



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ASOCIACIÓN PARA EVITAR LA CEGUERA EN MÉXICO, I.A.P.
"HOSPITAL DR. LUIS SÁNCHEZ BULNES"

HALLAZGOS EN EL ELECTRORETINOGRAMA
MULTIFOCAL (ERGmf) POSTERIOR A LA
APLICACIÓN DE BEVACIZUMAB INTRAVÍTREO
(AVASTIN)

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

OFTALMOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. VICTORIA EUGENIA CUBAS LORENZO

ASESOR: DR. JUAN MANUEL JIMÉNEZ SIERRA



MÉXICO D.F., AGOSTO 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

PÁGINA

Resumen	1
Introducción	2
Justificación y Objetivo	5
Diseño experimental.....	6
Material y método	6
Resultados	8
Discusión	10
Conclusión	12
Anexo 1. Figuras	13
Anexo 2. Tablas	15
Referencias	17

RESUMEN

Introducción: Existen pocos trabajos en donde se reportan hallazgos electrofisiológicos posteriores a la aplicación de bevacizumab intravítreo en humanos. En este estudio el objetivo es determinar mediante electroretinograma multifocal (ERGmf) la seguridad y toxicidad a corto plazo de su uso.

Método: Fueron tratados con bevacizumab intravítreo (2.5mg/0.1cc) 31 ojos con diversa patología retiniana. Previo al tratamiento y un mes posterior a éste, a todos los pacientes se les realizó ERGmf.

La variable analizada fue la onda P1 tomando en cuenta la densidad, amplitud y el tiempo implícito de respuesta. Se compararon los registros del estudio basal y de 1 mes posterior al tratamiento.

Resultados: Los cambios observados en la respuesta electrofisiológica no fueron estadísticamente significativos encontrando una $p > 0.05$ en todas las variables analizadas.

Discusión: El uso de bevacizumab intravítreo se ha difundido sin evidencia clínica de seguridad. Existe evidencia de daño a células ganglionares y al epitelio pigmentario de la retina la cual no es medible con ERGmf.

Conclusiones: Los resultados sugieren que no hay cambios significativos a corto plazo en la respuesta electrofisiológica de la retina con el uso de bevacizumab intravítreo. Sin embargo, no es posible determinar la presencia de toxicidad retiniana mediante este estudio.

INTRODUCCIÓN

El proceso de angiogénesis es altamente complejo y está regulado por al menos 20 factores proangiogénicos, más de 30 factores antiangiogénicos, y diversos tipos celulares (1). En 1989 Ferrara y Plouet identificaron al factor de crecimiento vascular endotelial (vascular endotelial growth factor -VEGF-) como uno de los estimulantes más potentes para el crecimiento de los vasos sanguíneos; éste fue previamente aislado por Dvorak en 1983 y conocido como el factor de permeabilidad vascular.

Durante el desarrollo de la retina ocurre un proceso de neovascularización fisiológica en el cual nuevos vasos crecen del disco óptico hacia la periferia avascular de la retina; en la neovascularización patológica los nuevos vasos crecen hacia la cavidad vítrea (2).

El gen que codifica el VEGF se encuentra en el cromosoma 6p21.3. Existen 6 isoformas diferentes, VEGF₁₁₀, 121,144, 165, 189 y 206. Se ha demostrado que se encuentra involucrado en el desarrollo vascular normal, la ovulación y la angiogénesis, y que uno de los principales reguladores de su expresión es la hipoxia (1).

Existen múltiples enfermedades oculares en las cuales la angiogénesis juega un papel importante y se ha implicado al VEGF en su fisiopatología. Su antagonismo terapéutico ha resultado en inhibición de la neo vascularización a nivel retiniano y coroideo, así como en reducción de la permeabilidad vascular (3).

Los agentes anti-VEGF pueden ser usados para tratar tanto la neovascularización como padecimientos con fuga vascular. Dentro de estos medicamentos se encuentran el pegaptanib (MACUGEN[®]), ranibizumab (LUCENTIS[®]) y el bevacizumab (AVASTIN[®]), entre otros.

El bevacizumab (Genentech, Inc, South San Francisco, CA) es un anticuerpo monoclonal humanizado que actúa en contra de la molécula del VEGF de forma no selectiva (3,4). En un inicio fue usado de forma sistémica en el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) en su variedad húmeda. Varios efectos adversos han sido relacionados con su uso sistémico, algunos son hipertensión arterial sistémica, epistaxis, hemorragia gastrointestinal y eventos trombolíticos. Por esta razón, se ha usado de forma intravítrea en un intento por disminuir sus efectos secundarios sistémicos. Sin embargo, la presencia de toxicidad retiniana aún es una preocupación (5).

El electrorretinograma multifocal (ERGmf) es un método de diagnóstico electrofisiológico relativamente nuevo, fue introducido por primera vez por Sutter y Tran en el año de 1992. Esta técnica permite realizar una medición topográfica de la actividad electro fisiológica del polo posterior mediante el estímulo simultáneo de diferentes regiones de la retina (6).

Esté método ha sido utilizado para realizar una evaluación objetiva de la función retiniana en múltiples padecimientos, sin embargo aún se encuentra en desarrollo para su uso clínico y no se han establecido valores normales específicos; el origen de la respuesta registrada no es un potencial eléctrico directo, sino la extracción matemática de la señal recibida (6, 7, 8, 9).

El uso del ERGmf bajo el protocolo estándar (establecido por la International Society for Clinical Electrophysiology of Vision – ISCEV) refleja la respuesta fotópica de los 35° centrales de la retina, a estímulos luminosos rápidamente cambiantes (6). (Figura 1)

Generalmente en las enfermedades maculares se produce una depresión en el pico central de la onda de registro de la densidad de respuesta, la cual se encuentra también alterada en presencia de líquido subretiniano. Estudios previos también han demostrado que las capas internas de la retina contribuyen a la respuesta del ERGmf (10,11).

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

Actualmente existen pocos trabajos en los que se reportan los efectos secundarios tóxicos del bevacizumab sobre la función de la retina (5, 12, 13). En este estudio el objetivo es determinar mediante ERGmf la seguridad y toxicidad a corto plazo de su uso; describimos los hallazgos electrofisiológicos en pacientes con diferente patología retiniana quienes fueron tratados con 2.50 mg de bevacizumab intravítreo.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un estudio clínico prospectivo e intervencional. Los pacientes fueron reclutados en el Servicio de Retina de la Asociación Para Evitar la Ceguera en México, "Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes".

MATERIAL Y MÉTODO

Treinta y un ojos fueron incluidos en el estudio. Se discutieron las opciones terapéuticas con los pacientes y éstos firmaron un consentimiento informado. Posteriormente fueron tratados por diferentes patologías de retina con una inyección intravítrea de 0.1ml de bevacizumab (2.5 mg), 4mm posterior al limbo esclerocorneal en el cuadrante superotemporal en condiciones de antisepsia.

Se les realizó ERGmf previo al tratamiento y un mes posterior a la aplicación inicial de éste.

Para realizar el ERGmf se utilizó el protocolo descrito en las "Guías para eletrorretinografía multifocal clínica" de la ISCEV. Previo al estudio se indujo dilatación pupilar con gotas de tropicamida al 0.5% y fenilefrina al 0.5%; se adaptó a los pacientes a luz ambiente durante 15 minutos; el registro se llevo a cabo con electrodos corneales bipolares en lente de contacto Burién-Allen (Hansen Ophthalmic Laboratories, Iowa City, Iowa) mediante el sistema RETIscan (Roland Consult, Wiesbaden, Germany). Se utilizó un monitor con sesenta y un elementos hexagonales como estímulo con un punto de fijación central. (Figura 2)

La variable analizada fue la onda P1 tomando en cuenta la densidad, amplitud y el tiempo implícito de respuesta de los 5 anillos evaluados. (Figura 3, 4). Se compararon los registros del estudio basal y de un mes posterior al tratamiento. El análisis estadístico se llevo a cabo usando el sistema SPSS v. 11.0. y la prueba no paramétrica de Mann-Whitney/Wilcoxon; una p menor a 0.05 fue considerada como estadísticamente significativa.

RESULTADOS

Treinta y un ojos de 31 pacientes fueron incluidos en el estudio, 12 hombres (38.7%) y 19 mujeres (61.3%). Dentro de los diferentes diagnósticos se incluyeron 13 ojos (41.9%) con neo vascularización coroidea (NVC) y degeneración macular relacionada con la edad (DMRE), 6 (19.4%) con edema macular diabético, 2 (6.5%) con retinopatía diabética proliferativa (RDP), 1 (3.2%) con RDP fotocoagulada, 3 (9.7%) con NVC en miopía patológica, 3 (9.7%) con NVC idiopática, 2 (6.5%) con proceso oclusivo vascular y 1 (3.1%) con telangiectasia. (Tabla 1)

En cuanto al número de dosis de bevacizumab, 22 (71%) pacientes recibieron 1 dosis, 7 (22.6%) 2 dosis, y 2 pacientes (6.5%) 3 dosis. En 15 pacientes (48.4%) se inyectó el ojo derecho y en 16 (51.6%) el ojo izquierdo.

La densidad de respuesta de la onda P1 (nV/deg^2) no mostró cambios estadísticamente significativos en la sumatoria de respuesta y en los anillo 1, 2, 4, 5 ($p = 0.05$). En el anillo 3 se encontró una $p = 0.048$. (Tabla 2)

En la amplitud de respuesta de P1 (Amp P1 μV), no hubo una diferencia significativa ($p > 0.05$) en los anillos 1, 2, 4 y 5. En el anillo 3 se encontró una $p = 0.045$. (Tabla 3).

En el tiempo implícito de respuesta de P1 (ms) se encontró una p mayor a 0.05 en los 5 anillos (Tabla 4).

En el anillo 3 se encontró que para la densidad y amplitud de respuesta de P1 la p es estadísticamente significativa, sin embargo, este hallazgo no es clínicamente significativo. La sumatoria de la densidad de respuesta (similar a la

respuesta del electroretinograma estándar) no mostró cambios estadísticamente significativos.

Posterior al tratamiento no se encontraron efectos adversos secundarios, oculares ni sistémicos, en ninguno de los pacientes.

DISCUSIÓN

Existen pocos trabajos en donde se reportan los hallazgos electrofisiológicos posteriores a la aplicación en humanos de bevacizumab intravítreo y, a pesar de la falta de evidencia clínica, se ha difundido ampliamente su uso.

Manzano y Shahar describieron la ausencia de toxicidad ocular asociada a bevacizumab intravítreo en conejos (5, 13). En el 2006 Maturi et al, reportaron una serie de 9 pacientes con DMRE exudativa tratados con bevacizumab intravítreo, en 4 de ellos se realizó ERGmf previo y posterior al tratamiento y en 5 ERG estándar (ERGst); encontraron una mejoría en la respuesta macular del ERGmf posterior al tratamiento y sugieren que no hay toxicidad a los fotorreceptores medible en el ERGst a corto plazo (12). En el 2007 Pai et al. Reportan una serie de 21 pacientes con diferentes patologías de retina en quienes se aplicó 1.25mg de bevacizumab intravítreo, entre otros estudios a algunos de los pacientes se les realizó ERGst previo y 12 semanas después del tratamiento; reportan no haber observado deterioro de la respuesta electrofisiológica (14).

La inhibición del crecimiento de los vasos sanguíneos es actualmente una de las áreas de investigación con un rápido crecimiento dentro de la oftalmología.

Se ha observado que el bloqueo selectivo de la isoforma VEGF₁₆₅ resulta en inhibición de la adhesión leucocitaria y del proceso de neo vascularización patológica, sin embargo, la inhibición de todas sus isoformas suprime tanto la neo vascularización patológica como la fisiológica en tejidos sanos (2, 15).

Dentro de los fármacos actualmente utilizados para la inhibición del VEGF

encontramos el pegaptanib (MACUGEN®), ranibizumab (LUCENTIS®) y el bevacizumab (AVASTIN®) entre otros aún en investigación.

El pegaptanib es un antagonista selectivo del VEGF que actúa uniéndose a la isoforma 165 y su uso está indicado en la DMRE húmeda utilizando una dosis intravítrea de 0.3mg hasta cada 6 semanas. El ranibizumab es un anticuerpo monoclonal recombinante diseñado para uso intravítreo en DMRE húmeda; su acción la ejerce mediante la unión no selectiva al VEGF y la dosis recomendada es de 0.5mg una vez al mes (16). El bevacizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que actúa en contra de la molécula del VEGF. Su uso ha sido aprobado en Estados Unidos por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso intravenoso en combinación con 5-fluoracilo para el tratamiento del carcinoma colorrectal. A pesar de no estar aprobado para su uso intravítreo, se ha usado en el tratamiento de diversas patologías de retina. La dosis más comúnmente usada actualmente es de 1.25 mg (0.05 mL) hasta 2.50 mg (0.1 mL) (17).

Recientemente Nishijima y cols. evaluaron al VEGF-A como un neuroprotector importante en el sistema nervioso central y mostraron, en animales adultos, que la inhibición crónica de este factor conlleva a una pérdida significativa de células ganglionares de la retina. Estos hallazgos tienen implicaciones importantes tanto para patologías neurológicas como enfermedades vasculares oculares (como retinopatía diabética y DMRE) (18). Estas alteraciones no son medibles mediante estudios de electrofisiología.

CONCLUSIONES

A nuestro conocimiento, este corto estudio constituye la serie más grande a la fecha estudiada mediante ERGmf, la respuesta electrofisiológica de los pacientes no mostró cambios clínicamente ni estadísticamente significativos en la respuesta fotópica de los 30° centrales de visión.

Nuestros datos sugieren que el uso de bevacizumab intravítreo en una dosis de 2.5mg no parece ser tóxico a corto plazo para los fotorreceptores.

En cuanto a la valoración mediante ERGmf es importante señalar que esta es una técnica rápida y no invasiva que nos ofrece el beneficio de evaluar únicamente cambios en relación a mejoría o toxicidad que ocurran en el área central de la retina, sin embargo, no podemos valorar una respuesta generalizada de la retina.

No es posible determinar la presencia de toxicidad retiniana mediante este estudio, sin embargo, los resultados sugieren que no hay cambios significativos en la respuesta electrofisiológica de la retina a corto plazo con el uso de bevacizumab intravítreo.

Este estudio mostró varias limitaciones en las que se incluyen una muestra pequeña, un seguimiento corto y las propias del ERGmf como son la aún falta de datos de normalidad de respuesta de este método diagnóstico. Será importante realizar estudios a largo plazo y con muestras mayores para obtener nuevas conclusiones.

ANEXO 1. FIGURAS

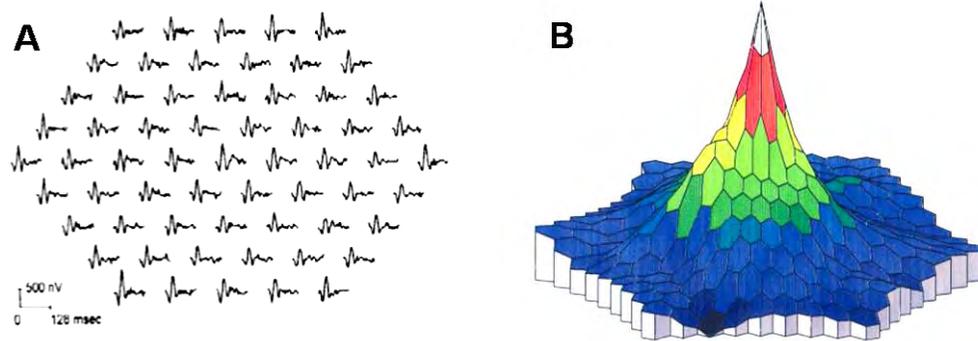


Figura 1. A. Ejemplo de registro del ERGmf en el que se utilizó un patrón de estímulo de 61 elementos. B. Respuesta representada en imagen topográfica en 3-D de imagen A.

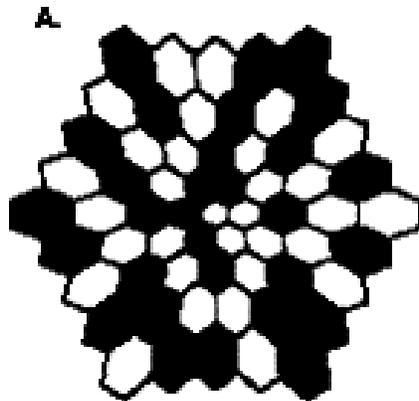


Figura 2. Patrón de estímulo hexagonal representativo del ERGmf con 61 elementos.

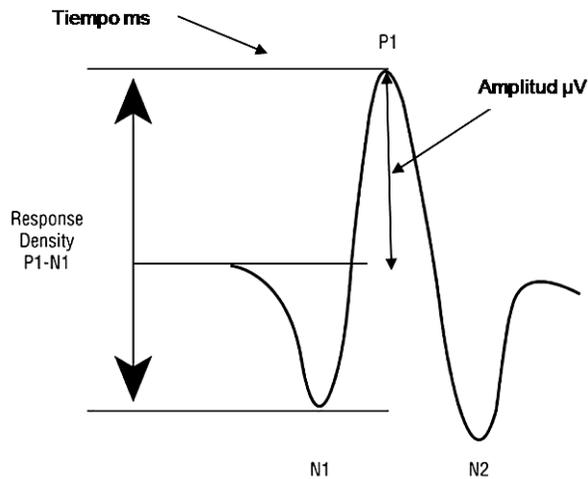


Figura 3. Diagrama de una respuesta del ERGmf en el cual se muestran las características principales de la onda de registro P1. Densidad (nV/deg²), amplitud (μV) y tiempo implícito (ms) de respuesta.

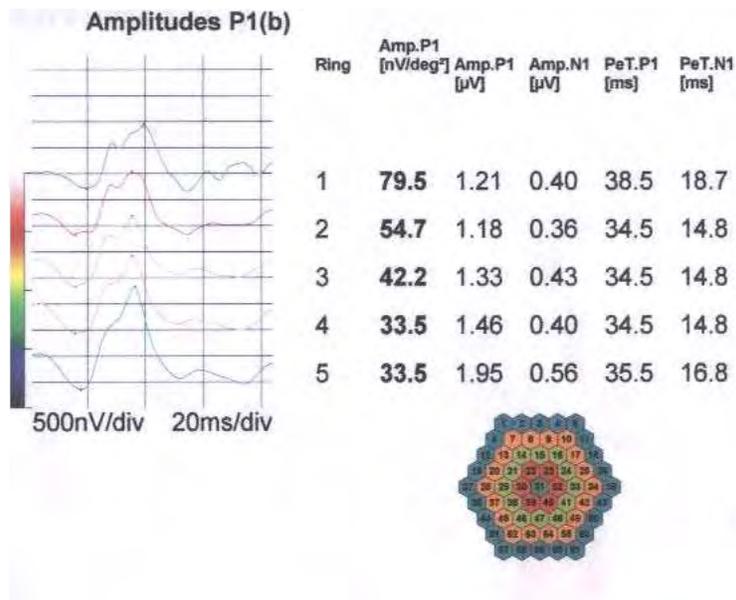


Figura 4. Esquema de valores para cada uno de los 5 anillos evaluados correspondientes a los 35° de visión central estimulados

ANEXO 2. TABLAS

Tabla 1. Patologías incluidas en el estudio y número de casos

Patología	Frecuencia	Porcentaje
NVC y DMRE	13	41.9
Edema macular diabético	6	19.4
RDP	2	6.5
RDP fotocoagulada	1	3.2
NVC en miopía patológica	3	9.7
NVC idiopática	2	9.7
Proceso oclusivo vascular	2	6.5
Telangiectasia	1	3.1
Total	31	100%

Tabla 2. Densidad de respuesta de P1 (nV/deg²) basal y un mes posterior al tratamiento

Anillo	Amp. P1 Basal	Amp. P1 al mes de tratamiento	p
1	4.015	3.798	0.533
2	2.639	2.585	0.787
3	2.246	2.016	0.048
4	1.877	1.803	0.384
5	1.814	1.691	0.092
Sumatoria	5.455	5.132	0.139

Tabla 3. Amplitud de respuesta de P1 (μV) basal y un mes posterior al tratamiento

Anillo	Amp. P1 Basal	Amp. P1 al mes de tratamiento	p
1	0.061	0.057	0.491
2	0.056	0.055	0.788
3	0.070	0.062	0.045
4	0.081	0.078	0.360
5	0.104	0.097	0.090

Tabla 4. Tiempo implícito de respuesta (ms) basal y un mes posterior al tratamiento

Anillo	PeT. P1 Basal	PeT. P1 al mes de tratamiento	P
1	38.590	39.065	0.822
2	38.906	39.077	0.807
3	37.274	38.694	0.177
4	36.832	37.452	0.564
5	36.448	37.645	0.268
Sumatoria	37.26	37.23	0.887

REFERENCIAS

1. Ferrara N. VEGF and the quest for tumor angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:795-803.
2. Tombran-Tink J, Barnstable C. *Ocular Angiogenesis*. Humana Press. Totowa, New Jersey 2006.
3. Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, et al. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:10457-10461.
4. Qaum T, Xu Q, Jousen AM, et al. VEGF-initiated blood retinal barrier breakdown in early diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42:2408-2413.
5. Shahar J, Avery RL, Heilweil G, et al. Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006;26:262-269.
6. Hood D, Bach M, et al. ISCEV Guidelines for clinical multifocal electroretinography (2007 edition). ISCEV: www.iscev.org.
7. Fortune B, Schneck ME, Adams AJ. Multifocal electroretinogram delays reveal local retinal dysfunction in early diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999 40:2638-2651.
8. Kretschmann U, Bock M, Gockeln R, Zrenner E. Clinical applications of multifocal electroretinography. *Doc Ophthalmol* 2000; 100:99-113.

9. Palmowski AM, Sutter EE, Bearse MA Jr, Fung W. Mapping of retinal function in diabetic retinopathy using the multifocal electroretinogram. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38:2586-2596.
10. Hood DC, Greenstein V, Frishman L, et al. Identifying inner retinal contributions to the human multifocal ERG. *Vision Res* 1999; 39:2285-2291.
11. Hood DC, Frishman LJ, Saszik S, Viswanathan S. Retinal origins of the primate multifocal ERG: implications for the human response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43:1673-1685.
12. Maturi et al. Electrophysiologic findings after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment. *Retina*. 2006 Mar; 26(3):270-4.
13. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M. Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006;26:257-261.
14. Pai et al. Clinical, anatomic, and electrophysiologic evaluation following intravitreal bevacizumab for macular edema in retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol*. 2007 Apr; 143(4):601-6.
15. Heiduschka P, Julien S, Hofmeister S et al. Bevacizumab (Avastin) does not harm retinal function after intravitreal injection as shown by electroretinography in adult mice. *Retina* 2008 Jan; 28(1):46-55.
16. Food and Drug Administration (FDA). www.fda.gov.
17. Bakri S, Snyder M, et al. Six-Month stability of bevacizumab (Avastin) binding to vascular endothelial growth factor after withdrawal into a syringe and refrigeration or freezing. *Retina* 2006; 26:519-522.
18. Nishijima K, Ng YS, Zhong L, et al. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury. *Am J Pathol*. 2007 Jul; 171(1):53-67.