



Fundació
La Marató de TV3

20^o SIMPOSIUM
Enfermedades neurodegenerativas



IMAGEN MOLECULAR DE LA RETINA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE MEDIANTE ESPECTROSCOPIA RAMAN

Elena Hernández Martínez de Lapiscina

IDIBAPS Institut d'Investigació Biomèdica August Pí i Sunyer

Pablo Loza Álvarez

ICFO - Institut de Ciències Fotòniques

1. Resumen

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria y neurodegenerativa que produce un daño significativo de la retina. En la actualidad, el curso clínico o la respuesta a la terapia son difíciles de definir y se desconocen muchos aspectos de su patogenia. Por dicha razón es extremadamente importante dilucidar los marcadores del pronóstico de la enfermedad y mejorar la comprensión de cómo se daña el tejido del SNC. Además, el desarrollo de terapias neuroprotectoras se ve obstaculizado debido a dificultades técnicas para estudiar el cerebro, en especial para abordar cambios moleculares que favorecerían una mejor comprensión de la patología de la EM y el desarrollo de nuevas terapias.

La retina forma parte del SNC y la inflamación de la retina y la neurodegeneración se manifiestan en la EM. La espectroscopia Raman (RS) es una técnica que identifica las propiedades químicas de las muestras debido a su capacidad para detectar frecuencias de vibración molecular que caracterizan a las especies moleculares. Hemos demostrado previamente la capacidad de RS para revelar cambios moleculares en roedores en respuesta a neuroinflamación. Nuestra propuesta tiene como objetivo evaluar los cambios moleculares en la retina *in vitro* y en pacientes con EM mediante RS. La identificación de firmas moleculares asociadas a la enfermedad y a diferentes fenotipos de EM (recaídas-remitentes frente a progresivos primarios, etc.) permitirá mejorar la comprensión de los cambios moleculares asociados a la enfermedad y desarrollar marcadores de imágenes como herramientas de pronóstico, así como obtener información que se utilizará para desarrollar nuevas terapias neuroprotectoras.

2. Resultados del Hospital Clínic de Barcelona

Reclutamos a pacientes con esclerosis múltiple, neuritis óptica aguda y sujetos sanos. Se tomó una imagen de todos estos participantes utilizando un espectrofotómetro Raman junto con un oftalmoscopio de barrido láser (RS-SLO). Además, los pacientes con esclerosis múltiple realizaron un examen neurológico, imágenes estructurales de la retina

mediante tomografía de coherencia óptica (OCT) y evaluación funcional de la vía visual aferente mediante potenciales evocados visuales multifocales (mfVEP).

Al usar RS-SLO, cuantificamos los siguientes metabolitos: N-acetil-aspartato (NAA), NADH, dinucleótido de flavina y adenina (FAD), citocromo C, glutamato y ácido glutámico, L-alfa-fosfatidilcolina (PhosCol) en todos los sujetos. Mediante el uso de SD-OCT, cuantificamos los grosores de la capa de fibra nerviosa retiniana peripapilar (pRNFL) y de las células ganglionares más la capa plexiforme interna (GCIPL). Usando mfVEP, estimamos la latencia (ms) de la conducción nerviosa desde la retina hasta la corteza visual primaria.

Se evaluó la firma Raman molecular de los siguientes fenotipos de EM:

1. CIS / RRMS vs. PMS (PPMS y SPMS). CIS / RRMS: pacientes con síndrome clínico aislado y pacientes con esclerosis múltiple remitente recurrente. PPMS / SPMS: pacientes con esclerosis múltiple progresiva primaria o secundaria progresiva.
2. Ojos con neuritis óptica previa *versus* ojos sin neuritis óptica previa.
3. RRMS con EM activa (basado en el seguimiento prospectivo de los 2 años anteriores y definido como presencia de, recaídas y 1 lesión potenciadora de gadolinio) *versus* pacientes estables (sin recaídas y sin lesiones Gad + anteriores 2 años).
4. RRMS con discapacidad (EDSS > 2.0) en comparación con pacientes sin discapacidad alta (EDSS < 2).

Comparamos las concentraciones moleculares mediante espectroscopia Raman con otros marcadores bien conocidos de lesión axonal (pRNFL y GCIPL por OCT) y daño de mielina (latencia en mfVEP).

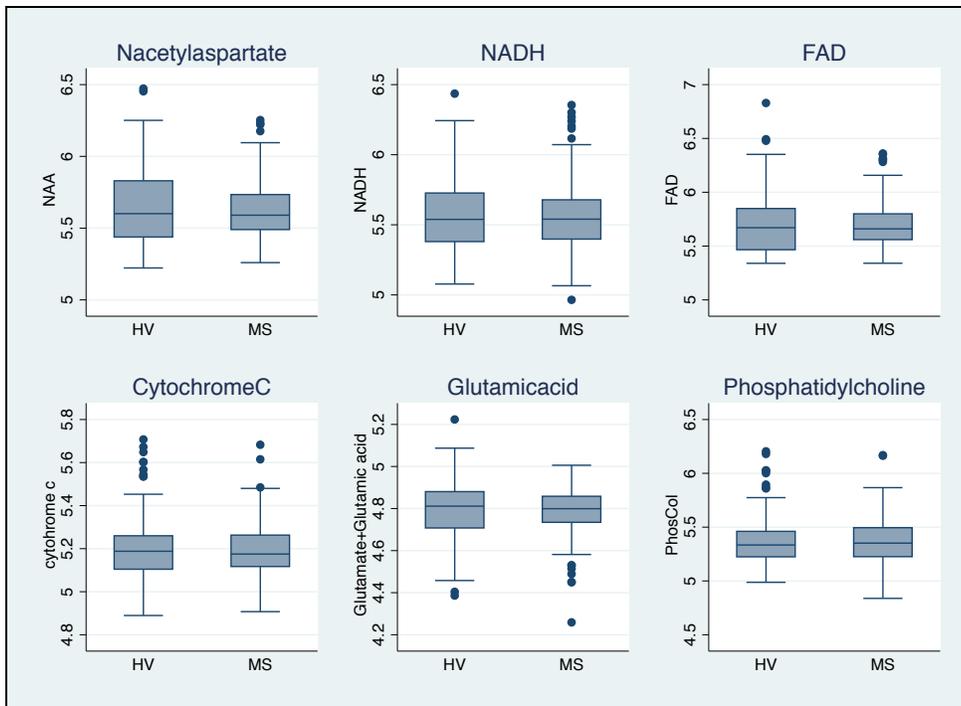
Metabolitos en pacientes con esclerosis múltiple y en sujetos sanos

Observamos que la concentración de NAA ajustada por sexo y edad fue menor en los ojos de los pacientes con EM que en el VH [Beta = -0,0181194 IC del 95% (-0,0349757 a -0,0012632); p-valor = 0,035] usando modelos de efectos mixtos para dar cuenta de la correlación entre los ojos. Ninguna otra molécula fue significativamente diferente entre los grupos:

Tabla 1. Descripción de la distribución de metabolitos en sujetos sanos y pacientes con EM

	Esclerosis múltiple n =270 ojos	Voluntarios sanos n =148 ojos
N-acetil-aspartato (NAA)	5,62 (0,19)	5,65 (0,27)
NADH	5,55 (0,23)	5,58 (0,28)
Dinucleótido de flavina y adenina (FAD)	5,70 (0,19)	5,71 (0,28)
Citocromo C	5,19 (0,12)	5,20 (0,15)
Glutamato y ácido glutámico	4,79 (0,10)	4,79 (0,13)
L-alfa-fosfatidilcolina	5,37 (0,21)	5,37 (0,22)

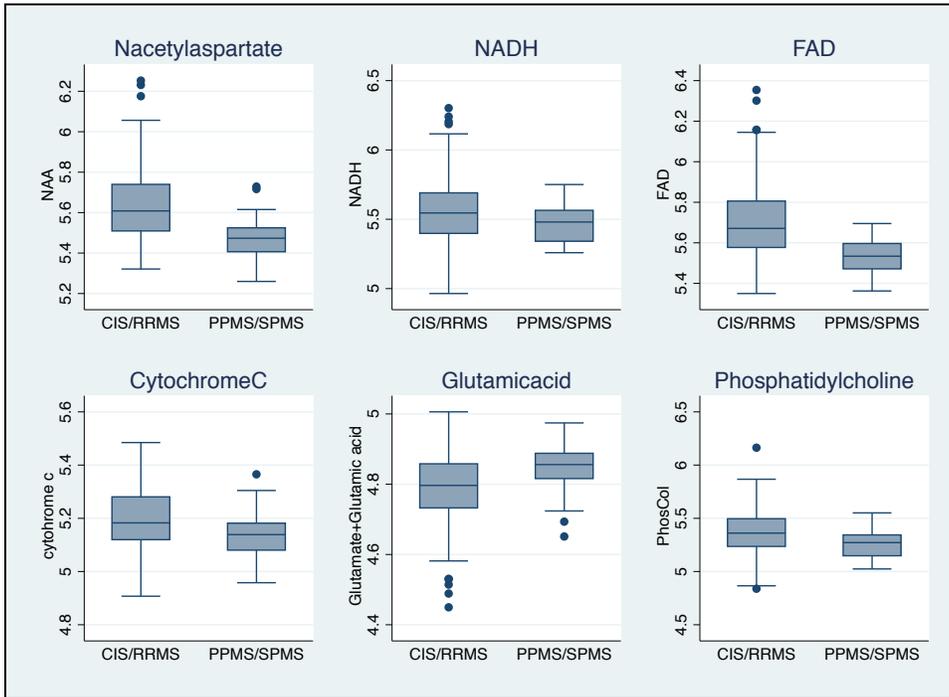
Figura 1. Descripción gráfica de la distribución de metabolitos en sujetos sanos y pacientes con EM.



Metabolitos en pacientes con esclerosis múltiple con diferentes fenotipos

No encontramos ninguna diferencia significativa en ningún metabolito en los fenotipos propuestos en los modelos de efectos mixtos que incluyen la edad y el sexo como covariables. La única variable significativa fue la edad en todos los modelos, que fue altamente significativa en todos los modelos.

Figura 2. Descripción gráfica de la distribución de metabolitos a través de diferentes fenotipos clínicos de EM.



CIS/RRMS: pacientes con síndrome clínico aislado y pacientes con esclerosis múltiple remitente.

PPMS/SPMS: pacientes con esclerosis múltiple progresiva primaria o secundaria progresiva.

Figura 3. Descripción gráfica de la distribución de metabolitos a través de los ojos con y sin ON.

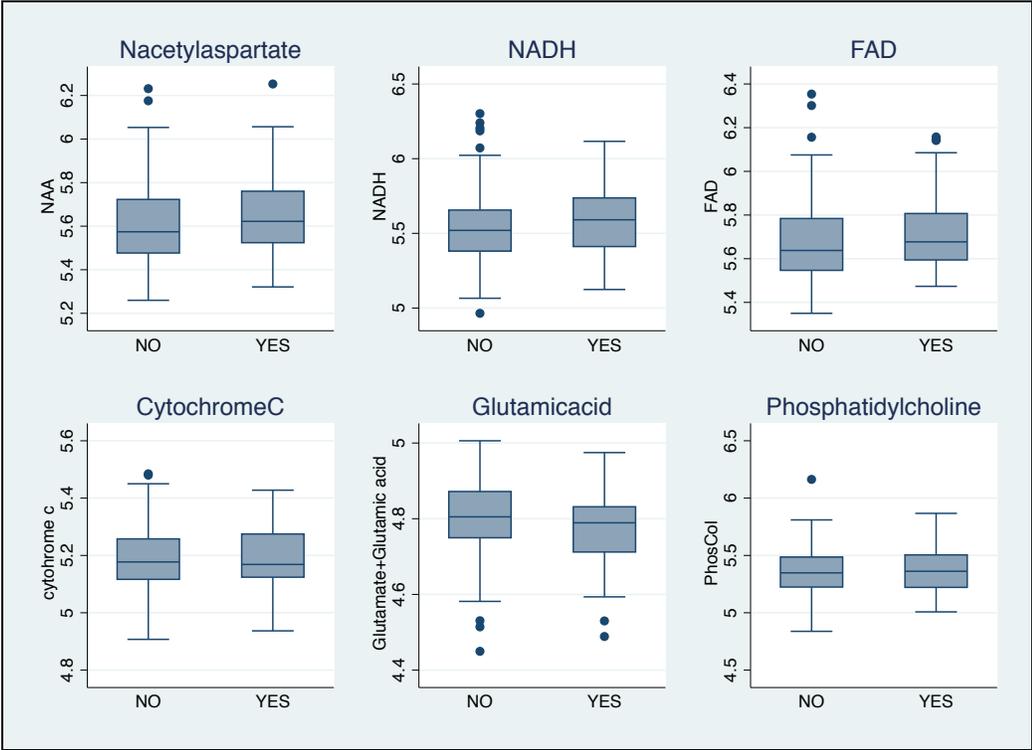


Figura 4. Descripción gráfica de la distribución de metabolitos a través de los ojos según la actividad de la enfermedad.

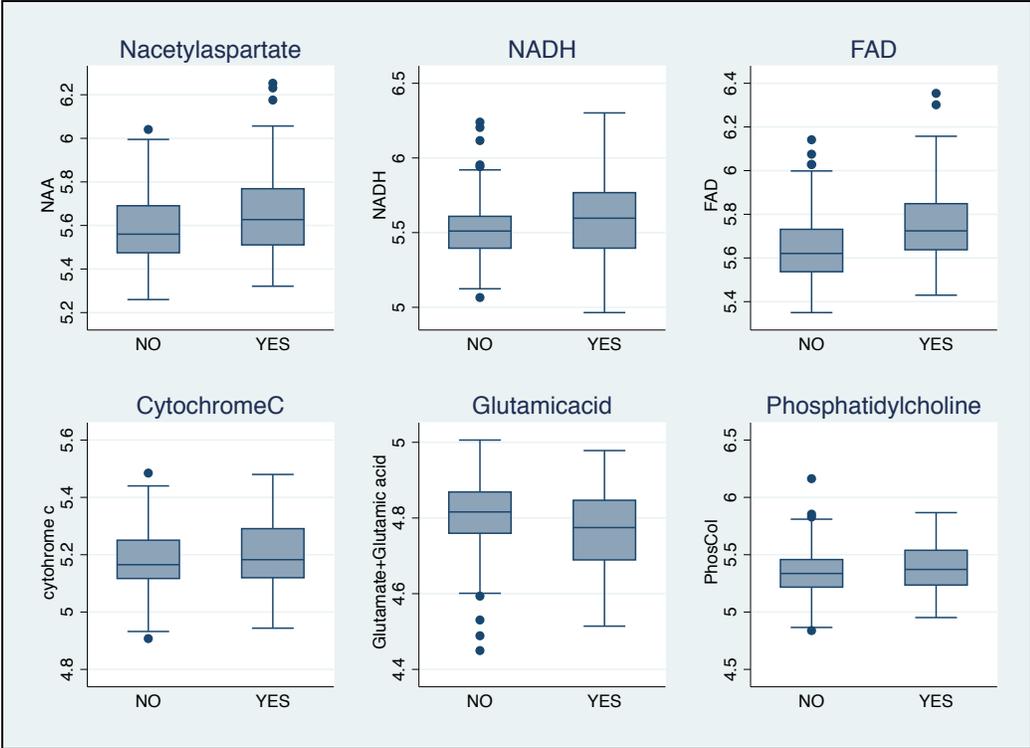
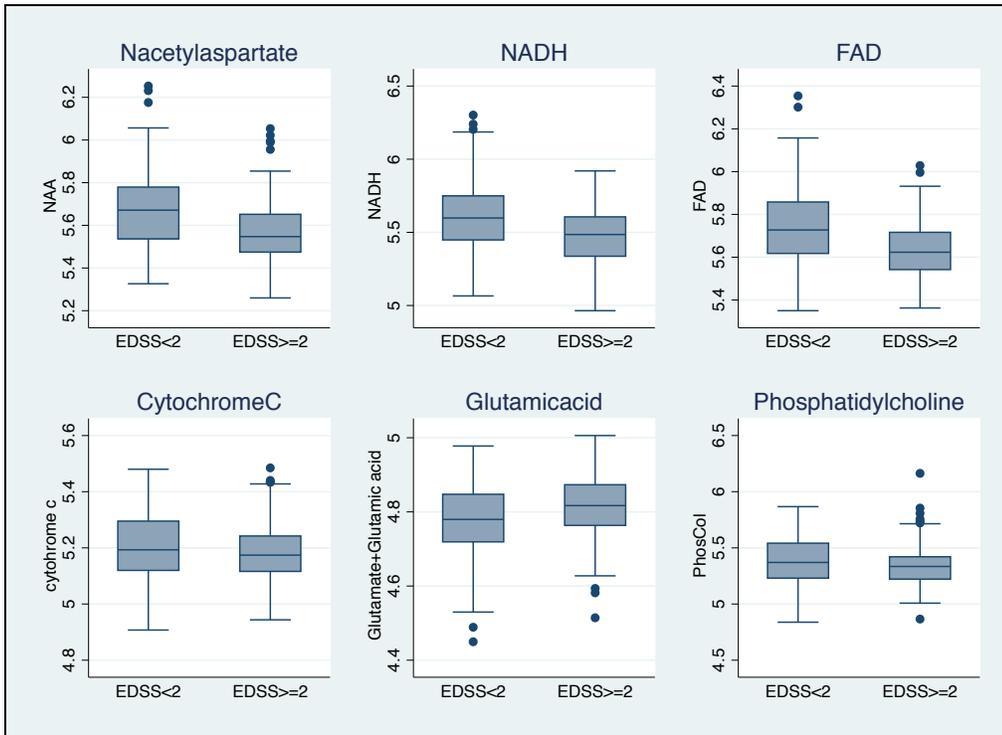


Figura 5. Descripción gráfica de la distribución de metabolitos a través de los ojos según la actividad de la enfermedad.



Relación entre la imagen molecular en retina y otros marcadores (OCT y mfVEP)

No encontramos ninguna asociación entre NAA y pRNFL y GCIPL (marcadores validados para lesión axonal) o entre L-alfa-fosfatidilcolina y latencia media de potenciales evocados visuales multifocales (marcador de conducción nerviosa, remielinización).

Figura 6. Descripción gráfica de la asociación entre los niveles de pRNFL y GCIPL y NAA.

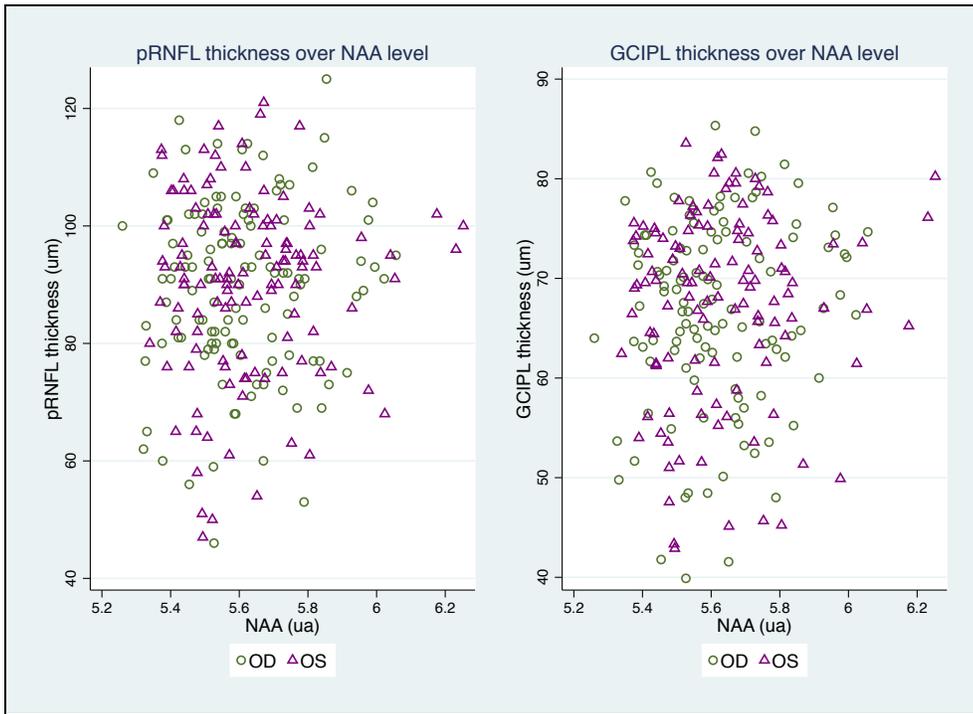
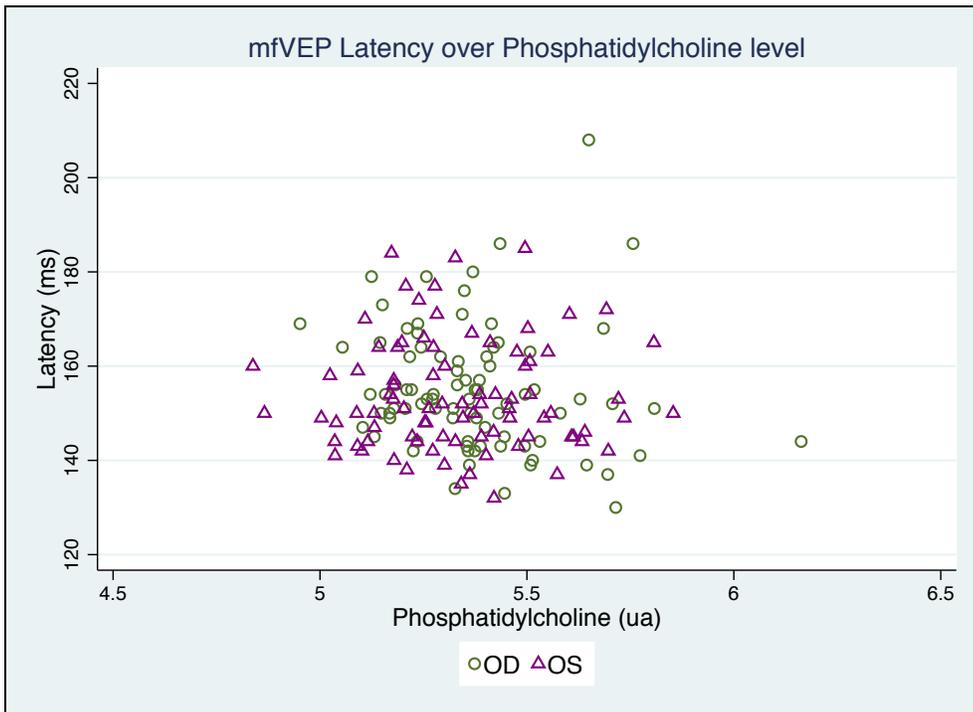


Figura 7. Descripción gráfica de la asociación entre mfVEP (latencia) y niveles de fosfatidilcolina.



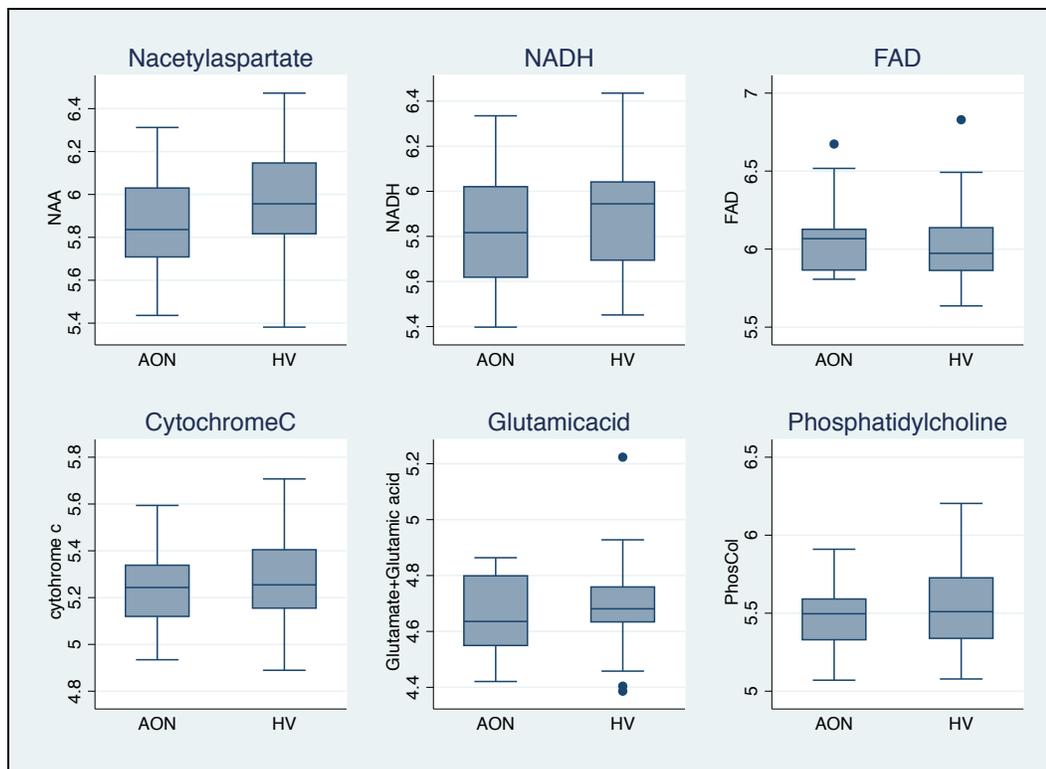
Metabolitos en pacientes con neuritis óptica aguda incidente

No encontramos ninguna diferencia significativa en los ojos con daño agudo y voluntarios sanos.

Tabla 2. Descripción de la distribución de los metabolitos en sujetos sanos y pacientes con neuritis óptica aguda.

	Neuritis óptica aguda n= 21 ojos	Voluntarios sanos n= 44 ojos
N-acetil-aspartato (NAA)	5,89 (0,24)	5,95 (0,24)
NADH	5,83 (0,27)	5,88 (0,23)
Dinucleótido de flavina y adenina (FAD)	6,06 (0,24)	6,03 (0,23)
Citocromo C	5,24 (0,15)	5,29 (0,20)
Glutamato y ácido glutámico	4,65 (0,13)	4,69 (0,14)
L-alfa-fosfatidilcolina	5,47 (0,24)	5,54 (0,28)

Figura 8. Descripción gráfica de la distribución de metabolitos en sujetos sanos y pacientes con AON.



3. Relevancia e implicaciones futuras

Aunque hubo una leve diferencia en el NAA de EM y los sujetos sanos, ninguno de los metabolitos se asoció con marcadores clínicos validados (EDSS, duración de la enfermedad), OCT (GCIPL, pRNFL) o mfVEP (latencia). Estos resultados sugieren que esta tecnología no es útil para monitorizar la EM.

4. Bibliografía científica generada

No hay publicaciones.