



ARCHIVOS DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OFTALMOLOGÍA

www.elsevier.es/ofthalmologia



Editorial

Metabolómica de la lágrima

Human tear metabolome

A.M. Muñoz-Hernández^{a,*}, C. Galbis-Estrada^{b,c}, E. Santos-Bueso^d,
R. Cuiña-Sardiña^{a,e}, D. Díaz-Valle^{a,e}, J.A. Gegúndez-Fernández^{a,e},
M.D. Pinazo-Durán^{b,c,e} y J.M. Benítez-del-Castillo^{a,e}

^a Unidad de Superficie e Inflamación Ocular, Servicio de Oftalmología, Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico Universitario San Carlos (IdISSC), Madrid, España

^b Unidad de Investigación Oftalmológica Santiago Grisolia, Valencia, España

^c Unidad de Investigación Oftalmológica, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España

^d Unidad de Neurooftalmología, Hospital Clínico Universitario San Carlos, Madrid, España

^e Red Española de Patología Ocular (OFTARED), España

La lágrima es un fluido corporal con una compleja composición. Se estructura en 3 capas: lipídica, acuosa y mucinosa. Los lípidos (fundamentalmente colesterol) proceden de la secreción por las glándulas de Meibomio, además de las de Zeiss y Moll. El componente acuoso, secretado por las glándulas lacrimales mayores y accesorias, contiene una gran cantidad de moléculas disueltas, como electrolitos (sodio, potasio, calcio, magnesio, cloro, fosfato, bicarbonato, etc.), péptidos y proteínas (enzimas, factores de crecimiento, citoquinas, etc.), así como metabolitos (aminoácidos, urea, glucosa, lactato, etc.). Las mucinas proceden de las *goblet cells* en su mayor parte, con la contribución de las células del epitelio corneal y conjuntival, así como de las glándulas lagrimales¹.

Según la definición dada por *The National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group*, un biomarcador es un indicador de un proceso biológico normal o patológico, o de la respuesta a una intervención terapéutica. Se caracteriza por ser medible y evaluable, así como accesible, para poder obtenerlo de forma no invasiva. Debe tener una alta especificidad y sensibilidad para así mejorar el diagnóstico de las enfermedades²⁻⁴.

En los últimos años hemos asistido a un aumento exponencial del número de publicaciones relativas a biomarcadores de la lágrima, tanto relativos a enfermedades sistémicas

(neurológicas, tiroideas, tumorales, etc.) como oculares (ojo seco, conjuntivitis alérgica, queratocono, conjuntivocalasia, pterigion, etc.)^{5,6}.

Estos estudios se ocupan fundamentalmente de la proteómica de la lágrima, con menor número de investigaciones sobre lipidómica y metabolómica, englobando entre todas las disciplinas el estudio integral de la misma. En la proteómica existen plataformas de alto rendimiento para su análisis, mientras que en lipidómica y metabolómica, están menos desarrolladas, dada la dificultad de detección de metabolitos, por las pequeñas cantidades existentes en lágrima y el pequeño volumen de recogida. Ninguna técnica es capaz de detectar todos los metabolitos, por lo que no existe una base de datos de referencia. De hecho, existen discrepancias entre distintos estudios, quizás por los diferentes métodos de recogida, técnicas de análisis y procesos bioinformáticos para su identificación. En primer lugar habrá que establecer perfiles normales según el sexo, la edad, la raza, la dieta, la localización y el clima, para determinar posteriormente las vías metabólicas alteradas en las distintas enfermedades^{2-4,7}.

Entre las publicaciones sobre metabolómica podemos destacar:

- La plataforma *liquid chromatography-tandem mass spectrometry* desarrollada por Chen et al. para la caracterización global

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ammh.humanes@yahoo.es (A.M. Muñoz-Hernández).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ofthal.2015.09.010>

0365-6691/© 2015 Sociedad Española de Oftalmología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

de los metabolitos de la lágrima. Se determinaron 60, de los cuales 16 ya eran conocidos. Entre ellos destacan aminoácidos, alcoholes, ácidos aromáticos, hidratos de carbono, carnitina, aminos cíclicas, ácidos dicarboxílicos, nucleósicos y nucleótidos, péptidos, fosfolípidos, purinas, aminos cuaternarias, piridoxal y ácidos tricarbóxicos⁸.

- Nakatsukasa et al. identificaron 23 aminoácidos en la lágrima, sin encontrar diferencias por edad ni sexo en sujetos sanos. La concentración detectada de taurina, ácido L-glutámico, L-arginina y citrulina fue mayor en la lágrima que en el plasma y en el humor acuoso. El perfil de aminoácidos en ojos secos severos difería de los ojos normales, con niveles disminuidos de taurina, metionina y arginina⁹.
- Pescosolido et al. destacaron la implicación de ciertos componentes tanto orgánicos (sorbitol, mioinositol, taurina, etc.) como inorgánicos (sodio, potasio, cinc, etc.) en el mantenimiento de la correcta osmolaridad de la lágrima. La detección de niveles inferiores de carnitina en ojos secos podría asociarse a menor retención de agua en la capa acuosa, llevando a la hiperevaporación e hiperosmolaridad, con menor protección a estrés oxidativo y aumento de apoptosis en la superficie corneal. Karamichos et al. detectaron niveles disminuidos de glutatión en queratocono, sugiriendo un aumento de niveles de estrés oxidativo^{10,11}.
- La presencia de glucosa en la lágrima es bien conocida desde hace más de un siglo, pero existe una gran variabilidad interindividual, quizás por desviaciones a nivel de recogida, medida y razones biológicas sin determinar. Distintos grupos trabajan en nuevas técnicas y sensores para la determinación de la glucosa con mayor exactitud, sensibilidad y correlación con niveles séricos¹²⁻¹⁵.
- Martin y Brennan demostraron la presencia de serotonina en la lágrima, sin diferencia entre sexos, y elevación de niveles tras un estímulo emocional. Chhadva et al. también detectaron elevación de serotonina en ojos secos hiposecretores y sintomáticos. Frey observó que las lágrimas emocionales tenían hasta un 24% de concentraciones de proteínas más altas que las lagrimas reflejas, así como valores más altos de prolactina (en mujeres), de manganeso y potasio en comparación con el plasma^{16,17}.
- La presencia de antioxidantes como el ácido ascórbico, el ácido úrico, la tirosina, el glutatión y la cisteína en la lágrima tienen efecto antioxidante y protector del epitelio corneal ante los radicales libres que se liberan en distintas situaciones de estrés, como las cirugías. Bilgihan et al. también detectaron disminución de niveles de ácido ascórbico tras la cirugía refractiva¹⁸⁻²¹.
- Mieval et al. reportaron la elevación del eicosanoide 12-ácido hidroxieicosatetraenoico (12-HETE) en casos de inflamación ocular, como usuarios lentes de contacto, queratitis por herpes simplex o cuerpo extraño^{22,23}.
- La detección de niveles elevados de neurotransmisores, como colina y acetilcolina en ojo seco, denotan una regulación de la secreción glandular por el parasimpático pendiente de esclarecer²⁴.
- Diferencias entre los perfiles de metabolitos en lágrimas de ojos sanos y secos, entre los distintos grados de ojo seco, así como la mejoría del perfil tras el tratamiento con suplemento oral de antioxidante y ácidos grasos poliinsaturados ha sido reportado por Galbis-Estrada et al. En controles se

ha detectado mayor abundancia de glucoproteínas, lípidos móviles, colesterol, leucina, glicerol y glutamato. En ojos secos un aumento de glucosa y lactato quizás por aumento del estrés oxidativo y disminución de ácido fórmico y N-acetilglucosamina^{7,24}.

Como conclusión, el estudio de la composición de la lágrima es un campo de investigación abierto desde hace décadas. En los últimos años el desarrollo de métodos de análisis más sensibles ha permitido la detección no solo de los componentes principales y de mayor tamaño, como las proteínas y los péptidos o los lípidos, sino de las pequeñas moléculas denominadas metabolitos. Estas son el reflejo de los procesos biológicos, tanto a nivel sistémico como local. Este hecho los convierte en potenciales biomarcadores que en un futuro facilitarán la comprensión, diagnóstico y monitorización de distintas enfermedades de forma rápida y no invasiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zhou L, Beuerman RW. Tear analysis in ocular surface diseases. *Prog Ret Eye Res.* 2012;31:527-50.
2. Pieragostino D, D'Alessandro M, Di Iorio M, Di Ilio C, Sacchetta P, del Boccio P. Unraveling the molecular repertoire of tears as a source of biomarkers: Beyond ocular diseases. *Proteomics Clin Appl.* 2015;9:169-86.
3. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions an conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95.
4. You J, Willcox MD, Madigan MC, Wasinger V, Schiller B, Walsh BJ, et al. Tear fluid protein biomarkers. *Adv Clin Chem.* 2013;62:151-96.
5. Acera A, Rocha G, Vecino E, Lema I, Durán JA. Inflammatory markers in the tears of patients with ocular surface disease. *Ophthalmic Res.* 2008;40:315-21.
6. Zhou L, Zhao SZ, Koh SK, Chen L, Vaz C, Tanavde V, et al. In-depth analysis of the human tear proteome. *J Proteomics.* 2012;75:3877-85.
7. Galbis-Estrada C, Pinazo-Durán MD, Martínez-Castillo S, Morales JM, Monleón D, Zanon-Moreno V. A metabolomic approach to dry eye disorders. The role of oral supplements with antioxidants and omega 3 fatty acids. *Mol Vis.* 2015;11:555-67.
8. Chen L, Zhou L, Chan ECY, Neo J, Beuerman RW. Characterization of the human tear metabolome by LC-MS/MS. *J Proteome Res.* 2011;10:4876-82.
9. Nakatsukasa M, Sotozono C, Shimbo K, Ono N, Miyano H, Okano A, et al. Amino acid profiles in human tear fluids analyzed by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Am J Ophthalmol.* 2011;151:799-808.
10. Pescosolido N, Imperatrice B, Koverech A, Messano M. L-Cartinine and short chain ester in tears from patients with dry eye. *Optom Vis Sci.* 2009;86:E132-8.
11. Karamichos D, Zieske JD, Sejersen H, Sarker-Nag A, Asara JM, Hjortdal J. Tear metabolite changes in keratoconus. *Exp Eye Res.* 2015;132:1-8.
12. Baca C, Taormina R, Feingold E, Finegold DN, Grabowski JJ, Asher SA. Mass spectral determination of fasting tear glucose concentrations in nondiabetic volunteers. *Clin Chem.* 2007;53:1370-2.
13. Taormina CR, Baca JT, Asher SA, Grabowski JJ, Finegold DN. Analysis of tear glucose concentration with electrospray ionization mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2007;18:332-6.

14. Yan Q, Peng B, Su G, Cohan BE, Major TC, Meyerhoff ME. Measurement of tear glucose levels with amperometric glucose biosensor/capillary tube configuration. *Anal Chem.* 2011;83:8341–6.
15. Yao H, Shum AJ, Cowan M, Lähdesmäki I, Parviz BA. A contact lens with embedded sensor for monitoring tear glucose level. *Biosens Bioelectron.* 2011;26:3290–6.
16. Martin XD, Brennan MC. Serotonin in human tears. *Eur J Ophthalmol.* 1994;4:159–65.
17. Frey WH, Sota-Johnson D, Hoffman C, McCall JT. Effect of stimulus on the chemical composition of human tears. *Am J Ophthalmol.* 1981;92:559–67.
18. Venkata SJ, Narayanasamy A, Srinivasan V, Iyer GK, Sivaramkrishnan R, Subramanian M, et al. Tear ascorbic acid levels and the total antioxidant status in contact lens wearers: A pilot study. *Indian J Ophthalmol.* 2009;57:289–92.
19. Choy CK, Benzie IF, Cho P. Is ascorbate in human tears from corneal leakage or from lacrimal secretion? *Clin Exp Optom.* 2004;87:24–7.
20. Bilgihan A, Bilgihan K, Toklu Y, Konuk O, Yis O, Hasanreisoglu B. Ascorbic acid levels in human tears after photorefractive keratectomy, transepithelial photorefractive keratectomy, and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2001;27:585–8.
21. Gogia R, Richer SP, Rose RC. Tear fluid content of electrochemically active components including water soluble antioxidants. *Curr Eye Res.* 1998;17:751–9.
22. Mieyal PA, Dunn MW, Schwartzman ML. Detection of endogenous 12-hydroxyeicosatrienoic acid in human tear film. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:328–32.
23. Butovich IA. On the lipid composition of human meibum and tears: Comparative analysis of nonpolar lipids. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:3779–89.
24. Galbis-Estrada C, Martinez-Castillo S, Morales JM, Vivar-Llopis B, Monleón D, Díaz-Llopis M, et al. Differential effects of dry eye disorders on metabolic profile by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biomed Res Int.* 2014;2014:542–9, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/542549>.