

# Desprendimiento experimental bioquímico reversible de la retina sin retinotomías para traslocación macular

Jose Aranda Rabago\*, Jose Luis Guerrero-Naranjo\*, Jorge Larriva-Saad\*\*, Hampar Karaegozian\*\*\*, Juan Manuel Jiménez Sierra\*, Pedro Cervantes-Fanning\*, Hugo Quiroz Mercado\*

## RESUMEN

**Propósito.** La creación de un desprendimiento de retina es un componente esencial para la traslocación macular. El propósito de este estudio es el de evitar métodos mecánicos que dañen la integridad de la retina y que promuevan la aparición de vitreorretinopatía proliferativa.

**Métodos.** Se aplicaron, con diferencia de 15 días, dos inyecciones intravítreas conteniendo hialuronidasa (0.30 ml) y ACS-300 (0.50 ml) a diferentes concentraciones a 10 conejos. Todos fueron observados a las 24, 36 y 48 h y a las 1, 2, 3 y 4 semanas por oftalmoscopia. Se les realizó ERG antes, durante y después, para evaluar la seguridad del ACS-300. Tres ojos fueron enucleados y examinados por microscopia electrónica.

**Resultados.** Se observó en 87.5% de los conejos desprendimiento de retina total o parcial en un tiempo promedio de 48 h y, asimismo, 100% de las retinas reaplicaron en un promedio de tiempo de 2 a 3 semanas. No se observaron efectos adversos por ERG o microscopia electrónica.

**Conclusiones.** La inyección intravítrea de hialuronidasa y ACS-300 es un método no mecánico seguro para inducir un desprendimiento de retina en conejos y puede ser efectivo para la traslocación macular.

**Palabras clave:** Desprendimiento de retina, retinotomía, enzimático.

## SUMMARY

**Purpose.** Creation of retinal detachment is an essential component of macular translocation. The purpose of the study is to avoid mechanical methods that damage the integrity of the retina and promote the appearance of PVR.

**Methods.** Hialuronidase (0.30 ml) and ACS-300 (0.50 ml) at different concentrations were injected into de vitreous cavity of 10 pigmented rabbits with a two week separation between each other. All rabbits were observed at 24, 36 and 72 h and also 1, 2, 3 and 4 weeks by ophtalmoscopy. ERG was performed before, during and after to evaluate de safety of ACS-300. Three eyes were enucleated and examined by electronic microscopy.

**Results.** In 87.5% of the eyes, partial or total retina detachment was observed in an average of time of 48 h, and in 100% of the eyes the retina reattached spontaneously in an average of time of 2-3 weeks. No adverse effects were detectable by ERG or electronic microscopy.

**Conclusions.** Intravitreal injection of hialuronidase and ACS-300 is a safe non-mechanical method for creating retinal detachment in rabbits and that may be effective for macular translocation.

**Key words:** Retinal detachment, retinotomies, enzymatic.

## INTRODUCCIÓN

La traslocación macular es una intervención quirúrgica de reciente descripción, que tiene como fin brindar una opción

terapéutica a todos aquellos pacientes con degeneración macular relacionada con la edad. De acuerdo con la Academia Americana de Oftalmología, la degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) es la principal causa de pérdi-

\* Asociación para Evitar la Ceguera en México, Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes.

\*\* Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla.

\*\*\* Advanced Corneal System, Irving, California, EUA.

Correspondencia: Dr. José Aranda Rábago. E-mail: arandapepe@yahoo.com

da irreversible de la visión central en personas mayores de 65 años, y representa casi 60% de la ceguera legal para este grupo de edad (1), ya que es un padecimiento degenerativo y progresivo del epitelio pigmentado de la retina (EPR), membrana de Bruch y coriocalpilar. Estos cambios pueden ser expresiones del envejecimiento normal con trastornos mínimos funcionales y en ocasiones adquieren francas características patológicas con pérdida de la visión central (2, 3).

La causa de la DMRE es multifactorial, teniendo como principales factores de riesgo la edad, la hipertensión arterial sistémica, el tabaquismo y la fototoxicidad (4). Por otro lado, el desconocimiento de un mecanismo y una secuencia causal exactos hacen que el tratamiento diste mucho de ser efectivo. En la actualidad uno de los tratamientos de mayor aceptación es con terapia fotodinámica de las membranas subfoveales obteniendo resultados aceptables a largo plazo en algunos casos, sin embargo, en la gran mayoría resultan en pérdida inmediata de algo de visión (5, 6). Este procedimiento quirúrgico promete preservar la visión de miles de personas afectadas por la DMRE.

La traslocación macular fue diseñada para mover o trasladar la fovea de una región subyacente del EPR afectado a otra parte que se encuentre sana o bien en mejores condiciones. Esto permite tratar el área afectada subyacente a la mácula evitando destruir la fovea, sin embargo, este procedimiento está limitado a individuos con pérdida visual severa reciente, menor de tres meses, ligada a hemorragias retinianas, las cuales deben ser pequeñas para poder rotarlas fuera del centro de visión, pacientes con membranas, y está en estudio el posible beneficio en pacientes con otros problemas retinianos ligados a miopía progresiva o a histoplasmosis ocular (7, 8).

Existen diferentes técnicas para realizar la traslocación macular, sin embargo, todas tienen en común el generar un desprendimiento regmatógeno mediante una cánula flexible calibre 39 o 27 que se utiliza para inyectar solución salina balanceada en el espacio subretiniano, para de esta manera desprender la retina sensorial del epitelio pigmentado, creando así un desprendimiento de retina casi total (9, 10).

Cabe señalar que este desprendimiento es mecánico y, por lo tanto, favorece la aparición de vitreorretinopatía proliferativa (VRP) (11), ya que al crear un agujero en la retina se provoca que las células del epitelio pigmentado, normalmente adheridas a la membrana de Bruch, se dispersen y emigren a través del agujero que se acaba de crear, hacia la cavidad vítrea y sobre la superficie y por debajo de la retina. Esto provoca ruptura de la barrera hematorretiniana con el paso consiguiente de exudado inflamatorio, fibronectina, factor derivado de plaquetas (PDGF), trombina y factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), los cuales estimulan a las células del EPR induciendo su proliferación y el desarrollo de cambios metaplásicos que les confieren características de fibroblastos, macrófagos y miofibroblastos (12, 13) que son factores importantes en los fenómenos de contracción de las membranas que se organizan en forma secundaria. La distancia promedio que debe moverse la retina es de 0.3 a 0.4 mm.

En cuanto a los resultados y evolución de los pacientes, realmente la información es insuficiente debido a un tiempo

de análisis corto. Sin embargo, existe el antecedente experimentado en casos recientes, que consiste en que los pacientes operados refieren metamorfopsias o diplopía que generalmente desaparecen a las 4 a 8 semanas (14).

Para lograr el propósito de este estudio se utilizarán dos enzimas: hialuronidasa altamente purificada y ACS-300 [alfa-hidro-w-hidroxipoli (oxi 1, 2-etanedil)] inyectadas dentro del cuerpo vítreo.

Con la introducción intravítrea de ambas sustancias se espera tener una disminución en las retinotomías y en las complicaciones, al crear un desprendimiento total de retina en forma enzimática y esperando una reaplicación de la misma en forma espontánea sin mostrar daño funcional o morfológico en los fotorreceptores.

## MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo, experimental, longitudinal, descriptivo en 10 conejos domésticos, raza Nueva Zelanda, de cualquier edad, provenientes de diferentes camadas, que se dividieron en 5 grupos y que fueron elegidos aleatoriamente. Todas las inyecciones se aplicaron dentro del cuerpo vítreo del ojo derecho de los conejos, y se tomó al ojo izquierdo como grupo control.

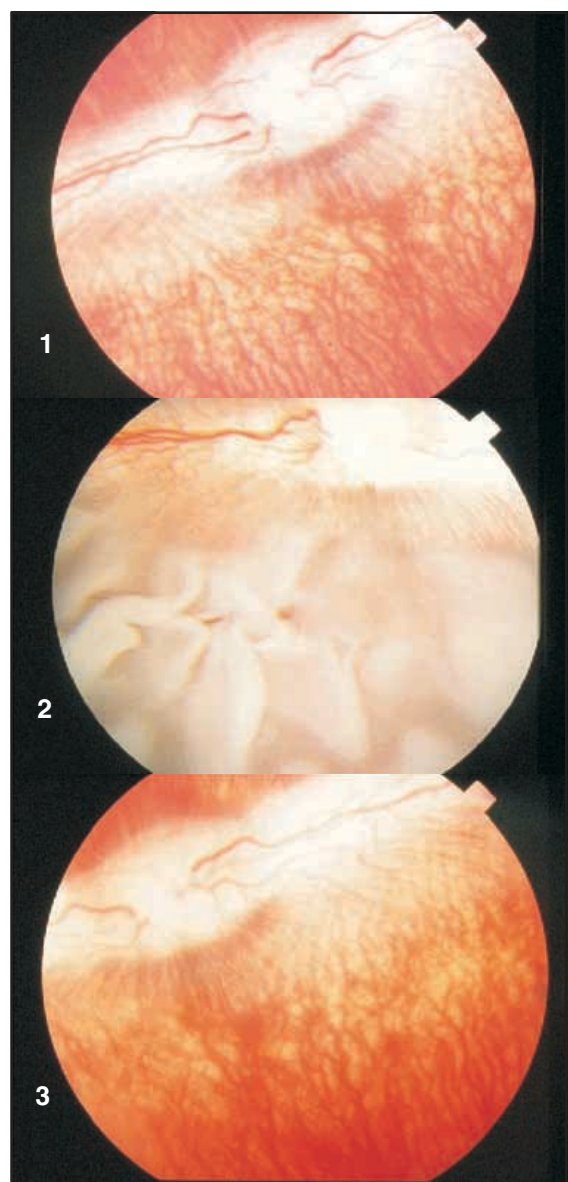
El primer grupo recibió una inyección de hialuronidasa y dos semanas después una inyección de ACS-300 al 25%; el segundo grupo recibió una inyección de hialuronidasa y dos semanas después una inyección de ACS-300 al 50%; el tercer grupo recibió una inyección de hialuronidasa y dos semanas después una inyección de ACS-300 al 75%; el cuarto grupo recibió una inyección de hialuronidasa y dos semanas después una inyección de ACS-300 al 100% y, finalmente, el quinto grupo fue considerado el grupo control y recibió una inyección de hialuronidasa y dos semanas después una inyección de solución salina balanceada.

Las variables oculares medidas para determinar la seguridad y eficacia incluyeron los siguientes parámetros. Previo a la inyección de las sustancias, se tomó fotografía de fondo de ojo, ultrasonografía (modo B) y electrorretinograma. El primer día se aplicó hialuronidasa intravítrea (0.30 ml) exclusivamente en el ojo derecho del conejo. Al quinceavo día se aplicó ACS-300 (0.50 ml) a diferentes concentraciones en el mismo ojo en que se inyectó la hialuronidasa.

Se efectuaron revisiones clínicas de fondo de ojo a las 24, 36, 48 y 72 h y 1, 2, 3 y 4 semanas, y se repitieron los estudios de ingreso al observarse clínicamente desprendimiento de retina y al observarse clínicamente reaplicación (figura 1). Se hizo enucleación de tres ojos que presentaron el mejor resultado, y se examinaron por microscopia electrónica para evaluar la existencia de daño morfológico a los fotorreceptores.

## RESULTADOS

En la revisión prequirúrgica las características de la retina de los 10 conejos estudiados fueron normales, sin embargo, pos-



**Fig. 1.** Fotografías que esquematizan el desprendimiento de retina obtenido posterior a la inyección de ACS-300, y demuestran que clínicamente la retina, a las dos semanas, está intacta. 1. Prequirúrgica; 2. A las 24 h; 3. A las 2 semanas.

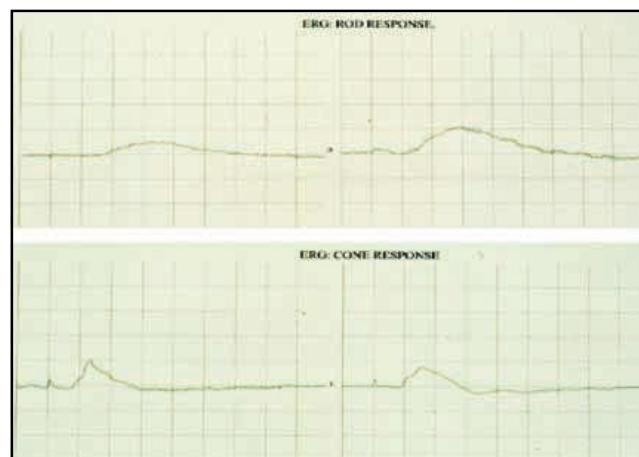
terior a realización de la maniobra experimental podemos analizar lo sucedido en el cuadro 1 en donde destaca que los conejos del grupo ACS-300 presentaron consistentemente valores más altos correspondientes a un mayor desprendimiento de retina valorado clínicamente y, por otro lado, que los valores de p obtenidos de la comparación entre el grupo control y el de estudio (SSB y ACS-300 respectivamente) por la prueba no paramétrica revelan una diferencia estadísticamente marginal; sin embargo, en este caso se explica por el tamaño de la muestra, y que a las 24 y 48 h hubo un caso en el que no se logró el desprendimiento de retina en el grupo de estudio.

En cuanto a los resultados que se observaron por ultrasonografía podemos analizar en el cuadro 2 que 87.5%

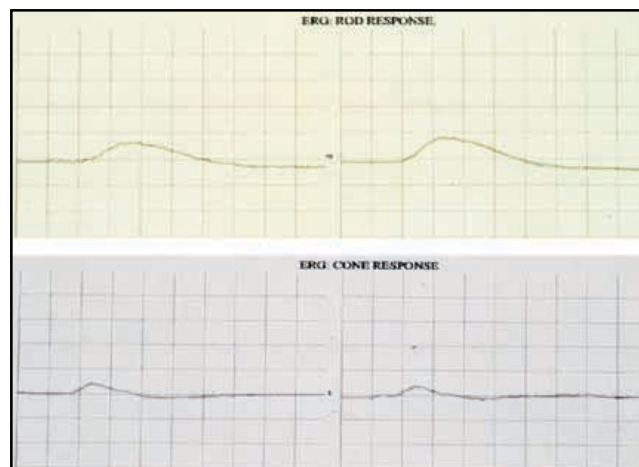
de las retinas que recibieron la inyección intravítrea con ACS-300 presentaron un desprendimiento de retina detectado por ultrasonido, ya sea en forma localizada o total, como fue el caso del grupo de conejos que recibieron la inyección de ACS-300 al 75%, de lo cual hasta el momento, y debido a que se trata de una sustancia experimental, no tenemos una explicación de por qué este grupo en especial presentó un desprendimiento total.

Por otro lado podemos ver que el grupo control que recibió la segunda inyección intravítrea de solución salina balanceada, como era de esperarse, no presentó ningún cambio en la retina.

Para analizar el daño funcional a los fotorreceptores se realizó electroretinograma a los conejos. Los resultados que se presentan en el cuadro 3 evidencian que 75% de los conejos presentaron un ERG disminuido a las tres semanas posteriores a la inyección de ACS-300 (figuras 2 y 3), y si tenemos en cuenta que sólo uno de los conejos continuaba con un desprendimiento en un cuadrante, de acuerdo con el cuadro 1 y comparado con los ERG iniciales, los cuales obviamente eran normales, podemos decir que la inyección de esta sus-



**Fig. 2.** Electrorretinogramas prequirúrgicos.



**Fig. 3.** Electrorretinogramas finales. Demuestran actividad eléctrica posterior al desprendimiento de retina inducido por la inyección de ACS-300.

**Cuadro 1. Evaluación clínica del desprendimiento de retina**

|         | 24 hrs |    | 48 hrs |    | 1 sem |    | 2 sem |    | 3 sem |    | 4 sem |    | 5 sem |    |
|---------|--------|----|--------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
|         | C1     | C2 | C1     | C2 | C1    | C2 | C1    | C2 | C1    | C2 | C1    | C2 | C1    | C2 |
| ACS-300 |        |    |        |    |       |    |       |    |       |    |       |    |       |    |
| 100%    | 5      | 5  | 5      | 5  | 2     | 2  | 2     | 2  | 2     | 1  | 2     | 1  | 1     | 1  |
| 75%     | 5      | 3  | 3      | 3  | 3     | 3  | 1     | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  |
| 50%     | 2      | 3  | 2      | 2  | 2     | 3  | 1     | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  |
| 25%     | 3      | 1  | 2      | 1  | 3     | 1  | 2     | 1  | 2     | 1  | 2     | 1  | 2     | 1  |
| SSB     | 1      | 1  | 1      | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  | 1     | 1  |
| P*      | 0.06   |    | 0.06   |    | 0.03  |    | 0.33  |    | 0.45  |    | 0.45  |    | 0.45  |    |

1. Sin DR; 2. DR en 1 cuadrante; 3. DR en 2 cuadrantes; 4. DR en 3 cuadrantes, 5. DR total.

Hrs = horas, sem = semanas, C1 = Conejo 1, C2 = Conejo 2, SSB = Solución salina balanceada.

\* Prueba de Wilcoxon para muestras independientes, analizando las observaciones con ACS-300 a diferentes concentraciones contra las observadas con SSB.

tancia es segura en cuanto a que preserva la función de la retina.

Sin embargo, es importante el señalar que uno de los conejos que recibió la inyección de ACS-300 al 50% fue el único que desarrolló un desprendimiento parcial y que mostró un ERG normal a las tres semanas posteriores a la inyección de la sustancia, y por otro lado el conejo que recibió la inyección al 25% fue el único que recibió la sustancia en estudio y que no presentó desprendimiento de retina en ningún momento y que finalmente también mostró un ERG normal, lo cual nos indica que la sustancia no es tóxica para los fotorreceptores, a pesar de no haber generado el resultado esperado.

Finalmente a tres conejos se les enucleó para investigar, mediante microscopia electrónica, daño morfológico a los fotorreceptores encontrando, como se evidencia en las figuras 4 y 5 una integridad absoluta de éstos, así como de su unión con el epitelio pigmentario de la retina.

## DISCUSIÓN

Como se mencionó al principio, de acuerdo con la Academia Americana de Oftalmología, la DMRE es la principal causa de pérdida irreversible de la visión central en personas mayores de 65 años, y representa casi 60% de la ceguera legal para este grupo de edad (1). Por otro lado, los métodos actualmente accesibles para generar desprendimiento de retina para realizar una traslocación macular incluyen, en todos los casos, la realización de retinotomías por medios mecánicos

que, como sabemos, pueden generar formación de VRP. Por ese motivo quisimos buscar alguna alternativa con la cual se pudiera generar un desprendimiento de retina evitando los métodos mecánicos.

Dentro de los resultados llama la atención el hecho que los ERG realizados a las retinas reaplicadas fueron en todos los casos registrables, pero de menor intensidad. Esto puede deberse al hecho de que cualquier retina desprendida causa la muerte de las neuronas (fotorreceptores) al desmontar el segmento externo y los axones terminales de la capa plexiforme externa. Al mismo tiempo las mitocondrias del segmento interno de los fotorreceptores se dispersan y las células de Müller proliferan y se hipertrofian.

Es importante señalar que las reacciones de las neuronas retinianas y la glía son diametralmente opuestas, ya que las neuronas (fotorreceptores) degeneran, mientras que la glía prolifera, y aparentemente estos cambios pueden inducir disminución de la respuesta de algunos fotorreceptores. Sin embargo, de acuerdo con el estudio histopatológico y de microscopia electrónica, aparentemente el desprendimiento de retina inducido por la aplicación de la inyección intravítrea de ACS-300 no daña la integridad de los fotorreceptores.

Por otro lado resalta el hecho de que el mayor porcentaje de desprendimiento se obtuvo con la inyección de ACS-300 al 100%, sin embargo, a todas las concentraciones aplicadas en forma intravítrea se demostró un desprendimiento de retina al menos parcial, con excepción de un caso, para lo cual no tenemos explicación hasta el momento debido a que se trata de una sustancia nueva y experimental.

**Cuadro 2. Evaluación de la retina por ultrasonido posterior a una semana**

|         |               |     |
|---------|---------------|-----|
| ACS-300 |               |     |
| 100%    | DR parcial    | (2) |
| 75%     | DR total      | (2) |
| 50%     | DR parcial    | (2) |
| 25%     | DR parcial    | (1) |
| SSB     | Retina normal | (2) |

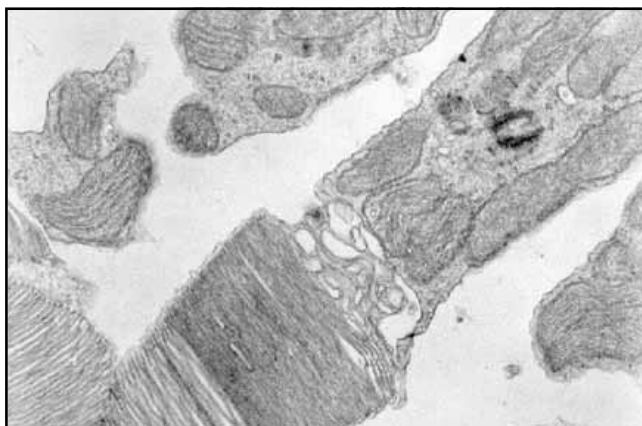
( ) Número de conejos.

**Cuadro 3. Evaluación con ERG posterior a tres semanas**

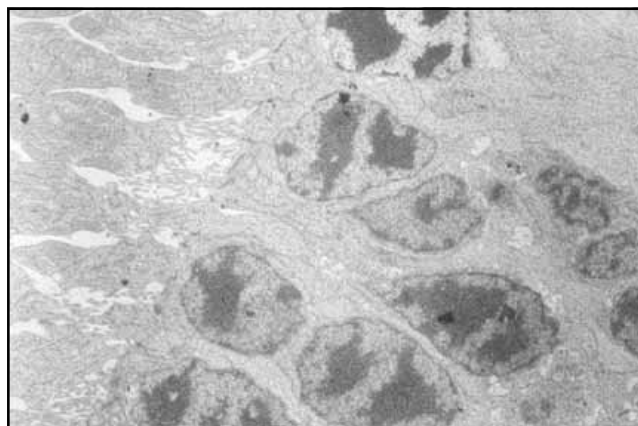
| ACS-300 | Respuesta  | Respuesta      |
|---------|------------|----------------|
| 100%    |            | Disminuida (2) |
| 75%     |            | Disminuida (2) |
| 50%     | Normal (1) | Disminuida (1) |
| 25%     | Normal (1) | Disminuida (1) |
| SSB     | Normal (1) |                |

( ) Número de conejos





**Fig. 4.** Fotografía de microscopia electrónica que demuestra la integridad de los fotorreceptores.



**Fig. 5.** Fotografía de microscopia electrónica que demuestra que los enlaces de los fotorreceptores con el epitelio pigmentario de retina se encuentran sin alteraciones.

## CONCLUSIONES

Por todo lo anterior y teniendo en cuenta que se trata de una sustancia que, por ser experimental, se le desconocen muchas propiedades, podríamos decir de acuerdo con los resultados obtenidos que una inyección intravítrea de hialuronidasa (0.30 ml) y dos semanas después una segunda inyección intravítrea de ACS-300 (0.50 ml), es un método no mecánico seguro para crear un desprendimiento de retina en conejos y que puede ser efectivo para realizar traslocación macular, evitando gran parte de las complicaciones que presenta esta técnica quirúrgica en la actualidad.

Sin embargo, estamos conscientes de que se requieren estudios posteriores en otras especies y a largo plazo, para poder determinar la seguridad y eficacia de ACS-300 para generar desprendimiento de retina planeado.

## REFERENCIAS

1. Klein R, Klein BE, Linton KL. Prevalence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1992; 99:933-943.
2. Atmaca LS, Ozmert E, Idil A. Natural progression of age-related macular degeneration. *Ann Ophthalmol* 1993; 25(11):412-7.
3. Bird A. Age-related macular disease. *Br J Ophthalmol* 1996; 80(1):2-3.
4. Klaver CC, Assink JJ y col. Smoking is also associated with age-related macular degeneration in persons aged 85 years and older: The Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol* 1997; 115(7):945-52.
5. Macular Photocoagulation Study Group. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions in age-related macular

- degeneration: results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1220-1231.
6. Macular Photocoagulation Study Group. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration: update findings from two clinical trials. *Arch Ophthalmol* 1993; 111:1200-1209.
7. Holekamp NM, Thomas MA, Dickinson JD y col. Surgical removal of subfoveal choroidal neovascularization in presumed ocular histoplasmosis: stability of early visual results. *Ophthalmology* 1997;104:22-26.
8. Bottoni F, Airaghi P, Perego E y col. Surgical removal of idiopathic, myopic and age-related subfoveal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996; 234:42-50.
9. de Juan EJr., Lowenstein A, Bressler NM, Alexander J. Translocation of the retina for management of subfoveal choroidal neovascularization II: a Preliminary report in humans. *Am J Ophthalmol* 1998; 125(5):635-46.
10. Machemer R, Steinhorst UH. Retinal separation, retinotomy, and macular relocation: I. Experimental studies in the rabbit eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993; 231:629-634.
11. Akduman L, Karavellas MP, Mac Donald JC y col. Macular traslocation with retinotomy and retinal rotation for exudative age-related macular degeneration. *Retina* 1999; 19(5):418-23.
12. Cassidy L, Barry P, Shaw C y col. Platelet derived growth factor levels in vitreous of patients with vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 1998; 82(2):181-5.
13. Lashkari K, Rahimi N, Kazlauskas A. Induction of arachidonic and metabolite release by human fibroblast in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 341(1): 111-7.
14. Seaber JH, Machemer R. Adaptation to monocular torsion after macular traslocation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997; 235:76-81.

### Cita histórica:

Tanto la retinoscopia linear como la aplicación clínica del equivalente esférico son aportaciones de **Jack Copeland** (1928) a la refractometría.