uveitis. Several studies in experimental models of autoimmune anterior uveitis have suggested that apoptosis plays a significant role in the resolution of uveitis, since apoptosis followed by phagocytosis is critical in the reduction of cell infiltration and subsequent resolution of the condition.<sup>44–49</sup>

In addition, other studies have related an increase in TPO to the inflammatory changes occurring in some central nervous system (CNS) infections, suggesting a

proapoptotic activity and a different regulation of production in the CNS to that in the liver, where it mostly occurs.[50,51](#)

One possible clinical application of this increase in TPO is its use in the modulation or resolution of uveitis. Indeed, unlike other growth factors, it is already commercially available.[52](#)

The statistically significant increase ( $P>0.001$ ) of the cell growth factor TPO in the aqueous humors of patients with noninfectious acute anterior uveitis indicates an involvement of this factor in this ocular inflammatory condition, perhaps as a mechanism of the repair process and linked to apoptosis. Any further knowledge of this and other cell growth factors is likely to lead to a better understanding of the pathophysiology of uveitis and other inflammatory conditions of the eye, and will no doubt be of great help in designing new therapeutic approaches involving new molecules, such as Romiplostim or Eltrombopag, which mimic the effect of TPO.[53,54](#)

In conclusion, the enhanced levels of TPO in the aqueous humor of patients with uveitis observed in this study lead us to support a cytoprotective role of this factor in inflammatory repair processes and the recovery of tissue homeostasis.

[Go to:](#)

### Footnotes

---

#### Disclosure

The authors have no conflicts of interest in this work.

[Go to:](#)

### References

---

1. Reeves SW, Sloan FA, Lee PP, Jaffe GJ. Uveitis in the elderly; epidemiological data from the National Long-term care Survey Medicare cohort. *Ophthalmology*. 2006;113:307–321. [[PubMed](#)]
2. Read S, Mauze S, Asseman C. CD38+CD45RB (low) CD4+ T cells: a population of T cells with immune regulatory activities in vitro. *Eur J Ophthalmol*. 1998;28:3435–3437. [[PubMed](#)]
3. Dick AD. Immune mechanism of uveitis: insights into disease and pathogenesis and treatment. *Int Ophthalmol Clin*. 2000;40:1–18. [[PubMed](#)]
4. Curnow SJ, Falciani F, Durrani OM, et al. Multiplex bead immunoassay analysis of aqueous humor reveals distinct cytokine profiles in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:4251–4259. [[PubMed](#)]

5. Simon D, Denniston AK, Tomlins PJ, et al. Soluble gp130, an antagonist of IL-6 transsignaling, is elevated in uveitis aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:3988–3991. [[PubMed](#)]
6. Curnow SJ, Murray PI. Inflammatory mediators of uveitis: cytokines and chemokines. *Curr Opin Ophthalmol.* 2006;17(6):532–537. [[PubMed](#)]
7. Yoshida Y, Yamagishi S, Matsui T, et al. Positive correlation of pigment epithelium derived factor and total antioxidant capacity in aqueous humor of patients with uveitis and proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 2007;91:1133–1134. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
8. Yoshida Y, Yamagishi S, Matsui T, et al. Increased levels of pigment epithelium derived factor in aqueous humor of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2007;91:149–150. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
9. Fine HF, Baffi J, Reed GF, Csaky KG, Nussenblatt RB. Aqueous humor and plasma vascular endothelial growth factor in uveitis-associated cystoids macular edema. *Am J Ophthalmol.* 2001;132:794–796. [[PubMed](#)]
10. Paroli MP, Teodori C, D’Alessandro M, Mariani P, Iannucci G, Paroli M. Increased vascular endothelial growth factor levels in aqueous humor and serum of patients with quiescent uveitis. *Eur J Ophthalmol.* 2007;17:938–942. [[PubMed](#)]
11. Arai K, Lee F, Miyajima S, Miyatake N. Cytokines; Coordinators of immune and inflammatory responses. *Ann Rev Biochem.* 1990;59:783–836. [[PubMed](#)]
12. Yanai R, Yamada N. Mitogenic and antiapoptotic effects of various growth factors on human corneal fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:2122–2126. [[PubMed](#)]
13. Roberts AB. The ever-increasing complexity of TGF- $\beta$  signaling. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13:3–5. [[PubMed](#)]
14. Kuhl PR, Griffith-Cima G. Tethered epidermal growth factor as a paradigm for growth factor-induced stimulation from the solid phase. *Nat Med.* 1996;2:1022–1027. [[PubMed](#)]
15. Dinbergs ID, Brown L. Cellular response to transforming growth factor 1 and basic fibroblast growth depends on release kinetics and extracellular matrix interactions. *J Biol Chem.* 1996;271:29822–29829. [[PubMed](#)]
16. Nathan C, Sporn M. Cytokines in context. *J Cell Biol.* 1991;113:981–986. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

17. Maldonado B, Furcht LT. Epidermal growth factor stimulates integrin-mediated cell migration of cultured human corneal epithelial cells on fibronectin and arginine-glycine-aspartic acid peptide. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36:2120–2126. [[PubMed](#)]
18. Imanishi J, Kamiyama K. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res.* 2000;19:113–129. [[PubMed](#)]
19. Willm J, Akkerman N. Thrombopoietin and platelet function. *Semin Thromb Hemost.* 2006;32:295–304. [[PubMed](#)]
20. Begley CG, Basser RL. Biologic and structural differences of thrombopoietin growth factors. *Semin Hematol.* 2000;37:19–27. [[PubMed](#)]
21. Kuter DJ, Begley CG. Recombinant human thrombopoietin basic biology and evaluation of clinical studies. *Blood.* 2002;100:3547–3569. [[PubMed](#)]
22. Kaushansky K. Thrombopoietin and the hematopoietic stem cell. *Ann NY Acad Sci.* 2005;1044:139–141. [[PubMed](#)]
23. Kemonia-Chetnik I, Bodzenta-Lukaszyk A, Butkiewicz A, Dymnicka-Piekarska V, Kemonia H. Thrombocytopoiesis in allergic asthma. *Pol Arch Med.* 2007;117:9–13. [[PubMed](#)]
24. Heits F, Stahl M, Ludwig D, Stange EF, Jelkmann W. Elevated serum thrombopoietin and interleukin-6 concentrations in thrombocytosis associated with inflammatory bowel disease. *J Interferon Cytokine Res.* 1999;19:757–760. [[PubMed](#)]
25. Burmester H, Wolber EM, Freitag P, Fandrey J, Jelkmann W. Thrombopoietin production in wild-type and interleukin-6 knockout mice with acute inflammation. *J Interferon Cytokine Res.* 2005;25:407–413. [[PubMed](#)]
26. Bloch-Michel E, Nussenblatt RB. International uveitis study group recommendations for the evaluations of intraocular inflammatory disease. *Am J Ophthalmol.* 1987;103:234–235. [[PubMed](#)]
27. Jabs DA, Nussenblatt JT. The standardization of uveitis nomenclature (SUN) Working group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the first international workshop. *Am J Ophthalmol.* 2005;140:509–516. [[PubMed](#)]

28. Cheung CMG, Durrani OM, Murray PI. The safety of anterior chamber paracentesis in patients with uveitis. *Br J Ophthalmology*. 2004;88:582–583. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
29. Eguchi M, Masuda H, Kwon S, et al. Lesion-targeted thrombopoietin potentiates vasculogenesis by enhancing motility and enlivenment of transplanted endothelial progenitor cells via activation of Akt/mTOR/p70s6kinase signaling pathway. *J Mol Cell Cardiol*. 2008;45:661–669. [[PubMed](#)]
30. Kim EY, Moudgil KD. Regulation of autoimmune inflammation by pro-inflammatory cytokines. *Immunol Lett*. 2008;120:1–5. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
31. Cerutti A, Custodi P, Duranti M, Noris P, Balduini CL. Thrombopoietin levels in patients with primary and reactive thrombocytosis. *Br J Haematol*. 1997;99:281–284. [[PubMed](#)]
32. Burmester H, Wolber EM, Freitag P, et al. Thrombopoietin production in wild-type and interleukin-6 knockout mice with acute inflammation. *J Interferon Cytokine Res*. 2005;25:407–413. [[PubMed](#)]
33. Kaser A, Brandacher G, Steurer W, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood*. 2001;98:2720–2725. [[PubMed](#)]
34. Ceresa IF, Noris P, Ambaglio C, et al. Thrombopoietin is not uniquely responsible of thrombocytosis in inflammatory disorders. *Platelets*. 2007;18:579–582. [[PubMed](#)]
35. Hollen CW, Henthorn J, Koziol JA, et al. Elevated serum interleukin-6 levels in patients with reactive thrombocytosis. *Br J Haematol*. 1991;79:286–290. [[PubMed](#)]
36. Cerutti A, Custodi P, Duranti M, Cazzola M, Balduini CL. Circulating thrombopoietin in reactive conditions behaves like an acute phase reactant. *Clin Lab Haematol*. 1999;21:271–275. [[PubMed](#)]
37. Ishiguro A, Suzuki Y, Mito M, et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in acute infections. *Br J Haematol*. 2002;116:612–618. [[PubMed](#)]
38. Lin CY, Yang YH, Lee CC, Huang CL, Wang LC, Chiang BL. Thrombopoietin interleukin-6 levels in Henoch-Schönlein purpura. *J Microbiol Immunol Infect*. 2006;39:476–482. [[PubMed](#)]
39. Cotton JM, Hong Y, Hawe E, et al. Rise of circulating thrombopoietin following cardiothoracic surgery is potentiated in patients with coronary atherosclerosis:

- correlation with a preceding increase in levels of interleukin-6. *Thromb Haemost.* 2003;89:538–543. [[PubMed](#)]
40. Wolber EM, Fandrey J, Frackowski V, Jelkmann W. Hepatic thrombopoietin mRNA is increased in acute inflammation. *Thromb Haemost.* 2001;86:1421–1424. [[PubMed](#)]
41. Migliaccio AR. Role of thrombopoietin in mast cell differentiation. *Ann NY Acad Sci.*2007;27:152–174. [[PubMed](#)]
42. Klinger MH, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res.* 2007;22:913–922. [[PubMed](#)]
43. Heits F, Stahl M, Ludwig D, Stange EF, Jelkmann W. Elevated serum thrombopoietin and interleukin-6 concentrations in thrombocytosis associated with inflammatory bowel disease. *J Interferon Cytokine Res.* 1999;19:757–760. [[PubMed](#)]
44. Yu HG, Chung H, Lee WJ. Apoptosis of CD4<sup>+</sup> T cells occurs in experimental autoimmune anterior uveitis (EAAU) *Clin Exp Immunol.* 1999;118:357–363. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
45. Yang P, Herzberg NH, Zhou H, Broersma L, de Smet M, Kijlstra A. Apoptosis of infiltrating cells in experimental autoimmune uveoretinitis. *Chin Med J (Engl)* 2000;113:643–646.[[PubMed](#)]
46. Poulaki V, Mitsiades N, Mastorakos G, Caspi RR, Chrousos GP, Bouzas E. Fas/Fas ligand-associated apoptosis in experimental autoimmune uveoretinitis in rodents: role of proinflammatory corticotropin-releasing hormone. *Exp Eye Res.* 2001;72:623–629. [[PubMed](#)]
47. Smith JR, Hart PH, Standfield SD, Coster DJ, Wing SJ, Williams KA. Apoptosis is a prominent feature of acute anterior uveitis in the Fischer 344 rat. *Br J Ophthalmol.*2000;84:205–211. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
48. Li Q, Sun B, Matteson DM, O'Brien TP, Chan CC. Cytokines and apoptotic molecules in experimental melanin-protein induced uveitis (EMIU) and experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) Autoimmunity. 1999;30:171–182. [[PubMed](#)]
49. Jha P, Matta B, Lyzogubov L, Tytarenko R, Bora PS, Bora NS. Crucial role of apoptosis in the resolution of experimental autoimmune anterior uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*2007;48:5091–5100. [[PubMed](#)]

50. Reinhol A, Zhang J, Gessner R, Felderhoff-Mueser U, Obladen M, Dame C. High thrombopoietin concentration in the cerebrospinal fluid of neonate with sepsis and intraventricular hemorrhage may contribute to brain damage. *J Interferon Cytokine Res.* 2007;27:137–145. [[PubMed](#)]

51. Ertenli I, Kiraz S, Oztürk MA, Haznedaroglu I, Celik I, Calgüneri M. Pathologic thrombopoiesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2003;23:49–50. [[PubMed](#)]

52. Stasi R, Evangelista ML, Amadori S. Novel thrombopoietic agents: a review of their use in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Drugs.* 2008;68:901–912. [[PubMed](#)]

53. Haznedaroglu IC, Goker H, Turgut M, Buyukasik Y, Benekli M. Thrombopoietin as a drug: biological expectations, clinical realities, and future directions. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis.* 2002;8:193–212. [[PubMed](#)]

54. Wadhwa M, Thorpe R. Haematopoietic growth factors and their therapeutic use. *Thromb Haemost.* 2008;99:863–873. [[PubMed](#)]

---

Articles from *Clinical Ophthalmology* (Auckland, N.Z.) are provided here courtesy of **Dove Press**

