



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE CIENCIAS

Grado en Óptica y Optometría

MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO TITULADO

Efectos del estrés oxidativo en la retina

Presentado por: Agustín López Tejedor
Tutelado por: Dras. Yolanda Diebold Luque y M^a Luz Alonso Alonso
Tipo de TFG: Revisión bibliográfica

En Valladolid a, 1 de Junio del 2018

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. OBJETIVOS..... | 2 |
| 3. METODOLOGÍA | 2 |
| 4. RESULTADOS..... | 3 |
| 5. DISCUSIÓN | 5 |
| 5.1. Presentación del estrés oxidativo | 5 |
| 5.1.1. ¿Qué es el estrés oxidativo?..... | 5 |
| 5.1.2. Radicales libres y especies reactivas de oxígeno | 5 |
| 5.1.3. Antioxidantes..... | 7 |
| 5.2. Estrés oxidativo en el ojo..... | 8 |
| 5.3. Las capas de la retina y el estrés oxidativo | 9 |
| 5.4. Enfermedades debidas al estrés oxidativo | 11 |
| 5.4.1. Retinopatía diabética..... | 11 |
| 5.4.1.1. Estrés oxidativo y retinopatía diabética | 11 |
| 5.4.1.1.1. La mitocondria: La principal fuente de EROs | 14 |
| 5.4.2. Degeneración macular asociada a la edad | 15 |
| 5.4.2.1. Estrés oxidativo y degeneración macular asociada a la edad | 15 |
| 5.4.3. Glaucoma..... | 16 |
| 5.4.3.1. Estrés oxidativo y glaucoma | 16 |
| 6. CONCLUSIONES | 17 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA..... | 18 |

A mis hermanas Ana e Isabel por su ayuda puntual y a mis tutoras Yolanda y M^a Luz por guiarme en la edición de este TFG.

Abreviaturas:

ADN: Ácido desoxirribonucleico

(AGEs): Productos de glicación avanzada

(aPKC): Proteína kinasa C atípica

(ATP): Trifosfato de adenosina

CAT: Catalasa

(cPKC): Proteína kinsasa C convencional

DAG: Diacilglicerol

DMAE: Degeneración macular asociada a la edad

EPR: Epitelio pigmentario de la retina

EROs: Especies reactivas de oxígeno

GPx: Glutación peroxidasa

H⁺: Protón

H₂O₂: Peróxido de hidrogeno

(NOS): Óxido nítrico sintasa

(nPKC): Proteína kinasa C novel

O₂: Oxígeno

O₂⁻: Radical superóxido

OH: Radical hidroxilo

ON: Oxido nítrico

OOON: Peroxinitrito

PIO: Presión intraocular

PKC: Proteína kinsasa C

RD: Retinopatía diabética

(RNA): Ácido ribonucleico

SOD: Superóxido dismutasa

(TBARS): Sustancia reactiva al ácido barbitúrico

UV: Ultravioleta

(VEGF): Factor de crecimiento endotelial vascular

1. INTRODUCCIÓN

La absorción de la luz por las células de la retina produce reacciones fotoquímicas que dan lugar a las especies reactivas de oxígeno (EROs) y a los radicales libres (RL). Esto, junto con la oxidación de ácidos grasos, la fagocitosis de células receptoras, los periodos de gran actividad metabólica y el consumo de oxígeno (O₂), crean un nivel de estrés oxidativo alto.^{1-2.}

Los RL se caracterizan por ser moléculas con un electrón desapareado en su orbital más externo, mientras que las EROs se generan por descomposición del O₂. Estas moléculas pueden afectar a las funciones celulares actuando sobre los lípidos, las proteínas y el ADN. La mayor parte del estrés oxidativo se produce en la mitocondria de la célula y los antioxidantes son los encargados de luchar contra este, manteniendo el equilibrio celular.

El estrés oxidativo afecta al ojo en general. En estructuras como la córnea produciendo enfermedades como la queratitis fúngica o queratocono. En el cristalino produce opacidad y consecuentemente cataratas. También afecta al humor acuoso, humor vítreo y principalmente en la retina, ya que es el tejido del organismo con mayor consumo de O₂.³

En la retina, cuando se produce un desequilibrio entre moléculas oxidantes y antioxidantes, el exceso de estrés oxidativo puede dar lugar a enfermedades oculares como la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), retinopatía diabética (RD) y el glaucoma.¹

En la DMAE, la cual es la principal causa de ceguera en los países desarrollados, produce disfunción del epitelio pigmentario de la retina (EPR). En la RD, el estrés oxidativo se genera mediante cuatro rutas clásicas reguladas por la hiperglicemia: la ruta de los polioles, la activación de la proteína Kinasa C (PKC), la activación de los productos de glicación avanzada (AGEs) y la ruta de las hexosaminas. Estas afectan a las células del endotelio donde se produce una pérdida de pericitos en los capilares de la retina y un aumento del grosor de la membrana basal, desencadenando microaneurismas y oclusión capilar (isquemia). Además el factor de crecimiento endotelial vascular (VEFG) aumenta la permeabilidad de los capilares, provocando edema y favoreciendo la angiogénesis de nuevos vasos sanguíneos. En el glaucoma, el estrés oxidativo provoca degeneración de las células ganglionares de la retina y de la malla trabecular, aumentando la presión intraocular (PIO) pudiendo provocar neuropatía óptica glaucomatosa.¹

El estrés oxidativo se encuentra involucrado también en otras enfermedades neurodegenerativas como son el Parkinson, el Alzheimer, la esclerosis lateral amiotrófica, enfermedades cardiovasculares y cáncer que junto a su efecto en enfermedades oculares justifica la importancia que puede tener en los humanos y cómo podemos protegernos de él llevando una vida sana y dieta variada.^{3-4.}

2. OBJETIVOS

1. Realizar una investigación bibliográfica sobre el estado actual de los conocimientos sobre el estrés oxidativo y su relación con patologías de la retina.
2. Presentar el estrés oxidativo y describir los factores que están involucrados en su aparición: RL, EROs y antioxidantes.
3. Analizar el impacto de las EROs en las funciones celulares.
4. Identificar las estructuras oculares afectadas por el estrés oxidativo.
5. Describir las capas de la retina y analizar los efectos del estrés oxidativo en cada una de ellas.
6. Estudiar las principales enfermedades retinianas producidas por el estrés oxidativo y analizar sus características.

3. METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda bibliográfica en las siguientes bases de datos: *Medline-Pubmed* y *Google Scholar*. Además se consultaron tres libros de oftalmología titulados: "*Diabetic Retinopathy*", "*Pediatric Retina*" y "*Guiones de Oftalmología*".

Las palabras clave utilizadas fueron "estrés oxidativo", "retina", "retinopatía diabética", "glaucoma", "mecanismo", "célula", "ojo", "revisión" y sus homónimos en inglés "*oxidative stress*", "*retina*", "*diabetic retinopathy*", "*glaucoma*", "*mechanism*", "*cell*", "*eye*", "*review*".

Se han revisado artículos en castellano y en inglés. Los artículos se seleccionaron mediante la lectura del título y del resumen acordes con la revisión bibliográfica.

Los criterios de inclusión han sido el estrés oxidativo en las diferentes estructuras oculares, principalmente en la retina y sus capas, los factores involucrados y las enfermedades provocadas por él.

Finalmente, se excluyeron todas las publicaciones cuyo tema de estudio no fueron enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

4. RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 210 artículos procedentes de las búsquedas en las bases de datos *Pubmed*, *Google Scholar* y en los libros *Diabetic Retinopathy*, *Pediatric Retina* y *Guiones de Oftalmología*, de los cuales se desestimaron 157 por no cumplir los criterios de inclusión. Se excluyeron aquellas publicaciones que tras la lectura de título y del resumen no eran de interés, seleccionándose finalmente un total de 53 artículos para su lectura completa. Tras el análisis de texto completo se redujo el número total de artículos a 44. En el siguiente diagrama de flujo (figura 1) se detalla el proceso de búsqueda.

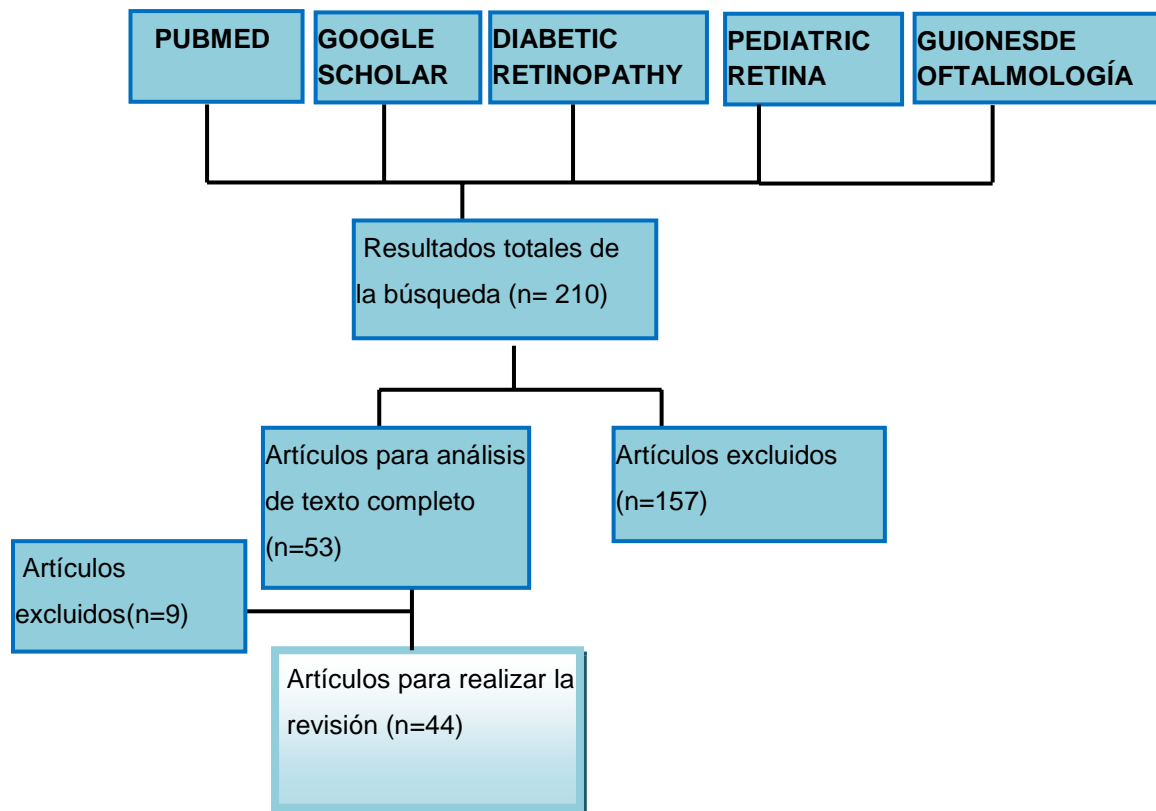


Figura 1. Diagrama de flujo para la selección de artículos.

El primer resultado fue el concepto del estrés oxidativo como desequilibrio entre moléculas oxidantes y antioxidantes, los RL y la generación de EROs mediante la reducción del O₂ y los antioxidantes que respondió a nuestro segundo objetivo.

Para el tercer objetivo del trabajo se encontraron artículos de cómo el estrés oxidativo afecta a las funciones celulares y cómo puede afectar a lípidos, proteínas y ADN siendo la mitocondria de la célula la principal fuente del estrés oxidativo.

Tras los primeros resultados en una escala molecular se pasó a estudiar los efectos del estrés oxidativo en las estructuras del ojo respondiendo al cuarto objetivo de la revisión. Se obtuvieron artículos en los que se indicaba que el estrés oxidativo afecta a distintas estructuras del globo ocular cómo la córnea, el cristalino, el humor acuoso, el humor vítreo, la conjuntiva, la lagrime y de forma principal a la retina, ya que es el tejido del organismo con consumos más altos de oxígeno y de glucosa.

Respondiendo al objetivo quinto, se encontraron artículos sobre el efecto del estrés oxidativo en las capas de la retina, de las cuales el EPR, la capa de los fotorreceptores y la capa de las células ganglionares de la retina fueron las capas con mayor número de artículos encontrados, aunque también se encontraron resultados del resto de las capas de la retina de una forma minoritaria. En estos artículos el estrés oxidativo lo producen factores como la luz UV, el envejecimiento, la presión hidrostática, el glutamato, la diabetes o la hipertensión.

Por último y de acuerdo al objetivo sexto se encontraron artículos sobre las principales enfermedades de la retina en las que el estrés oxidativo está involucrado, como la DMAE, en la que las EROs afectan en el EPR provocando envejecimiento y disfunción del epitelio. La RD en la que el estrés oxidativo se genera mediante unas rutas metabólicas, la hiperglucemia tiene un papel relevante. También está involucrado en la patogénesis del glaucoma provocando degeneración en la malla trabecular y desencadenando una cascada de acontecimientos que terminan en muerte celular.

5. DISCUSIÓN

Para presentar la discusión se ha clasificado la información en cuatro apartados, primero se abordará de manera general el estrés oxidativo, en segundo lugar el impacto de este problema en las estructuras oculares, después los efectos en las capas de la retina, y por último las enfermedades debidas al estrés oxidativo.

5.1. Presentación del estrés oxidativo

5.1.1. ¿Qué es el estrés oxidativo?

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre los factores oxidantes (radical superóxido, radical hidroxilo, oxígeno, peróxido de hidrógeno, óxido nítrico) y los antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, vitaminas A, C, E) debido a un incremento de las sustancias oxidantes o un déficit de los antioxidantes (figura 2).⁵

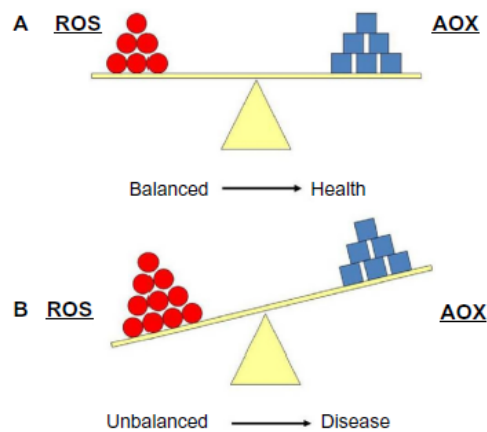


Figura 2. Concepto del estrés oxidativo como desequilibrio entre factores oxidantes y antioxidantes. (Cruz J y cols, 2014).

5.1.2. Radicales libres y especies reactivas de oxígeno

Un RL es una especie química que presenta en su estructura atómica un electrón desapareado en su orbital externo. Chocan con las biomoléculas, les extraen un electrón y las oxidan y de esta manera pierden su función específica en la célula produciendo toxicidad.⁶

Los RL afectan a las funciones celulares de la siguiente manera:

- La oxidación de un RL a un **lípid**o se denomina peroxidación lipídica y afecta a las membranas celulares y a las lipoproteínas plasmáticas. Este proceso genera malonaldehído, un subproducto que sirve para medir el nivel de estrés oxidativo en los tejidos y que acoplado al ácido tiobarbitúrico forma el TBARS (sustancia reactiva al ácido barbitúrico).⁸
- En el caso de las **proteínas**, los RL dañan los aminoácidos produciendo entrecruzamiento de las cadenas peptídicas.⁸

- En cuanto al **ADN**, los RL pueden producir modificaciones en las bases genéticas provocando mutaciones, cáncer, envejecimiento y enfermedades neurodegenerativas.⁸

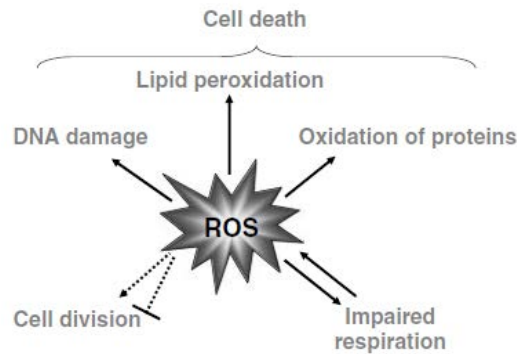


Figura 3. Efectos de las EROs en las funciones celulares (Ott y cols, 2007).

Los RL se generan principalmente en la mitocondria a nivel de la cadena de transporte de electrones.⁶ En el complejo I y en menor medida el complejo III de la membrana mitocondrial interna se produce la mayor parte del $O_2^{\cdot-}$.⁹

Entre otras fuentes de RL se encuentran los peroxisomas y los leucocitos.

Las EROs son iones de oxígeno que se caracterizan por ser muy reactivos debido a que presentan en su estructura electrónica una capa de electrones no apareados. Se generan por la reducción del O_2 produciéndose en los siguientes pasos:⁶

La primer ERO que se produce a partir de la reducción del O_2 es el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$). La siguiente reacción genera peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Por la reacción de Haber Weis, a partir del $O_2^{\cdot-}$ y del H_2O_2 se produce el radical hidroxilo (OH^{\cdot}). El esquema de la formación de las EROs lo podemos ver en la (figura 4).⁶

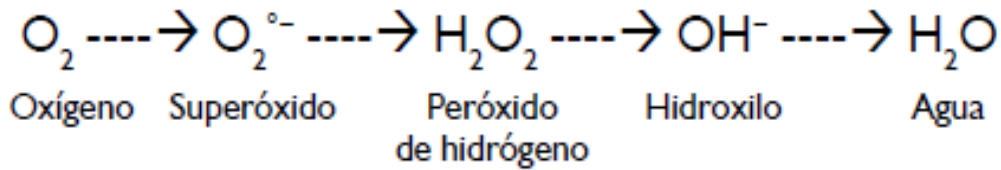


Figura 4. Reducción del oxígeno molecular (Cruz HJ y cols, 2011).

En la mitocondria se pueden producir otras EROs como el óxido nítrico (NO^\cdot) producido por la óxido nítrico sintasa (NOS) calcio dependiente. Cuando se combina con $\text{O}_2^{\circ-}$ produce peroxinitrito (ONOO^\cdot).⁹

5.1.3. Antioxidantes

Son sustancias que previenen la oxidación impidiendo que otras moléculas se unan al sustrato oxidable, de esta manera, intentan mantener el equilibrio oxidante/antioxidante. Entre los principales sistemas antioxidantes se encuentran:¹⁰

- La **superóxido dismutasa (SOD)** su principal función es eliminar $\text{O}_2^{\circ-}$ para formar H_2O_2 . Se encuentra en el citosol como Cu-SOD y Zn-SOD, en la matriz mitocondrial como Mn-SOD y en el espacio periplasmático como Fe-SOD.
- La **catalasa (CAT)** cataliza la conversión de H_2O_2 a H_2O y O_2 . Se encuentra a nivel celular en las mitocondrias, los peroxisomas y el citosol. Forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD y sus principales funciones son peroxidativa y catalítica.
- La **Glutación peroxidasa (GPx)** cataliza la reducción de H_2O_2 a lipoperóxido (L-OOH) y actúa como agente el glutatió reducido. Se encuentra en lisosomas y en el citosol.⁷

5.2. Estrés oxidativo en el ojo

Los rayos UV, los contaminantes ambientales, la alta exposición a la luz, los ácidos grasos y la exposición al O₂ son factores que producen estrés oxidativo en los ojos e influyen en el desarrollo de enfermedades oculares como la DMAE, las cataratas, la RD, el glaucoma, inflamaciones corneales, uveítis y keratitis.^{2,11}

El estrés oxidativo puede producir efectos en los tejidos oculares como muerte celular, apoptosis y necrosis.²

Un estudio analizó las enzimas antioxidantes SOD y su actividad contra el anión O₂⁻ en las lágrimas, la córnea, la esclera, el humor acuoso, el cristalino, el humor vítreo y la retina. La mayor actividad se encontró en la retina y fue menor en la esclera, la córnea y la lágrima.¹²

Por otro lado, se ha demostrado que el H₂O₂ produce opacificación del cristalino y se considera el principal oxidante en la formación de las cataratas.¹³⁻¹⁴

Se considera que la luz UV y la exposición al O₂ son factores que producen estrés oxidativo y como consecuencia ojo seco e inflamación en la capa de células epiteliales que comprende la córnea y la conjuntiva¹⁵. También puede influir en enfermedades infecciosas como la queratitis fúngica¹⁶ y en enfermedades no infecciosas como el queratocono, la queratopatía bullosa y la distrofia endotelial de Fuchs.

Se realizó un estudio en pacientes diabéticos con retinopatía diabética proliferativa y retinopatía diabética no proliferativa que medía malonaldehído y se demostró la presencia de estrés oxidativo en la sangre, el humor acuoso y el humor vítreo de estos pacientes.¹⁷

5.3. Las capas de la retina y el estrés oxidativo

La retina es un componente del sistema nervioso central que convierte estímulos visuales en señales químicas y eléctricas que son transmitidas desde el cerebro a través del nervio óptico. Se localiza en la superficie interna del globo ocular entre la coroides y el vítreo.¹⁸

La retina está formada por diez capas paralelas que de la zona más superficial hasta la más interna son (figura 5):

1. **EPR:** Es la capa más externa de la retina, las uniones estrechas entre estas células separan la coriocapilar de los fotorreceptores y forman la barrera hematorretiniana. Está constituido por 3,5 millones de células.
2. **Capa de las células fotorreceptoras:** Está formada por los segmentos de los conos y los bastones. En esta capa de la neuroretina tiene lugar la fototransducción.
3. **Membrana limitante externa:** Formada por prolongaciones de las células de Müller entre los espacios que separan las membranas de los fotorreceptores.
4. **Capa nuclear externa:** Está formada por los núcleos de las células fotorreceptoras. En la fovea únicamente están presentes los conos, mientras que los bastones se encuentran fuera de ella. La retina humana contiene de 4 a 5 millones de conos y 77-107 millones de bastones.
5. **Capa plexiforme externa:** En esta capa se produce la conexión entre las células fotorreceptoras de la capa nuclear externa con células horizontales y bipolares de las capas nucleares internas.
6. **Capa nuclear interna:** En esta capa se encuentran las células horizontales, bipolares, amacrinas, interplexiformes y las células de Müller.
7. **Capa plexiforme interna:** Se encuentran las células bipolares, amacrinas y ganglionares.
8. **Capa de las células ganglionares:** Está formada por 1,2 millones de células ganglionares de la retina y células amacrinas, astrocitos, endoteliales y pericitos.
9. **Capa de las fibras del nervio óptico:** Está formada por los axones de las células ganglionares que van hacia la cabeza del nervio óptico. También podemos encontrar astrocitos y células de Müller.
10. **Membrana limitante interna:** Separa la retina del humor vítreo y está compuesta por fibras de colágeno.¹⁹

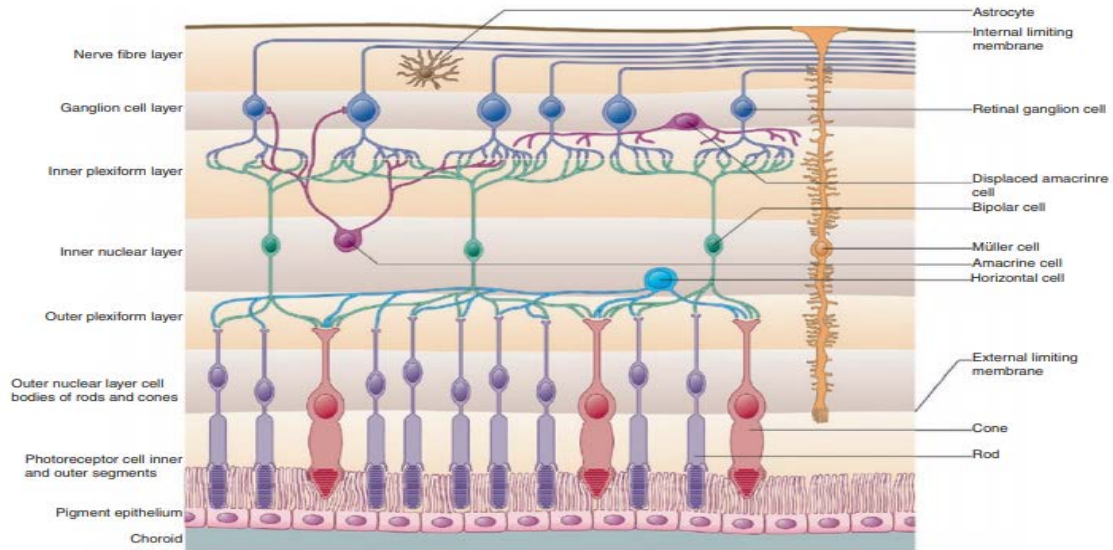


Figura 5. Las capas de la retina. (Reynolds D and Olitsky S, 2011).

El EPR regula el intercambio de nutrientes y metabolitos entre la retina y la coriocapilar. El estrés oxidativo produce envejecimiento de la retina y DMAE debido a que el flujo de sangre es elevado en la coriocapilar y que en el EPR se produce la fagocitosis de los fotorreceptores generando H_2O_2 . Se ha demostrado mediante estudios que el daño oxidativo en el EPR produce la acumulación de AGEs en la membrana de Bruch.²⁰⁻²¹

Los fotorreceptores son la principal fuente de $O_2^{\cdot-}$ ya que son las células más numerosas de la retina y poseen más mitocondrias que otras. Mediante estudios histológicos se localizó una mayor cantidad de EROs y $O_2^{\cdot-}$ en la capa de fotorreceptores y se encontró menor cantidad de $O_2^{\cdot-}$ en el EPR, en la capa nuclear interna y en la capa de células ganglionares.²²

Por otro lado, la PIO es un factor que conduce al estrés oxidativo. El aumento de presión puede dañar las células ganglionares de la retina y conducir a neuropatía óptica glaucomatosa. También puede inducir apoptosis en los fotorreceptores. Se ha demostrado que el daño oxidativo es mayor cerca de los cuerpos celulares neuronales.²³⁻²⁴

También el glutamato produce efectos tóxicos en las capas internas de la retina. En un estudio en el que se administraron inyecciones intravítreas de glutamato, en secciones histológicas se encontró daño en la capa de las células ganglionares de la retina.²⁵⁻²⁶

Además, la diabetes es otro de los factores que puede producir una influencia neurodegenerativa del estrés oxidativo en la retina. En un estudio llevado a cabo en ratones diabéticos de cuatro meses, se demostraron cambios histológicos en el espesor de la retina. Se observó un espesor reducido de la capa plexiforme interna y de la capa nuclear interna. Además disminuyeron el número medido de células en la capa de células ganglionares mediante la activación de la molécula apoptótica caspasa-3.²⁷

5.4. Enfermedades debidas al estrés oxidativo

5.4.1. Retinopatía diabética (RD)

La RD es una enfermedad de la retina que se caracteriza por una serie de procesos fisiopatológicos como son la pérdida de pericitos y aumento de grosor de la membrana basal en el endotelio vascular, originando dilataciones denominadas microaneurismas y oclusión capilar (isquemia).²⁸

Durante el desarrollo de la enfermedad se liberan factores de crecimiento del endotelio (VEGF), los cuales aumentan la permeabilidad de los capilares provocando exudación y edema.

Es importante mencionar que la principal causa de esta enfermedad es la hiperglucemia, consecuencia de un déficit de insulina, que provoca daño en las células endoteliales de los capilares de la retina y en las células nerviosas de la retina como los fotorreceptores y la glía.

Además de estos, otros factores que influyen en el desarrollo de esta enfermedad son la hipertensión, el embarazo y la pubertad.³²

5.4.1.1. Estrés oxidativo y retinopatía diabética

La retina tiene un alto contenido de ácidos grasos y el consumo más alto de oxígeno y de oxidación de glucosa lo que la hace susceptible al estrés oxidativo.²⁹

El estrés oxidativo es uno de los factores en la patogénesis de la RD que fue demostrado mediante estudios en animales en el que se encontraron niveles altos de O_2^- , H_2O_2 , productos de la peroxidación lipídica y daño al ADN en retina.

La producción de EROs daña a macromoléculas mediante la activación de rutas metabólicas determinantes en el desarrollo de la RD. Estas son la ruta de los polioles, la ruta de los AGEs, la ruta de la PKC, la ruta de la biosíntesis de la hexosamina, la alteración del VEGF y la superproducción de O_2^- en la mitocondria (figura 6).

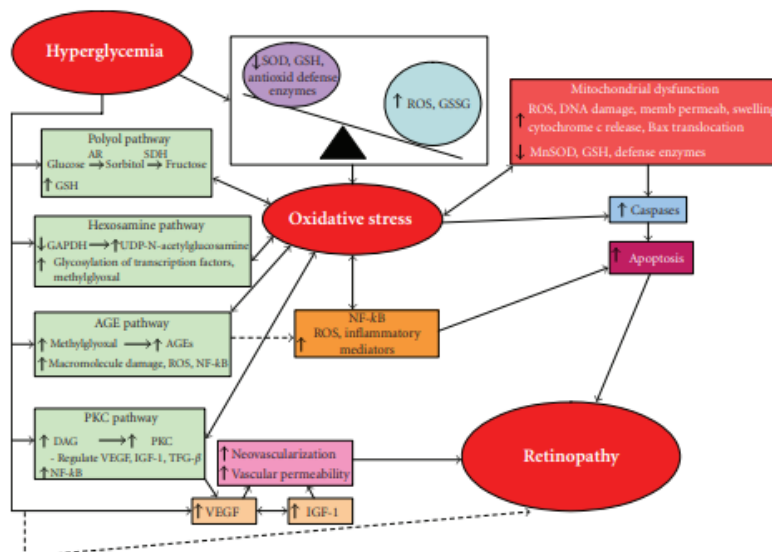


Figura 6. Estrés oxidativo en la retinopatía diabética (R.A. Kowluru and P.-S. Chan, 2007).

- **Ruta de los polioles**

En esta ruta intervienen dos enzimas, la aldosa reductasa y la sorbitol deshidrogenasa. Se realiza básicamente en dos pasos: primero, la aldosa reductasa cataliza la conversión de glucosa en sorbitol usando NADPH como cofactor; segundo, la sorbitol deshidrogenasa cataliza la conversión de sorbitol en fructosa usando como cofactor NAD^+ (figura 7).³⁰⁻³¹

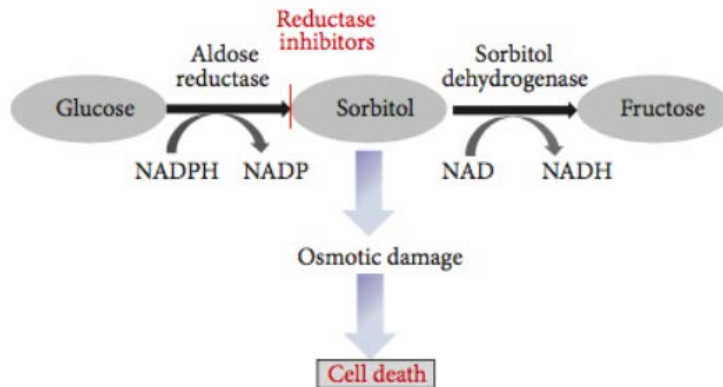


Figura 7. Esquema de reacciones de la vía del poliol. (Tarr J y cols, 2013)

La ruta de los polioles produce cambios fisiopatológicos como un aumento del espesor de los capilares, aumento de la permeabilidad vascular y adhesión de leucocitos a células endoteliales (leucostasis).³⁶

- **Productos de glicación avanzada (AGEs)**

Los AGEs se forman mediante reacciones no enzimáticas (reacciones de Maillard) de la glucosa con amino ácidos, proteínas y lípidos formando una base de Schiff y los productos de Amadori (figura 8).³²

Los AGEs pueden dañar a las células mediante 3 mecanismos, primero se altera la función de las proteínas intracelulares, segundo actúan sobre la matriz extracelular y receptores (integrinas) y finalmente actúan sobre las proteínas del plasma que se unen a receptores en células endoteliales y macrófagos.³⁵

El rol de los AGEs en la RD son básicamente dos, la pérdida de pericitos que es una de las principales características de la RD y la inflamación vascular y angiogénesis.³³

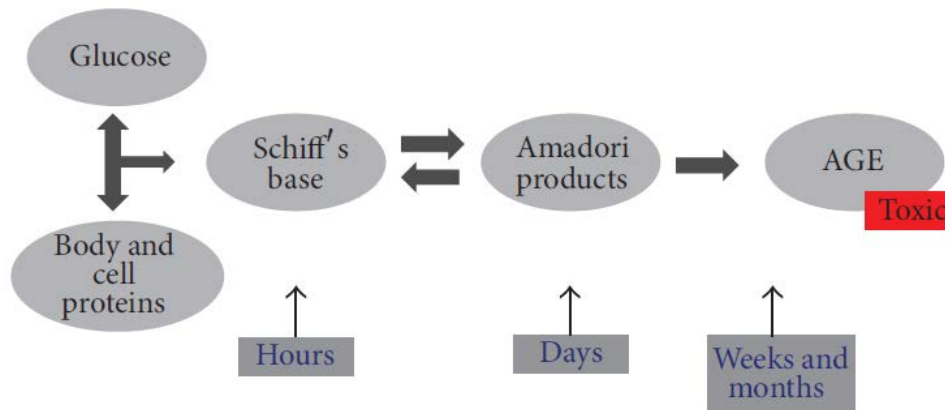


Figura8. Esquema de la formación de AGES (Tarr J y cols, 2013)

- **La ruta de la proteína kinasa C (PKC)**

PKC es una familia de proteínas que fosforilan otras proteínas envueltas en funciones cardiovasculares y endoteliales.

La PKC está formada por 11 isoformas y su actividad es dependiente de los iones de Ca^{2+} y fosfatidilserina y está relacionada con el diacilglicerol (DAG), que es su activador.³⁷

Podemos clasificar las isoformas de la PKC en tres grupos que se encuentran en los tejidos de los mamíferos, convencional (cPKC), novel (nPKC) y atípico (aPKC). Su fracción más grande que es la isoforma PKC β pertenece al grupo cPKC.

La activación de la PKC produce cambios característicos en la RD como el incremento de la permeabilidad de los vasos, el flujo de sangre, estimulación de la neovascularización, la proliferación endotelial y apoptosis además de regular VEGF.³⁶

- **La ruta de la hexosamina**

En la ruta de las hexosamina, la fructosa 6-fosfato contribuye a la patogénesis de la RD induciendo estrés oxidativo por la hiperglicemia. Las reacciones que se producen son las siguientes: La fructosa 6-fosfato se desvía mediante la glucólisis a la enzima fructosa 6-fosfato amidotransferasa (glutamina) que la transforma en glucosamina 6-fosfato la cual es convertida a UDP-N-Acetilglucosamina.³⁵

La activación de esta vía está asociada con apoptosis de células endoteliales y neuronas retinianas y reduce el crecimiento de los pericitos.³²

- **Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)**

El VEGF es una proteína homodimérica y es un factor de angiogénesis y vasopermeabilidad.³⁸

Tiene un papel importante en la neovascularización retiniana que ha sido demostrado mediante estudios en animales.

Cuando hablamos de VEGF nos referimos a VEGF-A ya que es una parte de una familia de genes que incluyen VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y está formado por cuatro isoformas generadas por empalme del VEGF RNA que contiene 121, 165, 189 y 206 amino ácidos dando lugar a las isoformas VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆.³⁸

También desempeña un rol decisivo en procesos inflamatorios, en el desarrollo de las neuronas de la retina y en la neuroprotección.

VEGF aumenta con las EROs, y este factor de crecimiento puede interactuar con otras rutas como PKC y la ruta del poliol.²⁹

5.4.1.1.1. La mitocondria: la principal fuente de EROs

La transferencia de electrones en la mitocondria se produce de la siguiente manera, se realiza a través de los complejos mitocondriales I, III y IV que extraen protones (H^+) desde el exterior hacia el interior de la mitocondria generando un gradiente que produce ATP en el complejo V.³⁵

Como consecuencia, el gradiente de voltaje se incrementa hasta un punto que se produce un bloqueo en el complejo III lo que hace que los electrones vuelvan a la coenzima Q que proporciona electrones al O_2 y se produce la conversión de O_2 a $O_2^{\cdot-}$.

La mitocondria es la principal fuente de $O_2^{\cdot-}$, además de producir otras EROs y RL como H_2O_2 , OH^{\cdot} , y $ONOO^{\cdot}$ que pueden dañar a otras moléculas.²⁹

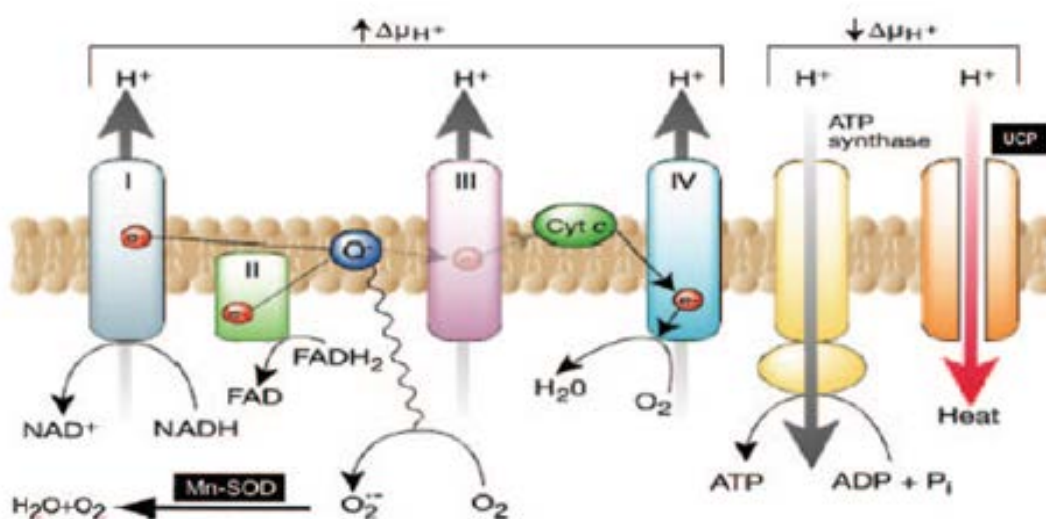


Figura 9. Producción de EROs por la cadena de trasporte de electrones mitocondrial (Giacco y Brownlee, 2010).

5.4.2. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE)

La DMAE es una enfermedad de la retina que se caracteriza por la degeneración del EPR con acumulación de depósitos intracelulares (lipofuscina) y muerte de los fotorreceptores.

Dentro de los principales factores de riesgo se incluyen la edad, la obesidad, el consumo de tabaco y factores de la dieta como el exceso de grasas o la falta de antioxidantes.³⁹

Se caracteriza por ser una de las principales causas de ceguera en los países industrializados y se clasifica en húmeda y seca. ¹La forma húmeda se caracteriza por la aparición de neovasos desde la coroides, mientras que la forma seca se caracteriza por la aparición de drusas, depósitos con forma redondeada y amarillas que son producidas por el mal funcionamiento del EPR.

5.4.2.1. Estrés oxidativo y la degeneración macular asociada a la edad

El estrés oxidativo en el EPR es el mayor factor que contribuye al desarrollo de esta enfermedad. La lipofuscina es una lipo proteína que provoca disfunción del EPR y de los fotorreceptores.

Las EROs en la retina se generan mediante la irradiación que daña los segmentos externos de los fotorreceptores, la peroxidación lipídica en la que el ácido docohexanoico y su precursor el ácido α -linoleico actúan sobre la susceptibilidad de la retina y los cromóforos que son moléculas que absorben luz para producir reacciones químicas como la rodopsina, la lipofuscina, la melanina y enzimas mitocondriales como el citocromo c oxidasa.⁴⁰

Esta enfermedad afecta a la mácula y sus consecuencias resultan en pérdida de visión central.⁴¹

Estudios *in vitro* han demostrado que el daño fotoquímico a la retina es atribuible al estrés oxidativo y las vitaminas antioxidantes A, C, E la protegen contra este tipo de daño.

La vitamina C (el ascorbato) es el mayor antioxidante en la sangre humana. La vitamina E es el mayor antioxidante de las membranas celulares, lo podemos encontrar como α -tocoferol y predomina en la retina y el plasma. La vitamina A (retinol) se encuentra en la retina en forma de 11-cis-retinal y su función principal es la regeneración de la rodopsina.⁴⁰

5.4.3. Glaucoma

El glaucoma es una enfermedad ocular que se caracteriza por un aumento de la PIO y una alteración de la cabeza del nervio óptico, acompañándose de daño en el campo visual. Además se produce pérdida de células endoteliales en la malla trabecular, el cual es el epitelio responsable de drenar el humor acuoso a la cámara anterior del ojo.⁴²

5.4.3.1. Estrés oxidativo y glaucoma

Numerosos estudios dieron a conocer que el estrés oxidativo es un factor en el glaucoma. Alvarado y cols. demostraron que la pérdida de células endoteliales en la malla trabecular podía estar relacionado con el estrés oxidativo producido por los RL. Se llevaron a cabo experimentos en humanos y animales, pudiéndose comprobar cómo la perfusión con H₂O₂ afectaba al drenaje de la malla trabecular.⁴³

Además, la desregulación de los vasos es fundamental en el desarrollo de esta enfermedad ya que conduce a isquemia induciendo estrés oxidativo. Los vasos sanguíneos están relacionados con el estrés oxidativo mediante el endotelio, ya que es un modulador de la permeabilidad vascular mediante las endotelinas que pueden regular la PIO y a través del ON⁻ que una EROs capaz de dañar la malla trabecular. La pérdida de células en ésta siguió una distribución lineal con la edad demostrado mediante estudios de Alvarado y cols.⁴⁴

El H₂O₂ fue un RL clave en el desarrollo de esta enfermedad, ya que en estudios se demostró que aumentó la presión del humor acuoso y produjo pérdida celular en la malla trabecular.

También, el estrés oxidativo puede afectar al ADN de diversas formas como modificaciones de bases nucleótidas, crosslinking de proteínas que pueden resultar en mutaciones.

En el ojo, el ácido ascórbico (vitamina C) que se encuentra en estructuras como el humor vítreo, la córnea, la lágrima, el humor acuoso y el glutatión reducido que se ha encontrado en la malla trabecular y el humor acuoso son los sistemas biológicos más importantes que tiene el ojo para luchar contra los RL.

Para concluir, el daño del estrés oxidativo al ADN es un factor en la patogénesis del glaucoma. Este fenómeno es la primera etapa de una serie de acontecimientos denominados la “cascada patogénica” constituida por factores metabólicos, neurológicos y genéticos.⁴³

6. CONCLUSIONES

1. El efecto del estrés oxidativo en la retina como desencadenante de patología es un tema de estudio muy actual, como demuestra la gran cantidad de artículos publicados.
2. El estrés oxidativo se produce cuando hay un desequilibrio entre moléculas oxidantes y antioxidantes.
3. Los RL y las EROs afectan a las funciones celulares dañando a lípidos, proteínas y ADN.
4. El estrés oxidativo actúa sobre el ojo en general en estructuras como la córnea, el cristalino, el humor acuoso, el humor vítreo, la conjuntiva y de forma principal en la retina.
5. La retina está constituida por diez capas, nueve internas que constituyen la retina neurosensorial o neurorretina unida al EPR que es la más externa. El estrés oxidativo afecta a las capas de la retina de forma principal al ERP, a la capa de los fotorreceptores y la capa de las células ganglionares de la retina.
6. Las principales enfermedades que desencadena el estrés oxidativo en la retina son la RD, la DMAE y el glaucoma.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Nishimura Y, Hara H, Kondo M, Hong S and Matsugi T. Oxidative Stress in Retinal Diseases. Hindawi. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017; 1-2.
2. Van Reyk M., Gillies C., Davies J. The retina: oxidative stress and diabetes. *Redox Report*. 2003. 8(4); 187-192.
3. Hitomi T, Dogru M, K Tsubota K. Tearful realtions: oxidative stress, inflammation and eye diseases. *Arq Bras Oftalmol*. 2008; 71 (6): 2-9.
4. Raman R, Vaghefi E, Braakhuis A. Food components and ocular pathophysiology: a critical appraisal of the role of oxidative mechanism. *Asia Pac J Clin Nutr*; 26(4): 572-585.
5. Cruz J, Licea M Pinazo M^ªD, Gallego R, García JJ, Zanón V, Nucci C, Dolz R, Martínez S, Galbis C, Marco C, López M^ªI, Galarreta D, Díaz M. Oxidative stress and its downstream signaling in agin geyes. *Clinical interventions in aging*. 2014; 9:637-652.
6. Cruz J, Licea ME, Hernández P, Abraham E, Yanes M. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin*. 2011; 58(1); 4-15.
7. Cap. Justo R. Venereo Gutiérrez. Daño oxidativo radicales libres antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit* 2002; 31(2):126-33.
8. Rodríguez JM, Menéndez JR ,Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cub Med. Mil*. 2001; 30 (1): 36-44.
9. Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsk B. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*. 2007; 12:913-922.
10. Halliwell B and Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine. *Acta Cryst*. 2017; 384-385.
11. Gutiérrez A, Lavandero A, Ramos A y Martinez E. Estrés oxidativo, alimentación y suplementación antioxidante en patología ocular: historia breve y visión futura. *Rev Cubana oftalmol*. 2007; 20(2).
12. Bebdnig A, Svensson B, Marklund S and Karlsson K. Superoxide Dismutase Isoenzymes in the Human Eye. *IOVS*. 1998; 39 (3): 471-474.
13. Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *The FASEB Journal*. 1995. 9(12). 1173-1182.
14. Ferrer Y, Martínez G, Leroy D, Thndiwel N El estrés oxidativo y su impacto en las cataratas. *Revista Cubana de Farmacia*. 2009; 43(3).
15. Nakamura S, Shibuya M, Nakashima H, Hisamura R, Masuda N, Imagawa T, Uehara M and Tsubota K. Involvement of oxidative stress on corneal epithelial alterations in a blink-suppressed dry eye. *IOVS*. 2007; 48(4): 1552-1558.
16. Hua X, Chi W, Su L, Li J, Zhang Z & Yuan X. Ros-induced Oxidative injury involved in Pathogenesis of Fungal Keratitis via p38 MAPK Activation. *Scientific reports*. 2017; 7(10421): 1-12.
17. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, Cerulli A, Alessandra F, Cedrone C, Pinazo-Durán MD, Coletta M, Nucci C. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *Molecular Vision*; 2011; 17: 1298-1304.
18. Van Guilder, Gardner T and Barber J. Neuroglial Dysfunction in Diabetic Retinopathy. En: Elia J. Duh. *Diabetic Retinopathy*. Baltimore (USA). 2008. 283-301.
19. Hildebrand GD and Fielder A. Anatomy and physiology of the retina. En: Reynolds D and Olitsky S. *Pediatric Retina*. Berlin Heidelberg .Springer; 2011:39-66.
20. Bailey T, Kanuga N, Romero I, Greenwood J, Lutert P, and Cheetham M. Oxidative stress affects the junctional integrity of retinal pigment epithelial cells. *Investigate Ophtalmology & Visual Science*. 2004. 45 (2); 675-684.
21. Inana G, Murat C, An W, Yao X, Harris I and Cao J. RPE phagocytic function declines in age-related macular degeneration and is rescued by human umbilical tissue derived cells. *Journal of translation Medicine*. 2018; 16(63): 1-15.
22. Du Y, Veenstra A, Palczewski K and Kern T. Photoreceptor cells are major contributors to diabetes-induced oxidative stress and local inflammation in the retina. *PNAS*. 2013; 110 (41): 16586-16591.
23. Liu Q, Ju WQ, Crowston J, Xie F, Perry G, Smith M, Lindsey J and Weinreb R. Oxidative Stress is an Early event in Hydrostatic Pressure-Induced Retinal Ganglion Cell Damage. *IOVS*. 2007; 48 (10): 4580-4589.

24. Cecilia M, Campanell J, Sande P, Sáenz D, Keller MI and Rosenstein R. Retinal oxidative stress induced by high intraocular pressure. *Free Radical Biology & Medicine*. 2004;37(6): 803-812.
25. Sucher N, Lipton S, Dreyer E. Molecular Basis of glutamate toxicity in retinal Ganglion cells. *Vision Res*. 1996; 37(24): 3483-3493.
26. D Nguyen, MV Alavi, K-Y Kim, T Kang, RT Scott, YH Noh, JD Lindsey, B Wissinger, MH Ellisman, RN Weinreb. A New vicious cycle involving glutamate excitotoxicity, oxidative stress and mitochondrial dynamics. *Cell Death and Disease*. 2011; 2: 1-10.
27. M. Sasaki, Y. Ozawa, T. Kurihara, S. Kubota, K. Yuki, K. Noda, S. Kobayashi, S. Ishida, K. Tsubota. Neurodegenerative influence of oxidative stress in the retina of a murine model of diabetes. *Diabetologia*. 2010; 53: 971-979.
28. García A, Moreno Diabetes ocular. En: Maldonado MJ/ Pastor J. *Guiones de oftalmología*. Madrid: McGraw-Hill; 2012:285-294.
29. R.A Kowluru. and P.-S. Chan. Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Hindawi Publishing Corporation Experimental Diabetes Research*. 2007: 1-12.
30. Lorenzi M. The Polyol Pathway as a Mechanism for Diabetic Retinopathy: Attractive, Elusive, and Resilient. *Hindawi Publishing Corporation*. 2007. 1-10.
31. Lorenzi M and Oates P. The polyol Pathway and Diabetic Retinopathy. En: Elia J. Duh, *Diabetic Retinopathy*. Baltimore (USA): Humana Press; 2008: 159-186.
32. Madsen-Bouterse S. A., Kowluru R. A. Oxidative Stress and diabetic retinopathy: Pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *REv Endocr Disord*. 2008; 9: 315-327.
33. Stitt A. The role of Advanced Glycation in Diabetic Retinopathy. En: Elia J. Duh, *Diabetic Retinopathy*. Baltimore (USA). Humana Press; 2008: 187-206.
34. Yamagishi S.-I., Ueda S, Matsui T, Nakamura K and Okuda S. Role of Advanced Glycation End Products (AGEs) and Oxidative Stress in Diabetic Retinopathy. *Current Pharmaceutical Desing*. 2008; 14: 962-968.
35. Giacco F & Brownlee M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circulation Research*. 2010;107:1058-1070.
36. Tarr J, Kaul K, Chopra M, Kohner E and Chibber R. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy. *Hindawi Publishing Corporation. ISRN Ophtalmology*. 2013. 1-13.
37. Prakash M, Sun J and King G. The role of Protein Kinase C in Diabetic Retinopathy. En: Elia J. Duh. *Diabetic Retinopathy*. Baltimore (USA) : Humana Press; 2008: 207-216.
38. Duh E. Retinal Neovascularization and the Role of VEGF. En: Elia J. Duh. *Diabetic Retinopathy*. Baltimore (USA): Humana Press; 2008: 353-373.
39. Piñero A. Degeneraciones y distrofias de la retina. En: Maldonado MJ/ Pastor J. *Guiones de oftalmología*. Madrid: McGraw-Hill; 2012: 285-294.
40. Beatty S, Koh H-H, Phil M, Henson D, Boulton M. The Role of Oxidative Stress in the pathogenesis of Age-related Macular Degeneration. *Survey of ophtalmology*. 2000; 45(2): 115-134.
41. Jarrett S and Boulton E. Consequences of oxidative stress in age-related macular degeneration. *Mol Aspects Med*. 2012; 33(4): 399-417.
42. Sampaolesi R. Glaucoma crónico simple. En: Maldonado MJ/ Pastor J. *Guiones de oftalmología*. Madrid: McGraw-Hill; 2012: 285-294.
43. Izzotti A, Bagnis A, Saccà S. The role of oxidative stress in glaucoma. *Mutation Research*. 2006; 612: 105-114.
44. Alvarado J, Murohy C, Polansky J and Juster R. Age-related changes in trabecular meshwork cellularity. *Assoc for Res in Vis and Ophthal*. 1981; 21 (5): 714-727.