

RETINA

1. Pruebas diagnósticas. Imagen multimodal

1.3

Autofluorescencia de fondo de ojo

Júlia Boldú-Roig¹, Roberto Gallego-Pinazo²

1 Médico Interno Residente de Oftalmología. Consorcio Hospitalario Provincial de Castellón.

2 Unidad de Mácula, Clínica Oftalvist, Valencia.



RESUMEN

La lipofuscina es el principal fluoróforo de la autofluorescencia y proviene de la degradación incompleta de los segmentos externos de los fotorreceptores por parte del EPR.

La AF es una técnica de exploración sencilla, rápida, barata, no invasiva, que proporciona información del EPR no sólo de un punto de vista anatómico sino también funcional. Una ventaja que presenta sobre la AGF es que no necesita la inyección de contrastes intravenosos.

Es especialmente útil para diagnosticar enfermedades con afectación del EPR meramente morfológica, en contraposición con aquellas enfermedades con un componente vascular/exudativo. Así, la atrofia del EPR y los acúmulos anormales de lipofuscina son muy bien delimitados por la AF. Esto concuerda con los buenos resultados de los últimos estudios para la clasificación de la atrofia geográfica en la DMAE y las distrofias maculares.

A pesar de ello, deben tenerse en cuenta varias limitaciones para las imágenes de AF, especialmente la opacificación del cristalino.

INTRODUCCIÓN

El epitelio pigmentario de la retina (EPR) es la capa más externa de la retina, en contacto con la membrana de Bruch y la coroides en su polo basal y con los fotorreceptores en su polo apical (1). Se trata de una monocapa de células cuboidales hexagonales de aproximadamente 16 micras de diámetro. En la mácula estas células son más altas y densas que en la periferia (2).

Las células del EPR se relacionan con los fotorreceptores mediante vellosidades apicales que abrazan el segmento externo de éstos, encontrándose además unidas entre ellas a nivel de su pared lateral, formando la barrera hematorretiniana externa (1). La densidad de células del EPR es proporcional al número de fotorreceptores, de modo que por cada 45 fotorreceptores se encuentra una célula del EPR (1).

La estimulación lumínica de los fluoróforos alojados en los discos de los segmentos externos de los fotorreceptores, induce la división de los mismos en sus dos componentes: cromóforo y proteína (3). Una de las funciones principales del EPR consiste en reciclar los constituyentes de los fluoróforos para obtener de nuevo el fotopigmento y reintegrarlo posteriormente a los fotorreceptores (3).

Asimismo, el EPR es el encargado de fagocitar los restos no reciclables desprendidos de los fotorreceptores, siendo degradados por parte de los lisosomas y finalmente eliminados a través de los capilares coroides. Esta función sigue un ritmo circadiano, ya que los bastones sueltan sus discos al amanecer y, en cambio, los conos al anochecer. De esta manera, en un día el EPR digiere unos 100 discos y la renovación completa de los segmentos externos de los fotorreceptores suele tardar unas dos semanas (4).

Esta digestión es altamente eficaz, sin embargo, con el paso del tiempo este sistema pierde eficacia, produciéndose un acúmulo de estos materiales de desecho en el interior de las células del EPR formando gránulos de lipofuscina, y en la membrana de Bruch dando lugar a las drusas (2).

LIPOFUSCINA

La lipofuscina es un complejo lípido-proteína que se acumula en el compartimento lisosomal de las células postmitóticas y metabólicamente activas de todo el cuerpo (5). En la retina, su presencia proviene de la degradación incompleta de los segmentos externos de los fotorreceptores que contienen lípidos, proteínas y fluoróforos (5-2).

Habitualmente, la lipofuscina absorbe luz azul con una longitud de onda de excitación de 470 nm y emite luz amarillo-verde con una longitud de onda de 600-610 nm. Sus propiedades autofluorescente derivan de los productos metabólicos de la vitamina A y el ciclo visual (6).

Recientemente se ha señalado la alta toxicidad del fluoróforo principal de la lipofuscina, el N-retinil etanolamina o A2E. Tal como indica su nombre, el A2E está formado por 2 moléculas de aldehído de vitamina A (todo-trans-retinal) y 1 molécula de etanolamina (5). Al ser irradiado con luz visible, genera sustancias reactivas de oxígeno capaces de inducir la alteración de proteínas, lípidos y ADN; la estimulación de la apoptosis y finalmente la atrofia del EPR (6). Sin embargo, otros estudios sugieren que el A2E puede tener un efecto protector sobre la retina, ya que genera especies de oxígeno único mucho menos tóxicas que su precursor todo-trans-retinal, y por tanto su conversión protegería la retina (6).

La autofluorescencia permite el estudio funcional del EPR, ya que analiza in vivo la lipofuscina acumulada en este (5).

Otros fluoróforos de la retina

Además de la lipofuscina, encontramos otros compuestos fluoróforos en la retina en menor cantidad (6).

Las *lesiones viteliformes* son fluoróforos extracelulares que se acumulan debido a la disfunción del EPR y la pérdida de aposición de las puntas de los fotorreceptores.

Las *drusas del nervio óptico* son depósitos extracelulares mitocondriales que si se encuentran muy superficiales pueden producir un aumento de la autofluorescencia.

La *melanina* es un pigmento ocular que se distribuye principalmente en la fóvea, mácula y periferia. Esta, a diferencia de la lipofuscina, tiene un pico de excitación a una longitud de onda más larga de 787 nm. En la autofluorescencia convencional, la melanina absorbe el haz de excitación de onda corta, disminuyendo la señal autofluorescente.

La *rodopsina* es un pigmento visual concentrado en los segmentos externos de los bastones que absorbe la luz de excitación y disminuye la autofluorescencia. Sin embar-

go, con la exposición a la luz continuada pierde su capacidad de absorción de luz, lo que resulta en un aumento progresivo de la señal, denominado photobleaching.

AUTOFLUORESCENCIA

La autofluorescencia (AF) es una propiedad intrínseca de ciertos materiales caracterizada por la absorción de luz de una longitud de onda determinada y emitirla en una longitud de onda superior. Diversos tejidos y estructuras oculares, incluido el EPR están compuestos por biomoléculas con esta propiedad. Existen dos técnicas para la obtención de la AF: la AF de longitud de onda corta o AF-LOC y la AF de longitud de onda larga, cercano al infrarrojo o AF-LOCIR. Ambas se obtienen de forma rápida y no invasiva.

La AF de longitud de onda corta (AF-LOC) puede realizarse mediante oftalmoscopia de barrido con láser confocal (SLO) o mediante una cámara de fondo haciendo uso de los filtros diseñados por Spaide. En el caso de SLO se emplea una fuente láser argón «azul» con una longitud de onda de excitación a 488 nm, combinada con un filtro de barrera a >500 nm, para discriminar entre luz emitida hacia la retina (488 nm) y luz reflejada por esta (500-750 nm). Por otro lado, en la cámara fotográfica se emplea una longitud de onda de excitación a 500-610nm y un filtro de barrera a 675-715 nm. El origen de la AF-LOC se atribuye al pigmento A2E contenido en la lipofuscina (7).

La AF de longitud de onda larga cercana al infrarrojo (AF-LOCIR) se obtiene mediante el sistema SLO utilizando una longitud de onda de excitación a 787nm y un filtro de barrera a 800nm. El fluoróforo que se estimula principalmente en este tipo de AF es la melanina.

Por tanto, con la AF-LOC observamos la distribución de la lipofuscina y con la AF-LOCIR la distribución de la melanina. En la actualidad la mayoría de los angiógrafos comerciales trabajan utilizando la banda de onda corta (AF-LOC) como herramienta diagnóstica para estudiar los diferentes patrones de acumulación de lipofuscina en la retina, por lo que nos centraremos en esta.

PATRÓN NORMAL DE AUTOFLUORESCENCIA OCULAR

La AF-LOC en el fondo de ojo normal muestra resultados que se correlacionan con los hallazgos histológicos encontrados sobre la distribución habitual de lipofuscina en la retina; la densidad es alta en el área parafoveal y desciende progresivamente en la periferia (8). Sigue un patrón granular gris con ausencia completa de señal en la cabeza del nervio óptico y los vasos retinianos de manera natural. El cristalino también conlleva a ausencia de señal, ya que absorbe la luz de excitación, especialmente cuando evoluciona a catarata. No obstante, a nivel foveal, la presencia de otros pigmentos maculares como la luteína, la zeaxantina y la melanina que absorben la luz a 488 nm, ejerce un fenómeno máscara para la lipofuscina dando lugar a una disminución de la señal autofluorescente a ese nivel. Por tanto, la AF-LOCIR se muestra más útil para el estudio del área foveal (3-9).

SIGNOS BÁSICOS DE LA AUTOFLUORESCENCIA

Las lesiones pueden clasificarse en hiperautofluorescente, hipoautofluorescentes o isoautofluorescente (6). Se trata de fenómenos patológicos que pueden ocurrir en diversas patologías de la retina y que se resumen en la (fig. 1) (6,8,10).



Figura 1: Comportamiento típico en la imagen de autofluorescencia de las distintas enfermedades de la retina.

La hiperautofluorescencia implica principalmente un acúmulo anormal de lipofuscina, ya sea debido a un aumento del metabolismo de los segmentos externos de los fotorreceptores, o bien a una incapacidad por parte del EPR para reciclar los metabolitos. Con menor frecuencia se debe a un efecto ventana, por la pérdida de rodopsina y otros pigmentos lúteos. También se produce por acúmulo de material viteliforme o drusas. En otras ocasiones, puede deberse al desenmascaramiento de la AF por disrupción de las capas hiperreflectivas de la retina externa, siendo habitualmente transitoria. Igualmente, **los artefactos de «photobleaching»** aparecen por la estimulación lumínica previa de los fotopigmentos (especialmente la rodopsina) que se produce al cambiar el campo de análisis de una región menor que la siguiente, adquiriendo la forma exacta de la primera captura; o bien por la propia referencia de fijación, adquiriendo forma de cruz (10).

La hipoautofluorescencia puede deberse a una reducción o ausencia de lipofuscina o bien al bloqueo por material anterior al EPR (6-3).

PATRONES DE AUTOFLUORESCENCIA CARACTERÍSTICOS EN ENFERMEDADES RETINIANAS

En determinadas enfermedades oculares pueden identificarse patrones de AF característicos, cuyo reconocimiento y análisis es esencial:

Atrofia geográfica. Presenta un patrón hipoautofluorescente muy marcado, con o sin presencia de un área hiperautofluorescente perilesional de distintas intensidades y apariencias (fig. 2) (10).

Patología miópica. En la forma atrófica destacamos las estrías de laca que se muestran con una hipoautofluorescencia lineal y la atrofia parcheada. En la forma neovascular, la AF nos ayuda a distinguir entre las hemorragias espontáneas y las secundarias a NVC, ya que en estas últimas se aprecian cambios hiperautofluorescentes. Finalmente, en la forma traccional, los desprendimientos maculares presentan una hipoautofluorescencia asociada a una hiperautofluorescencia coincidente con el agujero macular (7).

Coroiditis y retinitis. Algunas uveítis posteriores como las coroiditis multifocales muestran pequeñas lesiones multifocales atróficas pigmentadas hipoautofluorescentes con bordes hiperautofluorescentes (10). En el caso de inflamaciones agudas que afecten

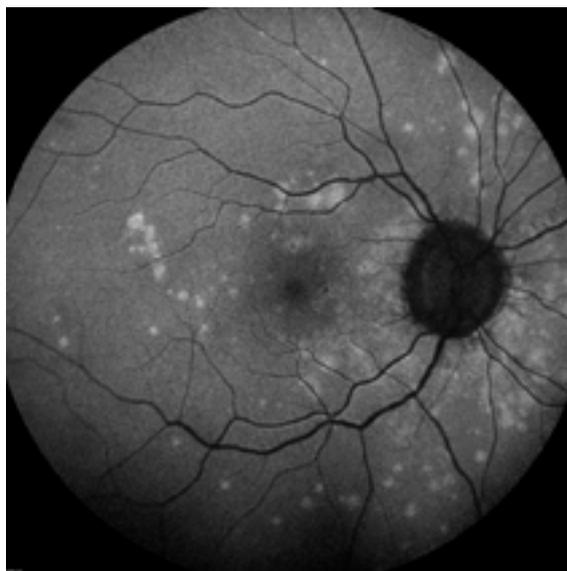


Figura 2: Autofluorescencia de fondo de ojo en paciente con degeneración macular asociada a la edad atrófica. Las lesiones de atrofia del EPR aparecen hipoautofluorescentes, mientras que el límite de éstas presentan un patrón irregular de hiperautofluorescencia.

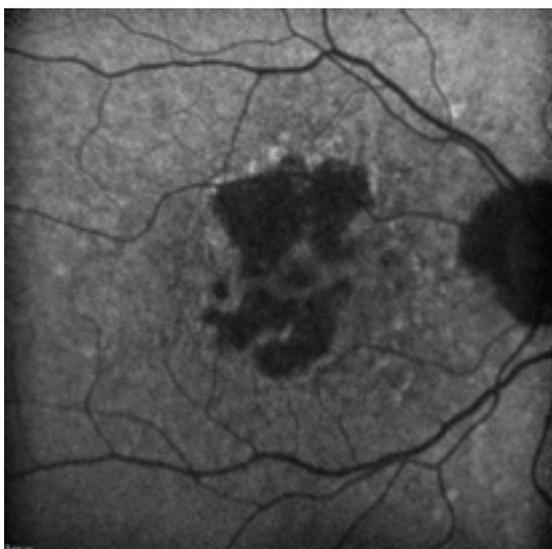


Figura 3: Autofluorescencia de fondo de ojo en una paciente con episodio agudo de coroiditis multifocal. Las zonas de hiperautofluorescencia son debidas a hipetransmisión por disrupción de las capas hiperreflectivas de la retina externa.

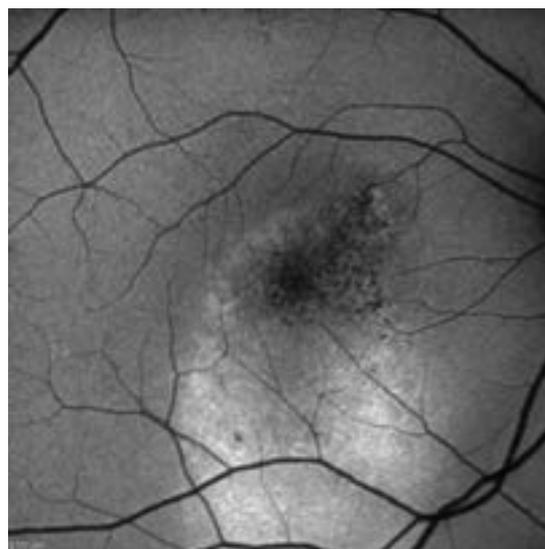


Figura 4: Autofluorescencia de fondo de ojo en una paciente con coroidopatía serosa central crónica. Se observa el moteado hiperautofluoreste gravitacional característicos de la enfermedad.

a los fotorreceptores puede existir hiperautofluorescencia sectorial transitoria (fig. 3). Asimismo, la degeneración trizonal es característica de la retinopatía aguda oculta externa zonal (10).

Coroidopatía serosa central (CSC). En las formas agudas el 96% de los casos muestran hipoafluorescencia correspondiente al sitio de fuga en la AGF. En las formas crónicas inactivas es característica una hiperautofluorescencia moteada. Finalmente, la CSC crónica activa muestra regueros gravitacionales hipoafluorescentes de fluido subretiniano y, en ocasiones, realce de los márgenes en las lesiones activas (fig. 4) (6).

Distrofias corioretinianas. La *Retinitis pigmentosa (RP)* exhibe el típico anillo característico hiperautofluorescente parafoveal con hipoafluorescencia periférica (10). Podemos encontrar imágenes similares en la amaurosis congénita de Leber, la enfermedad de Best, la distrofia de conos y bastones y la retinosquiasis ligada al cromosoma X. La *Enfermedad de Stargardt* muestra inicialmente spots de hiper e hipoafluorescencia perifoveales. Más adelante aparecen flecks con morfología «en cola de pez» hiperautofluorescentes rodeando el área de atrofia geográfica y finalmente hipoafluorescencia intensa por atrofia total del EPR macular y foveal (fig. 5) (10,11).

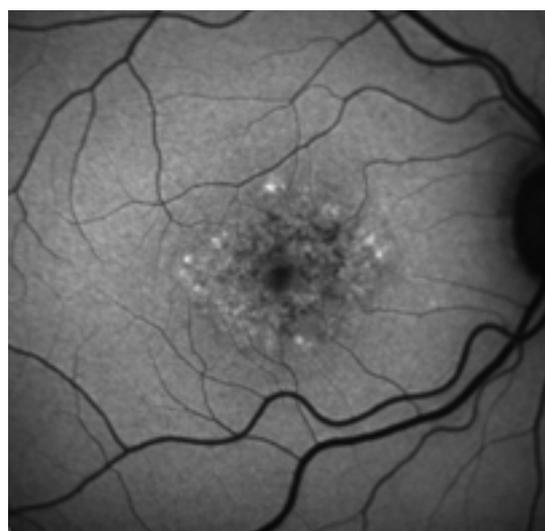


Figura 5: Autofluorescencia de fondo de ojo en una paciente con enfermedad de Stargardt. Se observan los cambios característicos de esta enfermedad en su patrón de inicio tardío.

BIBLIOGRAFÍA

1. Levine L, Goldstein M, Katowitz W. Fundamentals and principles of ophthalmology. Section 2. San Francisco, CA. American Academy of Ophthalmology, 2015: 271-279.
2. American Academy of Ophthalmology. Basic And Clinical Science Course, Section 12: Retina and vitreous. San Francisco, 2016: 33-40.
3. Fernández-Martínez, C, Martínez-Toldos J, Almiñana-Almiñana A, et al. Actualización en autofluorescencia retiniana. Revista de actualización Thea información. 2013.
4. Yannof M, Duker J. Ophthalmology. 4th Edition. Elsevier, 2014: 423-426.
5. Holz F, Spaide R, Bird A, et al. Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging Springer, Berlin, Heidelberg. Lipofuscin of the Retinal Pigment Epithelium, 2007: 3-16.
6. Yung M, Klufas M, Sarraf D. Clinical applications of fundus autofluorescence in retinal disease. International Journal of Retina and Vitreous. 2016.
7. Ruiz Moreno J, Arias Barquet L, Gómez-Ulla de Irazazábal F et al. Patología retiniana en alta miopía. Sociedad Española de Oftalmología, 2015.
8. Armadá-Maresca F, Pastora-Salvador N, Grabowska A, Manzano B, Romero Martín R. Autofluorescencia en la exploración retiniana. Sociedad Oftalmológica de Madrid, 2010.
9. Smith R, Koniarek J, Chan J, Nagasaki T, Sparrow J, et al. Autofluorescence Characteristics of Normal Foveas and Reconstruction of Foveal Autofluorescence from Limited Data Subsets. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2005.
10. Manual de imagen multimodal en retina. Club español de la mácula (CEM). Elsevier, 2018.
11. Boon C, Jeroen Klevering B, Keunen, et al. Fundus autofluorescence imaging of retinal dystrophies. Vision Research, 2008: 2569-2577.

PREGUNTA TIPO TEST

(pulse en la flecha para comprobar las respuestas)

1. Señale de entre la siguientes, las lesiones o alteraciones que pueden producir hiperautofluorescencia de fondo de ojo

- a) Depósitos de lipofuscina.
- b) Lesiones viteliformes adquiridas.
- c) Disrupciones del epitelio pigmentario de la retina.
- d) Drusas del nervio óptico.
- e) Disrupciones de la retina externa.

2. Respecto a los artefactos relacionados con la adquisición de imágenes de autofluorescencia de fondo de ojo, señale si las asociaciones siguientes son verdaderas o falsas

- a) Hemorragia vítrea – Hiperautofluorescencia.
- b) Hemorragia submacular aguda – Hipoautofluorescencia.
- c) Artefacto por imagen de fijación – Hiperautofluorescencia.
- d) Photobleaching - Hipoautofluorescencia.
- e) Membrana epirretiniana macular - Hipoautofluorescencia.

3. Respecto a los siguientes enunciados, señale si son verdaderos o falsos

- a) La lipofuscina es un complejo lípido-proteína que se acumula en el compartimento lisosomal de las células postmitóticas y metabólicamente activas de todo el cuerpo.
- b) Se ha señalado la alta toxicidad del fluoróforo principal de la lipofuscina, el N-retinil etanolamina o A2E.
- c) La lipofuscina absorbe luz azul con una longitud de onda de excitación de 470 nm y emite luz amarillo-verde con una longitud de onda de 600-610nm.
- d) El aumento de lipofuscina se detecta como hiperautofluorescencia.
- e) La reducción de lipofuscina se detecta como hipoautofluorescencia.

4. Respecto a los siguientes enunciados, señale si son verdaderos o falsos

- a) La autofluorescencia de longitud de onda corta puede realizarse mediante oftalmoscopia de barrido con láser confocal.
- b) La autofluorescencia de longitud de onda corta mediante una cámara fotográfica.
- c) La autofluorescencia de longitud de onda cercana al infrarrojo puede realizarse mediante una cámara fotográfica.
- d) La autofluorescencia de longitud de onda corta muestra predominantemente la distribución de la melanina.
- e) La autofluorescencia de longitud de onda cercana al infrarrojo muestra predominantemente la distribución de la melanina.

5. Respecto a las imágenes de autofluorescencia de longitud de onda corta, señale si los siguientes enunciados son verdaderos o falsos

- a) La intensidad de autofluorescencia es alta en el área parafoveal y desciende progresivamente en la periferia.
- b) La fovea se muestra hipoautofluorescente en condiciones normales.
- c) La papila óptica se muestra hiperautofluorescente en condiciones normales.
- d) Los vasos arteriales se muestran hiperautofluorescentes en condiciones normales.
- e) Los vasos venosos se muestran hipoautofluorescentes en condiciones normales.