

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA**



TESIS DOCTORAL

**Estudio de los polimorfismos de riesgo en la DMAE exudativa
en una población española**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Leyre Lloreda Martín

Directores

**Pablo Gili Manzanaro
José María Martínez de la Casa**

Madrid

© Leyre Lloreda Martín, 2022

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS DE RIESGO EN LA DMAE
EXUDATIVA EN UNA POBLACIÓN ESPAÑOLA

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

LEYRE LLOREDA MARTÍN

DIRECTORES

**PABLO GILI MANZANARO, JOSÉ MARÍA MARTÍNEZ DE LA
CASA**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS DE RIESGO EN LA DMAE
EXUDATIVA EN UNA POBLACIÓN ESPAÑOLA

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

LEYRE LLOREDA MARTÍN

DIRECTORES

**PABLO GILI MANZANARO, JOSÉ MARÍA MARTÍNEZ DE LA
CASA**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado Ciencias de la Visión



TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS DE RIESGO EN LA DMAE
EXUDATIVA EN UNA POBLACIÓN ESPAÑOLA**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

LEYRE LLOREDA MARTÍN

DIRECTORES

**PABLO GILI MANZANARO, JOSÉ MARÍA MARTÍNEZ DE LA
CASA**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado Ciencias de la Visión



TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS DE RIESGO EN LA DMAE
EXUDATIVA EN UNA POBLACIÓN ESPAÑOLA

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

LEYRE LLOREDA MARTÍN

DIRECTORES

**PABLO GILI MANZANARO, JOSÉ MARÍA MARTÍNEZ DE LA
CASA**

“Cuando creíamos que teníamos todas las respuestas, de pronto, cambiaron todas las preguntas.”

Mario Benedetti

AGRADECIMIENTOS

En todo trabajo de investigación participan numerosas personas e instituciones y esta tesis doctoral no es una excepción. Es por ello que me gustaría agradecer a todas aquellas personas que directa e indirectamente han participado en su ejecución.

En primer lugar gracias a mi director de tesis el Dr. Pablo Gili por su generosidad, su paciencia, entusiasmo y su ayuda. Gracias por enseñarme el valor del trabajo en equipo, la ilusión por la investigación, y la búsqueda constante de nuevas metas. Para mí es un modelo a seguir, y sin él este trabajo no habría sido posible.

Gracias al Dr. José María Martínez de la Casa, codirector de esta tesis, que confió en mí y me respaldó para abordar este trabajo.

Gracias a Elia, la responsable de estadística del Hospital por su disponibilidad y a sus siempre oportunas e inteligentes observaciones que han contribuido de forma significativa a mejorar y a poder llevar a cabo esta tesis doctoral. Gracias por hacer fácil lo difícil.

Gracias a Eulalia, la Bibliotecaria del Hospital, quien me ayudó con el trabajo de búsqueda bibliográfica y los programas de citación. Siempre con una sonrisa, y dispuesta a ayudarme con cada dificultad que podía surgir por el camino.

Gracias a todos aquellos residentes, auxiliares y enfermera del servicio de Oftalmología que de manera generosa participaron en la recogida de muestras y datos de los pacientes.

Gracias a todos los pacientes, sin cuya colaboración nada de esto tendría sentido.

Gracias a los doctores Alfredo García Layana y Sergio Recalde (Departamento de Oftalmología, Clínica Universidad de Navarra) por el apoyo logístico; y a Julián Pérez de SeCugen (Consejo Superior de Investigaciones Científicas, CSIC) por los estudios genéticos.

Y gracias al apoyo brindado a través del Proyecto de investigación financiado con el proyecto FIS PI 14/00965, integrado en el plan Nacional I+D+I 2014-2017.

Finalmente mi agradecimiento a mi familia por su apoyo incondicional.

ÍNDICE

ÍNDICE

I.RESUMEN	25
II.LISTA DE ABREVIATURAS	33
III.ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS	37
1. INTRODUCCIÓN	43
1.1. Concepto.....	45
1.2. Epidemiología.....	46
1.3. Impacto de la DMAE.....	48
1.4. Clasificación y tipos de DMAE.....	49
1.4.1. Sistema Wisconsin.....	50
1.4.2. Sistema de clasificación internacional.....	50
1.4.3. Sistema de clasificación AREDS.....	51
1.4.4. Clasificación clínica.....	52
1.5. Estadios evolutivos de la DMAE.....	55
1.5.1. DMAE precoz e intermedia.....	55
1.5.2. DMAE avanzada- atrofia geográfica.....	58
1.5.3. DMAE avanzada- DMAE neovascular, húmeda o exudativa.....	60
1.6. Factores de riesgo.....	61
1.6.1. Concepto de biomarcador.....	61
1.6.2. Sociodemográficos.....	61
1.6.3. Oculares.....	63
1.6.4. Factores ambientales.....	64
1.6.5. Factores cardiovasculares.....	68
1.6.6. Factores genéticos.....	69
1.7. Fisiopatología de la DMAE exudativa.....	70

1.8. Diagnóstico de la DMAE.....	72
1.8.1. Anamnesis.....	72
1.8.2. Agudeza visual.....	73
1.8.3. Rejilla de amsler.....	73
1.8.4. Síntomas de la DMAE.....	74
1.8.5. Signos en la DMAE. Hallazgos en exploración funduscópica.....	75
1.9. Técnicas diagnósticas complementarias.....	77
1.9.1. Angiografía fluoresceínica del fondo de ojo.....	78
1.9.2. Angiografía con verde de indocianina.....	85
1.9.3. Tomografía de coherencia óptica.....	89
1.10. Tratamiento.....	98
1.10.1. Tratamiento DMAE precoz y de la DMAE avanzada con antiangiogénicos.....	98
1.10.2. Tratamiento DMAE avanzada- DMAE exudativa.....	99
1.10.3. Pautas de tratamiento con fármacos antiangiogénicos.....	100
1.11. Tabla resumen comparativa de los tipos de MNV.....	110
1.12. Genética en la DMAE.....	111
2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	113
2.1. Justificación.....	115
2.2. Hipótesis de la tesis doctoral y del trabajo de investigación.....	116
2.3. Objetivos.....	116
3. SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS.....	119
3.1. Búsqueda bibliográfica.....	121
3.1.1. Estrategias de búsqueda.....	121
3.1.2. Bases de datos bibliográficas.....	122

3.2. Medios empleados en la realización del estudio.....	125
3.3. Consentimiento informado.....	127
3.4. Criterios de selección de pacientes.....	128
3.4.1. Criterios de exclusión.....	128
3.4.2. Criterios de inclusión.....	129
3.5. Metodología de exploración clínica.....	130
3.5.1. Toma de agudeza visual mejor corregida.....	130
3.5.2. Exploración con lámpara de hendidura.....	132
3.5.3. Medida de la presión intraocular.....	132
3.5.4. Estudio de fondo de ojo.....	133
3.5.5. Retinografía.....	133
3.5.6. Angiografía fluoresceínica (AFG).....	135
3.5.7. Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT).....	136
3.6. Análisis genético.....	138
3.6.1. Obtención de muestras biológicas para almacenamiento en biobanco..	138
3.6.2. Extracción, análisis, amplificación y secuenciación del DNA.....	138
3.7. Análisis estadístico.....	140
3.7.1. Cálculo del tamaño muestral.....	140
3.7.2. Tipo de estudio realizado.....	140
3.7.3. Análisis de variables.....	140
4. RESULTADOS.....	143
4.1. Análisis descriptivo de la muestra.....	145
4.2. Características sociodemográficas.....	146
4.2.1. Sexo y edad.....	146

4.2.2. Lateralidad.....	147
4.3. Antecedentes personales sistémicos.....	148
4.3.1. Tabaco.....	148
4.3.2. Dislipemia.....	148
4.3.3. Hipertensión arterial.....	148
4.3.4. Diabetes mellitus.....	149
4.3.5. Accidente cerebrovascular.....	149
4.3.6. Depresión.....	149
4.3.7. Cáncer.....	149
4.3.8. Enfermedades reumatológicas.....	150
4.3.9. Enfermedades neurodegenerativas.....	150
4.3.10. Enfermedades cardiovasculares.....	150
4.3.11. Hipotiroidismo.....	151
4.4. Antecedentes oftalmológicos.....	155
4.4.1. Antecedentes oftalmológicos personales.....	155
4.4.2. Antecedentes familiares de DMAE.....	155
4.4.3. Pseudofaquia.....	155
4.5. Distribución de los SNPs en casos y controles.....	156
4.5.1. Gen CFH.....	156
4.5.2. Gen ARMS2.....	157
4.5.3. Gen HTRA1.....	158
4.5.4. Gen CFB.....	158
4.5.5. Gen C2.....	159
4.5.6. Gen C3.....	159
4.5.7. Enfermedad unilateral frente bilateral.....	159

4.6. Comparación entre nuestros resultados y bases de datos europeas.....	165
4.7. Frecuencia de expresión de múltiples polimorfismos.....	169
4.7.1. Análisis de la frecuencia de expresión de SNPs.....	169
4.7.2. Media de expresión de los SNPs alterados e incremento del riesgo de desarrollo de DMAE.....	170
5. DISCUSIÓN.....	171
5.1. Introducción.....	173
5.2. Gen factor H del complemento (CFH).....	175
5.3. Genes HTRA Y ARMS.....	182
5.4. Factor 3 del Complemento (C3).....	188
5.5. Factor de crecimiento endotelial (VEGF).....	190
5.6. Factores de riesgo sistémicos.....	194
5.6.1. Edad.....	194
5.6.2. Sexo.....	196
5.6.3. Tabaco.....	197
5.6.4. Dislipemia.....	198
5.6.5. Hipertensión arterial.....	198
5.6.6. Diabetes e hiperglucemia.....	199
5.6.7. Accidente cerebrovascular y enfermedad cardiovascular.....	200
5.6.8. Depresión.....	200
5.6.9. Enfermedades neurodegenerativas.....	200
5.7. Fortalezas y limitaciones del estudio.....	201
5.8. Futuro de la genética en la DMAE.....	202
6. CONCLUSIONES.....	205
7. BIBLIOGRAFÍA.....	209

ANEXOS.....	245
I. Publicaciones, comunicaciones a congresos y líneas de investigación.....	249
II. Aprobación comité ético de investigación clínica HUFA.....	253
III. Consentimientos informados.....	254
IV. Acuerdo de depósito de las muestras en el biobanco del HUFA.....	262
V. Figuras.....	267
VI. Tablas.....	269
VII. Gráficos.....	270

RESUMEN

RESUMEN

OBJETIVO: Identificar la asociación de los principales polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) localizados en CFH, ARMS2, HTRA1, CFB, C2 y C3 y describir las características sociodemográficas de los pacientes con DMAE exudativa en una población española.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio realizado en Alcorcón (Madrid) entre enero de 2015 y junio de 2018 seleccionando casos con DMAE exudativa y controles sanos. Analizamos la presencia de enfermedades asociadas y los antecedentes familiares de DMAE. Estudiamos 12 polimorfismos de riesgo para DMAE de los genes CFH (rs1410996, rs1061170, rs380390), ARMS2 (rs10490924, rs10490923), HTRA1 (rs11200638), CFB (rs641153), C2 (rs547154, rs9332739) y C3 (rs147859257, rs2230199, rs1047286).

RESULTADOS: Estudiamos 383 pacientes con una edad media de 74,97 (rango 55 a 95 años), 149 hombres y 234 mujeres: 187 pacientes con DMAE y 196 pacientes controles. Observamos diferencias significativas en la distribución de genotipos entre pacientes y controles, con un incremento del riesgo de DMAE exudativa en seis de los polimorfismos estudiados. El alelo G fue el más frecuente en el gen CFH (rs1410996) con un incremento de riesgo de desarrollar DMAE de 7 veces (OR 7.69, 95% CI 3.17-18.69), mientras que los portadores del alelo C en CFH (rs1061170) mostraron un incremento del riesgo de 3 veces de desarrollar la enfermedad (OR 3.22, 95% CI 1.93-5.40). En CFH (rs380390), la presencia del alelo G aumentaba por 2 el riesgo de desarrollo de DMAE (OR 2.52, 95% CI 1.47-4.30).

En ARMS2 (rs10490924), el alelo T estaba asociado con un incremento del riesgo de DMAE de cinco veces (OR 5.49, 95% CI 3.23-9.31). El alelo A en HTRA1 (rs11200638) fue más prevalente en los pacientes con DMAE frente a los controles (OR 6.44, 95% 3.62-11.47). En el gen C2 (rs9332739) la presencia de C aumentó el riesgo de desarrollo de DMAE por 3 veces (OR 3.10, 95% CI 1.06-9.06). El estudio de los factores de riesgo sistémicos en ambos grupos mostró una asociación entre la DMAE y la dislipemia, HTA, antecedentes de accidente cerebrovascular, depresión, enfermedades reumatológicas y enfermedad cardiovascular. Además, encontramos una asociación significativa entre aquellos pacientes con antecedentes familiares de DMAE y el desarrollo de la enfermedad.

CONCLUSIONES: Los genotipos de los polimorfismos de CFH, ARMS2, HTRA1 y C2 están relacionados con un incremento del riesgo de DMAE exudativa en pacientes españoles. Existe una mayor prevalencia de enfermedades cardiovasculares y antecedentes familiares de la enfermedad en el grupo de DMAE.

PALABRAS CLAVE: degeneración macular exudativa asociada a la edad, polimorfismos genéticos, genética, factores de riesgo.

ABSTRACT

PURPOSE: To identify the association between single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in CFH, ARMS2, HTRA1, CFB, C2, and C2 genes and exudative age-related macular degeneration (AMD) in a Spanish population and to describe sociodemographic characteristics in that population.

METHODS: Between January 2015 and December 2018, patients diagnosed with exudative AMD attending the Unit of Ophthalmology of Hospital de Alcorcón (Madrid) and healthy volunteers were included in the study. We studied 12 SNPs as risk factors for AMD in CFH (rs1410996, rs1061170, rs380390), ARMS2 (rs10490924, rs10490923), HTRA1 (rs11200638), CFB (rs641153), C2 (rs547154, rs9332739), and C3 (rs147859257, rs2230199, rs1047286) genes.

RESULTS: We studied 383 patients: 187 exudative AMD patients and 196 healthy controls (234 women, mean age 74.97 years, range 55-95 years). Significant differences were found between groups in the presence of dyslipidemia, hypertension, depression, history of stroke, rheumatological and cardiovascular disease and family history of AMD. We observed significant differences in the genotype distribution between groups, finding that six of the studied polymorphisms posed an increased risk of developing AMD. The G allele was the most frequent in CFH gene (rs1410996) with a 7-fold increased risk of AMD (OR 7.69, 95% CI 3.17-18.69), whereas carriers of C allele in CFH (rs1061170) showed a 3-fold increased risk of AMD (OR 3.22, 95% CI 1.93-5.40). In CFH (rs380390), the presence of G allele increased the risk of AMD by 2-fold (OR 2.52, 95% CI 1.47-4.30). In ARMS2 (rs10490924),

the T-allele was associated with an almost 5-fold increased risk (OR 5.49, 95% CI 3.23-9.31). The A allele in HTRA1 (rs11200638) was more prevalent in AMD versus controls (OR 6.44, 95% 3.62-11.47). In C2 gene (rs9332739) the presence of C increased risk of AMD by 3-fold (OR 3.10, 95% CI 1.06-9.06).

CONCLUSION: SNPs in CFH, ARMS2, HTRA1 and C2 genes were associated in our study with an increased risk of exudative AMD in Spanish patients. There is a higher prevalence of cardiovascular diseases and a family history of the disease in the AMD group.

KEYWORDS: age-related macular degeneration, gene polymorphisms, genotyping, risk factors.

LISTA DE ABREVIATURAS

III. LISTA DE ABREVIATURAS

AFG	Angiografía fluoresceínica
AG	Atrofia Geográfica
AREDS	Age Related Eye Disease Study Research
AV	Agudeza visual
AVI	Angiografía con verde de indocianina
AVMC	Agudeza visual mejor corregida
OCT-A	Angio-OCT
BDES	Beaver Dam Eye Study
BHRE	Barrera hematorretiniana externa
CARMS	Clinical Age-related Maculopathy Grading System
CATT	Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatment Trial
CFH	Factor H del complemento
C3	Factor 3 del complemento
DEP	Desprendimiento del epitelio pigmentario
DHA	Ácido docosahexaenoico
DMAE	Degeneración Macular Asociada a la Edad
Dp	Dioptrías
EDCCS	Eye Disease Case-Control Study
EDI	Enhanced Depth Imaging
EP	Epitelio pigmentario
EPR	Epitelio Pigmentario de la Retina
ETDRS	Early Diabetic Retinopathy Study
ETOI	Exudación tardía de origen indeterminado
FTR	Fotorreceptores

HUFA	Hospital Universitario Fundación Alcorcón
HTA	Hipertensión arterial
IVAN	Inhibit VEGF in Age-Related choroidal Neovascularization)
LALES	Los Angeles Latino Eye Study
LUCAS	Lucentis Compared to Avastin Study
MAE	Maculopatía asociada a la edad
MANTA	Avastin versus Lucentis in Age-Related macular degeneration
MPS	Macular Photocoagulation Study
NVC	Neovascularización coroidea
OCT	Tomografía de coherencia óptica
OCT-SA	Tomografía de coherencia óptica de segmento anterior
OCT-SS	OCT swept-source
PEDF	Factor derivado del epitelio pigmentario
PGF 1	Factor de crecimiento placentario
RAP	Retinal Angiomatous Proliferation
SD-OCT	Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral
SNS	Sistema Nacional de Salud
TD-OCT	OCT de dominio temporal
VCPI	Vasculopatía coroidea polipoidea idiopática
VEGF-A	Factor de crecimiento endotelial vascular A
VIBERA	Prevention of Visión loss in patients with Age-related macular degeneration by Intravitreal injection of Bevacizumab and Ranibizumab
VIEW 1, VIEW 2	VEGF Trap-Eye: Investigation of Efficacy and Safety in Wet AMD
VIP	Visual Impairment Project
VISION	VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization

ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS

ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS

En esta Tesis se distinguen siete partes: Introducción; Objetivos, justificación e hipótesis del trabajo de investigación; Sujetos, Material y Métodos; Resultados; Discusión; Conclusiones; y Bibliografía.

La introducción comienza con la definición, epidemiología y una breve explicación del impacto de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en la población y vida de los pacientes. A continuación se pasa a describir los tipos de DMAE, sus características clínicas, síntomas y los distintos estadios evolutivos de la enfermedad. En el siguiente apartado se hace hincapié en los factores de riesgo de desarrollo de la enfermedad. En el sexto apartado, se explica la fisiopatología de la DMAE, incluyendo un análisis anatómico de las diferentes estructuras del ojo implicadas en el desarrollo de la enfermedad, así como las diferentes hipótesis que se han venido postulando recientemente. El siguiente bloque se centra en las técnicas de diagnóstico disponibles en la actualidad, para a continuación, hacer un repaso exhaustivo de las diferentes opciones terapéuticas para el tratamiento de la DMAE: se dedica un apartado individual a cada tipo de antiangiogénico empleado, así como a los diferentes regímenes de administración empleados en la práctica clínica, en términos de eficacia y seguridad.

En el último apartado de la introducción, se dan unas breves pinceladas de la influencia de los factores genéticos en el desarrollo de la DMAE, en particular de los genes CFH y

LOC387715/ARMS2, y sobre la importancia de estos conocimientos y su aplicación futura en la terapia dirigida y la prevención del desarrollo de la enfermedad.

En la segunda parte de esta Memoria se exponen de forma breve y concisa los objetivos del trabajo de la Tesis Doctoral, que se pueden resumir en identificar la asociación de los principales polimorfismos SNP localizados en CFH, CFB, C3, C2, CFHR1, ARMS2 y HTRA1 en la DMAE exudativa en una población española.

La tercera parte corresponde a la descripción de los sujetos, material y métodos utilizados para la realización de este trabajo. Se exponen los pasos seguidos para la obtención de la bibliografía en las diferentes bases de datos. Se hace un repaso a los medios empleados, criterios de selección de los pacientes, metodología de la exploración clínica y el procedimiento usado para el análisis genético de las muestras. También se explica brevemente el análisis estadístico.

En la cuarta parte de la Memoria se exponen los resultados del estudio desarrollado, con una descripción analítica de los pacientes incluidos en la muestra, así como de los resultados obtenidos. Todo ello acompañado de tablas, imágenes y figuras que facilitan e ilustran la interpretación de las observaciones realizadas.

La quinta parte corresponde a la discusión, que se ha estructurado en diferentes apartados según los diferentes genes implicados en el estudio.

La sexta parte, incluye la bibliografía empleada, con las referencias bibliográficas de los estudios y de los trabajos científicos consultados.

Finalmente se incluyen como Anexos los documentos correspondientes a la aprobación de los protocolos de los estudios por el Comité de Ética e Investigación Clínica de Hospital Universitario Fundación Alcorcón y los modelos de consentimiento informado. Además, se exponen las comunicaciones orales en congresos y las publicaciones a revista científica. Por último se expone un listado paginado con las figuras, tablas y gráficos que aparecen a lo largo del manuscrito.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CONCEPTO

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE), fue descrita por primera vez en 1885 por Haab como una alteración retiniana clínica, caracterizada por la presencia de una serie de hallazgos clínicos específicos, incluyendo drusas y cambios del epitelio pigmentario de la retina (EPR)¹. Es una enfermedad caracterizada por la degeneración del EPR y capa de fotorreceptores, con o sin neovascularización coroidea. En este último caso estaríamos ante una DMAE exudativa. Actualmente, la DMAE es la principal causa de ceguera legal en personas mayores de 55 años en el mundo occidental, y la tercera causa a nivel mundial, siendo uno de los mayores retos en la oftalmología de los últimos años ¹.

No fue hasta décadas después de la definición de Haab, cuando se encontró la asociación entre las drusas maculares y las cicatrices disciformes (que representan el estadio final de la DMAE exudativa). Gass describió la mayor parte de los fenómenos implicados en la DMAE, y muchas de sus teorías y descripciones, siguen siendo aplicadas en la actualidad²⁻⁴.

En cuanto a su etiología, se ha descrito un componente multifactorial, con influencia de factores ambientales y factores genéticos²⁻⁴. Sin tratamiento, la DMAE lleva a la ceguera, y su progresión se ve acompañada además de alteraciones en el estado de ánimo y salud mental, afectando a la calidad de vida y la morbimortalidad de los pacientes¹⁻⁴.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

La DMAE es la causa más frecuente de pérdida de agudeza visual irreversible en los países industrializados^{1,5}. Cuando hablamos de prevalencia de DMAE, nos referimos a la proporción de personas con algún ojo afectado por la forma tardía de la maculopatía, bien sea neovascular o atrófica¹. Se estima que la prevalencia global de DMAE es del 1% en personas entre los 65 y los 74 años, del 5% entre los 75 y los 84 años, y del 13% en mayores de 85 años¹.

En los EE. UU., es responsable de en torno a un 54% de los casos de pérdida visual grave (peor de 6/60 en el mejor ojo) en blancos, el 14% en hispanos y el 4% en negros. La prevalencia aumenta con la edad, y son raros los casos sintomáticos en pacientes menores de 50 años^{2,5}. En el Reino Unido, el deterioro visual significativo (agudeza visual binocular igual o peor a 6/18) por DMAE afecta a un 4% de la población mayor de 75 años y del 14% de los mayores de 90 años, y el 1,6% de los mayores de 75 años tienen una agudeza binocular inferior a 6/60^{2,5}. Además, los pacientes con DMAE avanzada en un ojo, o pérdida de visión moderada por DMAE no avanzada en un ojo, tienen en torno a un 50% de probabilidades de padecer DMAE avanzada en el otro ojo en un periodo de 5 años^{2,5}.

En el 2006, se realizó a nivel europeo el estudio multicéntrico EUREYE² (n=5040). Este estudio midió la prevalencia y los factores de riesgo asociados a DMAE en personas > 65 años de siete poblaciones europeas con diferentes latitudes. Observaron una prevalencia global de DMAE del 3,32%; un 1,2% de DMAE atrófica; un 2,3%, de DMAE neovascular o exudativa; y DMAE bilateral en el 1,4% de los pacientes incluidos en el estudio².

En el 2011, el grupo Spanish Eye Epidemiological (SEE) ⁶ Study publicó el primer estudio sobre la prevalencia de la DMAE en población española mayor de 65 años. La prevalencia total de la maculopatía asociada a la edad (MAE) llegaba a un 10.3%, mientras que la prevalencia de la DMAE, fue de un 3.4%, estimándose que en España la incidencia de esta enfermedad es de aproximadamente 400 000 casos /año y de éstos 45,000 casos /año son de la forma neovascular o exudativa⁶. Además, estimaron que en España podría haber unos 255.000 individuos afectados de DMAE, y unos 773.000 con MAE, y por tanto con gran riesgo de evolucionar a una DMAE⁶.

A principios de la década de los noventa, se realizaron 3 grandes estudios en individuos de raza blanca de distintos continentes, con tasas de respuesta altas (75-85%) y similares técnicas de diagnóstico: el estudio Beaver Dam, en Estados Unidos ⁷; el estudio Blue Mountains⁸, en Australia; y el estudio Rotterdam⁹, Países Bajos. El análisis de estos trabajos permitió avanzar en el estudio de la degeneración macular y de los factores de riesgo asociados, y mostró una prevalencia combinada del 1,9% en personas > 55 años⁷⁻⁹. Prevalencias algo más bajas se encontraron en la población latina del estudio Los Ángeles, Estados Unidos (0,70% en > 50 años) y en la población del Visual Impairment Project, en Australia (0,68% en > 40 años)⁷⁻⁹.

En cuanto a la prevalencia de las diferentes formas de degeneración macular, existe una gran variabilidad entre los distintos estudios. En general, si se consideran formas precoces de DMAE, se encuentra un predominio de formas atróficas o secas, pero si consideramos únicamente las fases tardías, la mayoría encuentra un predominio de las formas exudativas, que son entre 1,5 y 2,5 veces más frecuentes que las atróficas⁷.

A partir de los estudios internacionales y de los estudios en la población española, en el 2017 se realizó un metaanálisis sobre la prevalencia de la DMAE en Europa, con la finalidad de obtener una estimación combinada de la tendencia en la prevalencia de degeneración macular (neovascular o atrófica) según la edad, realizando proyecciones de futuro hasta el 2040¹⁰. Los resultados encontrados fueron homogéneos entre los distintos estudios, mostrando un aumento exponencial de la prevalencia de degeneración macular al avanzar la edad por encima de los 65 años. La prevalencia combinada de degeneración macular fue del 0,34% en personas ≥ 85 años¹⁰. El análisis por género no encontró diferencias significativas¹⁰. Si aplicamos estos resultados a las estimaciones de la población española, como consecuencia del envejecimiento de la población y asumiendo que los factores de riesgo permanecerán constantes durante las próximas décadas, se podría estimar que el número de casos de DMAE en España podría alcanzar los 565.810 en el año 2025¹⁰. A nivel europeo, en cuanto a las proyecciones al 2040, observan que la MAE temprana se mantendrá muy similar: de 15.0 millones en 2013 a 14.9 millones, y que la DMAE tardía se incrementará en Europa de 2.7 millones en 2013 a 3.9 millones en el 2040¹⁰.

1.3. IMPACTO DE LA DMAE

La DMAE, especialmente la forma neovascular, representa la primera causa de ceguera en personas mayores de países desarrollados¹⁻⁴. La forma atrófica, o incluso formas tempranas también pueden afectar a la visión, requiriendo letras grandes para poder leer los textos o presentar afectación de la visión nocturna; signos en general considerados propios del envejecimiento, por lo que no se les presta la atención que requerirían¹¹. El cuestionario del National Eye Institute (25-item Visual Function Questionnaire [VFQ], o el cuestionario

propuesto por la OMS han visto una clara asociación con la depresión^{11,13,14}. Por lo tanto, aunque es raro que conduzca a una ceguera completa ya que la visión periférica suele respetarse, la DMAE es una enfermedad crónica y debilitante a nivel ocular y sobre la calidad de vida del paciente¹⁵.

1.4. CLASIFICACIÓN Y TIPOS DE DMAE

La degeneración macular senil fue descrita por primera vez como entidad clínica en 1885 por Otto Haab, que describió varios cambios atróficos y pigmentarios en la mácula que causaban un deterioro progresivo de la visión central, y que afectaba fundamentalmente a pacientes mayores de 50 años¹⁶. Se dio un gran paso cuando Gass aclaró que las drusas, la degeneración macular senil y la degeneración macular senil disciforme representaban una única enfermedad¹⁷.

En los años noventa se propuso que debería denominarse maculopatía asociada a la edad (MAE) inicial o avanzada para sugerir que la MAE inicial no era necesariamente un estado patológico, reservando el término degeneración macular asociado a la edad (DMAE) para la MAE avanzada, que abarcaría la atrofia geográfica y la DMAE neovascular^{16,18}. Al ser la DMAE una enfermedad compleja con múltiples manifestaciones posibles, hizo que fuera necesario establecer una serie de criterios uniformes y aplicables de manera generalizada por todos los especialistas. De esta necesidad, fueron surgiendo diversos sistemas de clasificación, como el "Wisconsin Age-Related Maculopathy Grading"¹⁹, el Sistema Internacional, el "Age-Related Eye Disease Study Grading-AREDS"^{20,21,22} y el "Clinical Age-Related Maculopathy System-CARMS", que son actualmente los sistemas de

clasificación de DMAE utilizados más frecuentemente en los estudios epidemiológicos¹⁹⁻²². Tanto el Sistema Internacional como la clasificación de Wisconsin están basados en hallazgos funduscópicos a partir de fotografías estereoscópicas. No tienen en cuenta criterios angiográficos ni criterios clínicos, como puede ser la agudeza visual^{18,19}.

1.4.1. Sistema Wisconsin (1991)¹⁹:

Diferencia entre:

M.A.E o Maculopatía asociada a la edad, que se caracteriza por la presencia de drusas poco definidas o drusas reticulares, en ausencia de signos de DMAE.

DMAE Atrófica: definida como un área mayor de 175 micras con ausencia del EPR, que permite visualizar los vasos coroideos.

DMAE Neovascular: caracterizada por la presencia de desprendimiento del EPR, asociado a otros signos de DMAE o membrana neovascular (MNV) como cicatriz, fibrosis, hemorragia...

1.4.2. Sistema de Clasificación Internacional (1995)¹⁸:

Presenta la siguiente clasificación:

M.A.E: definida por la presencia de drusas blandas o confluentes, drusas de límites bien o poco definidos e hiper o hipopigmentación del EPR asociada a drusas.

DMAE Geográfica: caracterizada por una zona bien definida circular u oval de 175 micras, con ausencia de EPR o hipopigmentación.

DMAE Neovascular: cuando existe desprendimiento del EPR o de la retina neurosensorial, asociado a maculopatía relacionada con la edad, membrana neovascular coroidea, cicatriz, tejido glial, hemorragia...

1.4.3. Sistema de clasificación AREDS (2005) ²⁰:

No M.A.E (categoría 1): fondo de ojo normal o con drusas pequeñas y escasas (< 63 micras de diámetro)

M.A.E temprana (categoría 2): aparición de múltiples drusas pequeñas, algunas intermedias (63-124 micras en diámetro) o discreta alteración del EPR.

M.A.E intermedia (categoría 3): caracterizada por numerosas drusas intermedias; al menos una drusa grande (>125 micras) o atrofia geográfica que respeta fovea.

M.A.E avanzada o tardía (categoría 4): caracterizada por atrofia geográfica que afecta la fovea o neovascularización coroidea, desprendimiento seroso y/o hemorrágico de la retina neurosensorial o EPR, exudados retinianos duros, proliferación fibrovascular sub-retiniana o sub EPR y cicatriz disciforme.

Es la más utilizada en los estudios clínicos y la que hemos utilizado en nuestro trabajo. Distingue entre:

1.4.4. Clasificación clínica (2013):

La falta de consenso que existía debido a la diversidad de clasificaciones, hacía compleja la comparación de estudios, y la elaboración de recomendaciones y guías de práctica clínica²¹.

En 2013, Ferris y su equipo, propusieron una clasificación clínica de la DMAE basada en la evidencia y obtenida a partir del consenso de expertos mediante el método Delphi. Comenzar a usar esta nueva clasificación ha servido para unificar términos, la definición, la escala de gravedad y los tipos de patología de la DMAE usados hasta este momento²¹⁻²³. Esta clasificación se basa en las lesiones observadas en el fondo de ojo, que están localizadas dentro de dos diámetros de papila respecto al centro de la fóvea, en personas mayores de 55 años²¹⁻²³. Una de las grandes aportaciones de esta nueva clasificación, es que establece como nomenclatura única el término degeneración macular asociada a la edad (DMAE) para definir la enfermedad. Asimismo, diferencia claramente entre la patología y situaciones fisiológicas, como la presencia de drusas asociadas al envejecimiento natural de la retina con la edad²¹⁻²³. Se establecen tres estadios de gravedad en función del tamaño de las drusas o las alteraciones pigmentarias²¹. Las drusas las clasifican en función de su tamaño como pequeñas ($\leq 63 \mu\text{m}$), medianas (>63 y $\leq 125 \mu\text{m}$) y grandes ($>125 \mu\text{m}$)²¹. Aconsejan emplear como referencia el tamaño de la vena principal de la retina a nivel del margen del disco óptico ($125 \mu\text{m}$), como podemos ver en el ejemplo de la siguiente imagen²¹.

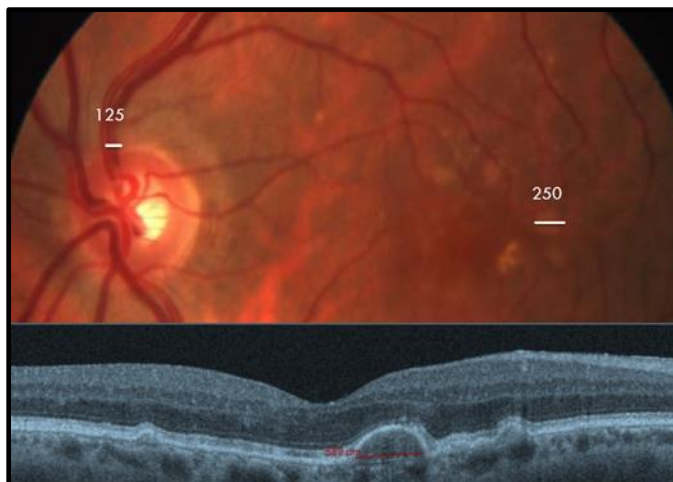


Figura 1. Imagen en la que comparamos el tamaño de una drusa grande con el tamaño de la vena principal de la retina a nivel del margen del disco óptico.

En relación a las alteraciones pigmentarias, se definen como hiperpigmentación o hipopigmentación presentes en dos diámetros de disco respecto al centro de la mácula, sin ninguna otra enfermedad asociada. La autofluorescencia (AF) permite detectarlas de una manera más evidente²¹.

A continuación se presenta la clasificación propuesta:

Clasificación		Definición
Sin patología	Sin cambios aparentes propios del envejecimiento	Ausencia de drusas y de alteraciones pigmentarias.
	Cambios normales propios del envejecimiento	Drusitas (drusas de menos de 63 micras) y ausencia de alteraciones pigmentarias relacionadas con la DMAE.
DMAE	DMAE precoz	Drusas medianas (63-125 micras) sin alteraciones pigmentarias.
	DMAE intermedia	Drusas grandes (> 125 micras) y/o alteraciones pigmentarias.
	DMAE avanzada	Atrofia geográfica (AG) o neovascularización.

Tabla 1. Clasificación clínica de la DMAE.

El grupo AREDS elaboró una escala de gradación para estimar el riesgo de presentar DMAE avanzada a los 5 y 10 años. Asignó 1 punto ante la presencia de una o más drusas grandes, cualquier alteración pigmentaria o drusas intermedias bilaterales (sin drusas grandes). Y 2 puntos ante la presencia de DMAE neovascular^{15,23}.

A continuación, y utilizando esta escala de riesgo propuesta por el grupo AREDS, presento el riesgo aproximado de desarrollo de DMAE avanzada a los 5 y a los 10 años, en función del número de factores de riesgo presentes.

Número de factores	Riesgo a los 5 años	Riesgo a los 10 años
0 factores	0.5%	1%
1 factores	3%	7%
2 factores	12%	22%
3 factores	25%	50%
4 factores	50%	67%

Tabla 2 . Riesgo de conversión a DMAE avanzada según pauta AREDS.

Por lo tanto, esta clasificación que ha sido ampliamente aceptada y que resulta de fácil aplicación en la práctica clínica, es útil por dos motivos fundamentales. Por un lado, porque se basa en la observación de alteraciones claramente identificables (tamaño de las drusas, cambios pigmentarios); y por otro, porque permite estimar el riesgo de progresión a DMAE lo cual es esencial para establecer tratamiento de forma individualizada ²³.

1.5. ESTADIOS EVOLUTIVOS DE LA DMAE

Siguiendo la clasificación clínica recién explicada, paso a describir las características que definen cada estadio de manera más concreta.

1.5.1. DMAE precoz e intermedia

La manifestación clínica visible más temprana de la DMAE son las drusas y las alteraciones pigmentarias que aparecen sobre la mácula^{1,17,24}.

Las drusas son depósitos extracelulares localizados entre el EPR y la membrana de Bruch^{1,17,24}. No se conoce su papel exacto en la fisiopatología de la DMAE, pero la evolución de la enfermedad se encuentra íntimamente relacionada con el tamaño de las drusas, así como la presencia o ausencia de anomalías pigmentarias asociadas^{1,25}. La aparición de drusas suele ser frecuente a partir de los 60 años, siendo muy rara su aparición antes de los 40. Su distribución es muy variable, y pueden estar confinadas en la fovea, rodearla o formar una banda alrededor de la periferia macular. También pueden verse en el fondo periférico y media-periferia^{1,25}. Existen diferentes tipos de drusas:

Las drusas pequeñas o drusitas o «drusas duras», típicamente bien definidas y de color blanco amarillento, por definición ≤ 63 μ m de diámetro, es decir, menos de la mitad del grosor de una vena retiniana en el borde papilar. Son el tipo de drusas que encontramos en la DMAE temprana de la clasificación AREDS. Implican poco riesgo de pérdida visual, a menos que vayan acompañadas de anomalías pigmentarias^{7,26}.

Las drusas medianas son depósitos focales blanco amarillentos bien definidos a nivel del EPR que miden entre 63 y 125 μ m. Este tipo de drusas se incluyen en la DMAE intermedia. Si no se asocian a anomalías pigmentarias, solo aumentan ligeramente el riesgo de progresión a DMAE avanzada a los 5 años, pero este riesgo alcanza el 10% cuando se observan anomalías pigmentarias en ambos ojos²³.

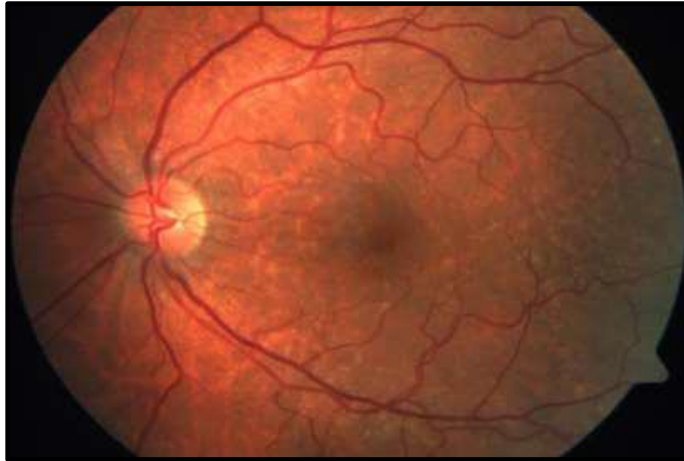


Figura 2. Drusas medianas en polo posterior.

Las drusas grandes o drusas blandas, son lesiones profundas de la retina, peor definidas y blanco amarillentas, que miden más de 125 μ m de diámetro. Son las definidas en la DMAE tardía o avanzada, tanto de atrofia geográfica como de la forma neovascular o exudativa. Al ir creciendo y hacerse más abundantes, su coalescencia puede dar lugar a una elevación localizada del EPR o desprendimiento drusenoides del EPR. La presencia de drusas grandes en ambos ojos se asocia a un 13% de riesgo de progresión a DMAE avanzada a los 5 años, pero, si además hay anomalías pigmentarias bilaterales, el riesgo se incrementa hasta cerca del 50%^{15,17,23}.

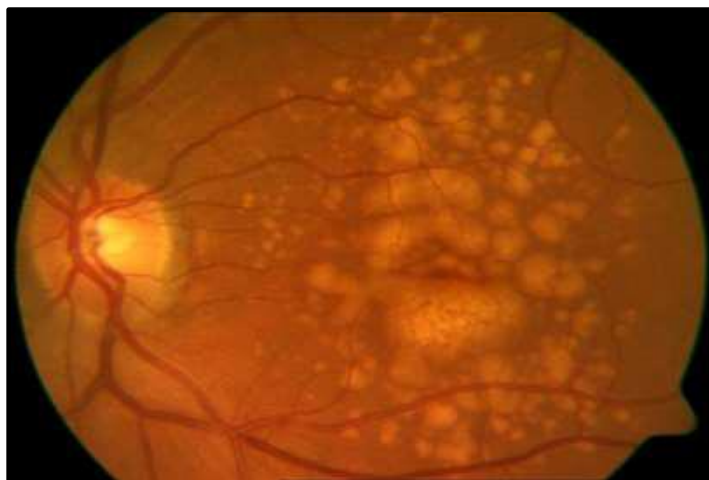


Figura 3. Drusas grandes confluentes en polo posterior.

1.5.2. DMAE avanzada- Atrofia Geográfica

Clásicamente la DMAE se dividía en dos tipos principales: la DMAE seca y la DMAE exudativa¹³. La atrofia geográfica (AG) es la fase avanzada de lo que clásicamente se definía como DMAE seca. Hoy en día, existen algunos autores que proponen emplear el término «DMAE seca» a la AG y no a estadios precoces de DMAE¹³. La DMAE seca es la forma más frecuente de DMAE y representa en torno a un 90% de los casos diagnosticados. Su característica principal es la atrofia progresiva del EPR. Se caracteriza por la presencia de drusas y deterioro de los FTR, el EPR y la coriocapilar en la zona macular¹³. Hablamos de AG cuando existen más de 175 micras de diámetro con pérdida total de la retina, EPR y coriocapilar. Incluyen en torno a un 10-15% de las DMAE avanzadas. La agudeza visual se suele afectar de forma más lenta y con menor severidad que en la DMAE neovascular^{13,27}.



Figura 4. DMAE geográfica sin afectación central.

Sin embargo, si la atrofia incluye la parte central de la fóvea, en cuyo caso hablamos de AG central (10% de los pacientes), la visión puede caer a 0,1 o peor ²³. Los pacientes con AG central, suelen tener zonas bien delimitadas de atrofia del EPR y de la coriocapilar, así como asociar cambios pigmentarios o drusas que rodeen las placas de atrofia ^{13,15}.



Figura 5. DMAE geográfica con afectación central.

1.5.3. DMAE avanzada- DMAE neovascular, húmeda o exudativa

Es mucho menos frecuente que la anterior, pero puede progresar más rápido a una pérdida grave de visión ¹⁶. La DMAE exudativa se define por la presencia de Neovascularización Coroidea (NVC); esto es, la aparición anómala de una estructura formada por neovasos de origen coroideo, con tendencia a desarrollar un crecimiento progresivo en el área macular. Incluye a un 85-95% de las DMAE avanzadas, y a un 10% del total de las DMAES ^{16,28}.

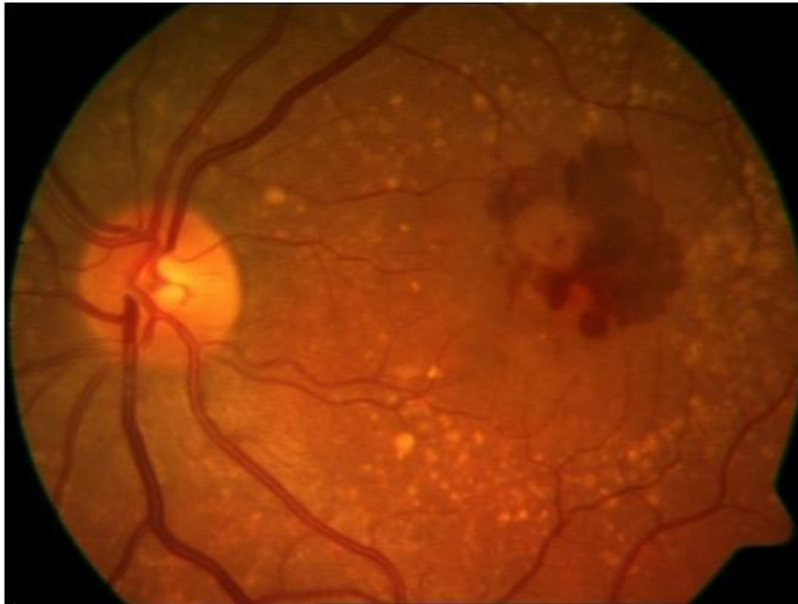


Figura 6. DMAE exudativa con hemorragia en área macular.

La NVC produce extravasación de sangre, células inflamatorias y exudados de contenido lipídico. Como parte de su maduración, la membrana neovascular (MNV) puede evolucionar hacia una fase de inactividad que conlleva a la formación de una cicatriz fibrovascular disciforme con una grave afectación de la visión central²⁸.

1.6. FACTORES DE RIESGO

1.6.1. Concepto de biomarcador

El National Institute Health (NIH) definió biomarcador como aquellas características biológicas, antropométricas, bioquímicas, fisiológicas... objetivamente medibles, capaces de identificar procesos fisiológicos o patológicos, o bien una respuesta farmacológica a un tratamiento²⁹⁻³¹. La aplicación de los biomarcadores de la DMAE se centra en identificar factores de riesgo de la enfermedad, tanto desarrollando estudios para screening y diagnóstico, así como usando esta información para aplicaciones en el pronóstico y guías de actuación terapéuticas²⁹⁻³¹.

La DMAE es una enfermedad de etiología multifactorial y no completamente clara, pero se ha visto que juega un papel importante la interacción entre una serie de factores genéticos y ambientales, de los cuales la edad es considerado como el único factor de riesgo universalmente aceptado^{24,29-34}. A continuación expongo los factores de riesgo más estudiados:

1.6.2. Sociodemográficos

Edad

La edad es el factor de riesgo más importante en la DMAE: todos los estudios realizados, han demostrado que tanto la prevalencia, incidencia y la progresión de la enfermedad aumenta según lo hace la edad^{24,29-34}. Como se explicará más en detalle posteriormente, con la edad

se produce un depósito focal de detritus acelulares entre el EPR y la membrana de Bruch, así como cambios en el grosor o en la composición de esta membrana, que son esenciales para su buen funcionamiento^{24,35}. Así mismo, con la edad se produce una alteración de los vasos coroideos, con una hipoxia secundaria y la producción de VEGF, responsable de la aparición de neovasos³⁵.

Raza

Estudios como el Baltimore Eye Study, el grupo AREDS y los estudios de Bressler³⁷⁻⁴⁰ han visto que existe una mayor prevalencia de DMAE en población caucásica frente a la raza negra o la población hispana, encontrando prevalencias de 54% en población caucásica, 4.6% en chinos, 4.2% en hispanos y un 2.4 % en raza negra^{6,37}. Se piensa que podría deberse a un efecto protector de la melanina de la coroides, ya que por un lado, absorbe los rayos luz que dañan la retina, y por otro, se le atribuye un efecto antioxidante^{20,37}. Además, la evidencia científica sugiere que los pacientes de raza caucásica son más proclives a terminar desarrollando una forma de DMAE más grave, más sintomática y con mayor progresión de la enfermedad⁴¹⁻⁴⁵.

Recientemente se ha demostrado que existe una asociación estadísticamente significativa entre el alelo Y402 del gen del factor H del complemento (CFH) y la frecuencia de aparición de este alelo en chinos y en hispanos. No ocurre esto en población negra. Se postula que podría deberse a otros factores genéticos todavía no estudiados o a diferencias en factores ambientales que impliquen un factor protector frente a la DMAE⁴¹⁻⁴⁵.

Sexo

Son numerosos los estudios que han demostrado que las mujeres presentan un mayor riesgo de presentar DMAE frente a los varones⁴⁶, como el Blue Mountains Eye Study, el Beaver Dam Eye Study^{7,8}, el EUREYE², o el AREDS²⁰. Sin embargo, esta asociación resulta inconsistente, requiriendo la realización de más estudios al respecto⁹.

1.6.3. Oculares

Color de iris

Niveles elevados de melanina en el ojo pueden ser protectores contra el daño oxidativo inducido por la luz sobre la retina, siendo los iris claros un factor de riesgo en el desarrollo de DMAE. Sin embargo, los resultados de los estudios publicados al respecto son inconclusos^{7,11,15}.

Error refractivo

Muchos estudios observan una correlación entre MAE e hipermetropía, aunque esta asociación es débil y se ha relacionado más con la forma temprana de la DMAE^{39,47,48}.

Catarata y cirugía de catarata

Los resultados de los estudios que relacionan la DMAE con la catarata y la cirugía de catarata son inconsistentes.

En el Estudio BDES, se observó que la cirugía de catarata se asociaba con un riesgo más elevado de DMAE avanzada ⁴⁹⁻⁵¹. Se cree que el cristalino bloquea la luz ultravioleta perjudicial, y que los cambios inflamatorios secundarios a la cirugía, la afaquia y la cirugía extracapsular, son responsables de este incremento en el riesgo de evolución ⁴⁹⁻⁵¹. En el estudio AREDS II no se encontró tal asociación, pero observó que todos los estadios de DMAE mejoraban significativamente de agudeza visual al ser intervenidos ^{39,52}.

Relación excavación/papila

El Eye Disease Case-Control Study (EDCCS) demostró que una mayor relación excavación/papila tenía menor riesgo de padecer DMAE exudativa ⁵³.

1.6.4. Factores ambientales

Como he explicado previamente, la DMAE es una enfermedad multifactorial en la que se cree que hay influencia de factores ambientales y factores genéticos. ²⁹⁻³⁴. Además, ambos factores pueden verse influenciados por cambios epigenéticos como estudió Hutchinson ³³.

Tabaco

El tabaquismo es el factor de riesgo ambiental en el que se ha encontrado una mayor fuerza de asociación con el desarrollo de DMAE en cualquiera de sus variantes así como con una aparición de la enfermedad a edades más tempranas en pacientes fumadores ^{39,53-58}. El mecanismo implicado no está del todo claro, pero sí se ha demostrado la asociación entre

componentes del tabaco y de su metabolismo con factores implicados en la DMAE, como será explicado más adelante.

Consumo de alcohol

La evidencia hasta el momento sugiere que no existe una asociación entre el consumo de alcohol y el desarrollo o progresión de DMAE²⁶.

Factores nutricionales

Son numerosos los estudios que han puesto de manifiesto la importancia de la dieta en el riesgo de desarrollo y progresión de la DMAE^{20,59}. Un alto consumo de grasas animales en la dieta presenta un mayor riesgo de progresión de la enfermedad. Sin embargo, una dieta rica en pescados supondría un efecto protector. Esto es debido a que los ácidos grasos omega 3 del pescado, forman parte de la membrana celular de los FTR de la retina, estimulando así la síntesis de glutatión, molécula con efecto antioxidante a nivel intracelular.

Por otro lado, una dieta rica en luteína, reduciría el riesgo de padecer DMAE neovascular en torno a un 40%. La luteína se trata de un carotenoide presente en las plantas de hoja verde. Este compuesto, se deposita en la retina, actuando como un filtro biológico protegiendo de la luz. Además, la luteína es precursora de la zeoxantina, teniendo ambas un efecto antioxidante^{20,59}.

Los estudios AREDS 1 y 2, se centraron en estudiar la eficacia de los suplementos nutricionales en la DMAE^{23,60}. El estudio AREDS 1, señaló cómo los suplementos

nutricionales de antioxidantes (betacarotenos, vitaminas A, C y E) y minerales (80 mg de zinc y cobre para prevenir la deficiencia de cobre inducida por el cinc) a dosis altas, se mostraban eficaces en frenar la progresión de la enfermedad en pacientes con DMAE avanzada, pero no ejercieron efectos significativos DMAE ausente o precoz inicialmente^{15,60}. El estudio AREDS 2, continuación del AREDS1, se diseñó para ajustar las dosis de betacaroteno y zinc, y también para determinar si otros suplementos podían mejorar los resultados^{23,38}. La explicación de los objetivos de estudio de este nuevo ensayo, fueron, por un lado, que las dosis altas de zinc pueden asociarse a problemas del tracto genitourinario, y a la presencia de datos que apuntaban a que la dosis máxima absorbible de zinc es de 25 mg³⁸. Por otro lado, el betacaroteno es un factor de riesgo que aumenta la incidencia de cáncer de pulmón en fumadores y exfumadores³⁸. De esta manera, el AREDS2 concluyó lo siguiente:

Los carotenoides luteína y zeaxantina son una alternativa segura al betacaroteno, siendo probablemente más eficaces (posible reducción del riesgo de DMAE avanzada un 18% mayor que la obtenida con la pauta del AREDS1)^{23,38}. La adición de luteína y zeaxantina al régimen del AREDS1 solo se asoció a una reducción estadísticamente significativa del riesgo de DMAE (26%) en pacientes en los que la ingesta dietética de estas no fuera previamente elevada. La adición de ácidos grasos omega-3 al régimen no mejoró los resultados^{23,38}. La reducción de la dosis de cinc no condujo a un empeoramiento del pronóstico, pero sí es probable que se asocie a menor incidencia de los efectos secundarios^{23,38}.

A modo de resumen, los suplementos diarios recomendados según el AREDS2 serían: Vitamina E (400 UI); Vitamina C (500 mg); Luteína (10 mg); Zeaxantina (2 mg); Cinc (25-

80 mg: la dosis menor puede ser igual de eficaz) y Cobre 2mg: puede no ser necesario con la dosis menor de cinc.

Sin embargo, estos estudios han sido realizados en Estados Unidos, donde los hábitos nutricionales son muy diferentes y con dosis de antioxidantes en su dieta mucho menor a la dieta mediterránea. De esta manera, la extrapolación de los resultados a la población española habría que hacerla con cautela³⁸.

Actualmente, los suplementos nutricionales propuestos por los estudios AREDS y AREDS2 son los únicos que sostienen una evidencia científica en la reducción del riesgo de progresión de la DMAE³⁸.

Obesidad

Son numerosos los estudios realizados que han comprobado una asociación significativa entre la realización de ejercicio vigoroso y la reducción del riesgo en el desarrollo de DMAE; así como una asociación inversa entre el cociente cintura/cadera y el riesgo de DMAE^{54,61}. A pesar de que los resultados sean contradictorios entre algunos estudios, parece ser que la obesidad está asociada a un mayor riesgo de desarrollo de DMAE. Además, se ha comprobado que esta asociación sería más fuerte en varones que en mujeres^{39,54,61}.

Exposición a la luz solar

La bibliografía existente acerca de la asociación entre la DMAE y la exposición a la luz solar es contradictoria²⁶. Evaluar la exposición solar de cada individuo es muy complejo de

cuantificar, lo que explica que los resultados obtenidos en los diferentes estudios y países sean discordantes^{7,62,63}.

1.6.5. Factores cardiovasculares

La teoría vascular de la DMAE, postulada por Friedman, establece que tanto la aterosclerosis como un exceso de lípidos en sangre, producirían un incremento de la resistencia al flujo sanguíneo de la coroides, con la consiguiente alteración del metabolismo del EPR. Este mecanismo sería el responsable de la aparición de drusas y de cambios pigmentarios en la retina, y como consecuencia, de la DMAE^{1,64,65}. Basándose en estos supuestos, diferentes estudios han analizado diferentes factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión arterial (HTA), el colesterol, la diabetes o la arterioesclerosis, sin haber podido confirmar de manera clara su relación con el desarrollo de la DMAE.

Hipertensión arterial

La relación entre la DMAE y la HTA es objeto de controversia. Como se verá a continuación de manera más exhaustiva, a pesar de que numerosos estudios sugieran una asociación significativa entre la HTA y la DMAE, la relación es compleja y no se trataría de una simple relación causa-efecto⁶⁶⁻⁷⁰.

Niveles de colesterol e ingesta de grasa en la dieta

Los niveles de colesterol sérico pueden estar relacionados con la DMAE exudativa, habiendo sido postulada una asociación entre la DMAE y la aterosclerosis, asemejando la fisiopatología de ambas¹.

Diabetes e hiperglucemia

De momento no existe una relación clara entre diabetes y DMAE, ya que la mayor parte de los estudios excluyen a los diabéticos⁶⁷.

Factores hormonales y reproductores

Existen datos que apoyan la existencia de un pequeño efecto protector del tratamiento hormonal en la DMAE, pero las relaciones en el embarazo y menopausia son desiguales en los estudios realizados hasta el momento⁵³.

1.6.6. Factores genéticos

Se ha demostrado que el factor genético tiene una influencia determinante. Aunque hasta ahora se han identificado numerosos genes implicados, los principales son CFH, C3, C2, ARMS2, FB, CFHR4, CFHR5 y F13B. El polimorfismo CFH Y402H es el que está más estrechamente asociado con la enfermedad. La proporción de portadores de este polimorfismo en individuos de raza blanca es del 39%, en individuos de raza negra es del 31% y en pacientes asiáticos del 7%. Por motivos que todavía se desconocen, la prevalencia de DMAE es mucho más alta en la raza blanca que en la raza negra^{5,10}.

La importancia del componente genético, ha propiciado en los últimos años el desarrollo de numerosos estudios y de pruebas genéticas para, junto con los datos del fenotipo, ayudar a evaluar el riesgo de desarrollo, progresión y predicción de respuesta al tratamiento de la enfermedad. Dedico más adelante un apartado a este tema.

1.7. FISIOPATOLOGÍA DE LA DMAE EXUDATIVA

La DMAE exudativa se caracteriza por la existencia de neovascularización coroidea (NVC), generalmente, en el área macular. La NVC se genera por un proceso de angiogénesis, es decir, de formación y maduración de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos ya existentes, a partir de vasos coroideos⁷¹⁻⁷⁴. La NVC puede aparecer en diversas enfermedades oculares, y suelen deberse a un deterioro de la función de la membrana de Bruch y/o del EPR⁷¹⁻⁷⁴.

En cuanto a la membrana de Bruch, su integridad es vital en el desarrollo de la DMAE exudativa, ya que habitualmente, los neovasos de la coriocapilar penetran a través de una membrana de Bruch interrumpida, llegando al espacio sub-EPR, y al espacio subretiniano⁷¹⁻⁷⁴. Esta alteración en la continuidad de la membrana de Bruch, se puede deber a causas exógenas (ruptura mecánica) o causas endógenas (como exceso de proteólisis o reacción inmune excesiva con activación del complemento)⁷³⁻⁷⁴.

En cuanto al EPR, diversas alteraciones en esta capa serían las responsables de diferentes mecanismos fisiopatológicos en el desarrollo de la NCV. Por un lado, se produciría acumulación progresiva de lipofuscina, conduciendo a la apoptosis de las células del EPR y a un mayor deterioro de la función del EPR⁷¹⁻⁷⁴. Y por otro, la lipofuscina favorece la

atracción de macrófagos y otras células proinflamatorias, con lo que se provoca una respuesta autoinmune local que conduce a una inflamación crónica, siendo un proceso íntimamente ligado a la angiogénesis en la DMAE exudativa⁷¹⁻⁷⁴.

Estos macrófagos secretan enzimas proteolíticas que erosionan la membrana de Bruch, facilitando la migración de los neovasos coroides. Y además, favorecen la aparición de otras moléculas de la cascada de inflamación como son factores del complemento (C3a y C5a) o citoquinas como la interleukina-1, que inducirían la angiogénesis mediante un aumento de la expresión de factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A)⁷². Se sabe la importancia de la promoción e inhibición del crecimiento de los vasos sanguíneos mediada por citoquinas, sobre todo el VEGF, ahora conocido como VEGF-A. Recientemente se han identificado otros genes relacionados como el VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y el placentar growth factor (PlGF). Sin embargo, el papel de estos últimos genes en el proceso de angiogénesis es más controvertido⁷².

VEGF-165 es la principal isoforma, y es mediador principal de la neovascularización ocular, siendo un potente mitógeno de células endoteliales y un factor favorecedor de la permeabilidad vascular. El principal impulsor de la expresión del VEGF-A en el ojo es la hipoxia, debido a que este gen contiene una secuencia que se une al factor inducido por hipoxia 1 (HIF1)⁷²⁻⁷⁶. El VEGF se une a 3 receptores tirosín quinasa de las células endoteliales muy relacionados entre sí (VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3), siendo el VEGFR2 el principal mediador en los procesos patológicos llevados a cabo en el ojo⁷⁵. La unión del VEGF-A a sus receptores, favorece la proliferación y la exudación vascular. Además, se sabe que incrementa los niveles de metaloproteinasas, favoreciendo la ruptura del ECM. Se cree

que también desempeñan un papel importante otros mediadores inhibidores, como el factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF) y el CFH. Parece que podrían reclutarse células progenitoras endoteliales suplementarias desde reservorios sistémicos, potenciando el crecimiento del complejo neovascular⁷⁶⁻⁷⁹.

En condiciones normales, las células endoteliales de los vasos coroideos, son resistentes a los estímulos angiogénicos; sin embargo, en la DMAE concurren situaciones patológicas de hipoxia, isquemia o inflamación que inclinan la balanza hacia la señal proangiogénica. De esta forma, la existencia de alteraciones previas o la disfunción del EPR generan un ambiente que propiciaría el inicio de la angiogénesis^{80,81}. Estos mecanismos pueden ser secundarios a un proceso degenerativo, inflamatorio, traumático o neoplásico, sin embargo, la DMAE es la causa más frecuente, seguida de la degeneración miópica⁷².

A modo de resumen, podría decirse que la patogenia de la DMAE exudativa es un proceso complejo en el que un ambiente ocular de estrés oxidativo desencadena un aumento de moléculas inflamatorias y proangiogénicas que desencadenan una cascada angiogénica responsable de la formación de la NVC, encontrando en su fisiopatología.

1.8. DIAGNÓSTICO DE LA DMAE

1.8.1. Anamnesis

El diagnóstico de la DMAE se realiza mediante una exploración oftalmológica completa, que comienza por una anamnesis detallada en la cual prestaremos atención a los síntomas que refiere el paciente. A continuación, realizaremos la toma de la agudeza visual y una exploración del fondo de

ojo tras dilatación farmacológica. Para hacer un diagnóstico grosero, contamos con la rejilla de Amsler²¹⁻²³.

1.8.2. Agudeza visual

La agudeza visual (AV) lejana está relacionada con el mínimo ángulo de separación entre dos objetos que permita percibirlos como diferentes. La AV lejana suele medirse con la corrección refractiva del paciente, bien con sus gafas o sus lentes de contacto. Primero debe explorarse el ojo con peor visión, mientras se tapa el otro. Puede ser medida con diferentes escalas. Las más empleadas son la escala de Snellen y la escala logMar. En la práctica clínica habitual, suele emplearse la escala de Snellen, que presenta letras o símbolos negros (optotipos) de diferentes tamaños sobre un fondo blanco. Las escalas logMAR solventan algunas de las deficiencias de la escala de Snellen, y son el método estándar para medir la AV en estudios de investigación y cada vez se usan más en la práctica clínica.

1.8.3. Rejilla de Amsler

Para controlar a aquellos pacientes con riesgo significativo de NVC, se les debe dar una rejilla de Amsler para vigilarse regularmente en casa. La rejilla de Amsler evalúa los 20° del campo visual centrados en la fijación, y se utiliza principalmente para la detección y seguimiento de maculopatías, pero también demostrará defectos centrales del campo visual de otro origen.

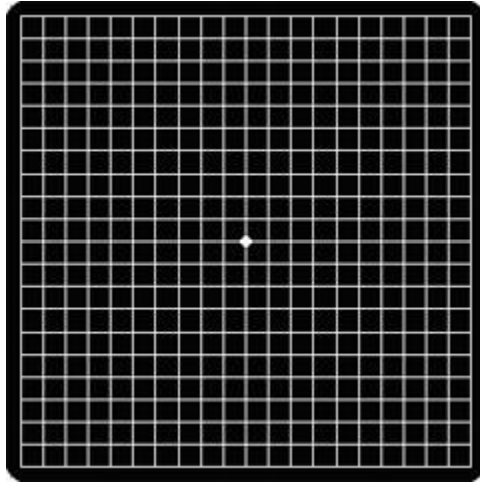


Figura 7. Rejilla de Amsler.

1.8.4. Síntomas de la DMAE

En los estadios más iniciales de la enfermedad, la DMAE suele ser asintomática y ser un hallazgo casual en una exploración funduscópica de rutina⁸².

Uno de los síntomas más frecuentes es la metamorfopsia, o visión borrosa y distorsionada de las imágenes, sobre todo de las líneas rectas^{21-23,82}. Es frecuente que el paciente presente problemas de adaptación a la oscuridad, como mala visión en penumbra y persistencia de postimágenes. Por eso, sobre todo en fases iniciales, leer con gran foco de luz es de gran ayuda^{21-23,82}. La visión cromática puede estar alterada, pero generalmente de manera poco acusada. También puede existir alteración de la percepción del tamaño de las imágenes, viéndolas aumentadas o disminuidas (macropsia y micropsia) respectivamente, pero suele ser un síntoma poco frecuente⁸².

Cuando la enfermedad va progresando, la agudeza visual va disminuyendo hasta alcanzar la ceguera legal (0.1)^{21-23,82}. En las fases más avanzadas de la enfermedad, el paciente afecto de DMAE suele presentar un escotoma positivo central que le impide realizar tareas de la vida diaria como son leer, ver la hora en el reloj, marcar los números de teléfono o reconocer las caras²¹⁻²³.

En la DMAE atrófica, este declive visual suele ser más lento y progresivo a lo largo de los años, mientras que en la DMAE neovascular, la clínica progresa rápidamente en pocas semanas o meses²¹⁻²³.

A diferencia de otras enfermedades, la DMAE conserva el campo visual periférico, hecho que permite a los pacientes conservar autonomía en la deambulación y en aquellas actividades que no requieran una gran precisión visual²¹⁻²³. Si bien hay que recordar que existen pacientes con variables de la enfermedad con tendencia a producir hemorragias, que afectarían a la visión de todo el campo visual²¹⁻²³.

En estadíos terminales de la enfermedad, puede aparecer lo que es conocido como síndrome de Charles Bonnet, que consiste en alucinaciones visuales complejas y estereotipadas que el paciente reconoce como irreales. Es frecuente que no manifiesten estos síntomas por vergüenza, o por miedo a que se les atribuya un deterioro cognitivo^{21-23,82}.

1.8.5. Signos en la DMAE. Hallazgos en exploración funduscópica

Los hallazgos que podemos encontrar en la exploración de fondo de ojo en los diferentes tipos de DMAE podrían resumirse dentro de los que se exponen a continuación:

1.8.5.1. DMAE precoz e intermedia

Drusas duras: como se ha introducido anteriormente, representan la fase más precoz de la DMAE atrófica.

Desprendimiento drusenoide del EPR: como resultado de la coalescencia de drusas blandas, que en ocasiones simula la forma de un desprendimiento del EPR.

Acúmulos de pigmento: indican más severidad de las lesiones y se observan con frecuencia adyacentes a las drusas blandas.

Drusas calcificadas: drusas blandas en fase de reabsorción por degeneración parcial de las células del EPR localizadas sobre ellas.

1.8.5.2. DMAE avanzada-atrofia geográfica

Placas circulares u ovals de atrofia del EPR de al menos 175 micras, producidas por degeneración de las células de EPR sobre las drusas, con ausencia de EPR o hipopigmentación. Dentro de estas placas de atrofia, pueden ser visibles los grandes vasos coroideos y desaparecer las drusas preexistentes. Rara vez puede aparecer NVC en un área de AG⁸².

1.8.5.3. DMAE avanzada- DMAE exudativa⁸²

NVC: puede identificarse como una lesión gris verdosa o rosa amarillenta.

Drusas medianas o grandes en el mismo o el ojo contralateral.

Líquido subretiniano localizado, a veces con edema macular quístico.

Depósito de lípidos intrarretinianos y subretinianos, que puede ser muy intenso.

Es frecuente la hemorragia, intrarretiniana, subretiniana o sub-EPR.

Puede asociarse a un DEP seroso, fibrovascular, drusenoide o hemorrágico.

Cicatrización retiniana y subretiniana (cicatriz disciforme) en una lesión evolucionada o tras el tratamiento.

1.9. TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS COMPLEMENTARIAS

Hasta la aparición de la tomografía de coherencia óptica (OCT), la técnica princeps para el diagnóstico de las diversas formas de DMAE era la angiografía con fluoresceína (AGF).

En el caso de la DMAE atrófica, el diagnóstico se realiza en base a la exploración fundoscópica. El hallazgo de cualquiera de los signos descritos previamente, es suficiente para establecer el diagnóstico. Sólo en aquellos casos con desprendimientos drusenoides del EPR se aconseja descartar la presencia de una NVC. Para ello, serían útiles la AGF así como el estudio con OCT. Algunos autores recomiendan realizar una angiografía con verde de

indocianina (AVI) para descartar una MNVC oculta. El empleo de la Autofluorescencia (AF) permite delimitar con mayor precisión los límites de la lesión del EPR y en ocasiones nos permite predecir si hay una tendencia a la progresión de la lesión atrófica.

Sin embargo, en el caso de la DMAE neovascular estas técnicas de imagen son utilizadas de manera rutinaria y resultan de gran utilidad en el diagnóstico, pronóstico, seguimiento y con fines terapéuticos.

1.9.1. Angiografía fluoresceínica del fondo de ojo

La prueba de AGF consiste en el estudio del paso de fluoresceína a través de las circulaciones retiniana y coroidea tras su inyección intravenosa. La fluoresceína es un colorante naranja hidrosoluble que, tras su inyección intravenosa, permanece principalmente en el espacio intravascular unida a proteínas plasmáticas > 70%. A las 24-36 h es excretada por la orina⁸³.

El mecanismo por el que la AGF es de utilidad es debido a la fluorescencia de ciertas moléculas de la retina. La fluorescencia es una propiedad por la cual emiten luz de una longitud de onda mayor cuando se estimulan con una luz de menor longitud de onda. El pico de excitación para la fluoresceína es de unos 490 nanómetros (en la parte azul del espectro), que es la longitud de onda de máxima absorción de energía luminosa para este colorante⁸³. Las moléculas estimuladas emiten una luz amarillo verdosa de alrededor de 530 nm.

Los vasos coroideos principales son impermeables a la fluoresceína, tanto libre como unida a proteínas plasmáticas. Sin embargo, las paredes de la coriocapilar contienen fenestraciones

a través de las que las moléculas no unidas a proteínas pueden escaparse hacia el espacio extravascular y cruzar la membrana de Bruch. Al alcanzar el EPR, estas moléculas son bloqueadas por los complejos intercelulares denominados zonas de oclusión o zonula occludens, que corresponden con la barrera hematorretiniana externa^{83,84}.

Por otro lado, existe también una barrera hematorretiniana interna, que está compuesta por las zonas de oclusión entre las células endoteliales de los capilares retinianos, que no pueden ser atravesadas por la fluoresceína libre ni unida a proteínas. La alteración de esta barrera permite el escape de fluoresceína libre y ligada al espacio extravascular⁸³.

En la DMAE atrófica, debido a las áreas atróficas, se produce una falta de bloqueo de la fluorescencia corioidea de fondo, dando lugar a un efecto ventana si la coriocapilar subyacente permanece intacta. La esclera expuesta puede además mostrar tinción tardía⁸³⁻⁸⁵.

La AGF se utilizaba anteriormente para diagnosticar la NVC y planificar y seguir la respuesta a la fotocoagulación con láser o la terapia fotodinámica. Sin embargo, hoy en día, ya disponemos de los fármacos ANTI-VEGF que permiten mejorar la agudeza visual de los pacientes con DMAE exudativa independientemente del tipo de membrana que presenten^{83,84}.

Indicaciones de AGF

Actualmente, las indicaciones de realizar una AGF serían:

-Diagnóstico de NVC antes de iniciar el tratamiento con anti-VEGF en el momento del diagnóstico. Por un lado, debido a su valor en la estimación pronóstica, ya que las membranas clásicas son más agresivas que las membranas ocultas. Y por otro lado, para planificación terapéutica, ya que se podría retrasar el tratamiento de una MNV oculta sin signos de actividad (que no tuviera pérdida de agudeza visual ni sangrado) ^{84,85}.

-Como complemento para el diagnóstico de la Vasculopatía Coroidea Polipoidea Idiopática y la Angiomatosis Retiniana Proliferante^{84,85}.

-Excepcionalmente para localización de la fotocoagulación extrafoveal o como guía para la TFD.

La AFG nos aporta información sobre el estado de perfusión y el crecimiento de la NVC, nos informa sobre el estado de la barrera hematorretiniana, también define el tipo de NVC (clásica u oculta), su composición (predominantemente clásica o mínimamente clásica, u oculta), su comportamiento (si está bien o mal definida), así como la localización de la NVC respecto a la zona avascular de la fovea^{65,84,85}.

Clasificación de MNV según estudio mediante AGF

En este sentido, clasifica las MNV como:

Subfoveales. Afectan al centro de la fovea.

Yuxtafoveales. Entre 1 y 200 micras del centro de la fovea.

Extrafoveal. A más de 200 micras del centro de la fovea.

Yuxtapapilar. Adyacente al disco óptico.

La terminología empleada para describir la NVC atendiendo a su aspecto angiográfico deriva del Macular Photocoagulation Study (MPS), que las clasifican como:

NVC clásica: el 20% de las NVC. La mayoría de las NVC de este tipo son subfoveales. La membrana clásica puede determinarse clínicamente por la presencia de una lesión de color grisáceo, generalmente acompañada de hemorragia, que puede tener incluso un verdadero halo hemorrágico en la angiografía, con bordes bien definidos. Se corresponde con las MNV tipo 2 según la clasificación mediante OCT^{86,87}. En los períodos precoces el borde se ve bien definido y después se va produciendo un llenado progresivo de la membrana que adquiere un aspecto como de rueda de carro o un patrón en encaje. En las etapas tardías de la AFG, se produce exudación hacia el espacio subretiniano durante 1-2 minutos, por lo que los bordes de la membrana se pierden un poco por el llenado del colorante^{86,87}. Sin embargo, existen otros hechos que pueden oscurecer los bordes de una membrana neovascular clásica, haciendo que se acompañe de focos hipofluorescentes como pueden ser la presencia de sangre; el bloqueo de la fluoresceína debido a hiperplasia del EPR o por tejido fibroso; y por último debido a desprendimientos serosos del EPR^{86,87}.

NVC predominantemente o mínimamente clásica: en las que puede predominar un componente u otro, por lo que se habla de membrana predominantemente clásica o mínimamente clásica, en aquella con un componente clásico mayor o menor del 50% de la lesión total, respectivamente⁸⁶⁻⁸⁸.

NVC oculta: el tipo de NVC más frecuente (80%). El gran problema se presenta cuando la membrana no se logra definir con la angiografía. Las membranas neovasculares ocultas son aquellas en las que clínicamente se sospecha que existe una membrana neovascular, porque hay un gran componente hemorrágico o exudativo, pero la AFG es incapaz de mostrar un patrón definido de filtración⁸⁶⁻⁸⁸. Corresponden con las MNV tipo 1 según la clasificación determinada por la OCT, como se explicará a continuación.

Sus variantes serían el DEP fibrovascular y la exudación tardía de origen indeterminado.

El DEP fibrovascular, se aprecia en tiempos tempranos (1-2 primeros minutos) como una elevación irregular del EPR acompañado de un punteado irregulares hiperfluorescentes. Los bordes de la membrana pueden o no presentar escape en fases tardías: puede que se enmarquen como una colección del contraste dentro del tejido fibrovascular o que se diluyan en el espacio subretiniano sobre el complejo fibrovascular^{84,89}.

La Exudación Tardía De Origen Indeterminado (ETOI), se caracteriza por la presencia de escape tardío de la fluorescencia de una fuente no determinada, que indica el escape tardío coroideo sin identificarse una NVC clásica o un complejo fibrovascular. Generalmente se observa como una mancha de bordes imprecisos hiperfluorescente que se diluye en el espacio sub-retiniano delimitado por esta mancha^{84,89}.

Dentro de las membranas ocultas, hay descritas dos entidades que han cobrado identidad propia:

Angiomatosis Retiniana Proliferante (RAP): Se trata de una enfermedad neovascular que podría ser una variante de DMAE siendo inicialmente intraretiniana, para extenderse al espacio subretiniano y establecer anastomosis retinocoroidea⁸⁵⁻⁸⁹. Se ha propuesto el término de neovascularización de tipo 3 para este cuadro. La enfermedad suele ser bilateral y simétrica, y probablemente muchas veces no se diagnostica; podría representar el 10-20% de los casos de DMAE neovascular en raza blanca⁸⁵⁻⁸⁹. Se manifiesta como una NVC, pero con más frecuencia de DEP y exudados. También son más comunes las hemorragias, que tienden a ser superficiales y múltiples. Encontraremos también característicamente drusas reticulares y una coroides adelgazada. Tiene una buena respuesta a los anti-VEGF, pero una alta tasa de recidiva. Suele derivar en una atrofia geográfica de manera frecuente, y es posible que ocurra una ruptura del EP como consecuencia de grandes DEPs⁹⁰. La AGF suele ser similar a la de la NVC oculta o mínimamente clásica, pero puede mostrar hiperfluorescencia intrarretiniana focal. Encontraremos un punto caliente correspondiente a la MNV intrarretiniana, y anastomosis retino-retinianas. La AVI es diagnóstica en la mayoría de los casos⁹⁰.

Vasculopatía Coroidea Polipoidea Idiopática (VCPI). También llamada DA1, o dilataciones aneurismáticas tipo1. Al igual que la RAP, para muchos autores se trata de una variante de la DMAE neovascular^{91,92}. De manera característica, es más frecuente en asiáticos (50%), y vamos a encontrar bajos niveles serológicos de VEGF. Podemos encontrarla en dos picos de edad: bien en pacientes ancianos, clasificándola dentro de las DA1, o bien en pacientes menores de 50 años, englobándola dentro del grupo de enfermedades paquicoroideas^{91,92}. Se caracteriza por una serie de dilataciones vasculares polipoideas en la coroides que se asocian a cuadros repetidos de sangrado subretiniano y exudación. A menudo se pueden ver los

bulbos terminales o pólipos, como nódulos rojo anaranjados o “manchas rojas” bajo el EPR en el área peripapilar o macular. A veces podemos encontrarlos en la periferia, pero es más raro. Es frecuente que ocurran desprendimientos serohemorrágicos de retina y del EPR recidivantes. También es frecuente la presencia de exudados lipídicos. La evolución suele ser más larvada, y puede haber un lento deterioro con sangrado y exudación intermitentes, que da lugar a lesión macular y pérdida de visión. Hasta un 50% de los pacientes que padecen VCPI, pueden evolucionar favorablemente, con resolución de la exudación y las hemorragias^{91,92}.

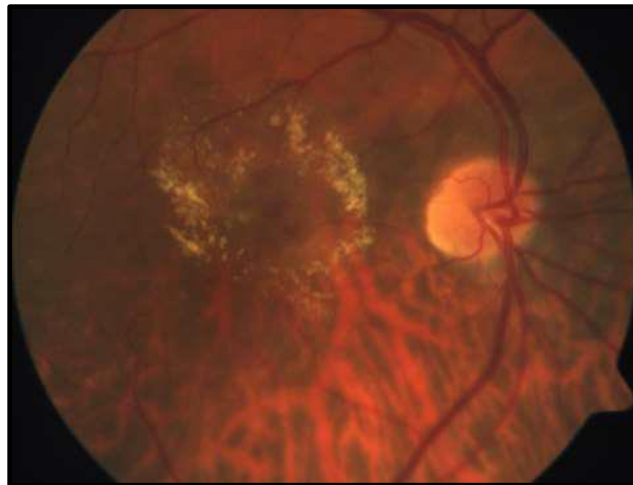


Figura 8. Retinografía en color en la que se pueden ver “manchas rojas” correspondientes a los pólipos y exudación lipídica circundante.

Al igual que la RAP, suele ser bilateral, pero tiende a ser asimétrica. Es una patología frecuente, y la presencia de una hemorragia ostensible en área macular, debe hacernos pensar en ella, sobre todo en ausencia de drusas y en pacientes relativamente jóvenes y de raza asiática^{91,92}. En la AFG, veremos una imagen de rezume mal definido (tipo 1). No es una

prueba de imagen útil para el diagnóstico de esta patología, en la que la AVI es la prueba fundamental⁹¹.

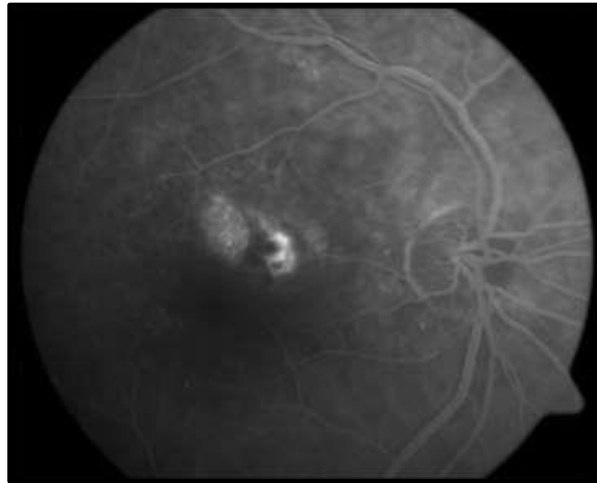


Figura 9. AFG en un paciente con diagnóstico confirmado de VCPI mediante AVI. Como se ve en la imagen, la AFG no resulta útil, ya que se limita a mostrar rezume mal definido.

1.9.2. Angiografía con verde de indocianina

El hecho de que las membranas ocultas no logren una buena definición con la AFG ha llevado a desarrollar nuevos métodos como la angiografía con verde indocianina (AVI) que, en algunos casos, parece dar una mayor precisión en la identificación de estas lesiones⁹³.

El verde indocianina es un colorante que se une en un alto porcentaje a las proteínas y que emite y absorbe luz en el rango infrarrojo, entre los 805 y los 835 nanómetros. Las características de este colorante hacen que penetre mejor a través de las alteraciones pigmentarias y los desprendimientos serohemorrágicos, haciendo posible una distinción entre

el componente seroso del vascular⁹³.

Los estudios de Yanuzzi aportan que un porcentaje de las membranas ocultas en la AGF pueden beneficiarse con el estudio con verde indocianina en casos en que la fluoresceína no fue capaz^{90,91}.

Un caso aplicable de esta técnica, sería por ejemplo, un paciente con un desprendimiento seroso central o un desprendimiento del EPR, el que se insinuase una lesión filtrante en la AFG, pero no se definiera bien en los tiempos tardíos, porque está oculta por el desprendimiento epitelial⁹⁴. En estos casos, la angiografía con verde indocianina permitiría identificar una placa de mayor filtración dentro de este desprendimiento del EPR, más definida que lo que permite la AFG.

Según la AVI, las MNVC ocultas pueden ser de tres tipos morfológicos⁹⁴:

-La MNVC en placas, bien o mal definidas.

-El hot spot o punto caliente o punto focal.

-La MNVC sin patrón, en las que podemos encontrar una combinación de las previas.

Las lesiones se pueden localizar en el borde de la lesión, lo que se conoce como punto marginal; encima de la lesión o punto sobresaliente; y a una distancia X de la lesión o punto remoto.

Indicaciones de Angiografía con verde indocianina

Las indicaciones principales de la AVI, serían fundamentalmente la VCP, en la que la AVI es muy superior a la AGF, y en la RAP, en la que la AVI angiografía es también una herramienta útil para su diagnóstico.

La VCPI, se manifiesta en la AVI como nódulos hiperfluorescentes y una red de grandes vasos coroideos con hipofluorescencia alrededor en la fase precoz. Las dilataciones polipoideas empiezan a exudar rápidamente. La zona circundante que previamente era más oscura, se vuelve hiperfluorescente en la fase tardía. En el caso de existir una agrupación de lesiones en forma de uva, puede comportar mayor riesgo de pérdida de visión grave^{91,92,95,96}.

En la RAP, la AVI muestra un punto caliente en secuencias intermedias o tardías y a menudo se observa una arteriola retiniana nutricia y una vénula de drenaje «en horquilla» si están unidas⁹⁰.

Degeneración macular asociada a la edad (DMAE) exudativa.

La AGF convencional sigue siendo el método primario de evaluación, pero la AVI puede ser un complemento valioso, sobre todo si se sospecha VCP.

Sin embargo la AVI presenta las siguientes ventajas respecto a la AGF:

Penetra a través de pigmentos oculares, como la melanina y el xantófilo, así como de exudados y capas finas de sangre subretiniana, lo que hace que esta técnica sea más adecuada para visualizar la coroides. Además, la luz infrarroja se dispersa menos que la luz visible, lo que hace que la AVI obtenga mejores resultados que la AGF en ojos con opacidad de

medios⁹⁰⁻⁹⁴. Además tiene una mayor sensibilidad para diagnosticar la NVC: sería de utilidad en el caso de estar ante una hemorragia de poca densidad, líquido o pigmento que impidieran una visualización adecuada mediante AGF^{95,96}. Y distingue la NVC de otras enfermedades que pueden presentarse de modo similar, sobre todo VCP, PAR y CSC. De hecho, esta prueba es la idónea en el estudio de NVC oculta y la identificación de los patrones característicos de la VCPI y la RAP⁹⁵.

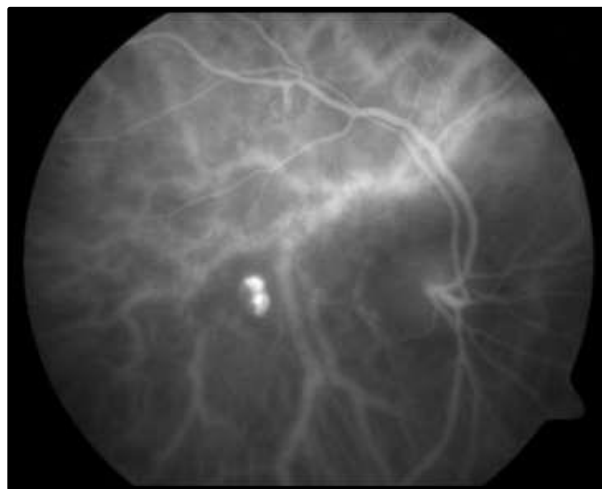


Figura 10. AVI en la que podemos ver un pólipo en fondo de ojo de un paciente con diagnóstico de VCPI.

Por último, la delimitación de la NVC oculta puede seguir siendo útil para alguna modalidad terapéutica combinada y en aquellos pacientes que rechacen el tratamiento con inyecciones intravítreas, sirviendo de guía en tratamiento con láser o terapia fotodinámica^{95,96}.

1.9.3. Tomografía de coherencia óptica

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica de imagen no invasiva y sin contacto que proporciona imágenes de alta resolución de cortes transversales del polo posterior. Aunque también se está usando cada vez más para el estudio del segmento anterior (OCT-SA)⁹⁷. La OCT se basa en la interferometría de luz infrarroja.

La OCT de dominio temporal (TD-OCT) de alta definición, nos permite obtener imágenes de alta calidad (6-9 mm). La mayoría de los aparatos existentes en la actualidad, usan tecnología de dominio espectral o Fourier (SD-OCT) en la que se elimina el movimiento mecánico necesario para la adquisición de imágenes usado por las máquinas más antiguas de dominio temporal. Además, acelera la adquisición de datos y mejora la resolución. Esto permite realizar imágenes en tres dimensiones y mejorar la calidad de la imagen (10 mm)⁹⁸⁻¹⁰⁰.

Recientemente, han aparecido en el mercado nuevas modalidades como la OCT swept-source (OCT-SS), que permite adquirir imágenes a mucha mayor velocidad con resolución extremadamente alta de los elementos retinianos y mejor visualización en profundidad. Su ventaja añadida principal sería la definición de la coroides y la coriocapilar con la opción "Enhanced Depth Imaging-EDI". Otra novedad, la llamada óptica adaptativa, permite corregir las aberraciones ópticas de orden superior para mejorar considerablemente la resolución⁹⁸⁻¹⁰⁰.

Una técnica novedosa es la Angio-OCT (OCTA). La OCT-A es una nueva técnica no invasiva que une las ventajas de la OCT y la angiografía convencional. Tiene la ventaja de no necesitar contraste intravenoso para su realización¹⁰¹⁻¹⁰³. Permite estudiar por separado la vascularización del plexo superficial, el profundo y la coriocapilar. También ofrece una información de flujo añadida a los detalles estructurales vistos en la OCT¹⁰¹. Permite diferenciar entre NVC tipo I y tipo II, y numerosos estudios han demostrado que puede mostrar cambios cuantitativos y cualitativos que pueden ayudar en la monitorización del tratamiento de la NVC¹⁰¹⁻¹⁰³. La OCT-A es capaz de hacer una representación de la microvasculatura retiniana al realizar escáneres repetidos en la misma localización, aislando las señales que están en movimiento (flujo sanguíneo) de las señales estáticas (el tejido). Esto es posible gracias al desarrollo de la fuente de barrido, la frecuencia de dominio de ultra velocidad y a las imágenes modo "en face"¹⁰¹⁻¹⁰³.

Si bien es cierto que la OCT es una herramienta fundamental en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la DMAE, los estudios que la comparan con la angiografía han encontrado que la "spectral domain" OCT o SD-OCT tiene una alta sensibilidad (85%) pero baja especificidad (40%) y la TD-OCT tiene una sensibilidad 70% y especificidad del 65%^{27,98,101-103}. Además, la OCT angiografía, no ha demostrado superioridad frente al AVI para valorar los pólipos y tampoco es capaz de detectar una MNV con área < 0,01mm²^{27,98,101,103}.

Características clínicas de la OCT en la DMAE

Las principales características clínicas de la OCT estructural en pacientes con DMAE son:

Drusas y cambios pigmentarios

Corrugaciones retinianas externas: fenómeno descrito recientemente, que consiste en la presencia de una capa hiperreflectante ondulada en la OCT que parece corresponderse con el hallazgo histológico del depósito laminar basal, una capa que se acumula entre el EPR y su membrana basal (la capa interna de la membrana de Bruch) en la DMAE¹⁰⁴.

Degeneración macular atrófica, con reducción del grosor retiniano y el incremento en la reflectividad del epitelio pigmentario de la retina, que es debido a que el tejido atrófico atenúa menos la luz¹⁰⁴.

Degeneración macular exudativa: la neovascularización clásica aparece como un área hiperreflectiva en contacto o delante del EPR, y se acompaña de edema retiniano^{104,105}.

Desprendimientos del EPR: pueden visualizarse los componentes de la MNVC como una zona hiperreflectante por encima de la línea del EPR, y también la presencia de líquido subretiniano o pequeños quistes intrarretinianos¹⁰⁵.

Desprendimientos serosos : elevación marcada de la banda del EPR con un contenido seroso de baja reflectividad que se asocia a líquido subretiniano^{104,105}.

Desprendimientos de la retina neurosensorial: espacio hipofluorescente por debajo de la retina neurosensorial y por encima de la banda del EPR^{104,105}.

Líquido intrarretiniano: Su presencia se puede diagnosticar de forma difusa con un aumento del espesor retiniano y disminución de la reflectividad de la retina, con espacios quísticos hipofluorescentes en el espesor de la retina neurosensorial, así como con áreas hiperrefringentes con gran irregularidad en la zona correspondiente al EPR^{98,105}.

Desgarros del EPR: son una complicación grave de la DMAE. Aparecen como evolución de un desprendimiento seroso o serohemorrágico. En la OCT, se observan como líneas hiperrefringentes sin alteración, que pueden seguirse de una interrupción brusca de la continuidad del EPR^{95,104,105}.

La corioidopatía polipoidea (VCPI): desprendimiento cupuliforme del EPR en forma de “dedo de guante”, correspondiente a pólipos presentes entre el EP y la membrana basal^{104,105}.



Figura 11. Retinografía en color de una VCPI, con su correspondencia en la OCT, imagen en la que podemos observar el desprendimiento cupuliforme del EPR, en forma de “dedo de guante” correspondiente al pólipo.

Cicatriz macular: la OCT revela un área nodular fibrótica hiperrefringente que se corresponde con la zona de fibrosis y la presencia de edema difuso o cistoide como líquido residual en el espesor de la retina neurosensorial^{98,105}.

MNVC: en el año 2010, Freund y su equipo realizaron una nueva clasificación de las membranas neovasculares basada en los hallazgos de la SD-OCT que coinciden con la clasificación histológica de Gass. Esta clasificación se basa en la localización anatómica por debajo o encima del EPR y la naturaleza del tejido neovascular. Esto tiene importancia en la decisión terapéutica, respuesta al tratamiento antiangiogénico y pronóstico visual^{98,105}.

-Neovascularización tipo 1: localizada por debajo del EPR sin signos de infiltración de la proliferación fibrovascular en el espacio subretiniano. La disfunción de la barrera hematorretiniana externa (BHRE) permite el acúmulo de fluido y hemorragias intra y subretinianas. Corresponde a la NVC oculta y a la placa en la AVI^{98,105}.

Se caracteriza por DEPs serohemorrágicos, que en la OCT se verán como pequeñas elevaciones con contenido hiperreflectivo (DEP hemorrágico), o bien como grandes DEPs con contenido mixto (seroso avascular, de contenido más denso)^{98,104,105}. También se podrá observar fluido retiniano, bien subretiniano (LSR), que será visto como una línea hiporreflectiva; o bien líquido intraretiniano (LIR), que se verá como condensación redondeada hiporreflectiva, y que será de peor pronóstico^{104,105}. La retina externa inicialmente se mantendrá conservada y sin alteraciones. Las complicaciones más frecuentes de este tipo de membrana son la ruptura del EPR y la hemorragia subretiniana¹⁰⁵.

Según progresan, y se produce la maduración de membrana, la neovascularización tipo 1 puede asociar la dilatación polipoidea de alguno de los vasos coroideos, dando lugar a una VCPI. Se da en la DMAE exudativa y en la patología macular con una alteración extensa del EPR/membrana de Bruch como la malaltia levantinesa y las drusas cuticulares. La respuesta a la terapia antiangiogénica puede ser incompleta sin observarse con frecuencia la regresión del tejido neovascular pero logrando mantener la agudeza visual con múltiples inyecciones intravítreas⁹¹.

-Neovascularización tipo 2: es la neovascularización situada por encima del EPR, en el espacio subretiniano, entre el EPR y la membrana de Bruch. Se trata de un EPR lesionado e invadido por la proliferación fibrovascular y presentan alteración de la línea (ESI, antigua IS/OS) suprayacente. En ocasiones la NVC tipo 2 puede ir asociada con la tipo 1. La pérdida focal de la BHRE hace que la cronificación o recurrencia del fluido subretiniano sea mucho más frecuente^{91,94}. Lo característico de este tipo de MNV es la presencia de fluido IR, que además será de mal pronóstico. En este caso, la retina externa presentará alteración del EPR, del ELP y de la MLE. El diagnóstico y tratamiento precoz son fundamentales, debido al rápido crecimiento de este tipo de MNV^{91,94,105}.



Figura 12. OCT con imagen hiperreflectiva situada encima del EPR correspondiente a la MNV tipo2, que deforma la reina interna. Montero, J. (2019). *Monografía DMAE exudativa. Diagnóstico multimodal y manejo por subtipos*. Bayer.

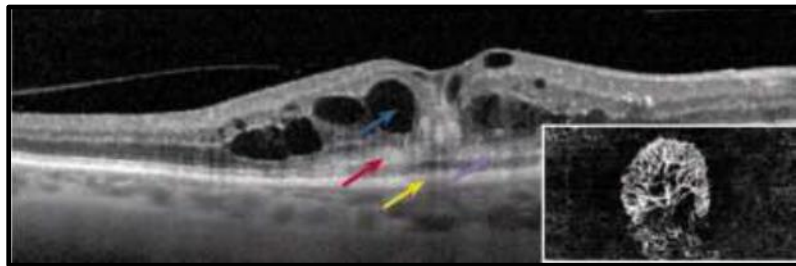


Figura 13. OCT en la que se aprecia LIR secundario a MNV2 en estadio avanzado con una desestructuración de la MLE. El material HRF por encima de la OCT estructural, vemos que constituye una gran NV2, muy bien definida en la OCTa en-face (imagen abajo derecha) con ramificaciones vasculares de pequeño calibre. Montero, J. (2019). *Monografía DMAE exudativa. Diagnóstico multimodal y manejo por subtipos*. Bayer.

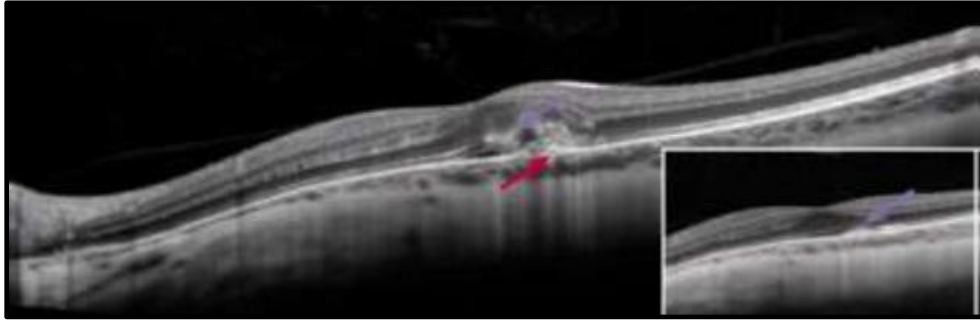


Figura 14. OCT con NV2 yuxtafoveal, de pequeño tamaño, con gran desestructuración de la retina externa (ELP y MLE). Tras la dosis de carga, el EPR recubre la lesión y se reconstituyen las capas externas de la retina (imagen abajo derecha). Montero, J. (2019). *Monografía DMAE exudativa. Diagnóstico multimodal y manejo por subtipos*. Bayer.

Predomina en la patología macular con una lesión menos difusa del EPR/membrana de Bruch como la miopía patológica con lacquer cracks o la corioidopatía punteada interna. La respuesta a la terapia antiangiogénica es mejor que en la tipo 1¹⁰⁵.

-Neovascularización tipo 3: se corresponde con la RAP, cuyos hallazgos en la OCT incluyen la presencia de desprendimiento seroso del EPR con edema macular quístico asociado o no a fluido subretiniano. Puede existir hiperreflectividad inducida por la propia neovascularización intrarretiniana, típicamente extrafoveal. Está debatido si el origen es intrarretiniano o coroideo o de ambos. Suele ser bilateral y aparece en áreas con pérdida de FTR. Es por este motivo, por lo que aunque inicialmente tengan una buena respuesta al tratamiento, la agudeza visual puede no mejorar. Al madurar las lesiones se vuelven más resistentes al tratamiento antiangiogénico y precisan de múltiples inyecciones intravítreas^{94,104,105}. En la OCT, se pueden distinguir tres estadios evolutivos¹⁰⁵:

-Estadio 1: con alteraciones de la capa nuclear externa en “embudo vascular”.

-Estadio 2: es típica la presencia de DEP seroso, LIR, así como puntos hiperreflectivos.

-Estadio 3: encontraremos grandes DEPs, con retina externa muy desestructurada anatómicamente.

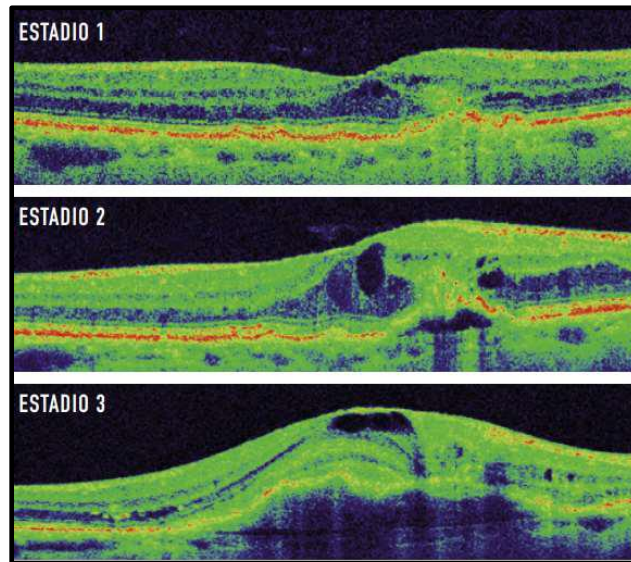


Figura 15. Imagen en la que podemos ver los diferentes estadios evolutivos de la RAP y su manifestación en OCT. Montero, J. (2019). *Monografía DMAE exudativa. Diagnóstico multimodal y manejo por subtipos*. Bayer.

-Neovascularización tipo 4 o Mixta: aquellos casos con lesiones múltiples que no es posible diferenciarlas y caracterizarlas claramente dentro de las clasificaciones previas¹⁰⁵.

En la actualidad, la angiografía fluoresceínica continúa siendo el método de elección para el diagnóstico de la DMAE neovascular, el AVI para la detección de pólipos es la técnica de elección y la OCT se utiliza principalmente para el seguimiento^{85,86,97,98,101}.

1.10. TRATAMIENTO

En cuanto al tratamiento de la DMAE avanzada, la forma seca o geográfica carece en la actualidad de un tratamiento específico. Sin embargo, para la DMAE exudativa, el tratamiento estándar hoy en día son las inyecciones intravítreas de fármacos antiangiogénicos (Anti-VEGF).

1.10.1. Tratamiento DMAE precoz y de la DMAE avanzada con AG.

En las fases más precoces de la enfermedad no es necesario hacer ningún tratamiento específico, aunque sí se suele aconsejar aporte de suplementos de antioxidantes si cumplen los criterios del grupo AREDS previamente descritos²⁰⁻²³. Se recomienda el control de los factores de riesgo modificables, como son el tabaco, protección solar para los ojos, factores cardiovasculares, dieta...^{20,23,38,106}.

Hay muchas líneas de investigación abiertas centradas en el tratamiento de la DMAE seca. Terapias tanto de cirugía experimental como de terapia farmacológica y clínica¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. Se está estudiando la posibilidad de implantación de minitelescopios intraoculares¹⁰⁸, fármacos inhibidores del sistema de complemento, como el lampalizumab, un anticuerpo monoclonal inhibidor del complemento del que se ha visto que reduce la progresión de la AG un 44% realizando inyección mensual¹⁰⁸.

La fotocoagulación (FTC) de las drusas, a pesar de conseguir reducir de manera significativa su número, no parece que disminuya el riesgo de progresión a DMAE^{107,108}. Existe una nueva

modalidad que emplea pulsos de nanosegundos de duración de energía láser no térmica, que se cree que podría tener un efecto rejuvenecedor del EPR y la membrana de Bruch¹⁰⁸.

1.10.2. Tratamiento DMAE avanzada- DMAE exudativa

1.10.2.1. Fotocoagulación con láser

Anteriormente se utilizaba en la neovascularización clásica con límites bien definidos. Actualmente se sigue utilizando en lesiones extra y yuxtafoveales en las que no existe riesgo de afectación foveolar, basado en los resultados del MPS (Macular Photocoagulation Study Group)⁸⁹. Al realizarla FTC, se provoca un escotoma irreversible, lo que unido a la alta tasa de recidivas, hace que muchos autores prefieran el uso de inyecciones intravítreas en el tratamiento de lesiones yuxtafoveales en lugar de la FCT¹⁰⁸. Esta modalidad de tratamiento, también se emplea en el tratamiento de la VCPI y la RAP, pudiendo usarse de manera aislada o como combinación con inyección de triamcinolona intravítrea¹⁰⁸. Actualmente, si hay una recurrencia extrafoveal se podría retratar de nuevo con láser. En el caso de las recurrencias subfoveales se utiliza la terapia fotodinámica o antiangiogénicos⁸².

1.10.2.2. Terapia fotodinámica (TFD)

Consiste en la administración sistémica de verteporfino (Visudyne®), que es un fármaco fotosensible, y una aplicación posterior de luz roja, produciendo una reacción fotoquímica en el área lesional¹⁰⁹.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los estudios TAP¹⁰⁹, VIM¹¹⁰ y VIP:

En el año 2000, la Food and Drugs Administration (FDA) y posteriormente la European Medicines Agency (EMA) autorizaron la TDF para el tratamiento de NVC predominantemente clásica, para histoplasmosis ocular y miopía magna.

También autorizó su uso en NVC ocultas sin componente clásico que cumplan los criterios de inclusión del estudio VIP (NVC sin componente clásico con lesiones de tamaño ≤ 4 DP o menos de 5400 micras)

La TFD supuso una mejora con respecto al láser, pero dado que no frena la disminución de AV, y dada la aparición de los fármacos antiangiogénicos, su utilización ha disminuido como monoterapia; y se utiliza como terapia combinada con los antiangiogénicos. Su uso como monoterapia quedaría relegado a aquellos casos en los que no se pudiera realizar tratamiento con inyección intravítrea. La terapia combinada conseguiría AV similares pero con un menor número de retratamientos¹¹¹.

1.10.2.3. Antiangiogénicos

Como se ha explicado previamente de manera extensa, la base fisiopatológica de la DMAE exudativa se basa en un proceso de angiogénesis, en el que el VEGF tiene un papel fundamental. El tratamiento con antiangiogénicos tiene un grado de evidencia 1B. La isoforma 165 del VEGF-A es la más conocida en la DMAE, con un papel proinflamatorio y que provoca la proliferación de las células endoteliales, desencadenando la formación de la MNV⁷⁶.

Pegaptanib sódico (Macugen®)

Fue el primer fármaco anti-VEGF aprobado para el tratamiento de la DMAE neovascular. Se diseñó con el objetivo de inhibir selectivamente a la isoforma 165 del VEGF-A. Es un aptámero pegilado sintetizado a partir de 28 bases de ARN oligonucleótidos, al que se le han unido 2 grupos polietilenglicol (20-kD) con el fin de aumentar su vida media dentro del globo ocular, impidiendo la unión de la isoforma 165 del VEGF-A a su receptor^{112,113}.

El estudio VISION (VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization) demostró la eficacia clínica del pegaptanib sódico intraocular en DMAE neovascular¹¹⁴.

En el 2004, basándose en estos resultados, la FDA aprobó la utilización del pegaptanib. La pauta de tratamiento aprobada fue de una fase de carga de 4 inyecciones cada 6 semanas con 0,3 mg de pegaptanib, retratando posteriormente en el caso de recidiva¹¹⁴. Posteriormente se presentaron estudios como el de ATMANI o el de MAIER con Macugen® para las MNV ocultas (no susceptibles de TFD) o predominantemente ocultas¹¹⁴. A pesar de que con esta pauta de tratamiento se logra una estabilización de la enfermedad, los resultados son inferiores que con los anti-VEGF no selectivos.

Por tanto, debido a su menor efectividad, podemos afirmar que se trata de una buena opción terapéutica para pacientes con DMAE exudativa y factores de riesgo o antecedentes de enfermedad cardiovascular (infarto, angina de pecho, ictus), ya que tienen un perfil de seguridad sistémica superior al del bevacizumab y ranibizumab¹¹⁴

Ranibizumab (Lucentis®)

Es un fragmento de anticuerpo (Fab) monoclonal humanizado recombinante que se une a todas las formas activas del VEGF¹¹⁵. Lo primeros estudios que demostraron la eficacia del ranivizumab fueron el Estudio MARINA¹¹⁶ y el ANCHOR¹¹⁷.

Fue en el 2006 cuando basándose en estos resultados, la FDA aprobó el uso de este fármaco. La EMA lo aprobaría en el 2007. Sin embargo, debido a los efectos adversos potencialmente graves (accidentes tromboembólicos) del ranibizumab, el elevado coste del tratamiento y la necesidad de realizar inyecciones mensuales necesarias, hacen poco útil la aplicación de estos estudios en la práctica clínica diaria¹¹⁷.

A estos estudios les sucedieron otros como el PIER¹¹⁸, el EXCITE¹¹⁹ y el PrONTO. Este último planteó la pauta PRN o *pro re nata*, que se realiza a demanda¹²⁰. Los criterios establecidos para realizar retratamiento fueron^{120,121}:

-Caída de AV más de 5 letras

-Líquido en mácula por OCT

-Aumento del grosor retiniano al menos de 100 μm en la OCT

-NVC clásica de nueva aparición, o nueva hemorragia o líquido macular en la OCT al menos 1 mes tras la inyección.

Posteriormente se realizó el estudio SAILOR, el mayor estudio realizado hasta la fecha para evaluar la eficacia y seguridad de ranibizumab (4.300 pacientes); cuyos resultados apoyaron la seguridad del ranibizumab y mejores resultados en el tratamiento mensual¹¹⁵. Con todo esto, se decidió que la estrategia más conservadora para intentar aunar los resultados obtenidos en los ensayos y la práctica clínica diaria, consistía en realizar una sola inyección y seguimiento mensual de los pacientes, con retratamiento en caso de persistencia o recidiva del fluido (“1+PRN”)¹¹⁵. Sin embargo, realizando esta pauta, el problema es que tratamos la enfermedad cuando ya ha aparecido, en vez de prevenirla y anticiparnos.

En 2007 Spaide sugiere el protocolo “treat and extend”, que consiste en tratar al paciente mensualmente hasta la desaparición del fluido, momento en el que recibiría una inyección adicional con enfermedad inactiva. En todas las visitas posteriores se tratará al paciente, pero su periodicidad se irá alargando de forma progresiva siempre que haya ausencia de signos de actividad. En caso de reaparición de fluido, se tratará al paciente, realizando visita de nuevo de forma mensual¹²².

De esta manera, se intenta mantener el beneficio del fármaco, minimizando el número de inyecciones y adelantándonos a posibles reactivaciones de la enfermedad¹²².

Estudio HORIZON

Ha demostrado que el tratamiento mensual sería preciso en una proporción no despreciable de pacientes incluso más allá del segundo año. En este estudio se demostró que la

disminución de la frecuencia de tratamientos en el tercer y cuarto año se asociaba a pérdida de AV¹²³.

En resumen, intentando adecuar los distintos estudios a nuestra práctica clínica diaria, podemos concluir que:

1. El ranibizumab administrado mensualmente es eficaz y seguro en todas las lesiones angiográficas, independientemente del nivel de AV y del tamaño de la lesión.
2. Tres de cada cuatro pacientes mantienen su AV.
3. Uno de cada tres mejora ostensiblemente su AV.
4. A mayor número de inyecciones, mayor beneficio en la AV, de modo que protocolos que utilizan una frecuencia de inyecciones inferior a la mensual, consiguen Av peores.
5. Una vez que se produce una disminución de AV, es difícil recuperarla, aunque en un pequeño porcentaje de los pacientes se haya encontrado mejoría.
6. Los pacientes tratados previamente parecen responder peor.
7. Hay cierta actividad subclínica del proceso neovascular que las técnicas de diagnóstico por imagen actuales no pueden detectar, lo que hace necesario visitas regulares.

Actualmente, el ranibizumab es considerado como el gold standard en el tratamiento de la DMAE exudativa, aunque se siguen realizando estudios comparativos con nuevos fármacos. La dosis empleada es de 0.5 mg/0.05ml cada 4 semanas. El fármaco viene precargado¹⁶.

Bevacizumab (Avastin®)

El bevacizumab es un anticuerpo IgG1 monoclonal completo recombinante humanizado que actúa bloqueando todas las isoformas del VEGF, inhibiendo su actividad biológica, tanto in vitro como in vivo. El peso molecular del bevacizumab es de 148 kD, frente a los 48 kD del ranibizumab, que en principio, podría comprometer su penetración en la retina. Además, la afinidad del ranibizumab es unas 5-10 veces mayor que la del bevacizumab¹²⁴.

En el 2004, la FDA aprobó su uso para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico. Un año más tarde, en el 2005, la EMA también lo aprobó para el mismo uso. Pero ninguna de las dos instituciones aprobó su uso intravítreo^{124,125}.

En 2005 se describieron los efectos beneficiosos del bevacizumab en la DMAE neovascular: todos los trabajos sugerían resultados prometedores, con importante mejoría en la AV y disminución del espesor retiniano central medido mediante OCT, y demostraron que tenía un perfil seguro de uso. El único efecto adverso destacado fue que en algunos pacientes existió un aumento de la TA¹²⁵.

Hay muchas publicaciones que confirman los beneficios del fármaco y se están preparando estudios adicionales comparativos entre ranibizumab y bevacizumab.

La principal preocupación en cuanto al uso de bevacizumab es su perfil de seguridad, que todavía sigue siendo incierto. Cuando es empleado a nivel sistémico, se ha visto una mayor incidencia de HTA y de eventos aterotrombóticos, sobre todo en pacientes mayores de 65 años, con factores de riesgo cardiovascular y en aquellos con episodios de eventos vasculares previos. Sin embargo, no se ha demostrado este incremento con su uso intravítreo^{111,126,127}.

Por este motivo, sigue sin estar aprobado para uso intravítreo, pero se sigue utilizando como uso compasivo, ya que tiene resultados similares al ranibizumab con un menor coste; empleándose una dosis de 1.25 mg/ml, a partir de viales de 100 y 400 mg en concentración de 25 mg/ml. Es el fármaco antiangiogénico más barato de los empleados en la actualidad⁸²

Aflibercept (Eylea) (VEGF Trap-Eye; Regeneron, Tarrytown, NY, and Bayer HealthCare, Berlin, Germany))

El Aflibercept es una proteína humana recombinante, creada mediante la fusión de la región Fc de la IgG1 humana y dos dominios extracelulares del VEGFR (el VEGFR-1 y el VEGFR-2), actuando como un decoy receptor, con afinidad por todas las isoformas del VEGF, el VEGF-B y el factor de crecimiento placentario (PGF 1)¹²⁸. La estructura del Aflibercept consigue una afinidad por el VEGF-A mucho mayor que el ranibizumab y que el bevacizumab (unas 95 y 120 veces más respectivamente)¹²⁸.

Los estudios VIEW 1 y VIEW 2 (VEGF Trap-Eye: Investigation of Efficacy and Safety in Wet AMD 1 y 2) demostraron la no inferioridad del aflibercept frente al ranibizumab, y una equivalencia clínica en el mantenimiento de la AV (definida como pérdida de menos de 15

letras en ETDRS), así como en la mejoría de la AV y del grosor macular. Además, los efectos adversos oculares como sistémicos también fueron similares¹²⁸.

El aflibercept fue aprobado por la FDA para su uso intravítreo en la DMAE exudativa en el 2011^{21-23,128}.

La conclusión obtenida tras la realización de estos estudios, fueron reflejar la eficacia del aflibercept en la DMAE exudativa, y demostrar que una dosis bimensual de aflibercept previas tres dosis mensuales, supondría un beneficio adicional al permitir inyecciones menos frecuentes a igualdad de resultados resultados que la pauta mensual. Se pueden extender las inyecciones hasta 16 semanas. Actualmente, los estudios van dirigidos al Ziv-aflibercept, un análogo del aflibercept mucho más barato, que contiene el mismo principio activo molecular en una solución tamponadora diferente. Está disponible recientemente, y se han iniciado ensayos preclínicos y ensayos clínicos estudiando la viabilidad de su uso a nivel intraocular. Los resultados obtenidos hasta el momento demuestran un perfil de seguridad similar al aflibercept, y con una mejoría o mantenimiento del la AV, así como reducción del líquido intrarretiniano y del grosor foveal central en pacientes con edema macular diabético, en obstrucción venosa de rama y en DMAE neovascular. Sin embargo, son necesarios más estudios que se centren en su aplicación en la DMAE neovascular¹²⁹.

1.10.3. Pautas de tratamiento con fármacos antiangiogénicos

En cuanto a las pautas de tratamiento con fármacos antiangiogénicos, podemos resumirlas en cuatro principales. Las presento a continuación, con sus respectivas ventajas e inconvenientes.

1.10.3.1. Pautas fijas mensuales o bimensuales (aflibercept)

El seguimiento de una pauta fija mensual o bimensual, tiene como ventaja que se consigue un mejor resultado visual al hacer un seguimiento continuo y periódico del paciente. Sin embargo, tiene sus inconvenientes, como son es el alto coste que esto supone debido al alto precio de los fármacos; así como desarrollar taquifilaxia a los fármacos (2%)¹³¹.

1.10.3. 2. Pautas trimestrales

El empleo de pautas trimestrales tiene como ventaja una menor periodicidad en la realización de las inyecciones, y por tanto, un menor coste. Sin embargo, siguiendo esta pauta, se obtienen unos peores resultados visuales de los pacientes. Inconvenientes: peores resultados visuales¹³¹.

1.10.3.3. PRN (a demanda)

La pauta de tratamiento a demanda, o PRN, permite el tratamiento sólo en caso de reactivación de la DMAE, lo que conlleva un menor número de inyecciones y un menor

coste, pero en este caso con resultados visuales similares. La dificultad se encuentra en la necesidad de una visita mensual del paciente, que suele resultar complicado; y que hacemos el diagnóstico tarde, se trata la reactivación¹³¹.

1.10.3.4. Tratar y extender (T&E)

La pauta T&E, como se ha explicado previamente, consiste en tratar al paciente mensualmente hasta la desaparición del fluido, momento en el que recibiría una inyección adicional con enfermedad inactiva. En todas las visitas posteriores se tratará al paciente, pero su periodicidad se irá alargando de forma progresiva siempre que haya ausencia de signos de actividad. En caso de reaparición de fluido, se tratará al paciente, realizando visita de nuevo de forma mensual. De esta manera, se intenta mantener el beneficio del fármaco, minimizando el número de inyecciones y adelantándonos a posibles reactivaciones de la enfermedad, con resultados visuales similares. Tiene el inconveniente de precisar más inyecciones que la pauta PRN, y que no se ha determinado hasta cuánto tiempo se puede extender la pauta de tratamiento. Por el momento se postula que unos 3 o 4 meses como máximo¹³¹.

1.11. TABLA RESUMEN COMPARATIVA DE LOS TIPOS DE MNV





Tipos de DMAE		Retinografía	OCT	AGF	Tratamiento	Complicaciones
	Tipo 1	DEPs	DEPs LSR	OCTA	T&E	Ruptura EPR Hemorragia
	Tipo 2	Lesión amarillenta Hemorragia subretiniana	Material hiper EPR LIR	OCTA	T&E/PRN (buena respuesta)	Fibrosis
	Tipo 3 (RAP)	Hemorragias intraretinianas Exudación	DEP LIR “Embudo”	OCTA ICGA	T&E	Atrofia geográfica Recidiva
	Polipoidea (DA1)	Machas rojas Exudación	Dedo guante LSR	ICGA	T&E TFD	Ruptura EPR Hemorragia Refractarios

Tabla 3. Tabla comparativa de los diferentes tipos de MNV.

1.12. GENÉTICA EN LA DMAE

Desde el punto de vista genético, el estudio de la DMAE es complicado, lo que se denomina «proceso complejo» ya que es el resultado de la interacción de múltiples locus (no solo genes específicos) y factores ambientales higiénico-dietéticos sin un patrón de herencia mendeliana (como ocurre en las enfermedades monogénicas)⁷⁵.

Se ha descrito una etiología multifactorial, con influencia de factores ambientales y factores genéticos.

La influencia de la genética en la DMAE se ha podido investigar mediante estudios familiares y en gemelos. El riesgo atribuible a los factores genéticos es del 46-71%. Estudios de gemelos han demostrado que la heredabilidad para la DMAE es del 45%. Familiares de primer grado de pacientes con DMAE, comparados con pacientes familiares de primer grado sin la enfermedad, tienen un riesgo incrementado de desarrollo de la enfermedad, así como debut a edad más joven.

Las variaciones genéticas más frecuentemente asociadas al riesgo de DMAE son los polimorfismos SNPS (single nucleotide polymorphism) o polimorfismos de un nucleótido sencillo. Consisten en la variación de una sola base en la secuencia de ADN, que afecta a más de un 1% de la población. No son una causa directa de la enfermedad, pero influyen en la codificación y traducción de la proteína, siendo por tanto, factor predisponente o protector del desarrollo de la enfermedad.

Actualmente, está demostrada una asociación directa entre SNPs de los genes CFH, ARMS2 y HTRA1 y la DMAE. Sin embargo, debido a que la DMAE no sigue una herencia mendeliana, como se ha explicado, esto implica un incremento en la susceptibilidad de presentar la enfermedad, pero no que sean la causa de la enfermedad^{75, 132-137}.

También se han realizado estudios que investigan la posible asociación del VEGF con la DMAE. En el año 2010, se comprobó la asociación entre 22 SNPs del gen VEGF-R-2 con el haplotipo TTT y un incremento en la susceptibilidad del desarrollo de la DMAE.

El sistema del complemento también se ha visto implicado en el desarrollo de la DMAE. En concreto, el factor del complemento C3 se ha visto que es importante en la patogénesis de la enfermedad. No obstante, aún no se conocen los mecanismos subyacentes¹³⁸⁻¹⁴⁰.

También existen estudios de genes con carácter protector frente a la DMAE. Concretamente se han detectado SNPs en los genes que codifican para el factor B del complemento (CFB) y el componente 2 del complemento (C2C), que reducen significativamente el riesgo de DMAE¹⁴¹.

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS DE LA TESIS DOCTORAL Y OBJETIVOS

2.1. JUSTIFICACIÓN

La DMAE es la causa más frecuente de ceguera legal en los países desarrollados en personas mayores de 55 años. Se trata de una afectación degenerativa y progresiva, que afecta a la calidad de vida de los pacientes. Se estima que en España hay más de 600.000 personas afectas de DMAE, y la prevalencia tiende a aumentar conforme aumenta la esperanza de vida. La DMAE exudativa se caracteriza por la aparición de una neovascularización macular, que condiciona una pérdida visual brusca. En la actualidad es la única forma de DMAE con tratamiento.

El estudio y determinación de los polimorfismos genéticos asociados a la DMAE nos permitirá avanzar en el conocimiento de la enfermedad. En base al componente genético de la DMAE se podrán plantear futuras líneas de investigación orientadas a la detección y tratamiento precoz, y mejoras en la respuesta al tratamiento. Entre otras estarían:

-Identificación de pacientes de alto riesgo por presencia de polimorfismos entre familiares de pacientes con DMAE.

-Modificaciones de hábitos de riesgos y posibles tratamientos preventivos en pacientes de alto riesgo.

-Pautas de seguimiento detección precoz en pacientes de alto riesgo.

-Identificación de pacientes respondedores/no respondedores a terapias preventivas con antioxidantes, antiangiogénicos y otras líneas de tratamiento.

2.2. HIPÓTESIS DE LA TESIS DOCTORAL Y DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La DMAE se trata de una enfermedad compleja y de origen multifactorial, en la que intervienen factores genéticos y ambientales. La hipótesis del estudio se basa en demostrar que realmente existe tal asociación entre la presencia de ciertas variaciones en el genoma de los pacientes y el incremento del riesgo en el desarrollo de DMAE.

2.3. OBJETIVOS

Basándonos en un estudio previo en el que se analizaron 12 polimorfismos de riesgo para la DMAE, los objetivos del estudio fueron los siguientes:

-Objetivo principal:

1. Identificar la asociación de los principales polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) localizados en los genes CFH, ARMS2, HTRA1, CFB, C2 y C3 con la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) exudativa en una población española.

-Objetivos secundarios:

1. Analizar la frecuencia de expresión de los polimorfismos y el riesgo de asociación (Odds ratio) con la DMAE exudativa.
2. Analizar la frecuencia de expresión de múltiples polimorfismos de riesgos en la DMAE exudativa.
3. Describir las características sociodemográficas y los antecedentes personales sistémicos en pacientes con DMAE exudativa.
4. Estudiar los antecedentes familiares de DMAE en pacientes con DMAE exudativa.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

3.1.1. Estrategias de búsqueda

Se realizó una búsqueda en la literatura científica en las bases de datos Internacionales PubMed-Medline, EMBASE, Cochrane Web of Science (WOS) y UpToDate así como en las bases de datos nacionales Dialnet, IBECS, Teseo y Tesis doctorales en red, lo que mostró un total de 1187 referencias bibliográficas relacionadas con el análisis genético de los polimorfismos SNPs en pacientes con degeneración macular exudativa asociada a la edad.

Las palabras clave para abordar la hipótesis planteada, fueron: Polimorfismos, Polimorfismos de nucleótido único, Degeneración macular asociada a la edad, Degeneración macular exudativa asociada a la edad, Genética.

En cuanto a la estrategia de búsqueda empleada, en una primera fase se identificaron los conceptos claves de la consulta en lenguaje libre o natural: polymorphisms, single nucleotide polymorphisms, exudative AMD, exudative age-related macular degeneration, age-related macular degeneration, wet macular degeneration, genetics, CFHR1, HTRA1, ARMS2, CFH, C3, C2.

Algunos se transformaron a términos del lenguaje controlado o documental utilizando tesauros como el MeSH (Medical Subject headings): Polymorphism, Single Nucleotide,

Macular Degeneration, CFHR1 protein, human [Supplementary Concept], HTRA1 protein, human [Supplementary Concept], ARMS2 protein, human [Supplementary Concept], CFH-CFHL1 protein, human [Supplementary Concept], Complement C3, Complement C2.

Posteriormente, se procedió a la construcción de estrategias de búsqueda avanzadas utilizando los operadores booleanos más comunes como se muestra a continuación.

3.1.2. Bases de datos bibliográficas

I. Búsquedas de aproximación en Uptodate y Clinicalkey:

single nucleotide polymorphisms

Age-Related Macular Degeneration

GWAS Genome-Wide Association Study

II. Base de datos PubMed (NLM):

polymorphisms AND (exudative AMD OR "Exudative Age-Related Macular Degeneration")

(SNP OR "single nucleotide polymorphisms") AND (exudative AMD OR "Exudative Age-Related Macular Degeneration")

polymorphisms AND exudative AMD

III. Base de datos EMBASE (Elsevier):

(SNP OR "single nucleotide polymorphisms" OR "genetic polymorphisms") AND
(exudative AMD OR "Exudative Age-Related Macular Degeneration")

IV. Base de datos WOS (Thompson Reuters):

3 TEMA: ((SNP OR "single nucleotide polymorphisms") AND (exudative AMD OR
"Exudative Age-Related Macular Degeneration"))

2 TEMA: (polymorphisms AND exudative AMD)

1 TEMA: ((SNP OR single nucleotide polymorphisms OR genetic polymorphisms) AND
(exudative AMD OR Exudative Age-Related Macular Degeneration))

V. Base de datos UpToDate:

single nucleotide polymorphisms

Age-Related Macular Degeneration

GWAS Genome-Wide Association Study

VI. Base de datos IBECS: degeneración macular relacionada con la edad

VII. Base de datos DIALNET: (age-related macular degeneration) OR (degeneración macular genética)

VIII. Base de datos TESEO: degeneración macular

Una vez excluidos los duplicados (128 artículos), un total 241 artículos relevantes recuperados de la suma de todas las búsquedas en las diversas bases de datos, han servido para apoyar las afirmaciones de la hipótesis de esta tesis y para reflejar la evidencia científica que muestra la literatura.

Los idiomas de los artículos que se han revisado han sido castellano e inglés. Se ha empleado el programa informático Refworks para la gestión, organización sistematización e integración de las referencias bibliográficas, que han sido citadas el estilo Vancouver.

BASE DE DATOS	ARTÍCULOS RECUPERADOS	ARTÍCULOS RELEVANTES
PUBMED	364	84
EMBASE	174	51
WOS	277	50
DIALNET	228	31
IBECS	92	8
TESEO	41	3
UpToDate	8	4
TOTAL	1184	231

Tabla 4. Bases de datos con el número de artículos empleados de cada una.

3.2. MEDIOS EMPLEADOS EN LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El trabajo de investigación se realizó en Alcorcón, Madrid, en la Unidad de Oftalmología del Hospital Universitario Fundación Alcorcón (HUFA).

Para su realización, contamos con los medios humanos y técnicos necesarios para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con DMAE disponibles en la unidad de Oftalmología. También contamos con el apoyo metodológico de la Unidad de Investigación y del Biobanco del HUFA para almacenamiento de las muestras biológicas que se recogieron.

La Unidad de oftalmología del Hospital Universitario Fundación Alcorcón cuenta con un equipo completo de profesionales, que incluye: 13 oftalmólogos, 1 óptico optometrista, 1 enfermera, 10 auxiliares de enfermería y 8 médicos residentes de oftalmología en formación.

La sección de retina cuenta a su vez con los siguientes medios técnicos:

- Optotipos ETDRS para medición de agudeza visual mejor corregida (AVMC)
- Lámpara de hendidura Haag streit 900
- Tonómetro de aplanación Perkins Mk2 (Clement Clarke International)
- Oftalmoscopio indirecto Keeler con lente + 20D
- Cámara de fondo (Zeiss FF 450 IR plus) para retinografía y angiografía fluoresceínica

-Tomografía de coherencia óptica: Cirrus OCT (Carl Zeiss Meditec, Inc, Dublin, CA, USA. software version 5.0.0). Protocolos Macular Cube y 5 líneas HD Raster.

La Unidad de Investigación del Hospital Universitario Fundación Hospital Alcorcón nos proporcionó apoyo metodológico en la elaboración, diseño e interpretación de resultados.

El HUFA cuenta con un Biobanco hospitalario para el procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas en condiciones óptimas, que nos permitió el depósito de las muestras obtenidas para su uso en el actual estudio y para posteriores posibles estudios, si fuera necesario.

Para la realización del estudio se seleccionaron de forma consecutiva pacientes diagnosticados de DMAE avanzada exudativa (siguiendo la clasificación Clinical Age-related Maculopathy Grading System (CARMS) en al menos un ojo.

GRADO DE MACULOPATÍA	HALLAZGOS CLÍNICOS
1	No drusas o <10 drusas pequeñas sin anomalías de pigmento.
2	≥10 drusas pequeñas o <15 drusas intermedias, o anomalías de pigmento asociadas a MRE.
3	≥15 drusas intermedias o drusas grandes
4	Atrofia geográfica en centro macular, o atrofia geográfica sin implicar centro macular de > 350 μm
5	DMAE exudativa, incluyendo DEP no drusenoides, desprendimientos de retina seroso o hemorrágico, hemorragias subretinianas o sub-EPR o fibrosis

Tabla 5. Clinical Age-related Maculopathy Grading System (CARMS).

A todos los pacientes se les confirmó el diagnóstico mediante estudio de fondo de ojo, tomografía de coherencia óptica y angiografía fluoresceínica. Se seleccionó un grupo control de pacientes sanos sin DMAE ni otras maculopatías, pareados por edad y sexo.

El Ensayo cumple con los principios de la Declaración de Helsinki. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Fundación Alcorcón (Anexo II).

3.3. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Todos los pacientes firmaron dos consentimientos informados. Uno para la realización del estudio, y otro para la obtención y conservación de las muestras biológicas en el Biobanco del HUFA para posibles futuros estudios.

En el consentimiento informado se explicaban los objetivos de investigación del estudio, las exploraciones que se le iban a realizar al paciente y, en su caso, las pruebas complementarias que pudieran ser necesarias; así como los posibles riesgos asociados a las pruebas. El paciente podía formular todas las preguntas que creyese convenientes. También se dejó constancia de la posibilidad de revocar el consentimiento y abandonar el estudio en cualquier momento sin necesidad de exponer motivo y sin que ello supusiera ninguna repercusión en el tratamiento ni asistencia hospitalaria. Se remarcó la confidencialidad de todo el proceso (Anexo III).

3.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES

El trabajo de investigación se trató de un estudio de cohortes prospectivo. Se seleccionaron pacientes que acudieron a revisión oftalmológica rutinaria o a la Unidad de Retina en el Servicio de Oftalmología del HUFA. El estudio se realizó durante un periodo de 3 años comprendido entre enero de 2015 y diciembre de 2017.

Los pacientes inicialmente seleccionados fueron divididos en dos grupos: uno formado por pacientes con diagnóstico de DMAE exudativa en uno o los dos ojos; y otro que incluyó sujetos controles sanos. Se intentó aparear los pacientes por edad y sexo para que fueran comparables.

3.4.1. Criterios de exclusión

Para el reclutamiento de los pacientes del estudio, aplicamos los siguientes criterios de exclusión:

-presencia de otras maculopatías

-miopía magna (<6 dp) y glaucoma: al ser dos patologías en las que se ha visto implicada una predisposición genética, para evitar que actuasen como factor de confusión en el estudio.

-retinopatía diabética

-opacidades de medios que impidan confirmación diagnóstica (catarata avanzada, hemorragia vítrea, leucomas...).

3.4.2. Criterios de inclusión

Fuimos muy estrictos con los criterios de inclusión que se tuvieron en cuenta en el estudio.

Los criterios de inclusión de cada grupo, fueron los que se presentan a continuación.

Criterio de inclusión de pacientes casos:

-pacientes de ambos sexos mayores de 55 años

-diagnosticados de DMAE exudativa avanzada en uno o ambos ojos según la clasificación Clinical-Age-related Maculopathy Grading System (CARMS) (Tabla 5).

-confirmación diagnóstica por retinografía, angiografía y tomografía de coherencia óptica

-firma de consentimiento informado

Criterios de inclusión de pacientes controles sanos:

-pacientes de ambos sexos mayores de 55 años

-Agudeza visual mejor corregida >20/40

-medios oculares transparentes

-fotografía de fondo de ojo y tomografía de coherencia óptica: ausencia de maculopatía (no drusas, no hemorragias, no exudación, no atrofia)

3.5. METODOLOGÍA DE EXPLORACIÓN CLÍNICA

A todos los pacientes se les realizó un estudio oftalmológico completo que incluyó la medida de la agudeza visual mejor corregida (AVMC), exploración con lámpara de hendidura, toma de la presión intraocular (PIO), estudio de fondo de ojo y tomografía de coherencia óptica (OCT). El diagnóstico de los pacientes con DMAE se confirmó mediante angiografía fluoresceínica.

El mismo oftalmólogo realizó todas las pruebas.

3.5.1. Toma de agudeza visual mejor corregida

La agudeza visual se determinó con un optotipo ETDRS Logarithmic Visual Acuity Chart ETDRS (Early Diabetic Retinopathy Study). A todos los pacientes se les tomó la agudeza

visual en las mismas condiciones lumínicas y de distancia (4 metros). El procedimiento fue realizado por personal de enfermería entrenado, siendo siempre las mismas enfermeras del servicio quienes llevaron a cabo las determinaciones. La visión se tuvo en cuenta en condición monocular. Como se explicó anteriormente, la escala logarítmica LogMAR es la más utilizada para estudios de investigación debido a que se considera más precisa que otros test de AV como el test Snellen.

El optotipo ETDRS está diseñado de manera que el tamaño de las letras sólo varía entre filas. Así, cada fila contiene cinco letras del mismo tamaño y el espaciado entre ellas es igual al ancho de una de ellas.

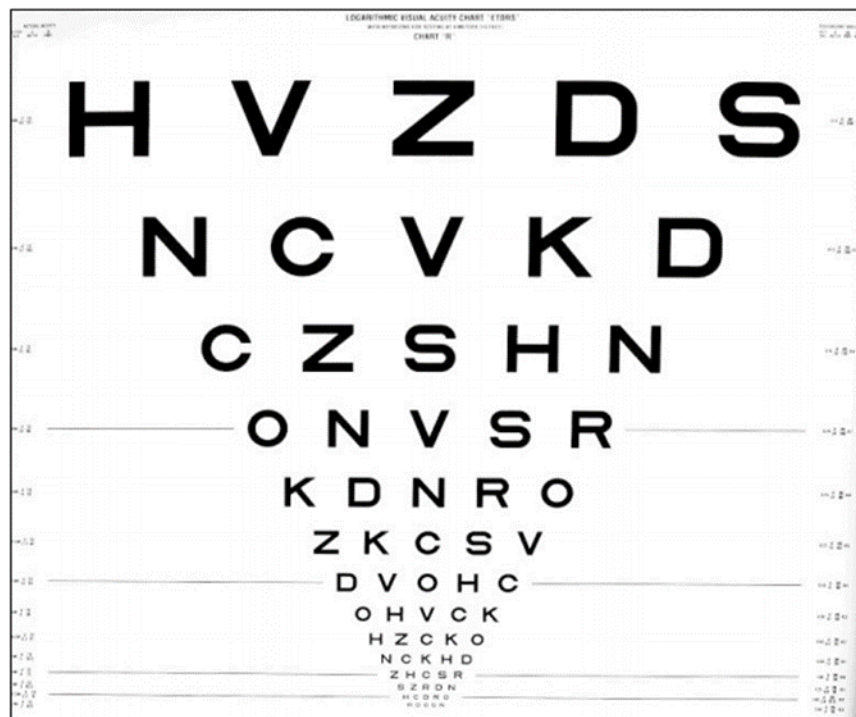


Figura 16. Optotipo ETDRS (escala LogMar)

El test utiliza la progresión logarítmica, siendo la relación entre una línea y la siguiente de 0,1 unidades logarítmicas. La AV viene expresada por el logaritmo del mínimo ángulo resoluble (LogMAR). El valor logarítmico se obtiene calculando el logaritmo del mínimo ángulo de resolución (MAR). Por ejemplo, en el caso de un paciente con una AV de la unidad, el MAR es igual a 1 minuto, por lo que el LogMAR es cero para esta AV. Los valores de AV en anotación logarítmica varían en pasos de 0,1 de una línea a otra. De esta manera, como cada línea contiene 5 letras cada letra tiene un valor de 0,02 unidades logarítmicas. La escala LogMAR comprende valores desde -0,1 a 1,0 en pasos de 0,1 de anotación logarítmica.

Valor LogMAR paciente = valor LogMAR línea correspondiente – (nº letras no identificadas x 0,02 unidades logarítmicas).

De esta manera, se calculó el valor logarítmico de la AV de los pacientes restando al valor que le corresponde a la línea, el número de letras que no consiguió identificar.

3.5.2. Exploración con lámpara de hendidura

A todos los pacientes se les realizó una exploración del segmento anterior con lámpara de hendidura Haag Streit 900; exploración mediante la que se descartaron aquellos pacientes que tenían alguno de los criterios de exclusión previamente explicados (leucoma corneal, catarata muy avanzada...)

3.5.3. Medida de la presión intraocular

Medida de la presión intraocular (mmHg) con un tonómetro de aplanación Perkins Mk2 (Clement Clarke International) previa aplicación de fluoresceína tópica.

3.5.4. Estudio de fondo de ojo

Se realizó Oftalmoscopía indirecta con oftalmoscopio indirecto Keeler, empleando lente de + 20 dioptrías (dp).

3.5.5. Retinografía

La retinografía se realizó a todos los pacientes del estudio. Todas las imágenes fotográficas de fondo de ojo fueron realizadas bajo midriasis farmacológica, empleando habitualmente 3 aplicaciones de colirio de tropicamida (Colicursí tropicamida, Alcon Cusi) y/o colirio de ciclopentolato clorhidrato (Colicursí ciclopléjico, Alcon Cusi).

Para la realización de las imágenes, se empleó una cámara de fondo que incluye un sistema óptico telecéntrico (Zeiss FF 450 IR plus), con sistemas de medición incorporados, sistema operativo Windows 2000 profesional (Microsoft Corporation Inc) y sistema de archivo y análisis digital Visupac 451 (versión 4.4, Carls Zeiss Jena GMBH, Ophthalmic Instrument Division, Jena).

Para las de retinografías a color se utilizó una videocámara color de alta resolución de 3CCD: AVT ZK-S (Anchura pixel = 0,0054; resolución = 2588 x 1958). Para las retinografías en blanco y negro se utilizó la cámara de alta resolución Kodak Megaplug 1.6 (Anchura pixel=

0,0049; resolución= 1280 x 1024), empleada con diferentes filtros (verde, rojo y autofluorescencia). Las imágenes fueron obtenidas sin manipulación electrónica, enfocándonos en el polo posterior a un ángulo de 30°.



Figura 17. Cámara de fondo Zeiss FF 450+ IR plus, incluida videocámara de color 3CCD: AVT ZK-S, y cámara en blanco y negro Kodak Megaplug 1.

Para la caracterización de las imágenes fundoscópicas se utilizaron los siguientes criterios:

-Ausencia de criterios de exclusión (presencia de otras maculopatías, retinopatía diabética, u opacidad de medios que impidiera realización de la imagen, como hemorragia vítrea)

-Criterios diagnósticos de DMAE exudativa siguiendo la clasificación Clinical Age-related Maculopathy Grading System (CARMS), dividiendo a los pacientes en 5 categorías mutuamente excluyentes, teniendo en cuenta las drusas, irregularidades del epitelio pigmentario, atrofia geográfica, desprendimiento del epitelio pigmentario y neovascularización coroidea.

3.5.6. Angiografía fluoresceínica (AFG)

La AFG se realizó a todos los pacientes con DMAE, bajo midriasis farmacológica, empleando habitualmente 3 aplicaciones de colirio de tropicamida (Colicursí tropicamida, Alcon Cusi) y/o colirio de ciclopentolato clorhidrato (Colicursí ciclopléjico, Alcon Cusi).

La angiografía fluoresceínica (AFG) se realizó de manera habitual según el protocolo del HUFA. Previa firma del consentimiento informado pertinente (Anexo III), se procedió a inyección de 5 ml de fluoresceína sódica al 10% en las venas del dorso de la mano o antecubitales (Catéter Vasocan de Braün 22 G1 (0,9 x 25)).

La toma de imágenes se llevó a cabo mediante cámara de fondo (Zeiss FF 450 IR plus), empleando filtro excitador y barrera, con cámara de alta resolución Kodak Megaplug 1.6.

La inyección de contraste fue realizada por enfermera del servicio de Oftalmología. La toma e interpretación de imágenes, por el mismo oftalmólogo especialista.

3.5.7. Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT)

La prueba se realizó previa midriasis.

El análisis tomográfico fue realizado con SD-OCT Cirrus con tecnología EDI (Carl Zeiss Meditec, Inc, Dublin, CA, USA, modelo 4000, versión del software 6.5.0.772). Todas las tomas fueron realizadas bajo midriasis farmacológica tal y como se ha explicado previamente. Todas las OCT fueron realizadas por la enfermera del servicio de Oftalmología. Se incluyeron sólo aquellas imágenes con una calidad de señal superior a 7, con una posición centrada del examen y sin artefactos.



Figura 18. Tomógrafo Cirrus OCT (Carls Zeiss Meditec, Inc, Dublin, CA, USA).

Para la realización de la prueba, se realizaron 3 tipos de captura:

- Macular Cube 512x128 (Cubo macular 512x128): Genera un cubo de datos mediante una cuadrícula de 6 mm. Se adquiere una serie de 128 tomografías lineales horizontales, compuestas a su vez de 512 tomografías A. Además, se obtienen dos tomografías verticales y horizontales de alta definición, compuestas por 1000 tomografías A. La resolución axial de este sistema es de 10 micras del tejido retiniano.

- HD 5 line Raster (Trama de 5 líneas de alta definición): 5 líneas paralelas horizontales de 6 mm, cada línea compuesta de 4096 tomografías A, separadas 0,25 mm, de modo que las 5 líneas cubren un ancho de 1mm.

- HD 5 line Raster, selección 1 sola línea, EDI: Consiste en una trama de 1 sola línea horizontal de alta definición de 9 mm, centrada en fovea, empleando el protocolo EDI de alta penetrancia para mejor visualización de la coroides.

Todas las imágenes fueron realizadas con un adecuado centrado pupilar y enfoque del iris. Además se realizó la captura con previa optimización del “Scan” y con el modo “Eye-tracking” o de seguimiento de micro movimientos oculares activado. En las visitas sucesivas en las que se requirió repetición de la prueba, las imágenes se realizaron mediante:

-Repetición automática (Auto-Repeat): formato que repite los parámetros más relevantes de posicionamiento a partir de una tomografía previamente adquirida en ese paciente.

- Alineación automática (Auto-Alignmen): el instrumento coloca de manera dinámica el patrón de tomografía en el mismo lugar que la tomografía guardada anteriormente del mismo tipo para el mismo ojo

3.6. ANÁLISIS GENÉTICO

3.6.1. Obtención de muestras biológicas para almacenamiento en biobanco

La muestra de DNA se obtuvo mediante raspado de la mucosa bucal de los pacientes. El protocolo que seguimos para la recogida de la muestra fue el siguiente:

- 1.- Esperar al menos una hora después de la última comida.
- 2.- Aclararse la boca con agua, para eliminar cualquier resto de alimento.
- 3.- Esperar diez minutos después de aclararse para recoger la muestra.
- 4.- Realizar el raspado de la mucosa bucal mediante torundas estériles.
- 5.- Utilizar guantes, no necesaria esterilidad.
- 6.- Mantener en hielo, hasta que se congele. Las muestras extraídas se mantuvieron a -80°C hasta su utilización.

3.6.2. Extracción, análisis, amplificación y secuenciación del DNA

La extracción de DNA se realizó en el equipo MagNa Pure LC (Roche Diagnostics GMBH, Alemania), usando el kit comercial MagNa Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche D Diagnostics GMBH, Alemania). Siguiendo las indicaciones de la casa comercial, previamente a la extracción de DNA, las torundas fueron sometidas a digestión con Proteinasa K durante 24 horas a 55° C. El DNA extraído se cuantificó por espectrofotometría a 260 nm en un Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, España) y se comprobó su pureza calculando el ratio 260/280.

El DNA se amplificó usando Taqman OpenArray Master Mix en el Gene Amp PCR System 9700 (ambos de Life Technologies, Carlsbad, CA) siguiendo indicaciones del fabricante.

El análisis de los SNPs se llevó a cabo mediante PCR en tiempo real en el formato de microarray utilizando la plataforma Open Array Real-Time PCR System, utilizando un panel específico para los SNPs propuestos en el estudio. Los polimorfismos se analizaron con el sistema de genotipado Open Array en el QuantStudio 12 K Flex de Life Technologies, siguiendo indicaciones del proveedor. Los resultados fueron posteriormente analizados con el Taqman Genotyper Software (Life Technologies) (Julián Pérez).

Además se realizó una extracción de ADN de raspado de mucosa bucal para almacenamiento de muestras biológicas en biobanco hospitalario, que permitiría disponer de muestras de casos y controles (sanos) para investigaciones futuras. Para ello los pacientes firmaron un consentimiento informado extendido (Anexos III y IV).

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.7.1. Cálculo del tamaño muestral

Se recogieron las siguientes variables:

Para el cálculo del tamaño muestral nos basamos en los datos obtenidos en estudio previo realizado por el grupo de Cruz González. Seleccionando un caso por cada control, contando con una potencia del 80% y un nivel de confianza del 95% y unas pérdidas del 5%, consideramos la situación más desfavorable de los polimorfismos estudiados, y se estimó un tamaño muestral de 394 pacientes (197 casos y 197 controles)

3.7.2. Tipo de estudio realizado

Se realizó un estudio descriptivo de la muestra incluida en el estudio que cumplía los criterios de selección, estratificando por edad, sexo y grupo diagnóstico (casos y controles).

3.7.3. Análisis de variables

Las variables cuantitativas se analizaron mediante su media, mediana, desviación estándar, mínimo, máximo y el número total de pacientes.

Para la comparación de las variables cuantitativas continuas se utilizaron test paramétricos (T de Student) o no paramétricos (Test de U de Mann-Whitney) según correspondía.

Las variables cualitativas se describieron mediante su distribución de frecuencias absolutas y relativas. Las variables categóricas se compararon usando el test de chi-cuadrado o test Exacto de Fisher según correspondía.

La magnitud de la asociación se expresó mediante la Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza al 95%. Se utilizó un nivel de significación estadística de 0.05. El análisis estadístico se realizó con SPSS 8 versión 19.0 SPSS Inc., Chicago, IL.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA

Seleccionamos de forma consecutiva 400 pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión: 197 pacientes con DMAE exudativa y 203 pacientes sanos como grupo control. Tuvimos 17 pérdidas a lo largo del proceso del estudio, por lo que finalmente incluimos un total de 187 pacientes con DMAE exudativa y 196 pacientes controles (383 pacientes en total).

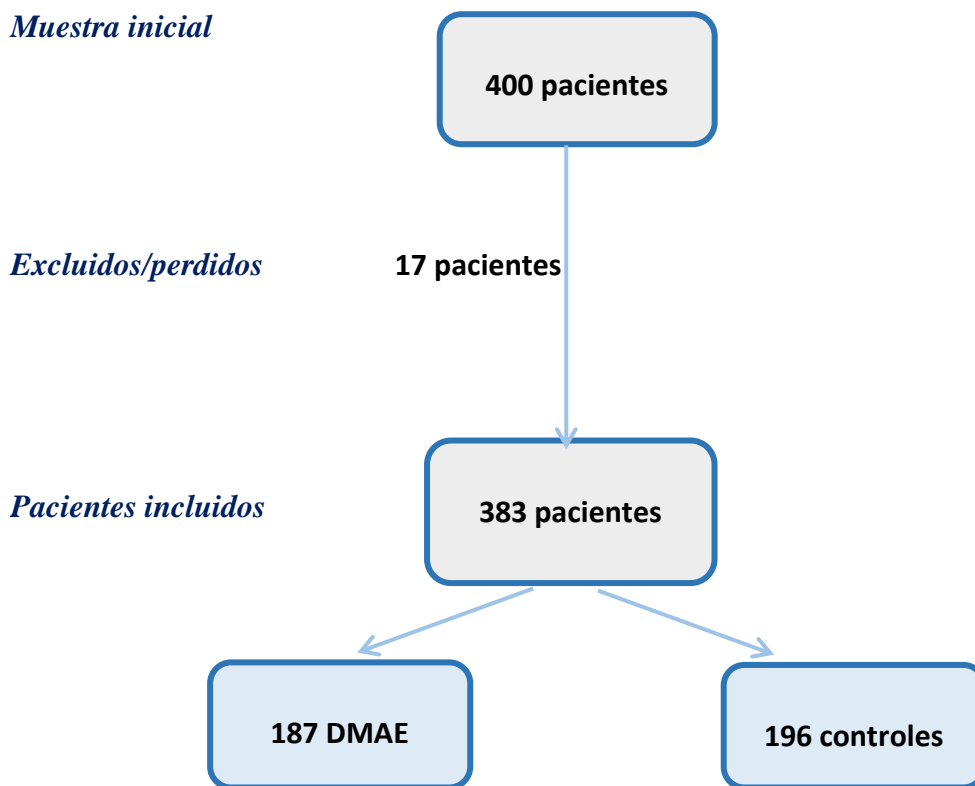


Gráfico 1. Flujo de pacientes del estudio.

4.2. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

4.2.1. Sexo y edad

En el estudio incluimos 149 hombres (38.9%) y 234 mujeres (61.1%) siendo ambos grupos homogéneos ($p = 0,564$).

La edad media fue de 74.97 años; siendo de 79.07 años en el grupo de pacientes con DMAE exudativa y de 71.06 años en el grupo de pacientes control. La desviación estándar fue de 8.28 años y el rango de edad estuvo comprendido entre los 55 y los 95 años. La mediana fue de 74 años.

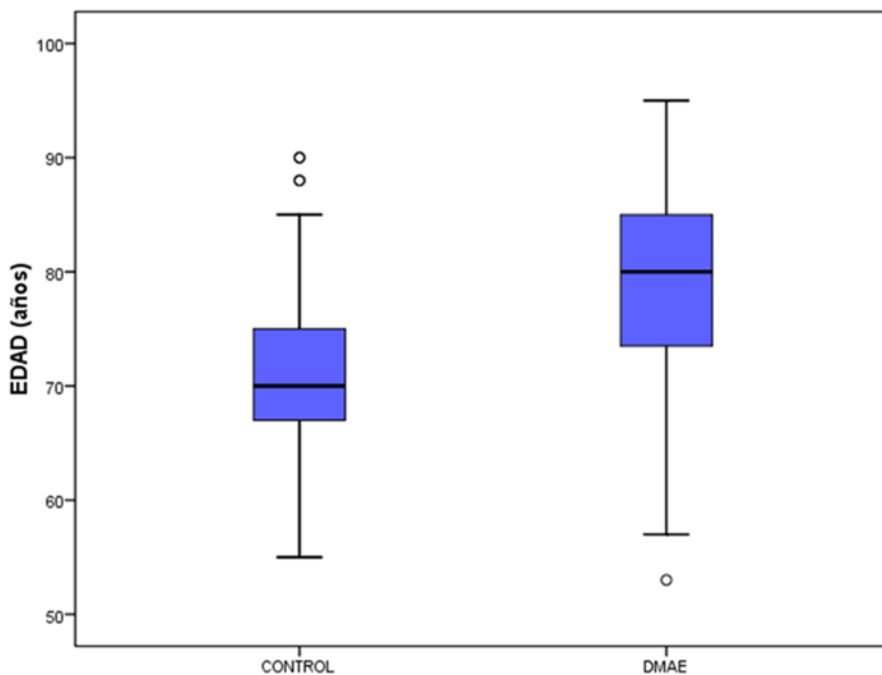


Gráfico 2. Gráfico de caja y bigotes con representación de la edad por grupos.

Si bien la distribución de los participantes por género entre casos y controles fue similar, en cuanto a la edad los controles sí presentaron una menor edad respecto a los casos, con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$). (Tabla 6).

			Total	GRUPO		Contraste de hipótesis
			Control	DMAE		
			n=383	n=196	n=187	
EDAD		Media y DE	75.0+-8.3	79.1+-7.9	71.1+-6.6	p=<0.001
		Rango	53-95	53-95	55-90	
SEXO	Hombres	n	149	79	70	p=0.564
		%	38.9	40.3	37.4	
	Mujeres	n	234	117	117	
		%	61.1	59.7	62.6	

Tabla 6. Distribución de sexo y edad por grupo; valor p de significación estadística: Sexo (test de chi-cuadrado), edad (test T-student); DE (desviación estándar).

4.2.2. Lateralidad

De todos los pacientes afectados por DMAE exudativa, hubo un total de 22 ojos derechos (22%), un total de 41 ojos izquierdos (10.7%) y 124 ojos con afectación bilateral (32.4%).

4.3. ANTECEDENTES PERSONALES SISTÉMICOS

4.3.1. Tabaco

En cuanto al hábito tabáquico, del total de la muestra analizada, 248 pacientes (64.8%) nunca habían fumado, 95 de ellos afirmaron ser exfumadores (24.8%), y 40 (10.4%) fumaban en el momento del diagnóstico. Estudiando los datos por grupos, en el grupo de pacientes con DMAE hubo un total de 121 pacientes (64.7%) que no habían fumado nunca, 44 exfumadores (23.5%) y 22 pacientes (11.8%) que fumaban en el momento del diagnóstico. No encontramos diferencias entre grupos ($p = 0,654$). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.2. Dislipemia

Del total de pacientes incluidos en el estudio, 228 (59.5%) de ellos presentaban dislipemia, de los cuales 123 pacientes correspondían al grupo de DMAE (65.8% de los pacientes con DMAE). Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de dislipemia y la DMAE ($p = 0,015$). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.3. Hipertensión arterial

Del total de pacientes analizados, 210 (54.8%) padecían HTA. Estudiando los datos por grupos, 123 de estos pertenecían a pacientes con DMAE (65.8%). Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de HTA y la DMAE ($p < 0.001$). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.4. Diabetes mellitus

De todos los pacientes incluidos en el estudio, 93 presentaron diabetes mellitus (24.3%), y analizando por grupos, 42 de ellos pertenecían al grupo de DMAE (22.5% de los pacientes con DMAE). No se encontraron diferencias significativas entre grupos ($p=0,417$). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.5. Accidente cerebrovascular

Del total de la muestra, 25 pacientes (6.5%) refirieron haber tenido un accidente cerebrovascular (ACV). Estudiando por grupos, 17 de estos pacientes correspondían a pacientes con DMAE (9.1% de los pacientes con DMAE). Las diferencias fueron significativas, con una asociación entre la DMAE y la presencia de algún evento cerebrovascular ($p=0,047$). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.6. Depresión

Del total de la muestra, 47 pacientes (12.3%) presentaban depresión, siendo 31 de ellos pacientes con DMAE (16.6% de los pacientes con DMAE). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos, con un valor p de 0,012. (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.7. Cáncer

De manera global, 40 pacientes del estudio presentaban antecedentes de cáncer (10.5%). Analizando por grupos, 21 de los pacientes con DMAE (11.4% de los pacientes con DMAE) afirmaron tener antecedente de esta patología. Analizando por tipo de cáncer, 22 de los tumores fueron cáncer de mama y prostático, 7 tumores de colon, 2 cánceres de pulmón, 6 leucemias, 1 tumor vesical, 1 melanoma. No hubo diferencias entre grupos (p 0,598). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.8. Enfermedades reumatológicas

Del total de pacientes incluido en nuestro estudio, 13 (3.4%) confirmaron tener enfermedades reumatológicas (artritis reumatoide, espondilitis anquilosante...). Estudiando los resultados por grupos, 10 de ellos eran pacientes con DMAE (5.3% de los pacientes con DMAE). La asociación fue significativa (p 0,039). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.9. Enfermedades neurodegenerativas

De manera global, sólo 4 pacientes del estudio (1%) afirmaron padecer enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer en los cuatro casos). Los 4 casos correspondieron a pacientes con DMAE (2.1% del total de pacientes con DMAE). No hubo diferencias significativas entre grupos (p 0,056). (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.10. Enfermedades cardiovasculares

Analizando la presencia de enfermedades cardiovasculares, (dentro de las que se incluyeron eventos isquémicos cardíacos), del total de la muestra, 73 pacientes presentaron algún evento isquémico cardíaco (19.1%). Analizando por grupos, 44 de estos pacientes pertenecían al grupo de casos (23.7% del total de pacientes con DMAE). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, con un valor p 0,033. (Gráfico 3, Tabla 7).

4.3.11. Hipotiroidismo

Del total de la muestra, 36 pacientes (9.4%) padecían hipotiroidismo, y estudiando los resultados por grupos, 20 de ellos correspondían a pacientes con DMAE (10.7% de los pacientes con DMAE). No se encontró una asociación estadísticamente significativa (p 0,396). (Gráfico 3, Tabla 7).

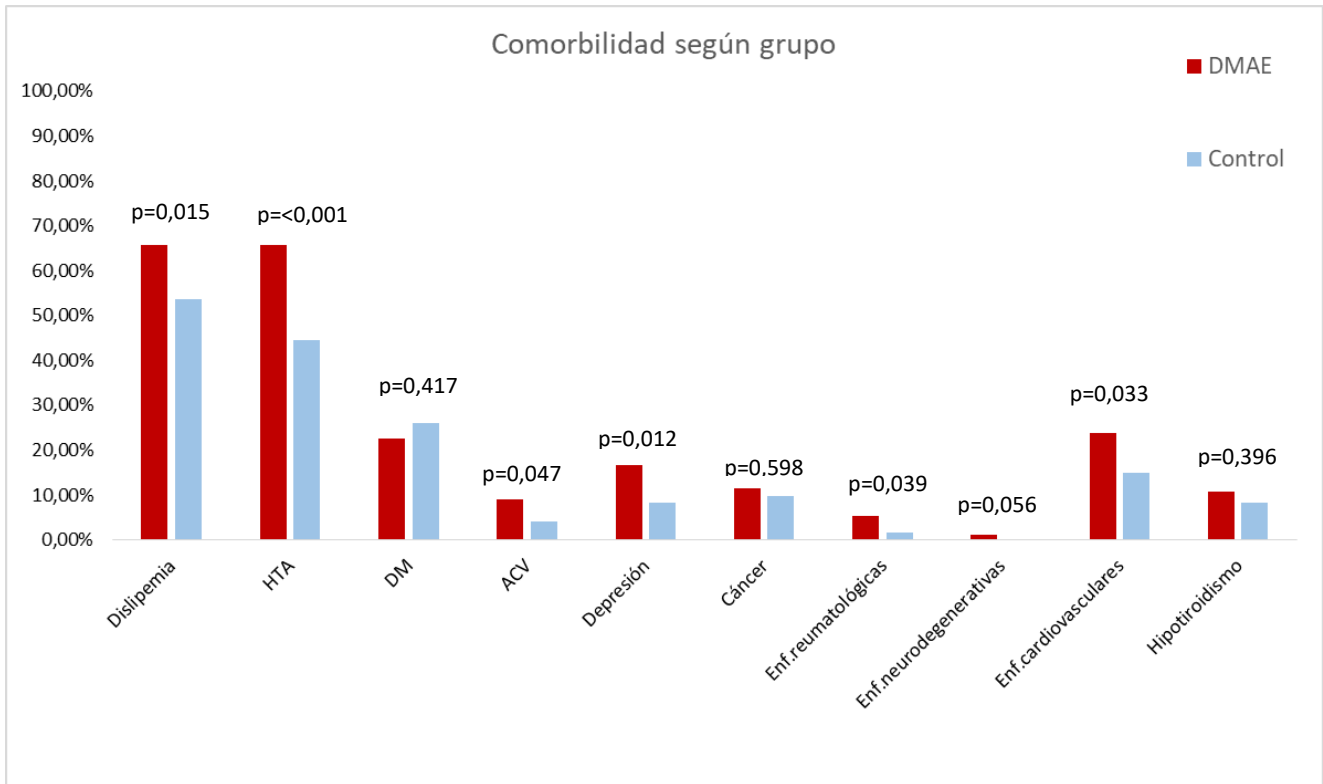


Gráfico 3. Gráfico de barras en el que se observa la frecuencia de la patología sistémica según grupos.

			Total n=383	GRUPO		Contraste de hipótesis
				CONTROL n=196	DMAE n=187	
Fumador	nunca	n	248	127	121	p=0,654
		%	64,8%	64,8%	64,7%	
	exfumador	n	95	51	44	
		%	24,8%	26,0%	23,5%	
	fumador	n	40	18	22	
		%	10,4%	9,2%	11,8%	
DLP	No	n	155	91	64	p=0,015
		%	40,5%	46,4%	34,2%	
	Sí	n	228	105	123	
		%	59,5%	53,6%	65,8%	
HTA	No	n	173	109	64	p=< 0.001
		%	45,2%	55,6%	34,2%	
	Sí	n	210	87	123	
		%	54,8%	44,4%	65,8%	
DM	No	n	290	145	145	p=0,417
		%	75,7%	74,0%	77,5%	
	Sí	n	93	51	42	
		%	24,3%	26,0%	22,5%	
ACV	No	n	358	188	170	p=0,047
		%	93,5%	95,9%	90,9%	
	Sí	n	25	8	17	
		%	6,5%	4,1%	9,1%	

Tabla 7.1. Distribución de patología sistémica por grupos, y valor p de significación estadística (test de chi-cuadrado).

			Total n=383	GRUPO		Contraste de hipótesis
				CONTROL n=196	DMAE n=187	
Cáncer	No	n	341	177	164	p=0,598
		%	89,5%	90,3%	88,6%	
	Sí	n	40	19	21	
		%	10,5%	9,7%	11,4%	
ECV	No	n	306	164	142	p=0,033
		%	80,7%	85,0%	76,3%	
	Sí	n	73	29	44	
		%	19,3%	15,0%	23,7%	
Alzheimer	No	n	379	196	183	p=0,056
		%	99,0%	100,0%	97,9%	
	Sí	n	4	0	4	
		%	1,0%	,0%	2,1%	
Hipotiroidismo	No	n	347	180	167	p=0,396
		%	90,6%	91,8%	89,3%	
	Sí	n	36	16	20	
		%	9,4%	8,2%	10,7%	
Depresión	No	n	336	180	156	p=0,012
		%	87,7%	91,8%	83,4%	
	Sí	n	47	16	31	
		%	12,3%	8,2%	16,6%	
Enf.reuma	No	n	370	193	177	p=0,039
		%	96,6%	98,5%	94,7%	
	Sí	n	13	3	10	
		%	3,4%	1,5%	5,3%	

Tabla 7.2. Distribución de patología sistémica por grupos, y valor p de significación estadística (test de chi-cuadrado).

4.4. ANTECEDENTES OFTALMOLÓGICOS

4.4.1. Antecedentes oftalmológicos personales

La mayoría de pacientes no presentaron antecedentes personales oculares, sólo uno había tenido desprendimiento de retina en un ojo.

4.4.2. Antecedentes familiares de DMAE

Del total de los pacientes incluidos, 33 afirmaron tener antecedentes familiares de DMAE (8.6%), siendo 25 de ellos pacientes con DMAE (13.4% del total de pacientes con DMAE). Se encontró asociación entre la presencia de antecedentes familiares de DMAE y el desarrollo de la enfermedad, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$). (Tabla 8)

4.4.3. Pseudofaquia

Analizamos si los pacientes estaban operados o no de catarata. Vimos un total de 239 ojos derechos pseudofáquicos (62.4%), y 243 ojos izquierdos (63.4%). En ambos casos de pseudofaquia, encontramos una diferencia estadísticamente significativa entre grupos ($p < 0.001$). (Tabla 8)

			Total	GRUPO		Contraste de hipótesis
				CONTROL	DMAE	
			n=383	n=196	n=187	
AF DMAE	No	n	350	188	162	p=0,001
		%	91,4%	95,9%	86,6%	
	Sí	n	33	8	25	
		%	8,6%	4,1%	13,4%	
PSEUDO OD	No	n	239	141	98	p=<0,001
		%	62,4%	71,9%	52,4%	
	Sí	n	144	55	89	
		%	37,6%	28,1%	47,6%	
PSEUDO OI	No	n	243	145	98	p=<0,001
		%	63,4%	74,0%	52,4%	
	Sí	n	140	51	89	
		%	36,6%	26,0%	47,6%	

Tabla 8. Antecedentes oftalmológicos por grupo; valor p de significación estadística.

4.5. DISTRIBUCIÓN DE LOS SNPs EN CASOS Y CONTROLES

Para el análisis de los SNPs inicialmente hicimos una comparación entre el grupo de casos y controles. La distribución de los SNP por grupos de estudio se muestra en la tabla 9 comparando frecuencia, valor de p y riesgo relativo (OR). Sin embargo, al existir diferencias en cuanto a la edad entre el grupo de DMAE y grupo control, realizamos un segundo análisis ajustado por edad, siendo los resultados los que se presentan a continuación.

4.5.1. Gen CFH

En el gen CFH, estudiamos tres polimorfismos SNPs diferentes: rs1410996, rs1061170 y rs380390.

En cuanto al SNPs rs1410996, estudiamos los alelos A/A, A/G Y G/G, y realizamos la comparativa entre combinaciones genotípicas (A/A+A/G vs G/G y A/G+GG vs A/A). En pacientes con DMAE en comparación con los controles, los análisis mostraron que el alelo G era más prevalente en los primeros ($P < 0.001$) con un riesgo de desarrollo de la enfermedad de hasta 7 veces más que los controles. (OR 7.69, 95% CI 3.17-18.69), mientras que la presencia del alelo (AA+AG) fue más frecuente en sujetos sanos.

Así mismo, en el SNP rs1061170, estudiamos los alelos C/C, C/G y GG, y del mismo modo que en el anterior, realizamos comparaciones entre genotipos (C/C+T/C vs T/T y T/C+T/T vs C/C). El alelo C del gen CFH fue más prevalente en pacientes con DMAE, con un riesgo triplicado de desarrollarla (OR 3.22, 95% CI 1.93-5.40). Sin embargo, la presencia del alelo (TC+TT) fue más prevalente en sujetos sanos.

En el tercer SNP que estudiamos del gen CFH (rs380390), y analizamos los alelos C/C, C/G y G/G, comparando los genotipos C/C+C/G vs G/G y C/G+GGvsC/C. Hubo diferencias entre casos y controles en cuanto a la presencia del alelo G (CG+GG), con el doble de riesgo de desarrollo de la enfermedad en portadores de este alelo (OR 2.52, 95% CI 1.47-4.30). (Tabla 9).

4.5.2. Gen ARMS2

El análisis del gen ARMS2, estudiamos dos polimorfismo diferentes: rs10490924 y rs 10490923.

En el primero de los SNPS, analizamos los alelos G/G, G/T y T/T, comparando G/G+G/T vs T/T y G/T+T/T vs GG. Se demostró que el alelo T (GT+TT) era más prevalente en pacientes con DMAE ($P < 0.001$) con un riesgo casi cinco veces mayor de desarrollar la enfermedad (OR 5.49, 95% CI 3.23-9.31).

El análisis del segundo SNP (rs10490923), consistió en el estudio de los alelos A/A, A/G y G/G y comparamos los genotipos A/A+A/G vs G/G y A/G+GG vs A/A. En este caso, no encontramos diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 9).

4.5.3. Gen HTRA1

El análisis del gen HTRA1 (rs11200638) consistió en el estudio de los mismos alelos que en el ARMS2: A/A, A/G y G/G, con la comparación de los genotipos A/A+A/G vs G/G y A/G+GG vs A/A.

Se vio una sobreexpresión del alelo A (AA+AG) en pacientes con DMAE ($P < 0.001$), con un riesgo por 6 de presentar la enfermedad en comparación con los controles (OR 6.44, 95% 3.62-11.47). Así mismo, encontramos una fuerte asociación entre rs10490924 (ARMS2) y rs11200638 (HRTA1). (Tabla 9).

4.5.4. Gen CFB

Del gen CFB, analizamos un único polimorfismo SNP (rs 641153), con los alelos A/A, A/G y G/G, con la comparación de los genotipos A/A+A/G vs G/G y A/G+GG vs A/A. En este

caso no encontramos resultados estadísticamente significativos en ninguno de los casos. (Tabla 9).

4.5.5. Gen C2

En el análisis del SNP del gen C2 (rs9332739) en pacientes con DMAE, estudiamos los alelos C/C, C/G y GG, y realizamos comparaciones entre genotipos (C/C+T/C vs T/T y T/C+T/T vs C/C). En el primer análisis que realizamos sin ajustar por edad, no obtuvimos diferencias significativas (P=0.138). Sin embargo, una vez que hicimos el segundo análisis ajustando por edad, los resultados mostraron una mayor prevalencia del alelo C en los enfermos (P=0.038) con un riesgo multiplicado por 3 de desarrollar la patología (OR 3.10, 95% CI 1.06-9.06). (Tabla 9).

4.5.6. Gen C3

Del gen C3 se estudiaron tres SNPs diferentes: rs1047286, rs147859257 y rs2230199.

Del primero, se analizaron los alelos A/A, A/G y G/G, y comparamos los genotipos A/A+A/G vs G/G y A/G+GG vs A/A. Del SNP rs147859257, los alelos T/T los presentó el 100% de la muestra. Por último, del tercer SNP se estudiaron los alelos C/C, C/G y GG, y realizamos comparaciones entre genotipos (C/C+T/C vs T/T y T/C+T/T vs C/C). No encontramos resultados estadísticamente significativos en ninguno de los casos. (Tabla 9).

4.5.7. Enfermedad unilateral frente bilateral

El hecho de que la enfermedad se presentase de forma uni o bilateral no mostró diferencias significativas entre grupos. (Tabla 10).

Tabla 9. Distribución de los SNPs por grupo de estudio (DMAE exudativa y grupo control).

GENES	POLIMORFISMOS	ALELOS	CONTROL		DMAE		P valor	GENOTIPO	OR sin ajustar	Intervalo de confianza 95%			P valor	OR ajustada	Intervalo de confianza 95%			P valor							
			n = 196		n = 187					OR sin ajustar	Intervalo de confianza 95%				OR ajustada	Intervalo de confianza 95%									
			n	%	n	%					OR sin ajustar	inferior				superior	P valor		OR ajustada	inferior	superior	P valor			
CFH	rs1410996	A/A	44	24.9	8	4.5	<0.001	A/A+A/G vs G/G	0.32	0.21	0.49	<0.001	0.31	0.19	0.51	<0.001									
		A/G	65	36.7	52	29.2											A/G+G/G vs A/A	7.03	3.20	15.44	<0.001	7.69	3.17	18.69	<0.001
		G/G	68	38.4	118	66.3																			
CFH	rs1061170	C/C	21	11.5	56	32.2	<0.001	C/C+T/C vs T/T	2.95	1.89	4.60	<0.001	3.22	1.93	5.40	<0.001									
		T/C	66	36.3	71	40.8											T/C+T/T vs C/C	0.27	0.16	0.48	<0.001	0.28	0.15	0.53	<0.001
		T/T	95	52.2	47	27.0																			
CFH	rs380390	C/C	82	48.5	44	27.7	<0.001	C/C+C/G vs G/G	0.27	0.16	0.47	<0.001	0.31	0.17	0.57	<0.001									
		C/G	61	36.1	52	32.7											C/G+G/G vs C/C	2.46	1.55	3.90	<0.001	2.52	1.47	4.30	0.001
		G/G	26	15.4	63	39.6																			
ARMS2	rs10490924	G/G	140	75.7	71	39.7	<0.001	G/G+G/T vs T/T	0.13	0.05	0.32	<0.001	0.09	0.03	0.26	<0.001									
		G/T	39	21.1	72	40.2											G/T+T/T vs G/G	4.73	3.02	7.42	<0.001	5.49	3.23	9.31	<0.001
		T/T	6	3.2	36	20.1																			
ARMS2	rs10490923	A/A	3	1.6	3	1.7	0.368	A/A+A/G vs G/G	0.70	0.42	1.17	0.174	0.71	0.39	1.29	0.260									
		A/G	39	21.2	28	15.5											A/G+G/G vs A/A	0.98	0.20	4.94	1	0.92	0.16	5.43	0.931
		G/G	142	77.2	150	82.9																			
HTRA1	rs11200638	A/A	7	4.1	35	21.9	<0.001	A/A+A/G vs G/G	5.35	3.26	8.77	<0.001	6.44	3.62	11.47	<0.001									
		A/G	25	14.5	53	33.1											A/G+G/G vs A/A	0.15	0.06	0.35	<0.001	0.12	0.05	0.30	<0.001
		G/G	140	81.4	72	45.0																			
CFB	rs641153	A/A	7	3.9	8	4.4	0.316	A/A+A/G vs G/G	0.71	0.39	1.26	0.24	0.55	0.28	1.06	0.075									
		G/A	25	13.8	16	8.8											A/G+G/G vs A/A	0.875	0.31	2.46	0.80	1.25	0.38	4.15	0.715
		G/G	149	82.3	158	86.8																			
C2	rs9332739	C/C	0	0.0	1	0.5	0.138	C/C+C/G vs G/G	2.15	0.85	5.45	0.1	3.10	1.06	9.06	0.038									
		C/G	7	3.6	13	7.0											C/G+G/G vs C/C	ne			0.49				
		G/G	186	96.4	173	92.5																			
C2	rs547154	G/G	153	81.8	158	90.3	0.043	G/G+G/T vs T/T	5.77	0.69	48.40	0.12	6.71	0.69	65.70	0.102									
		G/T	28	15.0	16	9.1											G/T+T/T vs G/G	0.48	0.26	0.90	0.02	0.38	0.19	0.78	0.009
		T/T	6	3.2	1	0.6																			
C3	rs1047286	A/A	12	6.9	9	5.3	0.09	A/A+A/G vs G/G	1.49	0.94	2.35	0.089	1.46	0.86	2.47	0.158									
		A/G	35	20.2	52	30.4											A/G+G/G vs A/A	1.34	0.55	3.27	0.517	1.15	0.41	3.20	0.792
		G/G	126	72.8	110	64.3																			
C3	rs147859257	T/T	194	100.0	186	100.0																			
C3	rs2230199	C/C	14	7.8	10	5.7	0.138	C/C+C/G vs G/G	1.38	0.89	2.13	0.146	1.56	0.94	2.57	0.083									
		C/G	46	25.6	61	35.1											C/G+G/G vs C/C	1.38	0.60	3.20	0.447	0.94	0.36	2.47	0.893
		G/G	120	66.7	103	59.2																			

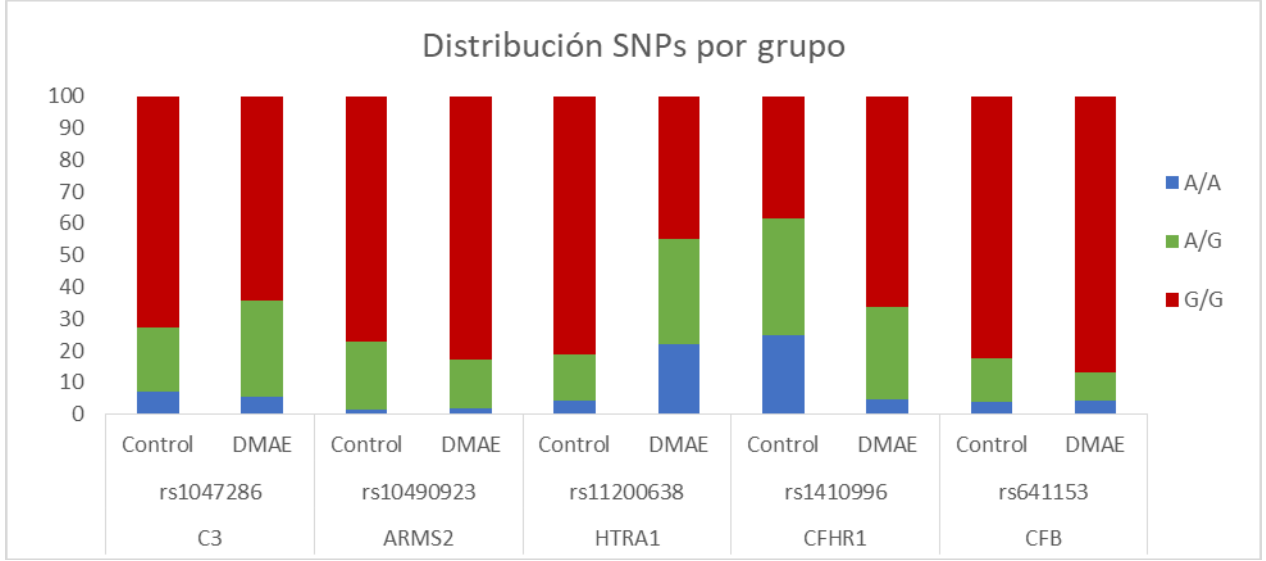


Gráfico 4. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos AA/AG/GG.

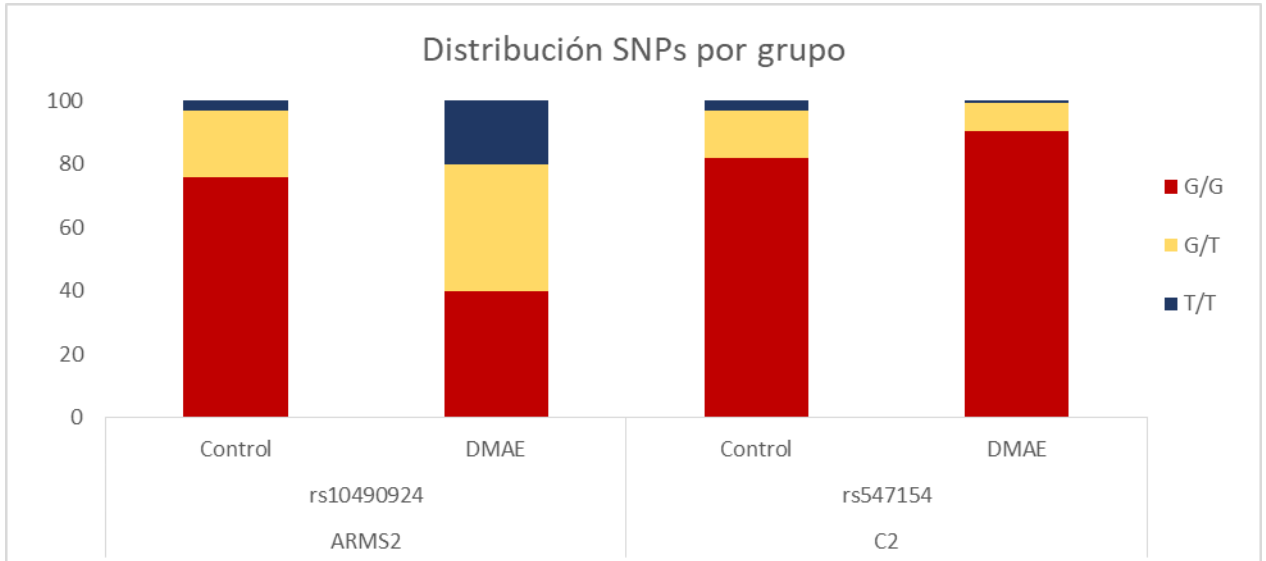


Gráfico 5. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos GG/GT/TT.

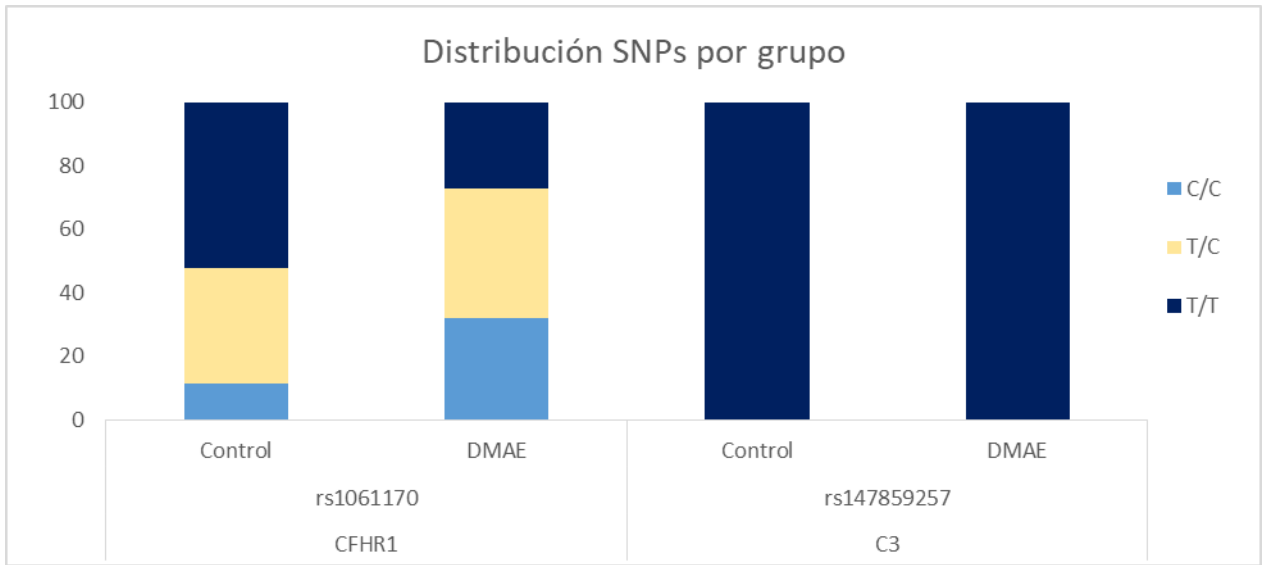


Gráfico 6. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos. CC/TC/TT.

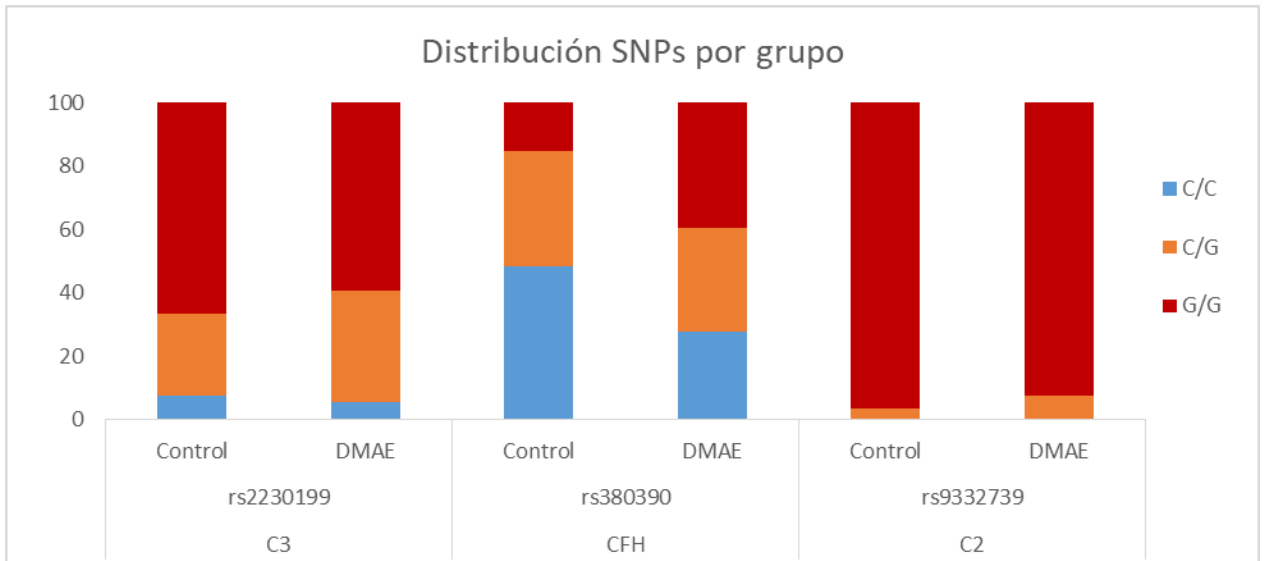


Gráfico 7. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos CC/CG/GG.

Genes	Polimorfismos	Alelos	Unilateral		Bilateral		p-valor
			N	%	n	%	
CFH	rs1410996	A/A	3	5	5	4,2	0,962
		A/G	17	28,3	35	29,7	
		G/G	40	66,7	78	66,1	
CFH	rs1061170	C/C	20	35,7	36	30,5	0,783
		T/C	22	39,3	49	41,5	
		T/T	14	25	33	28	
CFH	rs380390	C/C	13	26	31	28,4	0,745
		C/G	15	30	37	33,9	
		G/G	22	44	41	37,6	
ARMS2	rs10490924	G/G	31	51,7	40	33,6	0,063
		G/T	20	33,3	52	43,7	
		T/T	9	15	27	22,7	
ARMS2	rs10490923	A/A	0	0	3	2,5	0,475
		A/G	9	15,3	19	15,5	
		G/G	50	84,7	100	82	
HRTA1	rs11200638	A/A	8	13,8	27	26,5	0,085
		A/G	18	31	35	34,3	
		G/G	32	55,2	40	39,2	
CFB	rs641153	A/A	4	6,7	4	3,3	0,575
		G/A	5	8,3	11	9	
		G/G	51	85	107	87,7	
C2	rs9332739	C/C	0	0	1	0,8	0,299
		C/G	2	3,3	11	8,7	
		G/G	59	96,7	114	90,5	
C2	rs547154	G/G	52	86,7	106	92,2	0,261
		G/T	7	11,7	9	7,8	
		T/T	1	1,6	0	0	
C3	rs1047286	A/A	4	7,1	5	4,3	0,667
		A/G	18	32,1	34	29,6	
		G/G	34	60,7	76	66,1	
C3	rs147859257	T/T	60	100	126	100	1
C3	rs2230199	C/C	4	6,8	6	5,2	0,441
		C/G	24	40,7	37	32,2	
		G/G	31	52,5	72	62,6	

Tabla 10. Comparación de polimorfismos en DMAE exudativa unilateral y bilateral.

4.6. COMPARACIÓN ENTRE NUESTROS RESULTADOS Y BASES DE DATOS EUROPEAS

También realizamos una comparación entre los resultados obtenidos en nuestro estudio y los obtenidos en estudios europeos. Los datos internacionales, los obtuvimos a partir de una base de datos europea pública (<https://www.ensembl.org/>). (Tabla 11, Gráficos 8-11). Comparando nuestros resultados con los obtenidos de las bases de datos españolas y europeas, encontramos que existen diferencias en algunos polimorfismos. Sin embargo, esto no es de extrañar si tenemos en cuenta que nuestro estudio no supone una muestra representativa de la población española (que incluye pacientes sanos y pacientes con DMAE), sino una muestra seleccionada de casos sanos para poderlos comparar con los casos con DMAE.

Tabla 11. Comparación de los resultados de nuestro estudio con los resultados de bases Españolas y Europeas.

GENES	POLIMORFISMOS	ALELOS	CONTROL		DMAE		ESPAÑA *	chi-cuadrado test	EUROPA*	chi-cuadrado test
			n = 196		n = 187					
			n	%	n	%	%	%		
CFH	rs1410996	A/A	44	24,9	8	4,5	19,6	<0,001	17,7	0,002
		A/G	65	36,7	52	29,2	52,3		49,7	
		G/G	68	38,4	118	66,3	28		32,6	
CFH	rs1061170	C/C	21	11,5	56	32,2	10,3	0,855	15,3	0,036
		T/C	66	36,3	71	40,8	36,4		41,7	
		T/T	95	52,2	47	27	53,3		42,9	
CFH	rs380390	C/C	82	48,5	44	27,7	46,7	0,122	38	0,018
		C/G	61	36,1	52	32,7	42,1		44,5	
		G/G	26	15,4	63	39,6	11,2		17,5	
ARMS2	rs10490924	G/G	140	75,7	71	39,7	69,2	0,11	64	0,003
		G/T	39	21,1	72	40,2	28		33	
		T/T	6	3,2	36	20,1	2,8		3	
ARMS2	rs10490923	A/A	3	1,6	3	1,7	0,9	0,379	2,8	0,623
		A/G	39	21,2	28	15,5	18,7		20,5	
		G/G	142	77,2	150	82,9	80,4		76,7	
HTRA1	rs11200638	A/A	7	4,1	35	21,9	2,8	0,001	3	<0,001
		A/G	25	14,5	53	33,1	27,1		32,8	
		G/G	140	81,4	72	45	70,1		64,2	
CFB	rs641153	A/A	7	3,9	8	4,4	1,9	0,028	1,2	0,004
		G/A	25	13,8	16	8,8	19,6		14,9	
		G/G	149	82,3	158	86,8	78,5		83,9	
C2	rs9332739	C/C	0	0	1	0,5	0	0,486	0,4	0,015
		C/G	7	3,6	13	7	2,8		8,5	
		G/G	186	96,4	173	92,5	97,2		91,1	
C2	rs547154	G/G	153	81,8	158	90,3	77,6	0,082	83,5	0,042
		G/T	28	15	16	9,1	20,6		15,3	
		T/T	6	3,2	1	0,6	1,9		1,2	
C3	rs1047286	A/A	12	6,9	9	5,3	10,3	0,037	1,2	<0,001
		A/G	35	20,2	52	30,4	26,2		11,5	
		G/G	126	72,8	110	64,3	63,6		87,3	
C3	rs147859257	T/T	194	100	186	100	100		99,6	
C3	rs2230199	C/C	14	7,8	10	5,7	11,2	0,008	5,6	0,069
		C/G	46	25,6	61	35,1	33,6		33	
		G/G	120	66,7	103	59,2	55,1		61,4	

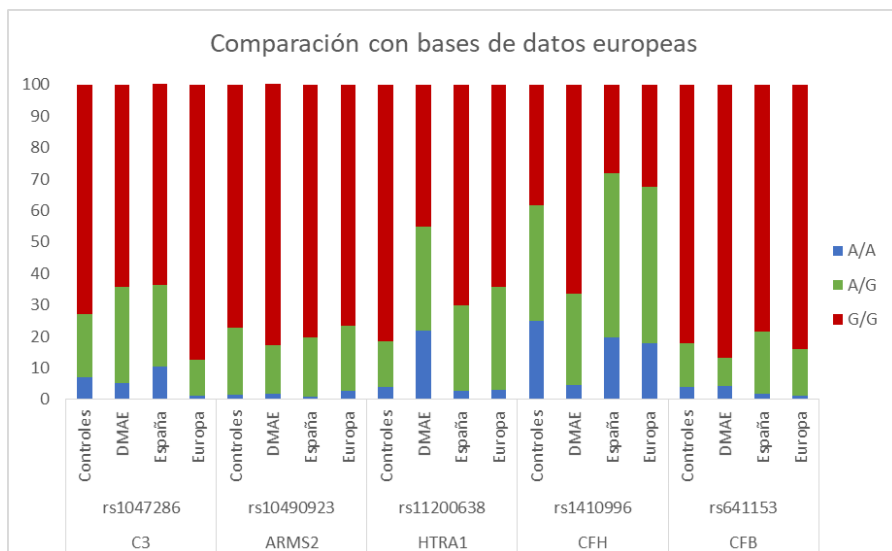


Gráfico 8. Comparación de nuestros resultados de los SNPs rs1047286, rs10490923, rs11200638, rs1410996 y rs641153 con los de bases de datos europeas en función de los alelos AA/AG/GG.

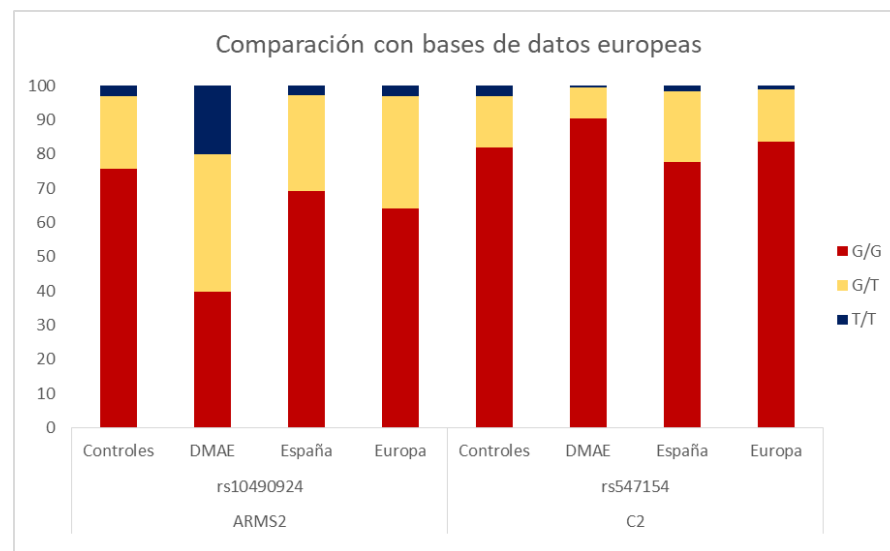


Gráfico 9. Comparación de nuestros resultados de los SNPs 10490924 y rs547154 con los de bases de datos europeas en función de los alelos GG/GT/TT.

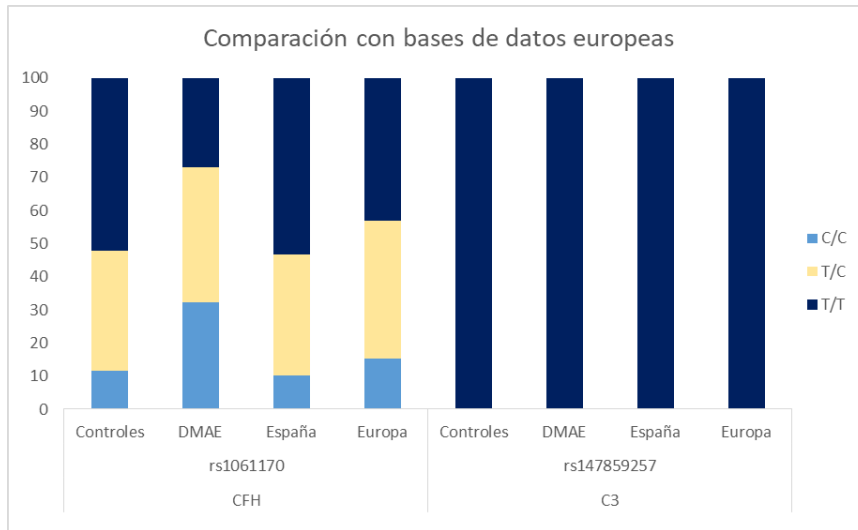


Gráfico 10. Comparación de nuestros resultados de los SNPs rs1061170 y rs147859257 con los de bases de datos europeas en función de los alelos CC/TC/TT.

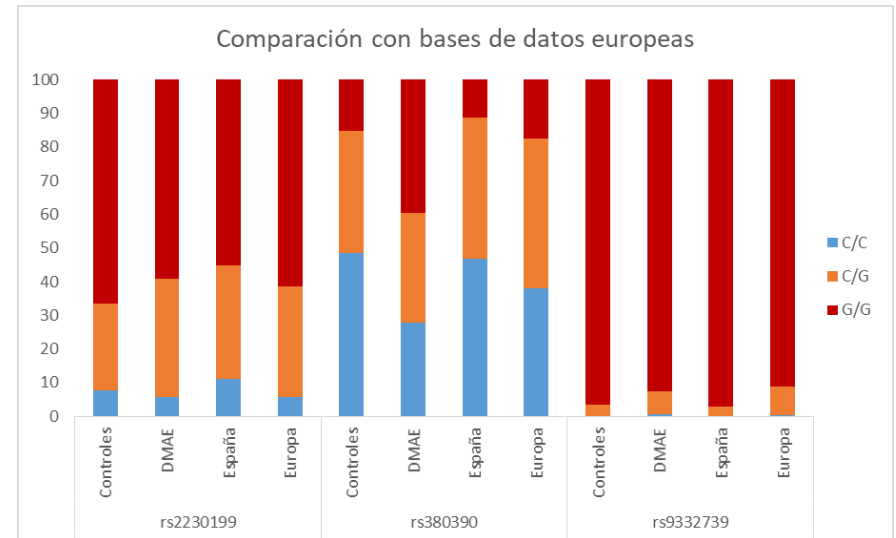


Gráfico 11. Comparación de nuestros resultados de los SNPs rs2230199, rs380390 y rs9332739 con los de bases de datos europeas en función de los alelos CC/CG/GG

4.7. FRECUENCIA DE EXPRESIÓN DE MÚLTIPLES POLIMORFISMOS SNP DE RIESGO LOCALIZADOS EN CFHR1, ARMS2, HTRA1 Y CFH EN LA DMAE EXUDATIVA

De los 383 pacientes incluidos en el estudio, seleccionamos 130 casos de DMAE y 140 controles de los cuales habíamos obtenido datos completos de los polimorfismos a estudio: CFHR1, ARMS2, HTRA1 Y CFH (Gráfico 12).

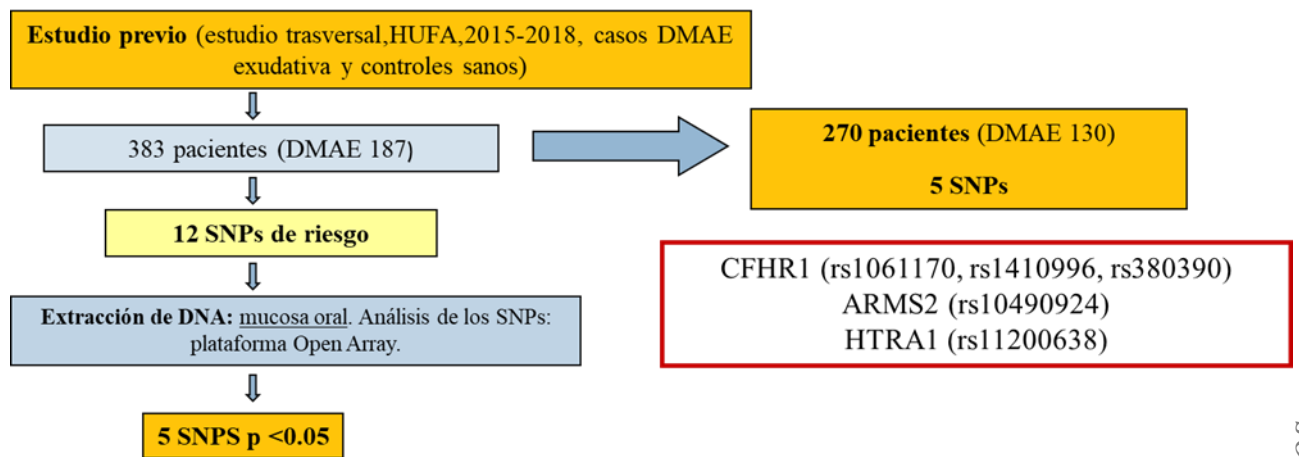


Gráfico 12. Diagrama en el que se presenta de manera esquemática el procedimiento empleado en este segundo estudio.

4.7.1. Análisis de la frecuencia de expresión de SNPs

Los pacientes con DMAE exudativa mostraban un polimorfismo de riesgo en el 3.1% de los casos (17.9% controles), 2 polimorfismos de riesgo 16.9 (21.4% controles), 3 polimorfismos 5.4 % (11.4% controles), 4 polimorfismos 44.6% (42.1% controles) y 5 polimorfismos 30% (7.1% controles), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$). (Tabla 13).

N SNPs alterados	Control (n,%)	DMAE (n, %)	Total (n, %)
1	25 (17.9%)	4 (3.1%)	29 (10.7%)
2	30 (21.4%)	22 (16.9%)	52 (19.3%)
3	16 (11.4%)	7 (5.4%)	23 (8.5%)
4	59 (42.1%)	58 (44.6%)	117 (43.3%)
5	10 (7.1%)	39 (30%)	49 (18.1%)
Total	140	130	170

Tabla 12. Análisis de la frecuencia de expresión de los SNPs.

4.7.2. Media de expresión de los SNPs alterados e incremento del riesgo de desarrollo de DMAE

La media de expresión de SNPs en los pacientes con DMAE fue de 3.8154+- 1.1329, frente a 2.9929+-1.2835 en los controles. Además se vio que el riesgo de presentar DMAE se incrementa en 1.7 veces (IC95% 1,402 -2.143) por cada SNP alterado.

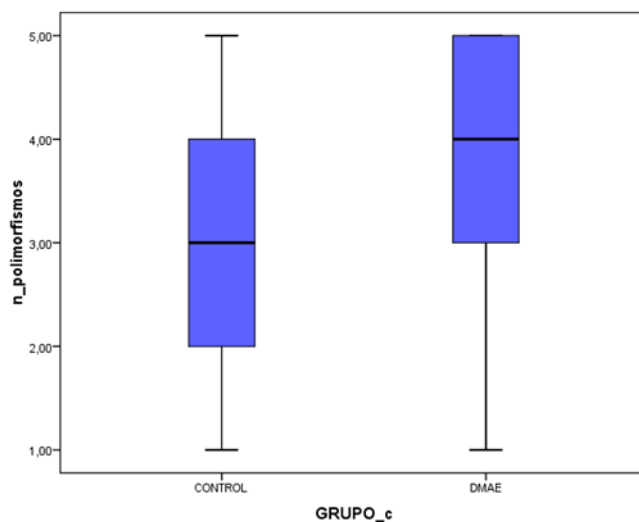


Gráfico 13. Media de la frecuencia de los SNPs alterados.

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista genético, el estudio de la DMAE es complicado, lo que se denomina «proceso complejo» ya que es el resultado de la interacción de múltiples locus (no solo genes específicos) y factores ambientales higiénico-dietéticos sin un patrón de herencia mendeliana (como ocurre en las enfermedades monogénicas)¹³²⁻¹³⁶.

Se ha descrito una etiología multifactorial, con influencia de factores ambientales y factores genéticos.

La influencia de la genética en la DMAE se ha podido investigar mediante estudios familiares y en gemelos. El riesgo atribuible a los factores genéticos es del 46-71%. Estudios de gemelos han demostrado que la heredabilidad para la DMAE es del 45%. Familiares de primer grado de pacientes con DMAE, comparados con pacientes familiares de primer grado sin la enfermedad, tienen un riesgo incrementado de desarrollo de la enfermedad, así como debut a edad más joven¹³⁷⁻¹³⁹.

Las variaciones genéticas más frecuentemente asociadas al riesgo desarrollar DMAE son los polimorfismos SNPS (Single Nucleotide Polymorphism) o polimorfismos de un nucleótido sencillo. Consisten en la variación de una sola base en la secuencia de ADN, que afecta a más de un 1% de la población. No son una causa directa de la enfermedad, pero influyen en la codificación y traducción de la proteína, siendo por tanto, factor predisponente o protector del desarrollo de la enfermedad¹³⁹.

El gran avance en el estudio genómico de las enfermedades en general, y de la DMAE en particular, se pudo llevar a cabo con los estudios de genoma completo o GWAS (Genome Wide Association Studies).

Los estudios de asociación de genoma completo se basan en la investigación genética para asociar variaciones genéticas específicas con determinadas enfermedades. Esto supone el análisis del genoma de muchas personas distintas y la búsqueda de marcadores genéticos que se puedan utilizar para predecir la presencia de una enfermedad. Una vez que dichos marcadores genéticos son identificados, se podrían utilizar para comprender cómo los genes contribuyen a la enfermedad y desarrollar mejores estrategias de prevención y tratamiento^{140,141}.

Este nuevo método de investigación es el responsable de la gran avalancha de descubrimientos de factores de riesgo genético en enfermedades comunes que ha salido de los laboratorios en los últimos años. Se aparean pacientes comparables con determinada enfermedad, en este caso la DMAE, y pacientes sanos. Se analiza todo el genoma utilizando polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), intentando encontrar un lugar en el que haya una diferencia constante.

Lo extraordinario y la novedad de este tipo de estudios, es que no nos limita al estudio y a la búsqueda de un único gen candidato, sino que todo el conjunto de genes serían candidatos^{140,141}.

Empleando este tipo de estudio, actualmente se ha podido demostrar una asociación directa entre SNPs de los genes CFH, ARMS2 y HTRA1 y la DMAE. Sin embargo, debido a que la DMAE no sigue una herencia mendeliana, como se ha explicado, esto

implica un incremento en la susceptibilidad de presentar la enfermedad, pero no que sean la causa de la enfermedad.

5.2. GEN FACTOR H DEL COMPLEMENTO (CFH)

El gen CFH está localizado en el brazo corto (q) del cromosoma 1, en una región conocida como 1q31. Fue el primer gen en asociarse con la DMAE, y se considera el gen con mayor evidencia de riesgo en el desarrollo de la DMAE.

Es un factor regulador inhibitorio de la cascada del complemento y ha sido recientemente cuando se ha identificado como gen mayor de susceptibilidad genética¹⁴²⁻¹⁴⁹.

En el Rotterdam Eye Study, se demostró que este gen está asociado con todas las fases de la DMAE. Hageman y su equipo descubrieron que el CFH y el C3b/ic3B se encuentran en las drusas, y que suponen una superficie de activación de la cascada inflamatoria del complemento entre las drusas y la membrana de Bruch⁴⁷.

Los estudios genéticos llevados a cabo sobre la DMAE, han demostrado que existe una susceptibilidad genética en los loci de los cromosomas 1q31 y 10q26. El polimorfismo Y402H (rs 1061170), localizado en un lugar de fijación para la proteína C reactiva se ha propuesto como el principal causante. Esta variante va a alterar la capacidad de unión del CFH a las proteínas de las células del EPR y de la coroides, evitando la inhibición del complemento de la degradación de estas proteínas¹⁵⁰⁻¹⁵⁶.

Este polimorfismo ha sido ampliamente estudiando, demostrando en Asia, Norte de India, Túnez, Francia, Europa Central, Hungría, Polonia, Brasil, Méjico y África que el alelo C de la variante Y402H del gen CFH, tiene una fuerte asociación a la DMAE.

Llamativamente hay una excepción en la que esta asociación no se ha encontrado, y es en la población japonesa¹⁵⁷⁻¹⁶⁵.

Los SNPs más estudiados del gen CFH han sido rs 3753394, rs 529825, rs 800292, rs 3766404, rs 203674, rs 3753396, rs 1065489. Todos estos SNPs están localizados en regiones importantes del gen CFH, incluyendo la región promotora del mismo.

El estudio llevado a cabo por Edwards et al. investigó el locus (ARMD1) en el cromosoma 1q25-31, y encontraron una asociación significativa en este locus, en el cual se encuentra la región codificante del gen CFH y del polimorfismo tirosina-402-histidina-402, que se vio asociado a un incremento de 3 veces del riesgo de desarrollar DMAE¹⁶⁶.

Haines encontró también que este polimorfismo (Y402H) incrementaba el riesgo de DMAE¹⁶⁷.

Estos resultados fueron consistentes con los obtenidos por Ho en una población china. Bergeron-Sawitzke genotipó SNPs de 424 pacientes con DMAE, y 215 controles sanos, descubriendo que el genotipo G (rs1410996) del gen CFH, estaba asociado a un incremento del riesgo en el desarrollo de DMAE multiplicado por siete veces^{168,169}.

Ho et al. demostraron que los portadores de CT y del alelo C para el gen Y402H estaban asociados a un mayor riesgo de desarrollar DMAE. Además, los portadores del haplotipo AT eran más candidatos al desarrollo de la retinopatía que los portadores del haplotipo GT¹⁶⁸.

Wu et al. llevaron a cabo un metaanálisis para clarificar la relación entre los SNPs del gen CFH (rs1061170 y rs1410996) y la DMAE. Concluyeron que ambos estaban implicados en un incremento del riesgo en el desarrollo de DMAE¹⁷⁰.

En España, este gen ha sido ampliamente estudiado.

En el año 2006, De la Fuente realizó un estudio genético del polimorfismo Y402H en una población española. Para ello selecciona una muestra de 140 pacientes con DMAE exudativa y 35 pacientes con DMAE atrófica; pareados por edad y sexo con 119 pacientes sanos¹⁷¹.

En el estudio encontró una fuerte asociación entre el alelo C de 402H y la DMAE atrófica (OR 3.3 $p < 0.05$) y el genotipo CC (OR 5.2 $p < 0.05$). Sin embargo, en el caso de la DMAE exudativa mostró una positiva pero menor asociación con los alelos de riesgo que la DMAE atrófica (OR 2.03 para el alelo C; y OR 2.4 para el genotipo CC)¹⁷¹.

En el 201, Brión et al. publicaron un estudio prospectivo en una población española en el que incluyó a 353 pacientes con DMAE avanzada (225 con DMAE atrófica, 57 con DMAE neovascular, y 71 con DMAE mixta) y 282 pacientes controles, en el que investigó los factores genéticos de riesgo en el desarrollo de la DMAE. En este estudio confirmaron la asociación entre los genes ARMS2 y CFH y la DMAE¹⁷².

En el caso del gen CFH, estudiaron 7 SNPs y separaron los resultados de cada SNP en función de si se trataba una DMAE avanzada, exudativa, atrófica o mixta. Encontraron diferencias significativas en todos: rs800292, rs3766404, rs1329421, rs1831282, rs12144939, rs2284664, rs1329428 ($p < 0.05$).

Encontraron también que el alelo T del SNP rs1329421 era factor de riesgo y que el alelo A del SNP rs1329428, era factor protector. Además descubrieron dos nuevas asociaciones genéticas con la DMAE: una variante en la región 3' UTR del gen FGF2 (rs6820411), que se vio muy asociada con la DMAE atrófica y el SNP rs3112831 del gen ABCA4¹⁷².

Cruz-González et al., realizaron un estudio en el que incluyeron a 101 pacientes con diagnóstico de DMAE y 91 pacientes control sanos. Analizaron los polimorfismos SNP del gen CFH rs1410996, ARMS2rs 10940923 y HTRA1 -625. Encontraron una mayor proporción de DMAE en los pacientes que expresaban de manera simultánea los alelos GG en CFH (rs1410996) y ARMS2 TT (rs10940923) ($p < 0.05$; OR 7.742); los alelos ARMS2 TT (rs10940923) y HTRA1-625 TT ($p < 0.001$; OR 9.006); los alelos CFH GG (rs1410996), ARMS2 TT (rs1040923) and HTRA1 -625 GG ($p 0.043$; OR: 6.702) y el alelo HTRA1-625 TT ($p < .001$; OR: 9.006)¹⁷³.

Dos años más tarde publicó otro estudio con un total de 101 pacientes caucásicos (74 con DMAE húmeda y 27 con DMAE seca) y analizaron los polimorfismos rs1410996 del gen CFH, rs10940923 de ARMS2, rs833061 y rs699947 de VEGFA y rs2071559 de VEGFR. Trataron de investigar si existían diferencias entre SNPs en los dos tipos de DMAE (seca y exudativa). No encontraron diferencias significativas entre ambos tipos de DMAE, pero sí encontraron que los alelos de riesgo estaban más presentes en los pacientes con DMAE exudativa¹⁷⁴.

Martínez-Barricarte et al. realizó un estudio transversal en el que incluyó 259 pacientes y 191 pacientes controles de origen español. Centrarón el estudio en el análisis del gen CFH con el SNP CFH 402His como factor de riesgo en el desarrollo de la DMAE, y el análisis

de dos SNPs portadores de la delección de R1 y R3 de los genes CFH1 y CFHR3 (Δ CFHR3-CFHR1). Con su estudio, mostraron por primera vez la existencia de una fuerte asociación entre el haplotipo CFHR1*A y la DMAE (OR 2.08 $p < 0.0001$). Además explicaron, cómo existe un vínculo entre CFHR1*A y un desequilibrio en el alelo CFH 402His, lo que favorecería la aparición de nuevas variantes genéticas en el gen 1q31, y con ello, más factores de riesgo aún por conocer implicados en el desarrollo de la DMAE. Martínez-Barricarte y su grupo, tomando como referencia la población española, concluyeron que el análisis del genotipo de CFHR1, aportaba la suficiente información para valorar el riesgo individual de desarrollar DMAE¹⁷⁵.

Montserrat García y su grupo realizaron un estudio de casos y controles españoles con 130 pacientes diagnosticados de DMAE y 96 pacientes controles sanos, en el que analizaron la relación entre múltiples polimorfismos SNPs del gen CFH (rs3753394, rs529825, rs800292, rs3766404, rs203674, rs10671170, rs3753396 y rs1065489) con la DMAE. El estudio mostró que los haplotipos CGG (rs3753394, rs529825 y rs800292) y GCAG (rs203674, rs1061170, rs3753396 y rs1065489) tenían una asociación estadísticamente significativa con la DMAE, mientras que los haplotipos CAA (rs3753394, rs529825 y rs800292) y TTAG (rs203674, rs1061170, rs3753396 y rs1065489) resultaron ser protectores. Encontraron pequeñas diferencias entre pacientes con DMAE atrófica frente a pacientes con DMAE neovascular; sin embargo estas diferencias no fueron significativas¹⁷⁶.

Todos los estudios realizados en los últimos años, han demostrado que existen diferencias significativas entre los SNPs del gen CFH entre razas. Por ejemplo, se ha visto que el alelo G del SNP rs 1061170 o que el alelo G del SN rs 203674 están muy asociados a la

DMAE en pacientes Caucásicos y en pacientes españoles en concreto. Sin embargo, en Japoneses y en población China, esta asociación no ha resultado ser significativa¹⁷⁷.

En el presente estudio, analizamos tres polimorfismos SNPs del gen CFH, y encontramos diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles en los tres SNPs estudiados: rs1061170 (OR 3.22 $p < 0,001$); rs1410996 (OR 7,69 $p < 0,001$) y rs 380390 (OR 2,52 $p < 0,001$).

Además encontramos que los SNPs el alelo G de rs1410996 era más prevalente en pacientes con DMAE (OR 7.69 $p < 0.001$) mientras que la presencia del alelo A (AA+AG) resultó ser más frecuente en sujetos sanos, siendo resultados concordantes con los obtenidos en otros estudios españoles como el realizado por Montserrat García¹⁷⁶.

Así mismo, el alelo C de rs1061170 fue más prevalente en pacientes con DMAE (OR 3.22 $p < 0.05$). Por otro lado, el alelo G (CG+GG) de rs380390 supuso el doble de riesgo de desarrollo de la enfermedad (OR 2.52 $p < 0.001$). (Tabla 13).

Tabla 13. Estudios realizados sobre la asociación entre el gen CFH y la DMAE en pacientes españoles.

AUTORES	AÑO	TIPO ESTUDIO	TAMAÑO MUESTRAL	GEN CFH
DE LA FUENTE	2006	Casos y controles	DMAE 175 (140 exudativa, 35 atrófica) Controles 119	Alelo C y DMAE atrófica (OR 3,3 p<0,05) Genotipo CC y DAMAE atrófica (OR 5,2 p<0,05) Alelo C y DMAE exudativa (OR 2,03 p<0,05) Genotipo CC y DAMAE exudativa (OR 2,4 p<0,05)
BRIÓN	2011	Casos y controles	DMAE 353 (57 exudativa, 71 mixta, 225 atrófica) Controles 282	Alelo T en el SNP rs1329421: OR>1 p<0,05 Alelo A del SNP rs1329428: OR<1 p<0,05 Siete SNPs de CFHA estudiados (p<0,05) rs800292, rs3766404, rs1329421, rs1831282, rs12144939, rs2284664, rs1329428 (p<0,05)
CRUZ-GONZÁLEZ	2012	Casos y controles	DMAE 101, (74 exudativa, 27 atrófica) Controles 91	GG en CFH (rs1410996) + TT en ARMS2 (rs10940923) (p<0.05; OR 7.742) TT en ARMS2 (rs10940923) + TT en HTRA1-625 (p<0.001; OR 9.006) GG en CFH (rs1410996) + TT en ARMS2 (rs1040923) + GG en HTRA1 -625 (p0.043; OR: 6.702) TT HTRA1-625 (p<.001; OR: 9.006)
	2014	Transversal	DMAE 101 (74 exudativa, 27 atrófica)	No diferencias en SNPs entre dos tipos de DMAE Polimorfismos SNPs más frecuentes en DMAE exudativa
MARTÍNEZ-BARRICARTE	2012	Transversal	DMAE 259 Controles 191	Asociación CFHR1*A y DMAE (OR 2.08 p<0.0001)
M.GARCÍA	2015	Casos y controles	DMAE 130 Controles 96	CGG (rs3753394, rs529825 y rs800292) OR >1 , p<0,05 GCAG (rs203674, rs1061170, rs3753396 y rs1065489) OR>1, p<0,05 CAA (rs3753394, rs529825 y rs800292) OR<1, p<0,05 TTAG (rs203674, rs1061170, rs3753396 y rs1065489) OR<1, p<0,05
L.LLOREDA, P.GILI	2020	Casos y controles	DMAE exudativa 187 Controles 196	C en rs1061170 (OR 3.22 p<0.05) G en rs1410996 (OR 7.69 p < 0.001) (AA+AG) en rs1410996 (OR<1, p<0,05) G (CG+GG) de rs380390 (OR 2.52 p<0.05)

5.3. GENES HTRA Y ARMS2

Por otro lado, el cromosoma 10q26 contiene los genes ARMS2 /LOC387715 (Age-Related Maculopathy Susceptibility 2) y HTRA1 (High Temperature requirement A1). Recientes estudios han demostrado diferentes SNPs localizados en estos genes, con una asociación estadísticamente significativa con la DMAE¹⁷⁸⁻¹⁸².

El locus LOC387715/HTRA1 ha sido señalado como el segundo locus más importante en la fisiopatología de la DMAE, encontrándose hasta un riesgo de desarrollo de la enfermedad de 7.6 veces superior en pacientes homocigotos para el alelo de riesgo (rs10940923). Tanto para el gen CFH y el gen ARMS2, no se ha encontrado una asociación directa con la severidad de la enfermedad¹⁸³⁻¹⁸⁶.

GEN HTRA1

Como se ha explicado, el locus LOC387715/HTRA1 ha sido señalado como el segundo más importante en la patogenia de la DMAE, especialmente en aquellos casos en los que coexiste una sobreexpresión de HTRA1 y una expresión menor de ARMS2. Se ha descrito un SNP de este gen, el rs11200638, como factor de riesgo. Este SNP, se encuentra localizado en la región promotora del HTRA1.

Se ha demostrado la presencia de este gen en drusas, en los linfocitos y en el epitelio pigmentario de pacientes con DMAE, siendo esta asociación mayor en asiáticos que en pacientes caucásicos. Un metaanálisis de 14 estudios de casos y controles, comprobó una fuerte asociación entre los sujetos homocigotos para el alelo de riesgo (rs1200638) y el desarrollo de DMAE¹⁸⁷⁻¹⁹².

Además, las células del EPR con un incremento en la expresión de HTRA1, podrían ser responsables de favorecer la neovascularización vascular coroidea en pacientes con DMAE. Esta hipótesis está apoyada por una cantidad anormalmente elevada de HTRA1 en EPR en pacientes con DMAE^{193,194}.

Los procesos inflamatorios y los procesos exudativos son esenciales en el mecanismo fisiopatológico del desarrollo de la DMAE. A lo largo de la vida, el EPR es vulnerable a estos procesos oxidativos y fotooxidativos debidos a la exposición solar, actividades metabólicas y debido al consumo de oxígeno en los procesos metabólicos fisiológicos¹⁹⁵⁻¹⁹⁸.

Además, el engrosamiento de la membrana de Bruch y el acúmulo de drusas, podrían llevar a una potencial hipoxia favorecedora de estos procesos.

El acúmulo de lipofuscina que se produce con la edad en el EPR, produce de manera secundaria un aumento de la producción de peróxido de hidrógeno por las mitocondrias y favorece el daño fotooxidativo.

Este estrés oxidativo, produce alteraciones en la degradación de proteínas. Esto supone un estrés para el retículo endoplasmático (RE) del EPR, que a su vez, podría también favorecer este estado pro-oxidativo, favorecer una disregulación del sistema del complemento y por último, el desarrollo de DMAE¹⁹⁹⁻²⁰³.

La muerte de células del EPR inducida por altos niveles de HTRA1, se ha visto implicada en el desarrollo de la DMAE, y en una predisposición al desarrollo de atrofia geográfica. (Gráfico 14).

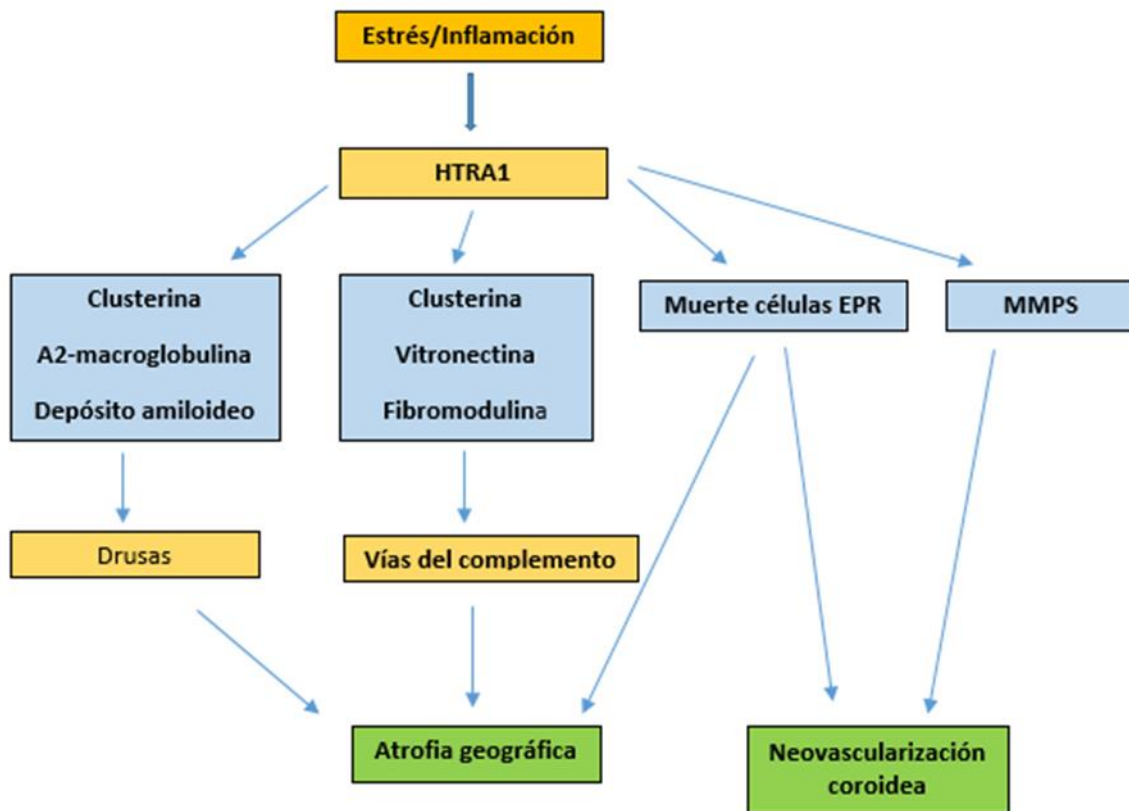


Gráfico 14. Vía patogénica del estrés y la inflamación, así como la implicación del gen HTRA1 en la DMAE. Inspirado en HTRA1 in Age-Related Macular Degeneration. Tsz Kin Ng et al. 2012.

En el año 2006, Dewan et al. 29 describieron el SNP rs 11200638 del gen HTRA1 como un factor mayor de riesgo en el desarrollo de DMAE exudativa, con un incremento del riesgo de desarrollo de la enfermedad de hasta 10 veces²⁰⁴. Más tarde, Fritsche et al. confirmaron esta asociación²⁰⁵.

En España, Cruz González y su equipo encontraron una mayor representación del alelo G del SNP rs 11200638 en pacientes con DMAE (OR 6,524 $p < 0.05$)¹³⁴.

En nuestro estudio, encontramos diferencias estadísticamente significativas con una sobreexpresión del alelo A del gen HTRA1 (rs11200638), viendo un incremento en el riesgo de desarrollo de la DMAE de hasta 5 veces (OR 5,347 p<0,001).

GEN ARMS2 /LOC387715

El gen ARMS2, codifica una proteína de función hasta el momento desconocida, que se encuentra en el cromosoma 10, en 10q26, región muy cercana a la localización del gen CFH²⁰⁶⁻²¹⁰.

Weeks et al. encontraron por primera vez una relación entre el gen ARMS2 y la DMAE²¹¹.

Más tarde, Rivera et al. descubrieron una asociación entre el alelo T del SNP de ARMS2 rs10490924 y un incremento en el riesgo de desarrollo de DMAE²¹². Estos resultados fueron apoyados por Schmidt et al y Kanda^{213,214}.

Años más tarde, Jabbarpoor et al. y Fritsche et al. confirmaron de nuevo una asociación entre el alelo T del SNP rs 10490924 y el incremento del riesgo de DMAE de hasta tres veces mayor en los pacientes portadores del alelo^{215,205}.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos en nuestro estudio, en el que encontramos que la presencia del alelo T de ese SNP incrementa el riesgo de desarrollo de DMAE al menos cinco veces.

En el 2011, Brion analizó, entre otros, el gen ARMS2, y vio que el alelo T, era alelo de riesgo en la variante A69S (rs10490924) de este gen (alelo T OR 3.94 p<0.05)¹⁷².

El grupo de Cruz-González publicó un estudio en el que analizaron el polimorfismo rs10490923 y mostró diferencias en la distribución de alelos entre casos y controles (OR 6,369 $p < 0.05$), así como diferentes asociaciones de genes, que expresados de manera simultánea incrementaban el riesgo de desarrollo de DMAE (explicado en apartado anterior)^{173,174}.

En el presente estudio, sólo encontramos diferencias significativas entre casos y controles en el SNP rs10490924, el alelo T (OR 4,732 $p < 0,001$), pero no en el SNP rs 1049023 (OR 0,699 $p > 0,3$). (Tabla 14).

Tabla 14. Estudios realizados sobre la asociación entre el gen ARMS2 y la DMAE en pacientes españoles.

AUTORES	AÑO	TIPO ESTUDIO	TAMAÑO MUESTRAL	GEN ARMS2/HTRA1
DE LA FUENTE	2006	Casos y controles	DMAE 175 (140 exudativa, 35 atrófica) Controles 119	No estudiado
BRIÓN	2011	Casos y controles	DMAE 353 (57 exudativa, 71 mixta, 225 atrófica) Controles 282	Alelo T rs10490924 (OR 3.94 p<0.05).
CRUZ-GONZÁLEZ	2012	Casos y controles	DMAE 101, (74 exudativa, 27 atrófica) Controles 91	GG en CFH (rs1410996) + TT en ARMS2 (rs10940923) (p<0.05; OR 7.742) TT en ARMS2 (rs10940923) + TT en HTRA1-625 (p<0.001; OR 9.006) GG en CFH (rs1410996) + TT en ARMS2 (rs1040923) + GG en HTRA1 -625 (p0.043; OR: 6.702) TT HTRA1-625 (p<.001; OR: 9.006)
	2014	Transversal	DMAE 101 (74 exudativa, 27 atrófica)	No diferencias en SNPs entre tipos de DMAE Polimorfismos SNPs más frecuentes en DMAE exudativa
MARTÍNEZ-BARRICARTE	2012	Transversal	DMAE 259 Controles 191	No estudiado
M.GARCÍA	2015	Casos y controles	DMAE 130 Controles 96	No estudiado
L.LLOREDA, P.GILI	2020	Casos y controles	DMAE exudativa 187 Controles 196	ARMS2 (rs10490923)(p>005) HTRA1 (rs11200638) alelo A (OR 5,347 p<0,001). ARMS2 (rs10490924) alelo T (OR OR 4,732 p<0,001)

5.4. FACTOR 3 DEL COMPLEMENTO (C3)

El sistema del complemento consiste en más de 30 proteínas que se encuentran en circulación sistémica, y que juegan un papel fundamental en la defensa del organismo. El componente 3 del complemento (C3), juega un papel central en la cascada de activación del complemento. La activación y la escisión de C3 originará una respuesta amplificadora de la señal de activación, y la creación de poros líticos en las membranas celulares^{216,217}.

El gen que codifica para C3 se encuentra en el brazo corto del cromosoma 19, y también se ha visto implicado en el desarrollo de la DMAE. El factor C3, es el elemento central de la vía alternativa de la cascada del complemento, y se ha visto que es importante en la patogénesis de la enfermedad, encontrándose niveles elevados de C3a en drusas de pacientes con DMAE. También se ha visto que el factor C3a favorece la expresión de VEGF, y con ello la aparición de neovascularización coroidea^{216,217}.

No obstante, aún no se conocen los mecanismos subyacentes.

También existen estudios de genes con carácter protector frente a la DMAE. Concretamente se han detectado SNPs en los genes que codifican para el factor B del complemento (CFB) y el componente 2 del complemento (C2), que reducen significativamente el riesgo de DMAE²¹⁸⁻²²⁰.

El sistema del complemento se ha visto implicado en la patogénesis de la DMAE en estadios tempranos, basándose en el hallazgo de la identificación de factores del sistema de complemento en las drusas de pacientes con DMAE.

El C3 se ha asociado a la DMAE en diferentes poblaciones. Fritsche et al. señalaron que los pacientes con la variante K155Q de C3 (rs147859) con el alelo C del SNP rs2230199, tenían un mayor riesgo de desarrollar DMAE²⁰⁵.

En un metaanálisis de 40 estudios caso-control con 20,673 casos y 20,025 controles, se vio que los portadores del alelo G en el SNP rs2230199 y los portadores del alelo T del SNP rs1047286 tenían una mayor tendencia a desarrollar DMAE avanzada, especialmente en caucásicos. Se cree que esta asociación se debe a que los cambios secundarios a la variación de este SNP, produce una alteración de la carga neta de la macroglobulina de C3, produciendo una adhesión anómala al resto de proteínas del complemento y a la superficie celular²²¹.

Se ha demostrado también que el alelo G en C3, estaba implicado en un aumento de la activación del sistema de complemento, y con ello en un aumento de la inflamación. Lo llamativo es que dilucidó que se relacionaba con una reducción en el progreso de la enfermedad en pacientes con atrofia geográfica. Por otro lado, los polimorfismos de factor B (CFB) y del componente 2 del complemento (C2), se asocian a un efecto protector frente al desarrollo de DMAE²²¹.

Gold et al. estudiaron el factor B y el C2. Sus resultados mostraron que la variante E318D y el haplotipo H7 en C2, disminuía el riesgo de desarrollar DMAE²²².

Partiendo de que los factores genéticos difieren entre razas, el factor C3 se ha visto implicado en la DMAE de manera consistente en los estudios llevados a cabo con pacientes caucásicos. Sin embargo, no ha sido así en pacientes asiáticos ni africanos^{223,224}.

En nuestro estudio, se encontraron diferencias entre casos y controles para C2 rs9332739, y mostraron una mayor prevalencia del alelo C en los enfermos ($p=0.038$) con un riesgo multiplicado por 3 de desarrollar DMAE (OR 3.10).

Sin embargo no se hallaron diferencias en los SNPs de C3 entre los pacientes con DMAE y los pacientes sanos: rs 1047286 (OR 1,487 p 0,089) y rs 2230199 (OR 1,383 p 0,447) Un metaanálisis realizado por Zhang, sí encontró diferencias significativas entre estos dos SNPs y la DMAE (OR 1,45 $p<0,001$ y OR 1,62 $p<0,001$) respectivamente²²¹. Entendiendo las diferencias étnicas en el ámbito de la genética, también es posible que con un mayor tamaño muestral en este trabajo, se encontrasen diferencias.

5.5. FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL (VEGF)

El estudio de los diferentes mecanismos subyacentes a la fisiopatología de la DMAE nos ha ayudado a identificar el factor de crecimiento endotelial (VEGF, ahora conocido como VEGFA) como uno de los mecanismos y moléculas clave implicadas en la neovascularización coroidea. A pesar de que se han identificado otros genes muy relacionados como el VEGF-B, el VEGF-C, el VEGF-D y el factor de crecimiento placentario (PIGC), estos no se han visto asociados a los procesos de neovascularización¹¹¹⁻

El gen que codifica para el VEGF consta de ocho exones y siete intrones y se localiza en el cromosoma 6p21.3. Los SNPs con mayor influencia en la expresión del VEGF son C-2578 (rs699947) y G-1154 (rs1570360), localizados en la región promotora del gen; y G634C (rs2010963), localizado en la región no codificante del gen. Estos SNPs están asociados tanto a la producción del VEGF como a diferentes enfermedades como la retinopatía diabética, la aterosclerosis, y la enfermedad de Alzheimer²²⁵⁻²²⁷.

Como se ha explicado, el VEGFA es un factor clave en los procesos de neovascularización coroidea, siendo la hipoxia el factor más importante para la expresión de VEGFA en el ojo. El VEGF-165 es la principal isoforma de este gen y el mediador primario para los procesos de neovascularización en el ojo^{124,134}.

El VEGF es una molécula importante en la retina normal, ya que está implicado en el correcto desarrollo de la vasculatura retiniana, la supervivencia de los pequeños vasos retinianos y el mantenimiento de la estabilidad de los grandes vasos.

Sin embargo, el VEGF también juega un papel importante en la angiogénesis, en el aumento de la permeabilidad vascular y en los procesos inflamatorios; todos ellos mecanismos implicados en la forma neovascular de la DMAE^{144,145,148,157}.

Como se ha explicado previamente, en los últimos años, la vía de actuación del VEGF se ha estudiado como diana para el tratamiento de la DMAE neovascular. Sin embargo, hay que ir más allá, y convertir el gen codificante del VEGF como factor diana de estudio.

El VEGF actúa a través de receptores tirosin kinasa específicos (VEGFR-1, 2 y 3), estando en concreto el VEGFR-2 implicado en la mayor parte de los procesos de incremento patológico de permeabilidad vascular y neoangiogénesis. Por su lado, el VEGFR-1 regula la actividad del VEGF en el endotelio vascular, evitando la unión del VEGF-VEGFR-2.

La codificación genética de VEGFR2 sería otro de los genes candidatos en el estudio de la susceptibilidad para el desarrollo de la DMAE. El gen que codifica para el VEGFR2 se localiza en el cromosoma 4Q11 y está formado por 30 exones^{144,145}.

A pesar de que hay ciertos estudios que han tratado de estudiar la implicación genética del VEGF y del VEGFR-2 en la DMAE, no se han sacado conclusiones hasta el momento. Esto quizás es debido a que los estudios se han realizado con pacientes de origen étnico diferente, con tamaños muestrales limitados, o porque se han analizado un bajo número de polimorfismos.

El primer estudio que investigó la relación entre la DMAE y los polimorfismos del gen VEGF fue el realizado por Churchill et al en el año 2006. Analizaron 14 SNPs diferentes, y encontraron una fuerte asociación con la DMAE en el SNP rs1413711. Sin embargo, en el estudio de Rotterdam, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la DMAE y los 3 SNPS clave del VEGF previamente mencionados⁴⁷. Posteriormente, en el año 2010, Fang AM, realizó un estudio en el que encontró una asociación significativa entre 22 polimorfismos SNPs del gen VEGFR-2 y un aumento de riesgo de desarrollar DMAE exudativa, para el haplotipo TTT²²⁸.

Así mismo, han sido también numerosos los estudios que han tratado de investigar la asociación entre los diferentes polimorfismos SNPs del factor VEGF y su mejor o peor respuesta a los fármacos antiangiogénicos. Sin embargo, de momento no se han encontrado diferencias consistentes.

En España, el grupo de Fernando Cruz-González, fue el primero en realizar un estudio de los SNPs del factor VEGFR y el VEGFA y su influencia en el desarrollo de la DMAE en una población española²²⁹.

Para ello, tomaron una muestra de 151 pacientes diagnosticados de DMAE exudativa, y 91 pacientes controles pareados por edad. Analizaron los SNPs de VEGFA (rs699947 y rs833061) y el SNP rs2071559 del gen VEGFR2. Su estudio no encontró diferencias estadísticamente significativas para los polimorfismos rs699947 y rs833061 entre casos y controles.

El análisis del polimorfismo rs2071559 del gen VEGFR2, en un primer momento mostró que el haplotipo GG era más prevalente en pacientes con DMAE, pero al ajustar estos resultados por la corrección de Bonferroni, los resultados no fueron estadísticamente significativos.

Lo que sí encontraron en este estudio, es que el alelo C del SNP rs833061(-460T/C) estaba asociado a una mayor actividad del promotor del VEGFA; y que el SNP rs699947 (-2578C/A) estaba asociado a una mayor tasa de transcripción del gen VEGFA²²⁸.

En el presente trabajo no estudiamos polimorfismos de este gen ya que como se explicó en el apartado de Material y Métodos, nos basamos en el estudio de polimorfismos SNPs que habían sido previamente estudiados por diversos autores españoles. Con todo esto podemos concluir que la evidencia sobre la influencia de polimorfismos SNPs del gen VEGF en pacientes españoles es todavía escasa, y que se necesitaría la realización de más estudios para poder llegar a una conclusión más sólida.

5.6. FACTORES DE RIESGO SISTÉMICOS

5.6.1. Edad

Todos los estudios realizados han demostrado que la edad es el factor de riesgo más importante en la prevalencia, incidencia y progresión de la enfermedad.

Con la edad se produce un depósito focal de detritus acelulares entre el EPR y la membrana de Bruch. Estos depósitos, las drusas, aparecen como puntos amarillentos en la mácula y en la retina periférica. El EPR es el responsable del correcto mantenimiento de los FTR y tiene una función fagocítica de los segmentos externos de su membrana. Con la edad, el EPR se vuelve menos eficiente, conllevando una acumulación de cuerpos residuales, que puede llegar a producir la pérdida de células del EPR. Los cambios en el grosor o en la composición de la membrana de Bruch asociados a la edad, causan una reducción del transporte de fluidos y nutrientes que son vitales para el buen funcionamiento de los FTR ^{24,35}.

La edad también determina una reducción del 50% del grosor de los vasos coroideos y una alteración de su estructura. Esto, unido al engrosamiento de la membrana de Bruch, produce una hipoxia que desencadenaría la secreción de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) que contribuye al desarrollo de neovasos^{17,24}. Por otra parte, el aumento de la rigidez de la esclerótica debido a la edad, la dislipidemia y a la aterosclerosis, puede disminuir el aclaramiento de lipoproteínas, que se acumulan en forma de drusas en el espacio subretiniano y esto conlleva a la atrofia de los FTR^{17,24}.

El Beaver Dam Eye Study (BDES)⁷, estudio realizado en EEUU con una cohorte de 4926 pacientes de raza blanca, encontró una incidencia acumulada en 15 años de un 14% para DMAE precoz y de un 3% para la DMAE avanzada en el grupo de población con edades comprendidas entre los 43 y los 86 años. En este estudio se puede ver cómo la incidencia va aumentando de manera progresiva, pasando de un 7% en DMAE temprana y un 0.4% de DMAE avanzada en el grupo de edad de 43 a 54 años, hasta un 24% de DMAE temprana y un 8% de DMAE avanzada en el grupo de pacientes mayores de 75 años⁷. El Los Angeles Latino Eye Study (LALES), realizado en California con una cohorte de 5875 pacientes México-americanos, encontró una tendencia muy similar en los mismos grupos de edad⁷. En el Barbados Eye Study contando con 2374 individuos de raza negra, la prevalencia encontrada fue ligeramente inferior por grupos de edad³⁶. En el SEE, realizado en 2006 con 2132 individuos de población española, se puede observar la misma tendencia en cuanto a la edad: se puede ver cómo la prevalencia de la enfermedad aumenta desde un 1.3 % en individuos de edad comprendida entre los 65-74 años, hasta un 8.5% en mayores de 80 años².

En el caso de nuestro estudio no buscábamos demostrar la influencia de una mayor edad en los pacientes afectos de DMAE, sino que las muestras fueran comparables en cuanto a edad y sexo. De esta manera, la muestra del grupo control se seleccionó entre los pacientes que acudían a la consulta de oftalmología y que cumplían criterios de inclusión, por lo que no era propiamente una muestra de población general, sino una selección. Según esto, habría sido de esperar no encontrar diferencias entre grupos en cuanto a edad y sexo. Si bien en cuanto a sexo se consiguió este aspecto, en cuanto a la edad sí se encontró una edad significativamente mayor en casos frente a controles.

5.6.2. Sexo

Son numerosos los estudios que han demostrado que las mujeres presentan un mayor riesgo de presentar DMAE frente a los varones, como el Blue Mountains Eye Study, el Beaver Dam Eye Study^{7,8}, el EUREYE², o el AREDS²⁰.

El grupo de Owen, encontró una prevalencia de un 60% mayor en mujeres respecto a hombres en todos los tipos y estadios de DMAE. Una posible explicación es la mayor esperanza de vida de las mujeres y por tanto una mayor prevalencia de mujeres en los estudios en los rangos de mayor edad incluidos en el estudio⁴⁶.

El The Visual Impairment Project (VIP) estudió la asociación entre la DMAE y los estrógenos, observando una asociación estadísticamente significativa entre la DMAE precoz y avanzada con la menopausia precoz en mujeres menores de 40 años (OR 1.73, IC 1.15-

2.60) ²⁹. Sin embargo, los resultados no son siempre consistentes: estudios como el de Rotterdam o el realizado por Mizayaki, encontraron una prevalencia menor en mujeres.⁹

Como vemos, esta asociación es controvertida, y un hallazgo inconsistente.

Del mismo modo que se ha explicado en relación a la edad, el encontrar una tendencia en relación al sexo y su vinculación con la DMAE, no fue un objetivo en nuestro estudio, sino que buscamos que las muestras fueran comparables. Si bien con la edad no se consiguió, en el caso del sexo no se encontraron diferencias entre grupos.

5.6.3. Tabaco

El tabaquismo es el factor de riesgo ambiental en el que se ha encontrado una mayor fuerza de asociación con el desarrollo de DMAE en cualquiera de sus variantes así como con una aparición de la enfermedad a edades más tempranas en pacientes fumadores ^{39,54}. Los fumadores tienen un riesgo relativo 2,4 veces mayor que los no fumadores, y si además son homocigotos para el polimorfismo CFH Y402H, el riesgo aumenta hasta 34 veces^{43,55,56,57}.

En cuanto a exfumadores, existen estudios como el de Klein que apoyan que en exfumadores no existe un mayor riesgo de DMAE; pero también hay otros, como los realizados por Smith y su equipo, el estudio de Thornton o el de Vingerling, que demuestran que el riesgo de desarrollo de DMAE es superior en exfumadores¹⁹.

El mecanismo exacto acerca de cómo el tabaco influye en el desarrollo de la DMAE no está del todo claro, pero sí se ha demostrado que los componentes del tabaco están metabolizados por el factor 3 del complemento (C3), promoviendo vías inflamatorias involucradas en el desarrollo de la DMAE ⁵⁸. Además, el grupo de Esparza-Gordillo observaron niveles plasmáticos menores de factor H del complemento en pacientes fumadores^{16,21-22}. Se ha demostrado también que el benzopireno, uno de los componentes del tabaco, altera el DNA mitocondrial de las células del EPR, aumentando la expresión de citoquinas proinflamatorias. También se ha visto que el humo de los cigarrillos, reduce la concentración de betacaroteno plasmático y de luteína y zeaxantina en la retina, moléculas con gran capacidad antioxidante, siendo un potente inductor de daño oxidativo y apoptosis de las células del EPR. Además el tabaco reduce el flujo sanguíneo de la coroides, promoviendo mecanismos de isquemia, hipoxia y microinfartos retinianos, favoreciendo cambios degenerativos en la mácula ⁵⁸.

En nuestro estudio sin embargo, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre grupos (p 0,654).

5.6.4. Dislipemia

Ha sido postulada una asociación entre la DMAE y la aterosclerosis, asemejando la fisiopatología de ambas¹. Nosotros encontramos una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de dislipemia y la DMAE (p 0,015).

5.6.5. Hipertensión arterial

La relación entre la DMAE y la HTA es objeto de controversia, a pesar de que son numerosos los estudios que han confirmado que la HTA contribuye en la fisiopatología del desarrollo de la enfermedad. El Framingham Eye Study, en el 1977 ya apuntó una asociación entre la HTA y la DMAE ⁶⁶. Esta asociación podría deberse a los cambios que se producen con la edad en el colágeno y la elastina, disminuyendo la distensibilidad de los vasos sanguíneos. Una mayor presión arterial, podría ser un marcador de los cambios degenerativos que ocurren a nivel de la membrana de Bruch en aquellos ojos con mayor riesgo de desarrollo de DMAE^{1,67-70}. El tamaño de las drusas también se ha visto relacionado con la HTA. El grupo AREDS, reportó que la presencia de drusas grandes en la mácula, o drusas de tamaño intermedio, estaban asociadas a HTA y al uso de antihipertensivos como la hidroclorotiazida ⁶⁷⁻⁷⁰. Sin embargo, otros estudios han concluido que no existe asociación entre a HTA y la DMAE^{67,68}.

En nuestro estudio se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de HTA y la DMAE ($p < 0.001$).

Sin embargo, a pesar de que numerosos estudios sugieran una asociación significativa entre ambas patologías, la relación es compleja y no se trataría de una simple relación causa-efecto.

5.6.6. Diabetes e hiperglucemia

De momento no existe una relación clara ente diabetes y DMAE, ya que la mayor parte de los estudios excluyen a los diabéticos⁶⁷. En nuestro estudio sin embargo, sí que incluimos a

pacientes con diabetes, siempre y cuando no tuvieran criterios de exclusión. Pero no se encontraron diferencias significativas entre grupos ($p = 0,417$).

5.6.7. Accidente cerebrovascular y enfermedades cardiovasculares

Siguiendo la teoría vascular de Friedman, en la que la aterosclerosis tiene como consecuencia final la aparición de drusas y de cambios pigmentarios en la retina, y por tanto, de la DMAE^{1,64,65}, no sería de extrañar que los ACV y las ECV, (que tienen como factor de riesgo principal la aterosclerosis y la HTA), tuvieran una asociación con la DMAE.

Así se confirmó en nuestro estudio en ambos casos, encontrando diferencias significativas, con una asociación entre la DMAE y la presencia de algún evento cerebrovascular ($p = 0,047$) y entre la DMAE y la presencia de alguna enfermedad cardiovascular, con un valor $p = 0,033$.

5.6.8. Depresión

El cuestionario del National Eye Institute (25-item Visual Function Questionnaire [VFQ], o el cuestionario propuesto por la OMS han visto una clara asociación con la depresión^{11,13,14}. Esta asociación también la encontramos en nuestro estudio, con una clara prevalencia mayor de depresión en los pacientes con DMAE, y con un valor p de 0,12.

5.6.9. Enfermedades neurodegenerativas

En cuanto a las enfermedades neurodegenerativas, a destacar el Alzheimer, se sabe que comparte con la DMAE el inicio tardío de la enfermedad y la presencia de depósito extracelular asociado a degeneración neuronal (drusas o placas neuronales respectivamente).

No hay estudios europeos que investiguen esta asociación, pero sí son numerosos los estudios que confirman una asociación entre la demencia y el Alzheimer con la DMAE^{230,231}.

En nuestro estudio no encontramos sin embargo diferencias significativas entre grupos (p 0,056). Habría que realizar más estudios en una cohorte europea para llegar a una conclusión.

5.7. FORTALEZAS Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Entre las limitaciones del estudio, podemos decir que se trata de un estudio unicéntrico, en vez de un estudio multicéntrico, que es lo recomendable en un estudio genético de esta categoría. Sin embargo, cabe decir que este trabajo ya ha sido incluido en un estudio multicéntrico, y forma parte de la línea de investigación de “Genética ocular: Influencia de factores clínicos y genéticos en la evolución funcional y anatómica a largo plazo en una cohorte de pacientes con DMAE húmeda tratados según práctica clínica habitual”. PI15/01374. IP: Alfredo García Layana. 2019-2020.

Otra limitación fue que debido a una mala calidad de algunas de las muestras de DNA recogidas en el estudio, no se pudieron analizar todos los polimorfismos en esas muestras. Sin embargo, a pesar de esto, la recogida de muestras de DNA mediante el raspado de mucosa

oral, permitió una recogida rápida, eficiente, fácil y sin necesidad de extracción de sangre a los pacientes.

Entre las fortalezas del estudio, cabe decir que tiene un tamaño muestral amplio (383 pacientes), y que a diferencia del resto de estudios encontrados en la bibliografía, que incluyen pacientes tanto con DMAE exudativa como con DMAE atrófica, nos limitamos al estudio de la DMAE exudativa, por lo que los resultados obtenidos son más específicos. De esta manera, para completar el estudio, habría que realizar una nueva recogida de datos para un estudio similar centrado en pacientes con DMAE atrófica.

5.8. FUTURO DE LA GENÉTICA EN LA DMAE

El estudio de este trabajo se basó en el estudio de 12 polimorfismos SNPs de estudios previos, sin embargo, según progrese la investigación acerca de la genética en la DMAE, irán apareciendo nuevos SNPs involucrados en la fisiopatología de la enfermedad.

Cabe esperar que gracias a los avances conseguidos con los estudios de genoma completo o GWAS, se pueda en un futuro cercano realizar una aproximación traslacional de los resultados obtenidos en el laboratorio a la práctica clínica diaria y poder realizar terapias génicas dirigidas.

Este estudio contribuye a la literatura aportando los principales polimorfismos asociados a la DMAE exudativa en una población española. Además, el conocimiento de estos factores genéticos asociados a la DMAE exudativa es importante no sólo para los pacientes afectos,

sino también para que los familiares puedan realizar una prevención con el control de los factores de riesgo ambientales y nutricionales.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Los polimorfismos de un solo nucleótido localizados en los genes CFH, ARMS2, HTRA1 y C2 están asociados con un incremento del riesgo de DMAE exudativa en una población española. No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en los polimorfismos de los genes CFB y C3.

2. El riesgo de desarrollo de la DMAE exudativa se incrementa según el polimorfismo alterado:

- La presencia de polimorfismos localizados en CFH (rs1410996) (rs1061170) (rs380390) incrementa el riesgo de DMAE exudativa siete, tres y dos veces respectivamente.

- La presencia de polimorfismos localizados en ARMS2 (rs10490924) se asoció con un riesgo cinco veces mayor de presencia de DMAE exudativa

- La presencia de polimorfismos localizados en HTRA1 (rs11200638) aumentaba más de seis veces el riesgo de DMAE exudativa.

- La presencia de polimorfismos localizados en C2 (rs9332739) aumenta tres veces el riesgo de DMAE exudativa.

3. Los pacientes con DMAE exudativa presentan con mayor frecuencia múltiples polimorfismos de riesgo, con diferencias significativas con la población sana.

4. Los pacientes con DMAE exudativa presentan con mayor frecuencia dislipemia, HTA, accidentes cerebrovasculares, enfermedades reumatológicas y enfermedad cardiovascular. No encontramos asociación entre hábito tabáquico, diabetes mellitus, cáncer, enfermedades neurodegenerativas o hipotiroidismo en nuestra población.

5. Los pacientes con DMAE exudativa presentaban antecedentes familiares de la enfermedad con mayor frecuencia que los pacientes controles sanos, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mullins RF, Russell SR, Anderson DH, Hageman GS. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *FASEB J* 2000;14(7):835-846.
2. Augood CA, Vingerling JR, de Jong, Paulus T. V. M., Chakravarthy U, Seland J, Soubrane G, et al. Prevalence of age-related maculopathy in older Europeans: the European Eye Study (EUREYE). *Arch Ophthalmol* 2006;124(4):529-535.
3. Klein R, Cruickshanks KJ, Nash SD, Krantz EM, Nieto FJ, Huang GH, et al. The prevalence of age-related macular degeneration and associated risk factors. *Arch Ophthalmol* 2010 ;128(6):750-758.
4. De Jong, Paulus T. V. M., Chakravarthy U, Rahu M, Seland J, Soubrane G, Topouzis F, et al. Associations between aspirin use and aging macula disorder: the European Eye Study. *Ophthalmology* 2012 ;119(1):112-118.
5. Vanderbeek BL, Zacks DN, Talwar N, Nan B, Musch DC, Stein JD. Racial differences in age related macular degeneration rates in the United States: a longitudinal analysis of a managed care network. *Am J Ophthalmol* 2011;152(273-282).
6. Spanish Eyes Epidemiological (SEE) Study Group. Prevalence of age-related macular degeneration in Spain. *Br J Ophthalmol* 2011;95(7):931-936.
7. Klein R, Klein BEK, Tomany SC, Meuer SM, Huang G. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: The Beaver Dam eye study. *Ophthalmology* 2002 ;109(10):1767-1779.

8. Wang JJ, Rochtchina E, Lee AJ, Chia E, Smith W, Cumming RG, et al. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: the blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2007;114(1):92-98.
9. Joachim N, Colijn JM, Kifley A, Lee KE, Buitendijk GHS, Klein BEK, et al. Five-year progression of unilateral age-related macular degeneration to bilateral involvement: the Three Continent AMD Consortium report. *Br J Ophthalmol* 2017 09;101(9):1185-1192.
10. Wong WL, Su X, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2014;2(2):106-116.
11. Krause L, Yousif T, Pohl K, CAPTAIN study group. An epidemiological study of neovascular age-related macular degeneration in Germany. *Curr Med Res Opin* 2013 ;29(10):1391-1397.
12. West SK, Rubin GS, Broman AT, Muñoz B, Bandeen-Roche K, Turano K. How does visual impairment affect performance on tasks of everyday life? The SEE Project. *Salisbury Eye Evaluation*. *Arch Ophthalmol* 2002;120(6):774-780.
13. Sunness JS, Margalit E, Srikumaran D, Applegate CA, Tian Y, Perry D, et al. The long-term natural history of geographic atrophy from age-related macular degeneration: enlargement of atrophy and implications for interventional clinical trials. *Ophthalmology* 2007;114(2):271-277.
14. Klein R, Chou CF, Klein BE, Zhang X, Meuer SM, Saaddine JB. Prevalence of age-related macular degeneration in the US population. 2011;129:75-80.
15. Miller JW. Age-related macular degeneration revisited--piecing the puzzle: the LXIX Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol* 2013;155(1):1-35.e13.

16. Ruiz Moreno JM, Arias Barquet L, Armada Maresca F, Boixadera Espax A, García Layana A, Gómez-Ulla de Irazazábal, Francisco Javier, et al. Guías de práctica clínica de la SERV: Tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) exudativa. Arch Soc Esp Oftalmol 2009;84(7):333-344.
17. Al-Hussaini H, Schneiders M, Lundh P, Jeffery G. Drusen are associated with local and distant disruptions to human retinal pigment epithelium cells. Exp Eye Res 2009 ;88(3):610-612.
18. Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, et al. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. Surv Ophthalmol 1995;39(5):367-374.
19. Klein R, Davis MD, Magli YL, Segal P, Klein BE, Hubbard L. The Wisconsin age-related maculopathy grading system. Ophthalmology 1991;98(7):1128-1134.
20. Ferris FL, Davis MD, Clemons TE, Lee L, Chew EY, Lindblad AS, et al. A simplified severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 18. Arch Ophthalmol 2005;123(11):1570-1574.
21. García Layana A. Estudio AREDS y degeneración macular asociada a la edad. Arch Soc Esp Oftalmol 2002;77(9):477.
22. Asensio Sánchez VM. Estudio AREDS y degeneración macular asociada a la edad. Arch Soc Esp Oftalmol 2002;77(9):477-479.
23. AREDS2 Research Group, Chew EY, Clemons T, SanGiovanni JP, Danis R, Domalpally A, et al. The Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2): study design and baseline characteristics (AREDS2 report number 1). Ophthalmology 2012;119(11):2282-2289.

24. Hageman GS, Luthert PJ, Victor Chong NH, Johnson LV, Anderson DH, Mullins RF. An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2001;20(6):705-732.
25. Anderson DH, Mullins RF, Hageman GS, Johnson LV. A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. *Am J Ophthalmol* 2002;134(3):411-431.
26. Jonasson F, Fisher DE, Eiriksdottir G, Sigurdsson S, Klein R, Launer LJ, et al. Five-year incidence, progression, and risk factors for age-related macular degeneration: the age, gene/environment susceptibility study. *Ophthalmology* 2014;121(9):1766-1772.
27. Bearely S, Chau FY, Koreishi A, Stinnett SS, Izatt JA, Toth CA. Spectral domain optical coherence tomography imaging of geographic atrophy margins. *Ophthalmology* 2009 ;116(9):1762-1769.
28. Wong TY, Wong T, Chakravarthy U, Klein R, Mitchell P, Zlateva G, et al. The natural history and prognosis of neovascular age-related macular degeneration: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Ophthalmology* 2008;115(1):116-126.
29. Evans JR. Risk factors for age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2001 ;20(2):227-253.
30. Woo SJ, Ahn J, Morrison MA, Ahn SY, Lee J, Kim KW, et al. Analysis of Genetic and Environmental Risk Factors and Their Interactions in Korean Patients with Age-Related Macular Degeneration. *Plos One* 2015;10(7):e0132771.

31. Lambert NG, ElShelmani H, Singh MK, Mansergh FC, Wride MA, Padilla M, et al. Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2016 09;54:64-102.
32. Yoneyama S, Sakurada Y, Mabuchi F, Iijima H. Genetic and clinical factors associated with reticular pseudodrusen in exudative age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(13):2229.
33. Dietzel M, Farwick A, Hense H-. Genetic and risk factors for exudative AMD. *Ophthalmologie* 2010;107(12):1103-1108.
34. Zerbib J, Delcourt C, Puche N, Querques G, Cohen SY, Sahel J, et al. Risk factors for exudative age-related macular degeneration in a large French case-control study. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014;252(6):899-907.
35. Hamdi HK, Kenney C. Age-related macular degeneration: a new viewpoint. *Front Biosci* 2003;8:305.
36. Leske MC, Wu S, Hennis A, Nemesure B, Yang L, Hyman L, et al. Nine-year incidence of age-related macular degeneration in the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology* 2006 ;113(1):29-35.
37. Jampol LM, Tielsch J. Race, macular degeneration, and the Macular Photocoagulation Study. *Arch Ophthalmol* 1992;110(12):1699-1700.
38. Vitale S, Clemons TE, Agrón E, Ferris FL, Domalpally A, Danis RP, et al. Evaluating the Validity of the Age-Related Eye Disease Study Grading Scale for Age-Related Macular Degeneration: AREDS2 Report 10. *JAMA Ophthalmol* 2016. 01;134(9):1041-1047.
39. Clemons TE, Milton RC, Klein R, Seddon JM, Ferris FL, Age-Related Eye Disease Study Research Group. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related

- Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology* 2005;112(4):533-539.
40. Bressler SB, Muñoz B, Solomon SD, West SK. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Salisbury Eye Evaluation (SEE) Project. *Arch Ophthalmol* 2008 ;126(2):241-245.
 41. Teper SJ, Nowińska A, Wylęgała E. A69S and R38X ARMS2 and Y402H CFH gene polymorphisms as risk factors for neovascular age-related macular degeneration in Poland - a brief report. *Med Sci Monit* 2012;18(2):PR1-3.
 42. Seddon JM, Francis PJ, George S, Schultz DW, Rosner B, Klein ML. Association of CFH Y402H and LOC387715 A69S with progression of age-related macular degeneration. *JAMA* 2007;297(16):1793-1800.
 43. Wegscheider BJ, Weger M, Renner W, Steinbrugger I, März W, Mossböck G, et al. Association of Complement Factor H Y402H Gene Polymorphism with Different Subtypes of Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2007;114(4):738-742.
 44. Yoneyama S, Sakurada Y, Kikushima W, Sugiyama A, Tanabe N, Mabuchi F, et al. Prevalence and genetic characteristics of patients with family history in exudative age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(12):2625.
 45. Nonyane BA, Nitsch D, Whittaker JC, Sofat R, Smeeth L, Chakravarthy U, et al. An ecological correlation study of late age-related macular degeneration and the complement factor H Y402H polymorphism. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(5):2393-2402.

46. DeAngelis MM, Owen LA, Morrison MA, Morgan DJ, Li M, Shakoor A, et al. Genetics of age-related macular degeneration (AMD). *Hum Mol Genet* 2017;26(R1):R45-R50.
47. Ikram MK, van Leeuwen R, Vingerling JR, Hofman A, de Jong, Paulus T. V. M. Relationship between refraction and prevalent as well as incident age-related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(9):3778-3782.
48. Li Y, Wang J, Zhong X, Tian Z, Wu P, Zhao W, et al. Refractive error and risk of early or late age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2014;9(3):e90897.
49. Cugati S, Mitchell P, Rochtchina E, Tan AG, Smith W, Wang JJ. Cataract surgery and the 10-year incidence of age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2006;113(11):2020-2025.
50. Wang JJ, Klein R, Smith W, Klein BEK, Tomany S, Mitchell P. Cataract surgery and the 5-year incidence of late-stage age-related maculopathy: pooled findings from the Beaver Dam and Blue Mountains eye studies. *Ophthalmology* 2003;110(10):1960-1967.
51. Klein R, Klein BEK, Wong TY, Tomany SC, Cruickshanks KJ. The association of cataract and cataract surgery with the long-term incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam eye study. *Arch Ophthalmol* 2002;120(11):1551-1558.
52. Age-Related Eye Disease Study 2 Research Group, Huynh N, Nicholson BP, Agrón E, Clemons TE, Bressler SB, et al. Visual acuity after cataract surgery in patients with

- age-related macular degeneration: age-related eye disease study 2 report number 5. *Ophthalmology* 2014;121(6):1229-1236.
53. Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. The Eye Disease Case-Control Study Group. *Arch Ophthalmol* 1992;110(12):1701-1708.
 54. Seddon JM, Reynolds R, Rosner B. Associations of smoking, body mass index, dietary lutein, and the LIPC gene variant rs10468017 with advanced age-related macular degeneration. *Mol Vis* 2010 17;16:2412-2424.
 55. Seddon JM, Francis PJ, George S, Schultz DW, Rosner B, Klein ML. Association of CFH Y402H and LOC387715 A69S with progression of age-related macular degeneration. *J Am Med Assoc* 2007;297(16):1793-1800.
 56. Chu J, Zhou C, Lu N, Zhang X, Dong F. Genetic variants in three genes and smoking show strong associations with susceptibility to exudative age-related macular degeneration in a Chinese population. *Chin Med J* 2008;121(24):2525-2533.
 57. Daly MJ, Purcell S, Seddon JM, Maller J, Altshuler D, Fagerness J, et al. Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006;38(9):1055-1059.
 58. Chakravarthy U, Augood C, Bentham GC, de Jong, P. T. V. M., Rahu M, Seland J, et al. Cigarette smoking and age-related macular degeneration in the EUREYE Study. *Ophthalmology* 2007 ;114(6):1157-1163.
 59. Zerbib J, Delcourt C, Puche N, Querques G, Cohen SY, Sahel J, et al. Risk factors for exudative age-related macular degeneration in a large French case-control study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014;252(6):899-907.
 60. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene

- for age-related cataract and vision loss: AREDS report no. 9. *Arch Ophthalmol* 2001;119(10):1439-1452.
61. Ebrahimi KB, Handa JT. Lipids, lipoproteins, and age-related macular degeneration. *J Lipids* 2011;2011:802059.
 62. Coleman HR, Chan CC, Ferris FL 3rd, Chew EY. Age-related macular degeneration.. *Lancet* 2008;372(9652):1835-1845.
 63. Schick T, Ersoy L, Lechanteur YT, et al. History of sunlight exposure is a risk factor for age-related macular degeneration. *Retina* 2016;36(4):787-790.
 64. Tan JSL, Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Cardiovascular risk factors and the long-term incidence of age-related macular degeneration: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2007 ;114(6):1143-1150.
 65. Friedman SM, Margo CE. Choroidal neovascular membranes: reproducibility of angiographic interpretation. *Am J Ophthalmol* 2000 ;130(6):839-841.
 66. Kreuger DE, Milton RC, Maunder LR. The Framingham eye study: introduction to the monograph. *Surv Ophthalmol* 1980;24(6):614-620.
 67. Cougnard-Grégoire A, Delyfer M, Korobelnik J, Rougier M, Le Goff M, Dartigues J, et al. Elevated high-density lipoprotein cholesterol and age-related macular degeneration: the Alienor study. *PLoS ONE* 2014;9(3):e90973.
 68. Cougnard-Grégoire A, Delyfer M, Korobelnik J, Rougier M, Malet F, Le Goff M, et al. Long-term blood pressure and age-related macular degeneration: the ALIENOR study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(3):1905-1912.
 69. Semba RD, Moaddel R, Cotch MF, Jonasson F, Eiriksdottir G, Harris TB, et al. Serum lipids in adults with late age-related macular degeneration: a case-control study. *Lipids Health Dis* 2019; 08;18(1):7.

70. Grunwald JE, Hariprasad SM, DuPont J. Effect of aging on foveolar choroidal circulation. *Arch Ophthalmol* 1998 ;116(2):150-154.
71. Nussenblatt RB, Ferris F. Age-related macular degeneration and the immune response: implications for therapy. *Am J Ophthalmol* 2007;144(4):618-626.
72. Donoso LA, Kim D, Frost A, Callahan A, Hageman G. The role of inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 2006;51(2):137-152.
73. McLeod DS ea. Relationship between RPE and choriocapillaris in age related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(10):4982-91.
74. Finnemann SC, Leung LW, Rodriguez -Boulan E. The lipofuscin component A2E selectively inhibits phagolysosomal degradation of photoreceptor phospholipid by the retinal pigment epithelium. *Proc Natl Acad Sci* 2002;99:3842-3847.
75. Asensio Sánchez VM. Genética y degeneración macular asociada a la edad: del laboratorio a la consulta. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2012;87(2):56-57.
76. Adamis AP, Shima DT. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. *Retina (Philadelphia, Pa)* 2005;25(2):111-118.
77. Weismann D, Hartvigsen K, Lauer N, Bennett KL, Scholl HPN, Charbel Issa P, et al. Complement factor H binds malondialdehyde epitopes and protects from oxidative stress. *Nature* 2011 05;478(7367):76-81.
78. Koch S, Tugues S, Li X, Gualandi L, Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem J* 2011;437(2):169-183.
79. Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature* 2011; 19,473(7347):298-307.

80. Klein ML, Zorizzo PA, Watzke RC. Growth feature of choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 1989;96(1422-1429).
81. Inoue Y, Yanagi Y, Matsuura K, Takahashi H, Tamaki Y, Araie M. Expression of hypoxia inducible factor 1alpha and 2alpha in choroidal neovascular membranes associated with age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2007;91(1720-1721).
82. Tratamiento de la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) Exudativa y Atrófica. Guías de Práctica Clínica de la SERV .
83. Bressler NM, Bressler SB, Childs AL, Haller JA, Hawkins BS, Lewis H, et al. Surgery for hemorrhagic choroidal neovascular lesions of age-related macular degeneration: ophthalmic findings: SST report no. 13. *Ophthalmology* 2004;111(11):1993-2006.
84. Solomon SD, Bressler SB, Hawkins BS, Marsh MJ, Bressler NM, Submacular Surgery Trials Research Group. Guidelines for interpreting retinal photographs and coding findings in the Submacular Surgery Trials (SST): SST report no. 8. *Retina (Philadelphia, Pa)* 2005;25(3):253-268.
85. Jung JJ, Chen CY, Mrejen S, Gallego-Pinazo R, Xu L, Marsiglia M, et al. The incidence of neovascular subtypes in newly diagnosed neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2014 ;158(4):769-779.e2.
86. Hughes EH, Khan J, Patel N, Kashani S, Chong NV. In vivo demonstration of the anatomic differences between classic and occult choroidal neovascularization using optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2005;139(2):344-346.

87. Koenig F, Soubrane G, Coscas G. [Angiographic aspects of senile macular degeneration: spontaneous course]. *J Fr Ophtalmol* 1984;7(2):93-98.
88. Schneider U, Gelisken F, Inhoffen W. Natural course of occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: development of classic lesions in fluorescein angiography. *Acta Ophthalmol Scand* 2005;83(141-147).
89. Subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration. Guidelines for evaluation and treatment in the macular photocoagulation study. Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol* 1991;109(9):1242-1257.
90. Yannuzzi LA, Negrão S, Iida T, Carvalho C, Rodriguez-Coleman H, Slakter J, et al. Retinal angiomatous proliferation in age-related macular degeneration. *Retina (Philadelphia, Pa)* 2001;21(5):416-434.
91. Yannuzzi LA, Sorenson J, Spaide RF, Lipson B. Idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy (IPCV). *Retina (Philadelphia, Pa)* 1990;10(1):1-8.
92. Gomi F, Tano Y. Polypoidal choroidal vasculopathy and treatments. *Curr Opin Ophthalmol* 2008 ;19(3):208-212.
93. Arnold JJ, Quaranta M, Soubrane G, Sarks SH, Coscas G. Indocyanine green angiography of drusen. *Am J Ophthalmol* 1997;124(3):344-356.
94. Gass JD. Serous retinal pigment epithelial detachment with a notch. A sign of occult choroidal neovascularization. *Retina (Philadelphia, Pa)* 1984 Fall-Winter;4(4):205-220.
95. Kim K, Kim JM, Kim DG, Yu S, Kim ES. Five-Year Follow-Up of Unaffected Fellow Eyes in Patients with Polypoidal Choroidal Vasculopathy. *Ophthalmologica* 2020;243(3):172-177.

96. Palkar AH, Khetan V. Polypoidal choroidal vasculopathy: An update on current management and review of literature. *Taiwan J Ophthalmol* 2019;9(2):72-92.
97. Castillo MM, Mowatt G, Elders A, Lois N, Fraser C, Hernández R, et al. Optical coherence tomography for the monitoring of neovascular age-related macular degeneration: a systematic review. *Ophthalmology* 2015;122(2):399-406.
98. Mokwa NF, Ristau T, Keane PA, Kirchhof B, Sadda SR, Liakopoulos S. Grading of Age-Related Macular Degeneration: Comparison between Color Fundus Photography, Fluorescein Angiography, and Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *J Ophthalmol* 2013;2013:385915.
99. Mowatt G, Hernández R, Castillo M, Lois N, Elders A, Fraser C, et al. Optical coherence tomography for the diagnosis, monitoring and guiding of treatment for neovascular age-related macular degeneration: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2014 ;18(69):1-254.
100. Khurana RN, Dupas B, Bressler NM. Agreement of time-domain and spectral-domain optical coherence tomography with fluorescein leakage from choroidal neovascularization. *Ophthalmology* 2010 ;117(7):1376-1380.
101. Coscas GJ, Lupidi M, Coscas F, Cagini C, Souied EH. Optical coherence tomography angiography versus traditional multimodal imaging in assessing the activity of exudative age-related macular degeneration: A New Diagnostic Challenge. *Retina (Philadelphia, Pa)* 2015 ;35(11):2219-2228.
102. Solecki L, Loganadane P, Gauthier A, Simonin M, Puyraveau M, Delbosc B, et al. Predictive factors for exudation of quiescent choroidal neovessels detected by OCT angiography in the fellow eyes of eyes treated for a neovascular age-related macular degeneration. *Eye (Lond)* 2020; 12.

103. Jia Y, Bailey ST, Wilson DJ, Tan O, Klein ML, Flaxel CJ, et al. Quantitative optical coherence tomography angiography of choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2014; 1;121(7):1435-1444.
104. Spaide RF CC. Drusen characterization with multimodal imaging. *Retina* 2010;30(9):1441-1454.
105. Gallego Pinazo R, Andreu Fenoll M, García Marín N, Dolz Marco R. Imagen multimodal en degeneración macular asociada a la edad neovascular. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2016;91(11):1095.
106. Sangiovanni JP, Agrón E, Meleth AD, Reed GF, Sperduto RD, Clemons TE, et al. {omega}-3 Long-chain polyunsaturated fatty acid intake and 12-y incidence of neovascular age-related macular degeneration and central geographic atrophy: AREDS report 30, a prospective cohort study from the Age-Related Eye Disease Study. *Am J Clin Nutr* 2009 ;90(6):1601-1607.
107. Complications of Age-Related Macular Degeneration Prevention Trial Study Group. The Complications of Age-Related Macular Degeneration Prevention Trial (CAPT): rationale, design and methodology. *Clin Trials* 2004;1(1):91-107.
108. Argon laser photocoagulation for senile macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol* 1982 ;100(6):912-918.
109. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: one-year results of 2 randomized clinical trials--TAP report. Treatment of age-related macular degeneration with photodynamic therapy (TAP) Study Group. *Arch Ophthalmol* 1999t;117(10):1329-1345.

110. Verteporfin In Photodynamic Therapy Study Group. Verteporfin therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: two-year results of a randomized clinical trial including lesions with occult with no classic choroidal neovascularization--verteporfin in photodynamic therapy report 2. *Am J Ophthalmol* 2001 ;131(5):541-560.
111. Chakravarthy U, Harding SP, Rogers CA, Downes S, Lotery AJ, Dakin HA, et al. A randomised controlled trial to assess the clinical effectiveness and cost-effectiveness of alternative treatments to Inhibit VEGF in Age-related choroidal Neovascularisation (IVAN). *Health Technol Assess* 2015;19(78):1-298.
112. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET, Feinsod M, Guyer DR, VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization Clinical Trial Group. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004; 30,351(27):2805-2816.
113. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization (V.I.S.I.O.N.) Clinical Trial Group, D'Amico DJ, Masonson HN, Patel M, Adamis AP, Cunningham ET, et al. Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration: two-year safety results of the two prospective, multicenter, controlled clinical trials. *Ophthalmology* 2006;113(6):992-1001.e6.
114. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization (V.I.S.I.O.N.) Clinical Trial Group, Chakravarthy U, Adamis AP, Cunningham ET, Goldbaum M, Guyer DR, et al. Year 2 efficacy results of 2 randomized controlled clinical trials of pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006;113(9):1508.e1-25.

115. Boyer DS, Heier JS, Brown DM, Francom SF, Ianchulev T, Rubio RG. A Phase IIIb study to evaluate the safety of ranibizumab in subjects with neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2009;116(9):1731-1739.
116. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006 05;355(14):1419-1431.
117. Brown DM, Kaiser PK, Michels M, Soubrane G, Heier JS, Kim RY, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006 05;355(14):1432-1444.
118. Regillo CD, Brown DM, Abraham P, Yue H, Ianchulev T, Schneider S, et al. Randomized, double-masked, sham-controlled trial of ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: PIER Study year 1. *Am J Ophthalmol* 2008;145(2):239-248.
119. Monés J, Biarnés M, Trindade F, Casaroli-Marano R. FUSION regimen: ranibizumab in treatment-naïve patients with exudative age-related macular degeneration and relatively good baseline visual acuity. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250(12):1737-1744.
120. Fung AE, Lalwani GA, Rosenfeld PJ, Dubovy SR, Michels S, Feuer WJ, et al. An optical coherence tomography-guided, variable dosing regimen with intravitreal ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007;143(4):566-583.
121. Holz FG, Amoaku W, Donate J, Guymer RH, Kellner U, Schlingemann RO, et al. Safety and efficacy of a flexible dosing regimen of ranibizumab in neovascular age-

- related macular degeneration: the SUSTAIN study. *Ophthalmology* 2011;118(4):663-671.
122. Spaide R. Ranibizumab according to need: a treatment for age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007;143(4):679-680.
123. Singer MA, Awh CC, Sadda S, Freeman WR, Antoszyk AN, Wong P, et al. HORIZON: an open-label extension trial of ranibizumab for choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2012;119(6):1175-1183.
124. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3(5):391-400.
125. Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatments Trials (CATT) Research Group, Maguire MG, Martin DF, Ying G, Jaffe GJ, Daniel E, et al. Five-Year Outcomes with Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Treatment of Neovascular Age-Related Macular Degeneration: The Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials. *Ophthalmology* 2016 08;123(8):1751-1761.
126. Krebs I, Schmetterer L, Boltz A, Told R, Vécsei-Marlovits V, Egger S, et al. A randomised double-masked trial comparing the visual outcome after treatment with ranibizumab or bevacizumab in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2013;97(3):266-271.
127. Kodjikian L, Souied EH, Mimoun G, Mauget-Faÿsse M, Behar-Cohen F, Decullier E, et al. Ranibizumab versus Bevacizumab for Neovascular Age-related Macular

- Degeneration: Results from the GEFAL Noninferiority Randomized Trial. *Ophthalmology* 2013;120(11):2300-2309.
128. Schmidt-Erfurth U, Kaiser PK, Korobelnik J, Brown DM, Chong V, Nguyen QD, et al. Intravitreal aflibercept injection for neovascular age-related macular degeneration: ninety-six-week results of the VIEW studies. *Ophthalmology* 2014;121(1):193-201.
129. Barmas-Alamdari D, D'Souza HS, Kapoor KG, Wagner AL. Intravitreal Ziv-Aflibercept: A Comprehensive Review. *Semin Ophthalmol* 2019;34(6):420-435.
130. Antoszyk AN, Tuomi L, Chung CY, Singh A. Ranibizumab combined with verteporfin photodynamic therapy in neovascular age-related macular degeneration (FOCUS): year 2 results. *Am J Ophthalmol* 2008;145(5):862-874.
131. Javier Montero Hernández, Enrique Cervera Taulet, Verónica Castro Navarro, Catalina Navarro Palop. DMAE Exudativa. Diagnóstico multimodal y manejo por subtipos.
132. Heiba IM, Elston RC, Klein BE, Klein R. Sibling correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Genet Epidemiol* 1994;11(1):51-67.
133. Jiang H, Qu Y, Dang G, Zhang X, Yin N, Zhang Y, et al. Analyses of single nucleotide polymorphisms and haplotype linkage of LOC387715 and the HTRA1 gene in exudative age-related macular degeneration in a Chinese cohort. *Retina (Philadelphia)* 2009;29(7):974-979.
134. Cruz-González F, Cabrillo Estévez L, Cañete Campos C, Sánchez-Jara Sánchez A, Juan Marcos L, González-Sarmiento R. The presence of CFH, HTRA1, ARMS2, VEGF-A and VEGF-R and the appearance of age-related macular degeneration subtypes. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2016;91(4):177-183.

135. Jabbarpoor Bonyadi MH, Yaseri M, Nikkhah H, Bonyadi M, Nazari R, Soheilian M. Comparison of ARMS2/LOC387715 A69S and CFH Y402H risk effect in wet-type age-related macular degeneration: a meta-analysis. *Int Ophthalmol* 2019;39(4):949-956.
136. Zhou Y, Chen C, Wang Y, Tong Y, Fang X, Li L, et al. Association between polymorphism rs11200638 in the HTRA1 gene and the response to anti-VEGF treatment of exudative AMD: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol* 2017;17(1):97.
137. Xu Y, Guan N, Xu J, Yang X, Ma K, Zhou H, et al. Association of CFH, LOC387715, and HTRA1 polymorphisms with exudative age-related macular degeneration in a northern Chinese population. *Mol Vis* 2008;14:1373-1381.
138. Habibi I, Sfar I, Kort F, Bouraoui R, Chebil A, Limaiem R, et al. Complement Component C3 Variant (R102G) and the Risk of Neovascular Age-Related Macular Degeneration in a Tunisian Population. *Klin Monbl Augenheilkd* 2017;234(4):478-482.
139. Bonyadi M, Mohammadian T, Jabbarpoor Bonyadi MH, Fotouhi N, Soheilian M, Javadzadeh A, et al. Association of polymorphisms in complement component 3 with age-related macular degeneration in an Iranian population. *Ophthalmic Genet* 2017 ;38(1):61-66.
140. Zhang J, Li S, Hu S, Yu J, Xiang Y. Association between genetic variation of complement C3 and the susceptibility to advanced age-related macular degeneration: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol* 2018 -10-23;18.
141. Friedman DS, Katz J, Bressler NM, Rahmani B, Tielsch JM. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: The Baltimore eye survey. *Ophthalmology* 1999;106(6):1049-1055.

142. Shastry BS. Assessment of the contribution of the LOC387715 gene polymorphism in a family with exudative age-related macular degeneration and heterozygous CFH variant (Y402H). *J Hum Genet* 2007;52(4):384-387.
143. Leveziel N, Zerbib J, Richard F, Querques G, Morineau G, Fremeaux-Bacchi V, et al. Genotype-phenotype correlations for exudative age-related macular degeneration associated with homozygous HTRA1 and CFH genotypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(7):3090-3094.
144. McKibbin M, Ali M, Bansal S, Baxter PD, West K, Williams G, et al. CFH, VEGF and HTRA1 promoter genotype may influence the response to intravitreal ranibizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2012;96(2):208-212.
145. Medina FMC, Motta, Augusto Alves Lopes da, Takahashi WY, Carricondo PC, Motta, Mario Martins Dos Santos, Melo MB, et al. Association of the CFH Y402H Polymorphism with the 1-Year Response of Exudative AMD to Intravitreal Anti-VEGF Treatment in the Brazilian Population. *Ophthalmic Res* 2019;61(3):168-173.
146. Zerbib J, Richard F, Puche N, Leveziel N, Cohen SY, Korobelnik J, et al. R102G polymorphism of the C3 gene associated with exudative age-related macular degeneration in a French population. *Mol Vis* 2010;16:1324-1330.
147. Ricci F, Zampatti S, D'Abbruzzi F, Missiroli F, Martone C, Lepre T, et al. Typing of ARMS2 and CFH in age-related macular degeneration: case-control study and assessment of frequency in the Italian population. *Arch Ophthalmol* 2009;127(10):1368-1372.

148. Haas P, Steindl K, Aggermann T, Schmid-Kubista K, Krugluger W, Hageman GS, et al. Serum VEGF and CFH in exudative age-related macular degeneration. *Curr Eye Res* 2011;36(2):143-148.
149. Tam POS, Ng TK, Liu DTL, Chan WM, Chiang SWY, Chen LJ, et al. HTRA1 variants in exudative age-related macular degeneration and interactions with smoking and CFH. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(6):2357-2365.
150. Yücel D, Yılmaz M, Durukan AH, Özgül RK. Association of CFH Y402H polymorphism with both forms of advanced age-related macular degeneration in Turkish patients. *Ophthalmic Genet* 2012;33(3):144-149.
151. Kim YH, Kim H, Mok JW, Joo C. Gene-gene interactions of CFH and LOC387715/ARMS2 with Korean exudative age-related macular degeneration patients. *Ophthalmic Genet* 2013;34(3):151-159.
152. Babanejad M, Moein H, Akbari MR, Badiei A, Yaseri M, Soheilian M, et al. Investigating the CFH Gene Polymorphisms as a Risk Factor for Age-related Macular Degeneration in an Iranian Population. *Ophthalmic Genet* 2016 06;37(2):144-149.
153. Kepez Yildiz B, Ozdek S, Ergun MA, Ergun S, Yaylacioglu Tuncay F, Elbeg S. CFH Y402H and VEGF Polymorphisms and Anti-VEGF Treatment Response in Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmic Res* 2016;56(3):132-138.
154. Liang XY, Chen LJ, Ng TK, Tuo J, Gao J-, Tam POS, et al. FPR1 interacts with CFH, HTRA1 and smoking in exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Eye (Lond)* 2014;28(12):1502-1510.
155. Huang L, Meng Q, Zhang C, Sun Y, Bai Y, Li S, et al. Gene-gene interaction of CFH, ARMS2, and ARMS2/HTRA1 on the risk of neovascular age-related macular

- degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Chinese population. *Eye (Lond)* 2015;29(5):691-698.
156. Yang X, Hu J, Zhang J, Guan H. Polymorphisms in CFH, HTRA1 and CX3CR1 confer risk to exudative age-related macular degeneration in Han Chinese. *Br J Ophthalmol* 2010;94(9):1211-1214.
157. Cobos E, Recalde S, Anter J, Hernandez-Sanchez M, Barreales C, Olavarrieta L, et al. Association between CFH, CFB, ARMS2, SERPINF1, VEGFR1 and VEGF polymorphisms and anatomical and functional response to ranibizumab treatment in neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 2018;96(2):e201-e212.
158. Gotoh N, Yamada R, Nakanishi H, Saito M, Iida T, Matsuda F, et al. Correlation between CFH Y402H and HTRA1 rs11200638 genotype to typical exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy phenotype in the Japanese population. *Clinical and Experimental Ophthalmology* 2008;36(5):437-442.
159. Dugas B,Jr., Fourgeux C,Jr., Buteau B,Jr., Martine L,Jr., Bjorkhem I,Sr., Acar N,Sr., et al. Interaction of CYP46A1 with CFH, LOC387715 and HTRA1 Gene Polymorphisms in Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(13).
160. Imai D, Mori K, Horie-Inoue K, Gehlbach PL, Awata T, Inoue S, et al. CFH, VEGF, and PEDF genotypes and the response to intravitreal injection of bevacizumab for the treatment of age-related macular degeneration. *J Ocul Biol Dis Infor* 2010;3(2):53-9.

161. Altshuler D, Maller J, Purcell S, Fagerness J, George S. Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006;38(9):1055-1059.
162. Zarepari S, Wade MS, Khanna R, Swaroop A, Abecasis GR, Branham KEH, et al. CFH haplotypes without the Y402H coding variant show strong association with susceptibility to age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006;38(9):1049-1054.
163. Hughes AE. A common CFH haplotype, with deletion of CFHR1 and CFHR3, is associated with lower risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006;38(10):1173-1177.
164. Smailhodzic D, Muether PS, Chen J, Kwestro A, Zhang AY, Omar A, et al. Cumulative effect of risk alleles in CFH, ARMS2, and VEGFA on the response to ranibizumab treatment in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2012;119(11):2304-2311.
165. Fourgeux C, Dugas B, Richard F, Björkhem I, Acar N, Bron AM, et al. Single nucleotide polymorphism in the cholesterol-24S-hydroxylase (CYP46A1) gene and its association with CFH and LOC387715 gene polymorphisms in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(11):7026-7033.
166. Edwards AO, Ritter R, Abel KJ, et al. Complement factor H polymorphism and age related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 421–424.
167. Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, et al. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 419–421.
168. Ho L, van Leeuwen R, Witteman JCM, et al. Reducing the genetic risk of age-related macular degeneration with dietary antioxidants, zinc, and omega-3 fatty acids: the Rotterdam study. *Arch Ophthalmol* 2011; 129: 758–766. 17.

169. Bergeron-Sawitzke J, Gold B, Olsh A, et al. Multilocus analysis of age-related macular degeneration. *Eur J Hum Genet* 2009; 17: 1190–1199. 18.
170. Wu M, Guo Y, Ma Y, et al. Association of two polymorphisms, rs1061170 and rs1410996, in complement factor H with age-related macular degeneration in an Asian population: a meta-analysis. *Ophthalmic Res* 2016; 55(3): 135–14
171. De la Fuente M, Blanco MJ, Pazos B, Fernández MI, Carracedo A, Sánchez-Salorio M, Coco RM, Torrón C, Gómez AM. Complement factor H. *Ophthalmology*. 2007;114(1):193.e1-2.
172. Brión M, Sanchez-Salorio M, Cortón M, de la Fuente M, Pazos B, Othman M, Swaroop A, Abecasis G, Sobrino B, Carracedo A; Spanish multi-centre group of AMD. Genetic association study of age-related macular degeneration in the Spanish population. *Acta Ophthalmol*. 2011;89(1):e12-22.
173. Cruz-González F, Cieza-Borrella C, López Valverde G, Lorenzo-Pérez R, Hernández-Galilea E, González-Sarmiento R. CFH (rs1410996), HTRA1 (rs112000638) and ARMS2 (rs10490923) gene polymorphisms are associated with AMD risk in Spanish patients. *Ophthalmic Genet* 2014;35(2):68-73.
174. Cruz-Gonzalez F, Cabrillo-Estevez L, Rivero-Gutierrez V, Sanchez-Jara A, De Juan-Marcos L, Gonzalez-Sarmiento R. Influence of CFH, HTRA1 and ARMS2 polymorphisms in the response to intravitreal ranibizumab treatment for wet age-related macular degeneration in a Spanish population. *Int J Ophthalmol* 2016;9(9):1304-1309.
175. Martínez-Barricarte R, Recalde S, Fernández-Robredo P, Millán I, Olavarrieta L, Viñuela A, Pérez-Pérez J, García-Layana A, Rodríguez de Córdoba S; Spanish Multicenter Group on AMD. Relevance of complement factor H-related 1 (CFHR1)

- genotypes in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 1;53(3):1087-94
176. García M, Álvarez L, Nogacka AM, González-Iglesias H, Escribano J, Fernández-Vega B, Fernández-Vega Á, Fernández-Vega L, Coca-Prados M. CFH polymorphisms in a Northern Spanish population with neovascular and dry forms of age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol.* 2015;93(8):e658-66.
177. Dezydério Sacconi DP, Cabral de Vasconcellos, José Paulo, Endo Hirata F, MacCord Medina F, Rim PHH, Barbosa de Melo M. Evaluation of CFH Y402H polymorphism and CFHR3/CFHR1 deletion in age-related macular degeneration patients from Brazil. *Ophthalmic Genet* 2016 12;37(4):459-461.
178. Karkhane R, Ahmadraji A, Riazi Esfahani M, Roohipour R, Alami Harandi Z, Lashay A, et al. Complement factor H and LOC387715/ARMS2/HTRA1 variant's frequencies and phenotypic associations in neovascular age-related macular degeneration, a pilot study. *J Curr Ophthalmol* 2016;28(1):32-36.
179. Tsiloulis AN, Zacharaki F, Kotoula MG, Chatzoulis DZ, Morrison MA, Mayne K, et al. Genetic variants in complement pathway and ARMS2/HTRA1 genes and risk of age-related macular degeneration in a homogeneous population from central Greece. *Ophthalmic Genet* 2016 09;37(3):339-344.
180. Pulido JS, Peterson LM, Mutapcic L, Bryant S, Highsmith WE. LOC387715/HTRA1 and complement factor H variants in patients with age-related macular degeneration seen at the mayo clinic. *Ophthalmic Genet* 2007;28(4):203-207.
181. Lee SJ, Kim NR, Chin HS. LOC387715/HTRA1 polymorphisms, smoking and combined effects on exudative age-related macular degeneration in a Korean population. *Clin Experiment Ophthalmol* 2010;38(7):698-704.

182. Ng TK, Liang XY, Lu F, Liu DT, Yam GH, Ma L, et al. Protective effects of an HTRA1 insertion-deletion variant against age-related macular degeneration in the Chinese populations. *Lab Invest* 2017;97(1):43-52.
183. Tam POS, Hartman S, Barnstable C, Lam DSC, Liu DTL, Snyder M. HTRA1 Promoter Polymorphism in Wet Age-Related Macular Degeneration. *Science* 2006;314(5801):989-992.
184. Cameron DJ, Gibbs D, Harmon J, Shridhar V, Camp NJ, Pearson E, et al. A Variant of the HTRA1 Gene Increases Susceptibility to Age-Related Macular Degeneration. *Science* 2006;314(5801):992-993.
185. Liang XY, Lai TYY, Liu DTL, Fan AH, Chen LJ, Tam POS, et al. Differentiation of exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in the ARMS2/HTRA1 locus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(6):3175-3182.
186. Akagi-Kurashige Y, Yamashiro K, Gotoh N, Miyake M, Morooka S, Yoshikawa M, et al. MMP20 and ARMS2/HTRA1 Are Associated with Neovascular Lesion Size in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2015;122(11):2295-2302.e2.
187. Ng TK, Liang XY, Pang CP. HTRA1 in Age-Related Macular Degeneration. *Asia Pac J Ophthalmol* 2012;1(1):51-63.
188. Lana TP, da Silva Costa, Sueli Matilde, Ananina G, Hirata FE, Rim PHH, Medina FM, et al. Association of HTRA1 rs11200638 with age-related macular degeneration (AMD) in Brazilian patients. *Ophthalmic Genet* 2018;39(1):46-50.
189. Weger M, Renner W, Steinbrugger I, Koefer K, Wedrich A, Groselj-Strele A, et al. Association of the HTRA1 -625G > A promoter gene polymorphism with exudative age-related macular degeneration in a Central European population. *Molecular Vision* 2007;13(138-42):1274-1279.

190. Leveziel N, Souied EH, Richard F, Barbu V, Zourdani A, Morineau G, et al. PLEKHA1-LOC387715-HTRA1 polymorphisms and exudative age-related macular degeneration in the French population. *Molecular Vision* 2007;13(242-45):2153-2159.
191. Ohkuma Y, Hayashi T, Sakai T, Watanabe A, Yamada H, Akahori M, et al. Retinal angiomatous proliferation associated with risk alleles of ARMS2/HTRA1 gene polymorphisms in Japanese patients. *Clin Ophthalmol* 2014;8:143-8.
192. Teper SJ, Nowińska A, Wylęgała E. A69S and R38X ARMS2 and Y402H CFH gene polymorphisms as risk factors for neovascular age-related macular degeneration in Poland - a brief report. *Med Sci Monit* 2012;18(2).
193. Zhou YL, Chen CL, Wang YX, et al. Association between polymorphism rs11200638 in the HTRA1 gene and the response to anti-VEGF treatment of exudative AMD: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol* 2017; 17: 97.
194. Ng TK, Liang XY, Lai TY, et al. HTRA1 promoter variant differentiates polypoidal choroidal vasculopathy from exudative age-related macular degeneration. *Sci Rep* 2016; 6: 28639.
195. Ricci F, Zampatti S, D'Abbruzzi F, Missiroli F, Martone C, Lepre T, et al. Typing of ARMS2 and CFH in age-related macular degeneration: case-control study and assessment of frequency in the Italian population. *Arch Ophthalmol* 2009;127(10):1368-1372.
196. Sakurada Y, Mabuchi F, Yoneyama S, Kubota T, Iijima H. Polymorphisms in ARMS2 (LOC387715) and LOXL1 genes in the Japanese with age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2011;152(3):499.

197. Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Yamada R, Otani A, Tsujikawa A, et al. ARMS2 (LOC387715) variants in Japanese patients with exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Am J Ophthalmol* 2009;147(6):1037-2.
198. Valverde-Megias A. Degeneración macular exudativa asociada a la edad: riesgo inducido por facoemulsificación e impacto en los genes e impacto de los genes "CFH" y "ARMS2" sobre la incidencia, desarrollo y respuesta al tratamiento con ranibizumab intravítreo. 2013.
199. Huang L, Meng Q, Zhang C, Sun Y, Bai Y, Li S, et al. Gene-gene interaction of CFH, ARMS2, and ARMS2/HTRA1 on the risk of neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Chinese population. *Eye (Lond)* 2015;29(5):691-698.
200. Tsiloulis AN, Zacharaki F, Kotoula MG, Chatzoulis DZ, Morrison MA, Mayne K, et al. Genetic variants in complement pathway and ARMS2/HTRA1 genes and risk of age-related macular degeneration in a homogeneous population from central Greece. *Ophthalmic Genet* 2016 09;37(3):339-344.
201. Gotoh N, Yamashiro K, Nakanishi H, Saito M, Iida T, Yoshimura N. Haplotype analysis of the ARMS2/HTRA1 region in Japanese patients with typical neovascular age-related macular degeneration or polypoidal choroidal vasculopathy. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54(6):609-614.
202. Fuse N, Mengkegale M, Miyazawa A, Abe T, Nakazawa T, Wakusawa R, et al. Polymorphisms in ARMS2 (LOC387715) and LOXL1 genes in the Japanese with age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2011;151(3):550-556.e1.

203. Valverde-Megías A, Veganzones-de-Castro S, Donate-López J, Maestro-de-Las-Casas ML, Megías-Fresno A, García-Feijoo J. ARMS2 A69S polymorphism is associated with the number of ranibizumab injections needed for exudative age-related macular degeneration in a pro re nata regimen during 4 years of follow-up. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017;255(11):2091-2098.
204. Dewan A, Liu M, Hartman S, et al. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science* 2006; 314: 989–992.
205. Fritsche LG, Chen W, Schu M, et al. Seven new loci associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2013; 45: 433–439.
206. Hu Z, Xie P, Ding Y, Yuan D, Liu Q. Association between variants A69S in ARMS2 gene and response to treatment of exudative AMD: a meta-analysis. *Br J Ophthalmol* 2015;99(5):593-598.
207. Kim YH, Kim H, Mok JW, Joo C. Gene-gene interactions of CFH and LOC387715/ARMS2 with Korean exudative age-related macular degeneration patients. *Ophthalmic Genet* 2013;34(3):151-159.
208. Akagi-Kurashige Y, Yamashiro K, Gotoh N, Miyake M, Morooka S, Yoshikawa M, et al. MMP20 and ARMS2/HTRA1 Are Associated with Neovascular Lesion Size in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2015;122(11):2295-2302.e2.
209. Karkhane R, Ahmadraji A, Riazi Esfahani M, Roohipour R, Alami Harandi Z, Lashay A, et al. Complement factor H and LOC387715/ARMS2/HTRA1 variant's frequencies and phenotypic associations in neovascular age-related macular degeneration, a pilot study. *J Curr Ophthalmol* 2016;28(1):32-36.
210. Hirata FE, de Vasconcellos, José Paulo Cabral, Medina FM, Rim PHH, Fulco EAM, de Melo MB. Association of LOC387715/ARMS2 (rs10490924) Gene

- Polymorphism with Age-Related Macular Degeneration in the Brazilian Population. *Ophthalmic Genet* 2015;36(3):224-228.
211. Weeks DE, Conley YP, Mah TS, et al. A full genome scan for age-related maculopathy. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1329–1349.
212. Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, et al. Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3227–3236.
213. Schmidt S, Hauser MA, Scott WK, et al. Cigarette smoking strongly modifies the association of LOC387715 and age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 852–864.
214. Kanda A, Chen W, Othman M, et al. A variant of mitochondrial protein LOC387715/ARMS2, not HTRA1, is strongly associated with age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 16227–1632.
215. Jabbarpoor Bonyadi MH, Yaseri M, Nikkhah H, et al. Comparison of ARMS2/LOC387715 A69S and CFH Y402H risk effect in wet-type age-related macular degeneration: a meta-analysis. *Int Ophthalmol* 2019; 39: 949–956.
216. Kawa MP, Machalinska A, Roginska D, et al. Complement system in pathogenesis of AMD: dual player in degeneration and protection of retinal tissue. *J Immunol Res* 2014; 2014: 483960.
217. Habibi I, Sfar I, Kort F, et al. Complement component C3 variant (R102G) and the risk of neovascular age-related macular degeneration in a Tunisian population. *Klin Monbl Augenheilkd* 2017; 234: 478–482.

218. Bonyadi M, Mohammadian T, Jabbarpoor Bonyadi MH, et al. Association of polymorphisms in complement component 3 with age-related macular degeneration in an Iranian population. *Ophthalmic Genet* 2017; 38: 61–66. (METANA)
219. Kaur I, Katta S, Reddy RK, et al. The involvement of complement factor B and complement component C2 in an Indian cohort with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 59–63.
220. Spencer KL, Hauser MA, Olson LM, et al. Protective effect of complement factor B and complement component 2 variants in age-related macular degeneration. *Hum Mol Genet* 2007; 16: 1986–1992.
221. Zhang J, Li S, Hu S, et al. Association between genetic variation of complement C3 and the susceptibility to advanced age-related macular degeneration: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol* 2018; 18: 274.
222. Gold B, Merriam JE, Zernant J, et al. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006; 38: 458–462.
223. Kim SJ, Lee SJ, Kim NR, Chin HS. Association of polymorphisms in C2, CFB and C3 with exudative age-related macular degeneration in a Korean population. *Exp Eye Res* 2012;96(1):42-47.
224. Liu X, Zhao P, Tang S, Lu F, Hu J, Lei C, et al. Association study of complement factor H, C2, CFB, and C3 and age-related macular degeneration in a Han Chinese population. *Retina*. 2010;30(8):1177-1184.
225. Ng TK, Yam GHF, Chen WQ, Lee VYW, Chen H, Chen LJ, et al. Interactive Expressions of HtrA1 and VEGF in Human Vitreous Humors and Fetal RPE Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(6):3706-3712.

226. Budzinskaia MV, Pogoda TV, Strelkova ID, Chikun EA, Shchegoleva IV, Kazarian EE, et al. [Influence of genetic mutations on clinical presentation of subretinal neovascularization. Report 2: The impact of HTRA and VEGF genes polymorphism]. *Vestn Oftalmol* 2011;127(4):9-16.
227. Medina FMC, Alves da Motta, Augusto Lopes, Takahashi WY, Carricondo PC, dos Santos Motta, Mario Martins, Melo MB, et al. Association of the Y402H polymorphism of CFH gene with response of exudative AMD to intravitreal VEGF inhibitors in the Brazilian population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(13).
228. Fang AM, Lee AY, Kulkarni M, Osborn MP, Brantley MA Jr. Polymorphisms in the VEGFA and VEGFR-2 genes and neovascular age-related macular degeneration. *Mol Vis*. 2009;15:2710-9.
229. Cruz-González F, Cieza-Borrella C, Cabrillo-Estévez L, Cañete-Campos C, Escudero-Domínguez F, González-Sarmiento R. VEGF A (rs699947 and rs833061) and VEGFR2 (rs2071559) gene polymorphisms are not associated with AMD susceptibility in a Spanish population. *Curr Eye Res* 2013;38(12):1274-1277.
230. Woo SJ, Park KH, Ahn J, Choe JY, Jeong H, Han JW, Kim TH, Kim KW. Cognitive impairment in age-related macular degeneration and geographic atrophy. *Ophthalmology*. 2012;119(10):2094-101.
231. Tsai DC, Chen SJ, Huang CC, Yuan MK, Leu HB. Age-Related Macular Degeneration and Risk of Degenerative Dementia among the Elderly in Taiwan: A Population-Based Cohort Study. *Ophthalmology*. 2015;122(11):2327-2335.

ANEXOS

ANEXOS

I. PUBLICACIONES, COMUNICACIONES A CONGRESOS Y LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.

II. APROBACIÓN COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA HUFA.

III. CONSENTIMIENTOS INFORMADOS.

IV. ACUERDO DE DEPÓSITO DE LAS MUESTRAS EN EL BIOBANCO DEL HUFA.

V. FIGURAS.

VI. TABLAS.

VII. GRÁFICOS.

I. PUBLICACIONES, COMUNICACIONES A CONGRESOS Y LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.

PUBLICACIONES

Gili P, Lloreda Martín L, Martín-Rodrigo JC, Kim-Yeon N, Modamio-Gardeta L, Fernández-García JL, Rebolledo-Poves AB, Gómez-Blazquez E, Pazos-Rodriguez R, Pérez-Fernández E, Velasco M. Gene polymorphisms associated with an increased risk of exudative age-related macular degeneration in a Spanish population. *Eur J Ophthalmol.* 2021. Mar 25:11206721211002698.

Llorente-González S, Hernandez M, González-Zamora J, Bilbao-Malavé V, Fernández-Robredo P, Saenz-de-Viteri M, Barrio-Barrio J, Rodríguez-Cid MJ, Donate J, Ascaso FJ, Gómez-Ramírez AM, Araiz J, Armadá F, Ruiz-Moreno Ó, Recalde S, García-Layana A; Spanish AMD group. The role of retinal fluid location in atrophy and fibrosis evolution of patients with neovascular age-related macular degeneration long-term treated in real world. *Acta Ophthalmol.* 2021.

Gene polymorphisms associated with an increased risk of exudative age-related macular degeneration in a Spanish population

European Journal of Ophthalmology

1–7

© The Author(s) 2021



Article reuse guidelines:

sagepub.com/journals-permissions

DOI: 10.1177/11206721211002698

journals.sagepub.com/home/ejo



Pablo Gili¹ , Leyre Lloreda Martín¹, José-Carlos Martín-Rodrigo¹, Naon Kim-Yeon¹, Laura Modamio-Gardeta¹, Javier L Fernández-García¹ , Ana Belén Rebolledo-Poves², Elena Gómez-Blazquez², Ruth Pazos-Rodríguez², Elia Pérez-Fernández³ and María Velasco³

Abstract

Purpose: To identify the association between single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in *CFH*, *ARMS2*, *HTRA1*, *CFB*, *C2*, and *C3* genes and exudative age-related macular degeneration (AMD) in a Spanish population.

Methods: In 187 exudative AMD patients and 196 healthy controls (61% women, mean age 75 years), 12 SNPs as risk factors for AMD in *CFH* (rs1410996, rs1061170, rs380390), *ARMS2* (rs10490924, rs10490923), *HTRA1* (rs11200638), *CFB* (rs641153), *C2* (rs547154, rs9332739), and *C3* (rs147859257, rs2230199, rs1047286) genes were analyzed.

Results: The G allele was the most frequent in *CFH* gene (rs1410996) with a 7-fold increased risk of AMD (OR 7.69, 95% CI 3.17–18.69), whereas carriers of C allele in *CFH* (rs1061170) showed a 3-fold increased risk for AMD (OR 3.22, 95% CI 1.93–5.40). In *CFH* (rs380390), the presence of G allele increased the risk for AMD by 2-fold (OR 2.52, 95% CI 1.47–4.30). In *ARMS2* (rs10490924), the T-allele was associated with an almost 5-fold increased risk (OR 5.49, 95% CI 3.23–9.31). The A allele in *HTRA1* (rs11200638) was more prevalent in AMD versus controls (OR 6.44, 95% CI 3.62–11.47). In *C2* gene (rs9332739) the presence of C increased risk for AMD by 3-fold (OR 3.10, 95% CI 1.06–9.06).

Conclusion: SNPs in *CFH*, *ARMS2*, *HTRA1*, and *C2* genes were associated in our study with an increased risk for exudative AMD in Spanish patients.

Keywords

Age-related macular degeneration, gene polymorphisms, genotyping, risk factors

Date received: 5 February 2021; accepted: 23 February 2021

Introduction

Age-related macular degeneration (AMD) is a disorder characterized by a progressive macular degeneration of the retinal pigment epithelium (RPE) and photoreceptors with or without choroidal neovascularization.¹ AMD is the leading cause of blindness in subjects older than 55 years, and the third leading cause of worldwide blindness.^{2,3} The etiology of AMD is known to be multifactorial, involving a complex interaction between environmental factors and genetic predisposition.^{4–6} Genetic factors play a substantial

¹Unit of Ophthalmology, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain

²Research Support Laboratory, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain

³Research Unit, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain

Corresponding author:

Pablo Gili, Unit of Ophthalmology, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, C/ Budapest 1, Alcorcón, Madrid E-28922, Spain.

Email: pgili@falcorcon.es

COMUNICACIONES A CONGRESOS

Leyre Lloreda Martín, Pablo Gili Manzanaro. “Estudio de los polimorfismos de riesgo en la DMAE exudativa en una población Española”. (Comunicación oral). XXIII Congreso Sociedad Española de Retina y Vítreo (SERV), Madrid, 2019.

Leyre Lloreda Martín, Pablo Gili Manzanaro. “Análisis de la presencia de múltiples polimorfismos de riesgo en la DMAE exudativa”. (Comunicación oral). 95 Congreso Sociedad Española de Oftalmología (SEO), Madrid, 2019.

Pablo Gili, Leyre Lloreda. “Estudio de los factores genéticos asociados a la degeneración macular exudativa asociada a la edad en una población española.” Comunicación oral. Optom 2021. 26º Congreso Internacional de Optometría, Contactología y óptica Oftálmica. 8-28 de mayo de 2021.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Estudio de los polimorfismos de riesgo en la DMAE exudativa en una población Española. PII 14/00965, integrado en el plan Nacional I+D+I. IP: Pablo Gili. 2014-2017.

Genética ocular: Influencia de factores clínicos y genéticos en la evolución funcional y anatómica a largo plazo en una cohorte de pacientes con DMAE húmeda tratados según práctica clínica habitual. PI15/01374. IP: Alfredo García Layana. 2019-2020. (Estudio multicéntrico).

PREMIOS

Premio de Investigación a la mejor publicación en revista científica por residentes del Hospital Universitario Fundación Alcorcón., para el artículo: Gene polymorphisms associated with an increased risk of exudative age-related macular degeneration in a Spanish population. Eur J Ophthalmol. 2021.

II. APROBACIÓN COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA HUFA.



Hospital Universitario
Fundación Alcorcón

14/56

Comunidad de Madrid

MODELO DE EVALUACIÓN ÉTICA. INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Dña. Ana Tato Ribera, Secretaria del Comité Etico de Investigación Clínica del Hospital Universitario Fundación Alcorcón,

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta para que se realice el proyecto de investigación titulado "Estudio de los polimorfismos genéticos asociados a la Degeneración Macular Asociada a la Edad Avanzada", considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.

El Investigador se compromete a responder a los informes de seguimiento que desde el CEIC se les requiera

Y que este Comité acepta que dicho registro sea realizado en el Hospital Universitario Fundación Alcorcón por el Dr. Pablo Gili Manzanaro como investigador principal.

Lo que firmo en Alcorcón, a 13 de octubre de 2014.


Comité Etico de Investigación Clínica
Fdo.: Dra. Ana Tato Ribera
Secretaria del CEIC del HUFA

Anexos

III. CONSENTIMIENTOS INFORMADOS.

III.A. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Apreciado/a Sr/a,

Se le invita a participar en un estudio sobre “Estudio de los polimorfismos genéticos asociados a la Degeneración Macular Asociada a la Edad Avanzada”

Es importante que entienda en qué consiste. **Por favor lea detenidamente este documento y haga a su médico todas las preguntas que le puedan surgir.**

Su participación es totalmente voluntaria.

Aunque inicialmente haya decidido participar en el estudio, usted puede retirarse en cualquier momento del estudio, para lo cual, solo lo tendrá que comunicar a su médico del estudio. A partir de ese momento, no se recopilarán nuevos datos, si bien, se seguirán utilizando los obtenidos hasta ese momento.

Es usted libre de aceptar o no la posibilidad de colaborar en este estudio sin que por ello se vea afectada su futura atención médica.

Objetivos del estudio

El objetivo de este estudio consiste en estudiar los factores genéticos asociados a la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) Avanzada.

La Degeneración Macular Asociada a La Edad (DMAE) es la causa más frecuente de ceguera legal en los países desarrollados en personas mayores de 55 años. Se trata de una afectación degenerativa y progresiva, que afecta a la calidad de vida de los pacientes. Se estima que en España hay más de 600.000 personas afectas de DMAE, y la prevalencia tiende a aumentar conforme aumenta la esperanza de vida.

La DMAE es una enfermedad compleja y de origen multifactorial, en la que intervienen factores genéticos y ambientales. El envejecimiento, el tabaco, el estrés oxidativo y la historia familiar se consideran factores de riesgo.

En el estudio se realizarán pruebas oftalmológicas habituales, pruebas diagnósticas, y estudio de muestra de marcadores genéticos realizando una muestra de la saliva.

Es posible que no obtenga ningún beneficio directo de este estudio, más allá de un estudio ocular completo.

Descripción del estudio:

Los procedimientos a realizar son los siguientes:

1. Estudio oftalmológico habitual:
 - a. Evaluación de su visión y de su graduación mediante los métodos habituales (auto-refractómetro y refracción subjetiva).
 - b. Evaluación ocular externa (polo anterior: córnea, conjuntiva, cristalino) mediante biomicroscopia.
 - c. Toma de presión intraocular por contacto, previa aplicación de colirio anestésico y con colorante amarillo (fluoresceína).
 - d. Evaluación de fondo de ojo previa aplicación de colirios midriáticos (dilatadores de la pupila).
2. Pruebas especiales:
 - a. Tomografía de coherencia óptica. Consiste en la toma de imágenes con este aparato del fondo de ojo en la misma consulta de oftalmología. Es similar a un escáner, pero sin ningún tipo de radiación.
 - b. Fotografías de fondo de ojo en color y empleando filtros. Se realizarán después de la dilatación pupilar.
 - c. Fotografías de fondo de ojo con inyección intravenosa previa de colorante/contraste (fluoresceína). Se utiliza para el diagnóstico de la DMAE exudativa.

3. Pruebas genéticas

La muestra de ADN se recoge frotando con intensidad el interior de ambas mejillas durante 20 segundos.

a) Riesgos de las pruebas generales:

- Frecuentes, pero leves: molestias oculares leves o moderadas por uso de colirios, aumento de la sensibilidad a la luz por la dilatación pupilar, leve ojo rojo.

- Graves, pero muy poco frecuentes: elevación de la presión intraocular tras dilatación pupilar, requieren evaluación por un oftalmólogo.

b) Riesgos de las pruebas especiales: inyección de contraste intravenoso (angiografía fluoresceínica)

- Leves-moderadas, frecuentes (1,5%): locales, derivadas de la inyección intravenosa (extravasación del colorante, tromboflebitis, hematomas...), generales (nauseas, vómitos, mareos, urticarias,etc).

- Graves, pero muy poco frecuentes (0,01%): reacciones adversas graves que van a precisar tratamiento de urgencia como convulsiones, edema de laringe, shock anafiláctico, infarto de miocardio o, excepcionalmente, parada cardiorrespiratoria (0,001%). Ningún procedimiento invasivo esta absolutamente exento de riesgos importantes, incluyendo el de mortalidad, si bien esta posibilidad es muy infrecuente.

c) Riesgos de pruebas genéticas: La toma de muestra no conlleva ningún riesgo, más allá de una leve molestia del frote en la mucosa bucal

Después de estas pruebas se recomienda evitar la conducción y el manejo de maquinaria y equipos que requieran buena agudeza visual. También se recomienda la utilización de gafas de protección solar.

Se recomienda acudir al oftalmólogo en caso de dolor intenso o pérdida de visión tras la exploración.

Confidencialidad:

Toda su información será tratada de forma estrictamente confidencial. Su identificación se realizará solamente por número. El tratamiento de los datos de carácter personal requeridos en este estudio se rige por la Ley Orgánica 15/1999, teniendo usted los derechos que la citada ley les reconoce. La información obtenida de este estudio no podrá ser revelada a ninguna persona sin su consentimiento por escrito, excepto a su médico y colaboradores, al promotor del estudio o sus representantes, a los comités éticos de investigación clínica de los hospitales dónde se está realizando el estudio y, en el caso que lo requieran, a las autoridades competentes de las comunidades autónomas.

Los expertos autorizados del promotor podrán supervisar la realización del estudio a través de la denominada monitorización o auditoría para que puedan confirmar que la información

recogida durante el estudio es exacta. Estos expertos, así como miembros de las autoridades, tienen el derecho de inspeccionar sus datos médicos originales (historia médica, datos de laboratorio, etc).

En la práctica, la transmisión de la información se hará de forma que no permita identificarle. Sus datos serán objeto de un tratamiento codificado, de modo que la información que se obtenga no pueda asociarse a persona identificada o identificable. Todos sus datos se mantendrán estrictamente confidenciales y exclusivamente su médico conocerá su identidad. Ningún dato personal que permita su identificación será accesible a ninguna persona que no sea su médico, ni podrán ser divulgados por ningún medio, conservando en todo momento la confidencialidad médico-paciente.

Los resultados obtenidos en este estudio se usarán para presentaciones o publicaciones científicas.

En el caso de que los resultados se publicasen, su nombre no será nunca mencionado. En dichas publicaciones o presentaciones se mantendrá la confidencialidad de los datos, de acuerdo con la Ley Orgánica de protección de datos de carácter personal 15/1999 de 13 de diciembre.

Debe saber que este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético y que se realizará cumpliendo la legislación europea y española vigente para este tipo de estudio.

Si desea hacer alguna pregunta o aclarar algún tema relacionado con el estudio o si precisa ayuda por cualquier problema de salud relacionado con este estudio, por favor no dude en ponerse en contacto con:

Dr:

Teléfono:

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO
para la participación en el estudio

**Estudio de los polimorfismos genéticos asociados a la
Degeneración Macular Asociada a la Edad Avanzada**

Nombre del paciente:

D.N.I:

Médico que informa:

Fecha:

DECLARACIONES Y FIRMAS

Declaro que:

El Dr me ha explicado de forma satisfactoria el objetivo del estudio titulado: ***Estudio de los polimorfismos genéticos asociados a la Degeneración Macular Asociada a la Edad Avanzada***

- He recibido información clara y a mi plena satisfacción sobre el proyecto en el que decido libremente participar y sobre cómo se mantendrá la confidencialidad. Sé que el estudio se realiza con fines de investigación y que soy libre de retirar este consentimiento en cualquier momento sin repercusión alguna sobre mi tratamiento.
- Estoy satisfecho con la información recibida, pudiendo formular todas las preguntas que he creído convenientes, siendo aclaradas todas mis dudas.
- En consecuencia, presto voluntariamente mi consentimiento para la participación en el estudio, pudiendo revocarlo en cualquier momento.

Firma del paciente y fecha

Firma del médico y fecha

IIIB. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL DEPÓSITO DE LAS MUESTRAS EN EL BIOBANCO.

IIIC. CONSENTIMIENTO INFORMADO ANGIOGRAFÍA

SOLICITUD DE INFORMACIÓN:

Deseo ser informado sobre mi enfermedad y la intervención que se me va a realizar: **Sí**
No

Deseo que la información de mi enfermedad e intervención le sea proporcionada a:

Cirugía de: **OJO DERECHO** **OJO IZQUIERDO**

DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO:

La **angiografía** fluoresceínica o con verde de indocianina es una prueba diagnóstica que nos aporta una información esencial sobre el estado circulatorio de la coroides y retina. Se inyecta el colorante en una vena del brazo, y se registra fotográficamente su paso por las arterias y venas oculares. Es normal que se produzca una coloración amarillenta de la piel y orina en las 24 a 48 horas posteriores a la inyección, pero no tiene consecuencia alguna sobre la salud del paciente.

BENEFICIOS DEL PROCEDIMIENTO:

Los beneficios que se espera conseguir con este procedimiento es conocer el estado circulatorio de las coroides y la retina.

RIESGOS GENERALES DEL PROCEDIMIENTO:

En algunos casos pueden aparecer **complicaciones** de tipo **leve** que se resuelven sin necesidad de tratamiento (nauseas, vómitos, picor o dolor en el punto de inyección), **moderadas** que en algunos casos requieren tratamiento (síncopes o mareos, erupciones cutáneas o flebitis) y

en casos muy excepcionales pueden producirse **graves** complicaciones (broncoespasmo, edema laríngeo o pulmonar, convulsiones, parálisis, shock, infarto de miocardio, que pueden dejar graves secuelas. Está descrita la muerte del paciente en aproximadamente 1 de cada 220.000 casos.

Declaraciones y firmas:

- DECLARO: Que he sido informado con antelación y de forma satisfactoria por el médico, del procedimiento (**Angiografía del ojo**) que se me va a realizar así como de sus riesgos y complicaciones.
- Que soy plenamente consciente de que no existen garantías absolutas de éxito.
- Que conozco y asumo los riesgos y/o secuelas que pudieran producirse por el procedimiento propiamente dicho, o por complicaciones del mismo, pese a que los médicos pongan todos los medios a su alcance.
- Que he leído y comprendido este escrito. Estoy satisfecho con la información recibida, he formulado todas las preguntas que he creído conveniente y me han aclarado todas las dudas planteadas, otorgando libremente mi consentimiento para que se me realice la intervención.
- También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto, con sólo comunicarlo al equipo médico mediante escrito.

Firma del médico que informa

Firma del paciente

Conozco mi derecho a renunciar expresamente y por escrito a ser informado de la cirugía.

Revocación del consentimiento:

D. /D^a: _____ con DNI: _____

REVOCO el consentimiento anteriormente dado para la realización de este procedimiento por voluntad propia, y asumo las consecuencias derivadas de ello en la evolución de la enfermedad que padezco / que padece el paciente.

Nombre y Firma del paciente

Fecha

IV. ACUERDO DE DEPÓSITO DE MUESTRAS EN EL BIOBANCO DEL HUFA

ACUERDO DE DEPÓSITO DE MUESTRAS EN EL BIOBANCO HUFA

(Espacio destinado para uso interno del BIOBANCO)

Referencia del Acuerdo:

Fecha de salida:

Referencia del proyecto:

INVESTIGADOR RESPONSABLE DE LA DONACIÓN DE MUESTRAS

Nombre y apellidos: Pablo Gili Manzanaro

Teléfono: 916219683. 9693

e-mail: pgili@fhalcorcon.es

ENTIDAD DE ORIGEN (HOSPITAL, UNIVERSIDAD, FUNDACIÓN, etc.)

Institución: Hospital Universitario Fundación Alcorcón

Departamento/Unidad: Unidad de Oftalmología

Persona de contacto: Pablo Gili Manzanaro

Dirección Postal: C/ Budapest. 1 28922 Alcorcón. Madrid

Teléfono: 91 6219683

e-mail: pgili@fhalcorcon.es

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN/COLECCIÓN

Nombre: **Estudio de los polimorfismos genéticos asociados a la Degeneración Macular Asociada a la Edad Avanzada**

Investigador principal/responsable: Pablo Gili Manzanaro

Responsable de la preparación de las muestras (si procede): Pablo Gili Manzanaro

Acuerdo entre EL INVESTIGADOR/A, Dr. Pablo Gili Manzanaro y D/D^a María Luisa Casas Losada, como Directora Científica del Biobanco del Hospital Universitario Fundación Alcorcón para el depósito de muestras de pacientes en el Biobanco, por el que se establece:

1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Es requisito legal e imprescindible según establece la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 y el RD 1416/20011 que, previa a la obtención de la muestra, los pacientes cuyas muestras biológicas vayan a ser depositadas en el Biobanco del Hospital Universitario Fundación Alcorcón hayan sido informados sobre el proyecto y hayan consentido por escrito en participar en el mismo y depositar sus muestras en un Biobanco. Para ello deben firmar el Consentimiento Informado redactado a tal efecto.

Es obligación y responsabilidad del investigador principal D. Pablo Gili Manzanaro el cumplimiento de esta premisa.

El documento de consentimiento para la obtención y archivo de las muestras debe conservarse siempre en la historia clínica del paciente y además en la documentación de la investigación o en el Biobanco y será custodiado por el centro y por el investigador que reclute el paciente o el Biobanco. En el caso que sea el investigador el custodio deberá proporcionar obligatoriamente una copia al Biobanco HUFA.

2. CONFIDENCIALIDAD

El Biobanco garantiza la preservación de la confidencialidad del donante en virtud de lo dispuesto en la LOPD 15/1999 y su RD 1720/2007 de 21 de diciembre.

Se garantiza la privacidad mediante codificación de las muestras biológicas y disociación de los datos, sin perder la trazabilidad de las mismas. La custodia de la asociación es responsabilidad del Biobanco o, en su caso, del Investigador principal lo que deberá reflejarse en este documento.

CUSTODIA CONFIDENCIALIDAD/TRAZABILIDAD DE LAS MUESTRAS

Entidad: Hospital Universitario Fundación Alcorcón

Investigador Principal o Biobanco HUFA: Investigador Principal

Datos de identificación del IP (*si procede*): Pablo Gili Manzanaro

3. DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS A DEPOSITAR

Detallar tipo de muestra y nº aproximado de la misma:

Muestras de DNA (extracción saliva)

192 casos (con DMAE avanzada) y 192 controles (sin DMAE)

4. CRONOGRAMA DE EXTRACCIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS

El IP y el Biobanco deben concertar un cronograma para la extracción y el envío de las muestras para su almacenamiento. En caso de que las muestras provengan de un centro externo, el Biobanco deberá ser avisado con anterioridad mediante correo electrónico a biobanco@fhalcorcon.es antes de cada envío.

Si procede se rellenará el siguiente cronograma: Extracción de muestras durante 18 meses (enero 2015 a junio 2016). Aproximadamente 25 muestras mensuales

MUESTRAS (<i>descripción y volumen</i>)	Cronograma de recogida de muestras									
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	...

5. ENVÍO DE DATOS ASOCIADOS A LA MUESTRA Y CONJUNTO MÍNIMO DE DATOS ASOCIADOS

Es imprescindible remitir junto con las muestras el registro de los datos asociados a las mismas, que se definan como “conjunto mínimo de datos” para este proyecto/colección. El Biobanco una vez comprobado este requisito las procesará y preservará según protocolo consensuado.

CONJUNTO MÍNIMO DE DATOS ASOCIADOS: DESCRIPCIÓN
Edad:
Sexo:
Raza:
NHC/ Número identificativo:
Apellidos, nombre (<i>opcional</i>):
Datos específicos (<i>detallar</i>):

6. POLÍTICA DE CALIDAD Y BIOSEGURIDAD

El Biobanco tiene como objetivo prioritario el aseguramiento de la calidad y la bioseguridad en todas sus actuaciones.

7. POLÍTICA DE AUTORÍAS

El investigador debe hacer mención al Biobanco HUFA en las publicaciones realizadas con el material procesado y/o almacenado en el mismo. El Biobanco debe figurar en los agradecimientos y en Material y Métodos de todas ellas.

Según el grado de participación del Biobanco podrá pactarse con el investigador la visibilidad del mismo a través de una política de autorías específica.

8. POLÍTICA DE PRIVACIDAD

El Biobanco es responsable del mantenimiento de la confidencialidad en todas sus actuaciones y de la firma del documento de confidencialidad de los trabajadores del mismo.

9. ELIMINACIÓN Y DESTRUCCIÓN DE LAS MUESTRAS DEL BIOBANCO

El Biobanco puede eliminar las muestras depositadas en las siguientes circunstancias:

1. Solicitud del paciente: por revocación de su cesión de material biológico.
2. Ausencia de datos asociados a la muestra o de la posibilidad de acceder a los mismos. El Biobanco una vez agotados todos los procedimientos y recursos, y previa aceptación del Comité Científico del Biobanco, informará al investigador responsable, de la inminente eliminación de las muestras depositadas.
3. Pérdida de confidencialidad en las muestras disociadas. En esta circunstancia, si se produjera incumplimiento de la LOPD por parte del investigador las muestras serán desechadas. El Biobanco requerirá la autorización previa al CEIC.
4. Causas técnicas que afecten a la calidad del material biológico almacenado. No derivándose, en este caso, responsabilidad alguna por estas circunstancias. Ante estos hechos, se elaborará un Documento de Incidencia y NO conformidad que será elaborado por el Director y por el Comité Técnico del Biobanco y presentado para su aprobación, a los Comités externos del mismo.

En consecuencia, manifiestan su acuerdo aceptando las responsabilidades de actuación que aquí se describen, firmando el presente documento, en prueba de dicha conformidad.

En Alcorcón, a 16 de enero de 2015

El investigador/a

Por el Biobanco



Dr. Pablo Gili Manzanaro

Dra. María Luisa Casas

Investigador Principal

Directora Científica del Biobanco

V. FIGURAS

Figura 1. Imagen en la que comparamos el tamaño de una drusa grande con el tamaño de la vena principal de la retina a nivel del margen del disco óptico. p51

Figura 2. Drusas medianas en polo posterior. p55

Figura 3. Drusas grandes confluentes en polo posterior. p55

Figura 4. DMAE geográfica sin afectación central. p57

Figura 5. DMAE geográfica con afectación central. p57

Figura 6. DMAE exudativa con hemorragia en área macular.p58

Figura 7. Rejilla de Amsler. p72

Figura 8. Retinografía en color en la que se pueden ver “manchas rojas” correspondientes a los pólipos y exudación lipídica circundante. p82

Figura 9. AFG en un paciente con diagnóstico confirmado de VCPI mediante AVI. Como se ve en la imagen, la AFG no resulta útil, ya que se limita a mostrar rezume mal definido. p83

Figura 10. AVI en la que podemos ver un pólipo en fondo de ojo de un paciente con diagnóstico de VCPI. p83

Figura 11. Retinografía en color de una VCPI, con su correspondencia en la OCT, imagen en la que podemos observar el desprendimiento cupuliforme del EPR, en forma de “dedo de guante” correspondiente al pólipo. p90

Figura 12. OCT con imagen hiperreflectiva situada encima del EPR correspondiente a la MNV tipo 2. p93

Figura 13. OCT en la que se aprecia LIR secundario a MNV activa, con su imagen en OCT-A como ramificaciones vasculares de pequeño calibre, coincidente con el material hiperreflectivo de la OCT. p93

Figura 14. OCT con alteraciones en EPR, ELP y MLE de la retina externa. p94

Figura 15. Imagen en la que podemos ver los diferentes estadios evolutivos de la RAP y su manifestación en OCT. p95

Figura 16. Optotipo ETDRS (escala LogMar). p129

Figura 17. Cámara de fondo Zeiss FF 450+ IR plus, incluida videocámara de color 3CCD: AVT ZK-S, y cámara en blanco y negro Kodak Megaplug 1. p132

Figura 18. Tomógrafo Cirrus OCT (Carls Zeiss Meditec, Inc, Dublin, CA, USA). p134

VI. TABLAS

Tabla 1. Clasificación clínica de la DMAE. p52

Tabla 2. Riesgo de conversión a DMAE avanzada según pauta AREDS. p53

Tabla 3. Cuadro comparativo de los diferentes tipos de MNV. p108

Tabla 4. Bases de datos con el número de artículos empleados de cada una. p122

Tabla 5. Clinical-Age-related Maculopathy Grading System (CARMS). p125

Tabla 6. Distribución de sexo y edad por grupo; valor p de significación estadística; Sexo (test de chi-cuadrado), edad (test T-student); DE (desviación estándar). p145

Tabla 7.1. Distribución de patología sistémica por grupos, y valor p de significación estadística (test de chi-cuadrado). p151

Tabla 7.2. Distribución de patología sistémica por grupos, y valor p de significación estadística (test de chi-cuadrado). 152

Tabla 8. Antecedentes oftalmológicos por grupo; valor p de significación estadística. p154

Tabla 9. Distribución de los SNPs por grupo de estudio (DMAE exudativa y grupo control). p159

Tabla 10. Comparación de los polimorfismos entre DMAE exudativa unilateral y bilateral. p162

Tabla 11. Comparación de los resultados de nuestro estudio con los resultados de bases de datos españolas y europeas. p162

Tabla 12. Análisis de la frecuencia de expresión de los SNPs. p168

Tabla 13. Estudios realizados sobre la asociación entre el gen CFH y su relación con la DMAE en pacientes españoles. p179

Tabla 14. Estudios realizados sobre la asociación entre el gen ARMS2 y su relación con la DMAE en pacientes españoles. p185

VII. GRÁFICOS

Gráfico 1. Flujo de pacientes del estudio. p143

Gráfico 2. Gráfico de caja y bigotes con representación de la edad por grupos. p144

Gráfico 3. Gráfico de barras en el que se observa la frecuencia de la patología sistémica según grupos. p150

Gráfico 4. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos AA/AG/GG. p160

Gráfico 5. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos GG/GT/TT. p160

Gráfico 6. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos CC/TC/TT. p161

Gráfico 7. Gráfico de barras en el que se representa la distribución de los SNPs por grupo en función de los alelos CC/CG/GG. p161

Gráfico 8. Comparación de nuestros resultados de los SNPs rs1047286, rs10490923, rs11200638, rs1410996 y rs641153 con los de bases de datos europeas en función de los alelos AA/AG/GG. p165

Gráfico 9. Comparación de nuestros resultados de los SNPs 10490924 y rs547154 con los de bases de datos europeas en función de los alelos GG/GT/TT. p165

Gráfico 10. Comparación de nuestros resultados de los SNPs rs1061170 y rs147859257 con los de bases de datos europeas en función de los alelos CC/TC/TT. p166

Gráfico 11. Comparación de nuestros resultados de los SNPs rs2230199, rs380390 y rs9332739 con los de bases de datos europeas en función de los alelos CC/CG/GG. p166

Gráfico 12. Diagrama en el que se presenta de manera esquemática el procedimiento empleado en este segundo estudio. p167

Gráfico 13. Media de la frecuencia de los SNPs alterados. p168

Gráfico 14. Vía patogénica del estrés y la inflamación, así como la implicación del gen HTRA1 en la DMAE. Inspirado en HTRA1 in Age-Related Macular Degeneration. Tsz Kin Ng et al. 2012. p182

