

Biomarcadores del glaucoma primario de ángulo abierto y pseudoexfoliativo en lágrima y en humor acuoso.

Beatriz Vidal Villegas, Bárbara Burgos Blasco, Francisco Javier Moreno Morillo, Federico Sáenz-Francés San Baldomero, Jose María Martínez de la Casa.

Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos, C/ Profesor Martín Lagos s/n, 28040 Madrid

Propósito: Estudiar los niveles de citoquinas y factores de crecimiento en humor acuoso y lágrima de pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) y con glaucoma pseudoexfoliativo (GPEX), relacionar las concentraciones de citoquinas en lágrima y en humor acuoso en los dos tipos de glaucoma y comparar las concentraciones de citoquinas en humor acuoso y en lágrima entre los dos tipos de glaucoma

Métodos: Estudio clínico observacional transversal. Se incluyeron en el estudio 14 pacientes con GPAA y 15 con GPEX que iban a ser intervenidos de cirugía de cataratas.

Se obtuvieron datos epidemiológicos y de exploración ocular (Mejor agudeza Visual Corregida –MAVC-, presión intraocular (PIO), número y tipo de fármacos hipotensores oculares que utilizaban, índices de campo visual y espesor de capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar (CFNR) de las historias clínicas y exploraciones de los pacientes.

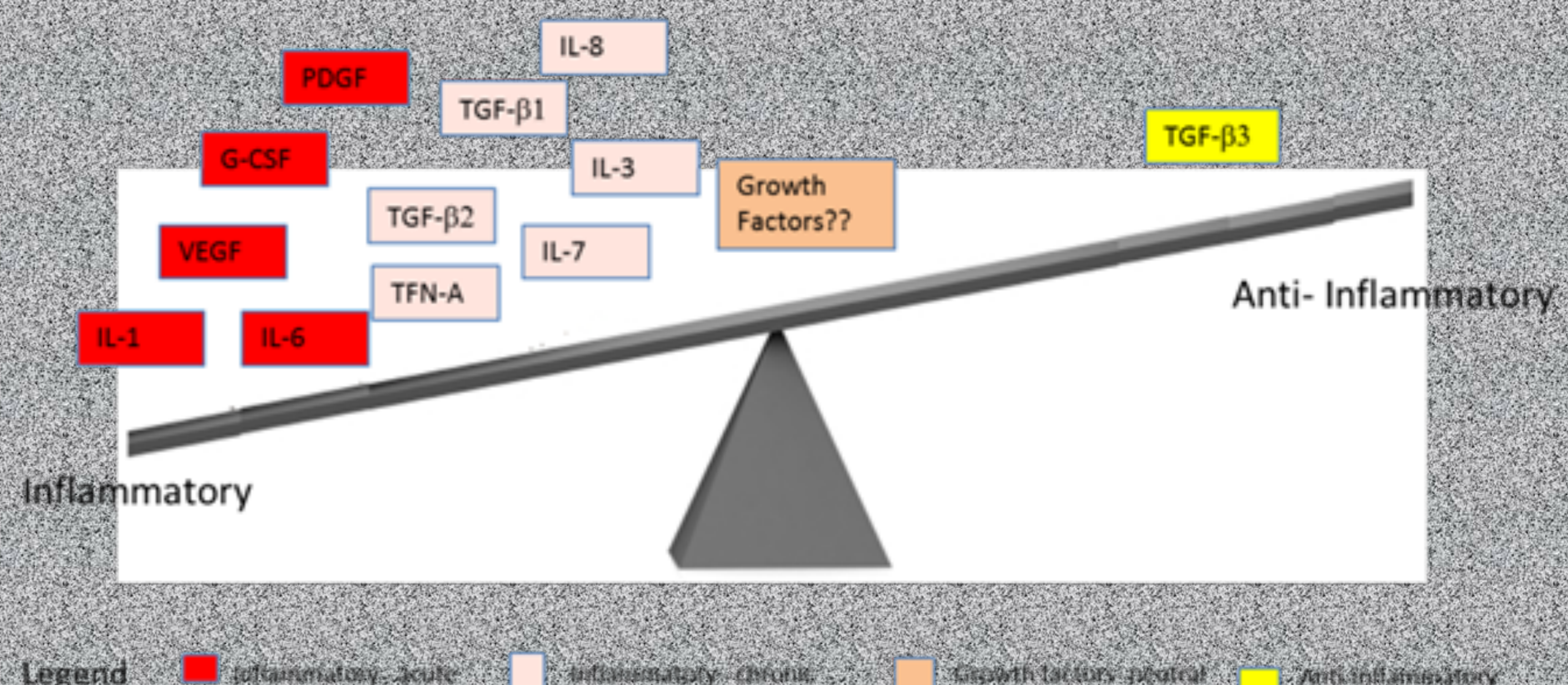
Se recogieron muestras de lágrima de los pacientes a su llegada al Servicio y del humor acuoso al comienzo de la cirugía (Figura 1). Se analizaron en lágrima y en humor acuoso los niveles de 27 citoquinas y factores de crecimiento mediante el kit de inmunodetección Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-Plex Inmunoassay (Laboratorios Bio-Rad, España; Figura 2). Este kit determina la concentración de citoquinas pro- y anti-inflamatorias (Figura 3). Las concentraciones de citoquinas se determinaron mediante interpolación de la fluorescencia obtenida con curvas standard y corregidas por volumen de muestra con el software Bio-Plex Manager™. Se realizó un análisis estadístico utilizando el software SAS para Windows, versión 9.2. Los datos obtenidos de la historia clínica del paciente y de las muestras de lágrima y de humor acuoso fueron introducidos en hojas de Excel para su análisis estadístico mediante el programa SPSS (versión X). Las variables cuantitativas fueron analizadas utilizando la prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes. Se utilizó también el coeficiente de correlación de Pearson para evaluar la correlación entre los niveles de citoquinas en humor acuoso y en lágrima. Se consideró significativa una $p < 0,05$.



Figura 1



Figura 2



Legend ■ Inflammatory - acute ■ Inflammatory - chronic ■ Growth factors - fibrotic ■ Anti-inflammatory

Figura 3



Hospital Clínico San Carlos

Comunidad de Madrid



Resultados:

La edad media de los pacientes y las PIOs pre- y post-cirugía de cataratas fueron similares en los dos tipos de glaucoma, pero la MAVC fue significativamente mayor en el GPAA, tanto pre como postoperatoriamente, el defecto medio del campo visual preoperatorio fue significativamente mayor en el grupo del GPEX y el espesor de la CFNRp del sector temporal superior fue significativamente menor en el GPEX. El número de fármacos hipotensores oculares preoperatorios fue de $1,69 \pm 0,63$ y de $1,64 \pm 0,84$, y postoperatorios de $0,69 \pm 0,75$ y $0,79 \pm 0,80$ en el GPAA el GPEX, respectivamente, no encontrándose diferencias significativas entre los grupos.

Tres citoquinas del humor acuoso presentaron concentraciones diferentes entre los dos tipos de glaucoma: la IL12(p70) y la IL13 (pro- y anti-inflamatoria, respectivamente) estaban elevadas en el GPAA y la MCP1(MCAF, pro-inflamatoria) estaba elevada en el GPEX (Figuras 4 y 5).

Se correlacionaron las concentraciones de citoquinas en lágrima y humor acuoso y en el GPAA no existió una correlación entre ellas, pero en el GPEX existió una correlación significativa de tres citoquinas pro-inflamatorias: IFN Gamma, MIP1 β y VEGF.

El número de fármacos hipotensores oculares tópicos administrados se correlacionó significativamente con una disminución de la concentración de dos citoquinas pro-inflamatorias (IL7 y FGF básico) en humor acuoso en el GPAA y con una disminución de una citoquina pro-inflamatoria IL12(p70) en lágrima en el GPEX.

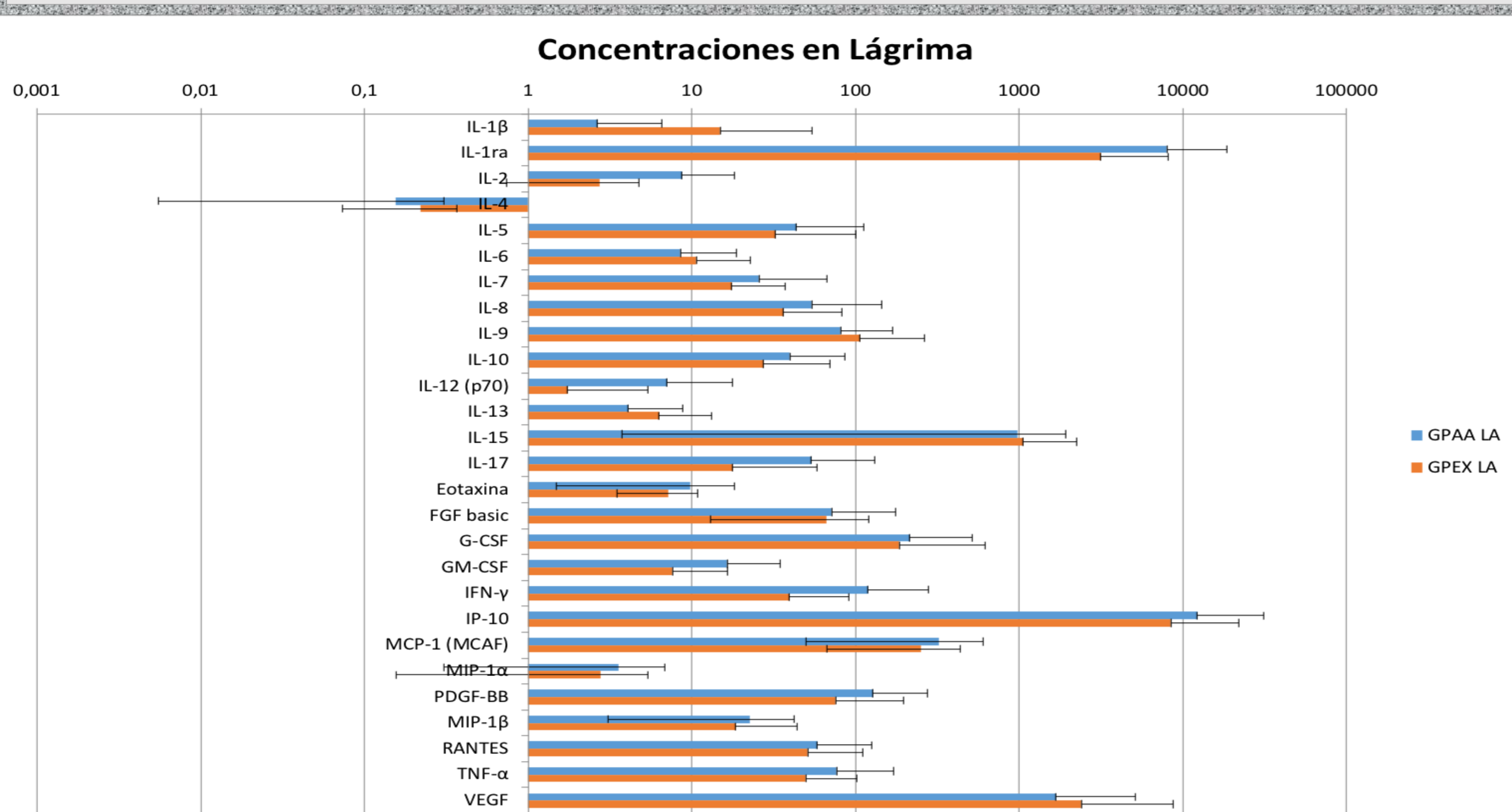


Figura 4

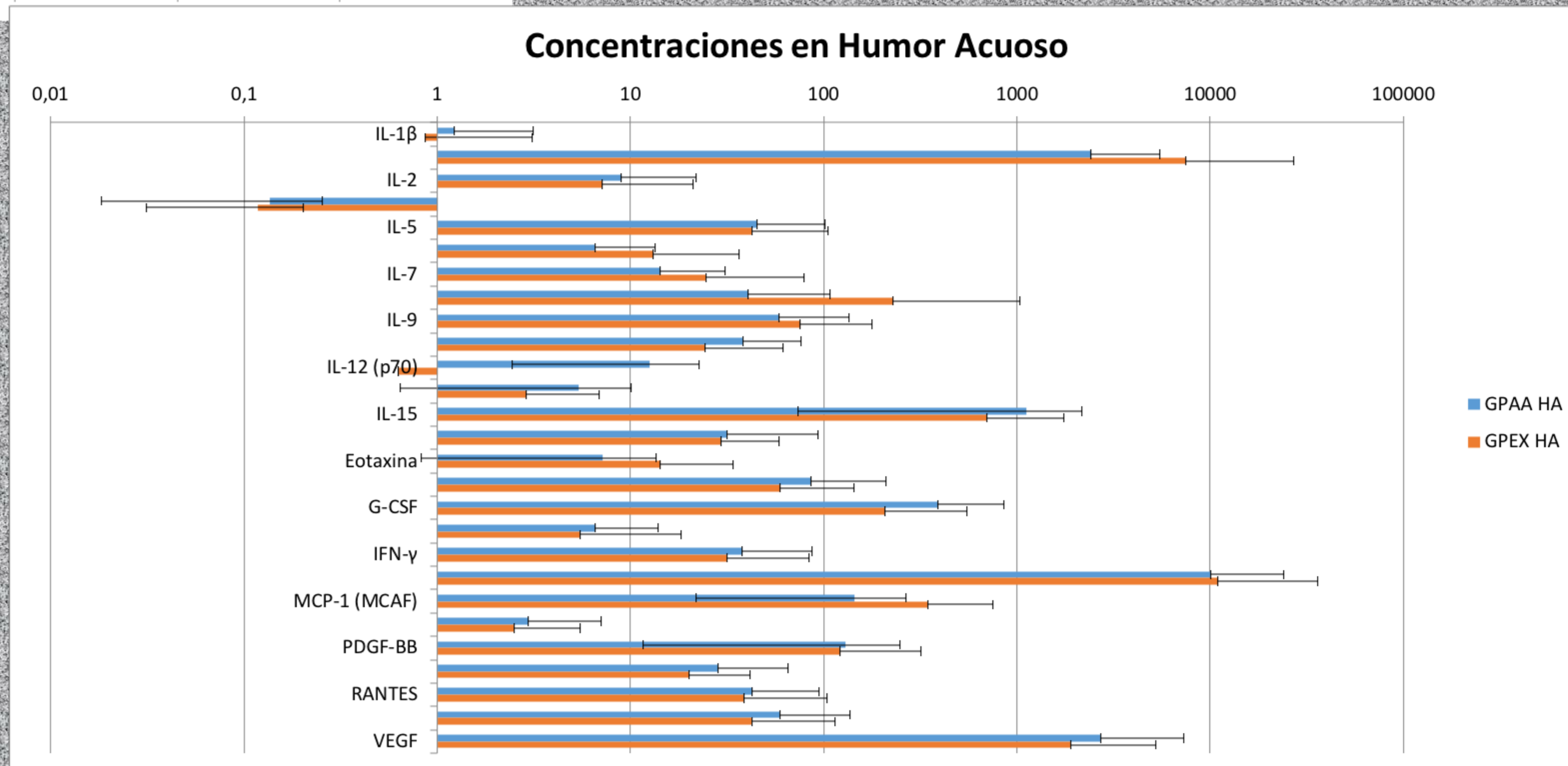


Figura 5

Conclusiones:

La concentración de citoquinas en lágrima y humor acuoso es diferente en el GPAA Y el GPEX, estando la IL12(p70) y la IL13 elevadas en el GPAA y la MCP1(MCAF) en el GPEX, por lo que documentamos unos perfiles de inflamación característicos de estos dos tipos de glaucoma.

Las concentraciones de IFN Gamma, MIP1 β y VEGF en lágrima se podrían utilizar como biomarcadores de GPEX, ya que se correlacionan con las concentraciones en humor acuoso.

La administración de fármacos hipotensores tópicos modifica también la composición de citoquinas en lágrima y humor acuoso de los pacientes con GPAA y GPEX, aunque documentamos que no aumentan sino que disminuyen la concentración de citoquinas inflamatorias y factores tróficos, por lo que pueden actuar disminuyendo la inflamación.



Bibliografía:

1. American Academy of Ophthalmology, Basic and Clinical Science Course 2016-17, Section 10: Glaucoma. American Academy of Ophthalmology, 2016, pp: 82-84.
2. Anastasopoulos E, Founti P, Topouzis F. Update on pseudoexfoliation syndrome pathogenesis and associations with intraocular pressure, glaucoma and systemic diseases. *Curr Opin Ophthalmol.* 2015; 26:82-89.
3. Barbosa-Breda J, Himmelreich U, Ghesquière B, Rocha-Sousa A, Stalmans I. Clinical Metabolomics and Glaucoma. *Ophthalmic Res.* 2018;59:1-6.
4. Benítez-Del-Castillo J, Cantu-Dibildox J, Sanz-González SM, Zanón-Moreno V, Pinazo-Duran MD. Cytokine expression in tears of patients with glaucoma or dry eye disease: A prospective, observational cohort study. *Eur J Ophthalmol.* 2018 Sep 3:1120672118795399.
5. Benoist d'Azy C, Pereira B, Chiambaretta F, Dutheil F. Oxidative and Anti-Oxidative Stress Markers in Chronic Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016; 11:e0166915
6. Browne JG, Ho SL, Kane R, et al. Connective tissue growth factor is increased in pseudoexfoliation glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52:3660-3666.
7. Chen X, Aqrabi LA, Utheim TP, Tashbayev B, Utheim OA, Reppe S, Hove LH, Herlofson BB, Singh PB, Palm O, Galtung HK, Jensen JCL. Elevated cytokine levels in tears and saliva of patients with primary Sjögren's syndrome correlate with clinical ocular and oral manifestations. *Sci Rep.* 2019; 9:7319.
8. Chono I, Miyazaki D, Miyake H, Komatsu N, Ehara F, Nagase D, Kawamoto Y, Shimizu Y, Ideta R, Inoue Y. High interleukin-8 level in aqueous humor is associated with poor prognosis in eyes with open angle glaucoma and neovascular glaucoma. *Sci Rep.* 2018; 8:14533.
9. Csösz E, Deák E, Tóth N, Traverso CE, Csutak A, Tözsér J. Comparative analysis of cytokine profiles of glaucomatous tears and aqueous humour reveals potential biomarkers for trabeculectomy complications. *FEBS Open Bio.* 2019; 9:1020-1028.
10. Duvesh R, Puthuran G, Srinivasan K3, Rengaraj V, Krishnadas SR, Rajendrababu S, Balakrishnan V, Ramulu P, Sundaresan P. Multiplex Cytokine Analysis of Aqueous Humor from the Patients with Chronic Primary Angle Closure Glaucoma. *Curr Eye Res.* 2017; 42:1608-1613.
11. European Glaucoma Society (EGS) Chapter Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition - Part 2: Classification and Terminology. *Br J Ophthalmol.* 2017; 101:73-127.
12. Foster Paul J, Buhrmann Ralf, Quigley Harry A, Johnson Gordon J. The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86:238-242.
13. Garweg JG, Zandi S, Pfister IB, Skowronska M, Gerhardt C. Comparison of cytokine profiles in the aqueous humor of eyes with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma. *PLoS ONE* 12(8): e0182571.
14. Hindle AG, Thoonen R, Jasien JV, Grange RMH, Amin K, Wise J, Ozaki M, Ritch R, Malhotra R, Buys ES. Identification of Candidate miRNA Biomarkers for Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019; 60:134-146.
15. Ho SL, Dogar GF, Wang J, et al. Elevated aqueous humour tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and connective tissue growth factor in pseudoexfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol.* 2005; 89:169-173.
16. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma. *Lancet.* 2017; 390:2183-2193.
17. Kapetanakis VV, Chan MPY, Foster PJ, Cook DG, Owen CG, Rudnicka AR. Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma (POAG): a systematic review and meta-analysis. *Br J Ophthalmol.* 2016; 100:86-93.
18. Khalef N, Labib H, Helmy H, Abd El Hamid M, Moemen L, Fahmy I. Levels of cytokines in the aqueous humor of eyes with primary open angle glaucoma, pseudoexfoliation glaucoma and cataract. *Electronic Physician* 2017; 9:3833-3837.
19. Kamel K, Bourke L, O'Brien C. Clinical and Laboratory Biomarkers for Pseudoexfoliation Syndrome. *J Glaucoma* 2018; 27:S111-S113).
20. Le A, et al. Risk factors associated with the incidence of open-angle glaucoma: the visual impairment project. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44:3783-9.
21. Martínez-de-la-Casa JM, Pérez-Bartolomé F, Urcelay E, Santiago JL, Moreno-Montañes J, Arriola-Villalobos P, Benítez-Del-Castillo JM, García-Feijoo J. Tear cytokine profile of glaucoma patients treated with preservative-free or preserved latanoprost. *Ocul Surf.* 2017; 15:723-729.
22. Pasquale LR, Kang JH, Fan BJ, Levkovitch-Verbin H, Wiggs JL. LOXL1 Polymorphisms: Genetic Biomarkers that Presage Environmental Determinants of Exfoliation Syndrome. *J Glaucoma* 2018; 27:S20-S23.
23. Pérez VL and Caspi RR. Immune Mechanisms in Inflammatory and Degenerative Eye Disease. *Trends Immunol.* 2015; 36: 354-363.
24. Quigley HA. Glaucoma. *Lancet* 2011; 377:1367-77.
25. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol.* 2006; 90:262-7.
26. Reddy S, Sahay P, Padhy D, Sarangi S, Suar M, Modak R, Rao A. Tear biomarkers in latanoprost and bimatoprost treated eyes. *PLoS One.* 2018; 13(8):e0201740.
27. Resnikoff Serge, Pascolini Donatella, Etya'ale Daniel, Kocur Ivo, Pararajasegaram Ramachandra, Pokharel Gopal P., Mariotti Silvio P. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bulletin of the World Health Organization* | November 2004, 82 (11).
28. Ritch R, and Ursula Schlötzer-Schrehardt. Exfoliation Syndrome. *Surv Ophthalmol* 2001; 45:265-315.
29. Shobayashi K, Inoue T, Kawai M, Iwao K, Ohira S, Kojima S, Kuroda U, Nakashima K, Tanihara H. Postoperative Changes in Aqueous Monocyte Chemotactic Protein-1 Levels and Bleb Morphology after Trabeculectomy vs. Ex-PRESS Shunt Surgery. *PLoS One.* 2015; 10(10):e0139751.
30. Ten Berge JC, Fazil Z, van den Born I, Wolfs RCW, Schreurs MWJ, Dik WA, Rothova A. Intraocular cytokine profile and autoimmune reactions in retinitis pigmentosa, age-related macular degeneration, glaucoma and cataract. *Acta Ophthalmol.* 2019; 97:185-192.
31. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science.* 2007;317(5843):1397-1400.
32. European Glaucoma Society (EGS) Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition - Part 1: Foreword; Introduction; Glossary. *Br J Ophthalmol.* 2017; 101:1-72.
33. Vulovic TS, Pavlovic S, Zdravkovic N. Proinflammatory Cytokines Induce XFG Development. *Ocul Immunol Inflamm.* 2016; 24:671-677.
34. Wang Y, Chen S, Liu Y, Huang W, Li X, Zhang X. Inflammatory cytokine profiles in eyes with primary angle-closure glaucoma. *Biosci Rep.* 2018; 38(6).
35. Yamaguchi T. Inflammatory Response in Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018; 59:DES192-DES199.