



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE CIENCIAS

Grado en Óptica y Optometría

MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO TITULADO

Mecanismos moleculares de la retinopatía diabética

Presentado por Marta Tejedor Puentes

Tutelado por: Irene Cózar Castellano

Tipo de TFG: Revisión Investigación

En Valladolid a, 24 de mayo de 2019

ÍNDICE

ABREVIATURAS	2
RESUMEN/ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
1.1. Diabetes mellitus	4
1.2. Complicaciones oculares de la diabetes	5
1.3. Mecanismos moleculares de la retinopatía diabética	5
RETINOPATÍA DIABÉTICA	6
2.1. Definición, estadios, factores de riesgo	6
2.2. Mecanismos moleculares	8
2.2.1. Hiperglucemia	8
2.2.2. Disfunción mitocondrial, ROS	10
2.2.3. Proteína quinasa C	11
2.2.4. Ruta de polioles	11
2.2.5. Hexosamina	13
2.2.6. Productos finales de glicosilación avanzada, AGEs.....	14
2.2.7. Sistema renina-angiotensina.....	15
2.3. Posibles dianas terapéuticas	16
CONCLUSIONES	17
BIBLIOGRAFÍA	18

ABREVIATURAS

ADA: Asociación Americana de la diabetes

AGE/s: productos finales de glicosilación avanzada

ALR2: aldosa reductasa-2

AMIR: anomalías de la microvasculatura intrarretiniana

ANG-2: angiotensina-2

BHRi: barrera hematorretiniana interna

DAG: diacilglicerol

ECA: enzima convertidora de angiotensina

EM/EMD/EMC: edema macular/ edema macular diabético/ edema macular cistoide

eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial

ET-1: endotelina-1

FID: Federación internacional de la diabetes

GFAT: enzima fructosa-6-fosfato aminotransferasa

GNV: glaucoma neovascular

HbA1C: hemoglobina glicosilada

HIF-1: factor 1 inducido por la hipoxia

HV: hemorragia vítrea

MAP: proteína activada por mitógeno

MODY: diabetes de la edad madura que se presenta en el joven

NAD⁺: nicotinamida adenina dinucleótido

NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NFκβ: factor de necrosis tumoral Kappa B

NV: neovascularización

PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas

PKC: proteína quinasa C

PLA2: fosfolipasa-A2

RAGE: receptor de productos finales de glicosilación avanzada

RAS: Sistema renina-angiotensina

RD: retinopatía diabética

RDNP: retinopatía diabética no proliferativa

RDP: retinopatía diabética proliferativa

ROS: especies reactivas del oxígeno

TGF-α: factor de crecimiento transformante alfa

TGF-β1: factor de crecimiento transformante beta 1

TX: tromboxano

UDP-GlcNAC: difosfato uracil-N-glucosamina

VEGF: factor de crecimiento endotelial

ZO-1: zónula occludens-1

RESUMEN

En el siguiente trabajo, se lleva a cabo una revisión bibliográfica de los mecanismos moleculares que subyacen a la retinopatía diabética. Ésta es la complicación microvascular más frecuente de la diabetes mellitus a nivel ocular. Además, es la principal causa de ceguera en la población en edad laboral a nivel mundial.

El trabajo se centra en los procesos que ocurren a nivel molecular en el desarrollo de la patología. Se analiza con profundidad lo que ocurre en los momentos de hiperglucemia a nivel ocular, en la disfunción mitocondrial causada por las ROS (especies reactivas del oxígeno), la función de la vía de señalización de PKC (proteína quinasa C), la ruta de los polioles, la función de la hexosamina y de los AGEs (productos finales de glicosilación avanzada), la acción del sistema renina-angiotensina (RAS), y sus efectos en el desarrollo de la retinopatía diabética.

Finalmente, basado en los mecanismos moleculares estudiados, propongo una serie de posibles dianas terapéuticas para el tratamiento de la retinopatía diabética.

ABSTRACT

This project is a bibliographic review on the molecular mechanisms of diabetic retinopathy. This pathology is the most frequent microvascular complication of diabetes mellitus. In addition, it is the main cause of blindness in the working-age population worldwide.

The document focuses on the processes that occur at the molecular level in the development of diabetic retinopathy: events that occur at ocular level under hyperglycemic conditions, mitochondrial dysfunction under ROS (Reactive Oxygen Species) effect, PKC (Protein Kinase C) pathway, polyols route, hexosamine and AGEs (advanced glycation products) function and RAS (renin-angiotensin system) action.

Finally, based on my search about the molecular mechanisms of diabetic retinopathy, I propose a number of possible therapeutic targets for the treatment of the disease.

INTRODUCCIÓN

1.1. Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus, a la que me referiré a partir de ahora como diabetes, engloba un conjunto de enfermedades metabólicas caracterizadas por la hiperglucemia que resulta de defectos en la secreción de insulina, en la acción de insulina o ambas. La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia a complicaciones a largo plazo tanto visuales como renales, cardíacas y circulatorias y puede provocar fallo de diferentes órganos como: hígado, riñones o corazón¹. Según el Atlas de Diabetes de la FID, 425 millones de personas entre 20 y 79 años en todo el mundo, padecen esta patología. Además, se prevé que en 2.045 aumente hasta los 629 millones de personas en el rango de edad mencionado². Esto es debido entre otras cosas a los cambios de hábitos de vida que está experimentando la sociedad, con dietas menos saludables y mayor sedentarismo. Cabe destacar, que la prevalencia es mayor en hombres que en mujeres.

En España, en 2011, se llevó a cabo un estudio llamado Di@bet.es Study, en el que se describe que un 13,8% de la población padecía diabetes en el momento del estudio, y de ellos, un 6% lo desconocía. Se trata de un dato alarmante, casi el 50% de la población desconoce que padece la enfermedad siendo la principal causa de ceguera en el mundo³.

La clasificación de los distintos tipos de diabetes tiene cierta controversia pero principalmente, existen 3 tipos de diabetes reconocidos por la Asociación Americana de Diabetes (ADA): diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 y diabetes gestacional.

La diabetes tipo 1 o insulino dependiente, es una enfermedad autoinmune que provoca un déficit absoluto de insulina y es debida a una destrucción de las células beta pancreáticas. Se corresponde con un 5-10% de la población diabética.

La diabetes tipo 2 se caracteriza por producirse un defecto en la secreción de insulina como consecuencia de una resistencia insulínica periférica. En este caso, se ve involucrada entre un 90-95% de la población diabética. Es el tipo de diabetes más prevalente en la población y está estrechamente relacionada con el estilo de vida.

Por último, la diabetes gestacional es aquella en la que existe algún grado de intolerancia a la glucosa detectado por primera vez durante el embarazo. Normalmente, se diagnostica en el 2º o 3º trimestre de gestación.

Además, hay otros tipos específicos de diabetes como los síndromes de diabetes monogénica (diabetes neonatal y diabetes MODY), enfermedades del páncreas exocrino o aquellas secundarias a fármacos o post-trasplantes, que suponen un pequeño porcentaje del total de casos de diabetes¹.

1.2. Complicaciones oculares de la diabetes

La complicación microvascular más frecuente en la diabetes es la retinopatía diabética (RD), que es a su vez, la principal causa de ceguera en la población que se encuentra en edad laboral a nivel mundial. Además, hay una mayor prevalencia de la RD cuanto más evolucionada está la diabetes y a mayor edad del paciente.⁴

También es frecuente encontrar edema macular diabético (EMD), un acúmulo de líquidos y exudación en la retina central (mácula), que es la porción de la retina encargada de la visión fina y el campo visual central.

A otros niveles estructurales del globo ocular puede encontrarse neovascularización en iris y en el segmento anterior ocular. Al desarrollarse neovascularización en la malla trabecular, se provoca un cierre del ángulo camerular, un aumento de la presión intraocular y con ello, el desarrollo de un glaucoma neovascular. A su vez, en el cristalino hay mayor probabilidad de desarrollar cataratas que en una persona no diabética y, al nivel de la superficie ocular, la diabetes puede afectar gravemente la córnea provocando edema corneal, una disminución de la cicatrización y una alteración de la membrana basal del epitelio corneal.⁵

1.3. Mecanismos moleculares de la retinopatía diabética

Este trabajo de fin de grado se centra en revisar la bibliografía para encontrar los procesos que ocurren a nivel molecular en la retina en el desarrollo de la retinopatía diabética. Se analiza con profundidad lo que ocurre en los tejidos, primeramente tras la hiperglucemia crónica existente en los pacientes diabéticos, y tras una disfunción mitocondrial que provoca estrés oxidativo, conllevando daños en la vasculatura retiniana entre otros problemas. Posteriormente, se analizan las rutas metabólicas que se activan tanto por el estado hiperglucémico como por la disfunción mitocondrial, que serían la activación de la PKC, la ruta de los polioles, la inducción de la ruta de la hexosamina, la cascada del sistema de activación de la angiotensina y la regulación de la formación de los AGEs. Todos ellos se estudian para observar su relación con el desarrollo de la retinopatía diabética.

RETINOPATÍA DIABÉTICA

2.1. Definición, estadios, factores de riesgo

La RD es una disfunción de la vasculatura retiniana provocada por una hiperglucemia crónica, siendo la complicación más severa de la diabetes. Además, resulta en un daño estructural de la retina neural. En un primer momento, la RD es una complicación asintomática por lo que cuando aparecen síntomas como disminución de la visión no transitoria debido a la existencia de EMD o a hemorragias vítreas (HV), escotomas paracentrales también como consecuencia del edema en la mácula e incluso dolor ocular, típico del glaucoma neovascular (GNV), su tratamiento es más complejo por el estado tan avanzado que tiene la patología.⁵

Es una condición multifactorial que se debe a las anomalías bioquímicas y metabólicas que tienen lugar en todas las células retinianas. La microvasculatura retiniana responde a la hiperglucemia a través de numerosos cambios bioquímicos ocurridos en la ruta de los polioles, en la activación de la PKC, la regulación de la formación de los AGEs, la cascada del sistema de activación de la angiotensina y en la inducción de la ruta metabólica de la hexosamina. La interacción de estas rutas bioquímicas puede provocar una cascada de eventos como la apoptosis, el estrés oxidativo, la inflamación y la angiogénesis entre otros, que pueden llevar al daño de la retina causando la RD⁶. Cabe decir que la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo son factores importantes que afectan en el desarrollo de dicha patología, debido a que inducen la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y la apoptosis de las células endoteliales y los pericitos, responsables de aportar un soporte estructural a los capilares. La pérdida de todos estos pericitos conduce a una hernia localizada de las paredes de los capilares⁷. Este proceso está asociado con la formación de microaneurismas, siendo el primer signo clínico de la RD.

Clínicamente hablando, esta patología puede clasificarse según los distintos estadios por los que va avanzando, en los que presenta diferentes signos. Se distinguen las siguientes etapas en la RD: leve, moderada, severa no proliferativa (RDNP) y proliferativa (RDP), pero principalmente se divide en no proliferativa y proliferativa⁴.

La RDNP se caracteriza por el predominio de alteraciones de la permeabilidad vascular sobre los fenómenos obstructivos. Se pueden observar mediante exámenes de fondo de ojo: microaneurismas, hemorragias (hemorragias en llama, hemorragias intrarretinianas), anomalías en la microvasculatura intrarretiniana (AMIR) o exudados duros. Cuando va avanzando y progresa a severa, van apareciendo fenómenos obstructivos y aumenta notablemente el riesgo de progresión a formas proliferativas. Se observan signos como hemorragias en los cuatro cuadrantes retinianos, exudados algodonosos o arrosamiento venoso.⁸

La RDP a diferencia de la no proliferativa, se caracteriza por un mayor predominio de fenómenos vasculares obstructivos y además, aparece neovascularización. Se pueden observar complicaciones asociadas tales como HV, desprendimientos de retina traccionales, GNV e incluso ceguera. Estas complicaciones pueden observarse tras varios años de evolución después del

diagnóstico de diabetes tipo 1 o al mismo tiempo que se diagnostica al paciente de diabetes tipo 2.

Una clasificación adicional de RD es el EMD, que representa la causa más importante de pérdida de visión en los pacientes diabéticos. Se trata de un engrosamiento de la retina en el área macular debido a la acumulación de líquido procedente de hemorragias o escapes capilares amplios, cuando el edema es difuso, y de la fuga de microaneurismas y segmentos capilares dilatados, cuando se trata de un edema localizado.⁹ Según el tipo de edema que exista, es decir, por su localización exacta, se puede catalogar el EMD como leve cuando se encuentra en el polo posterior pero dista del centro de la mácula; moderado, cuando el edema se localiza en la mácula pero no invade el centro macular; y severo o grave, cuando envuelve el centro de la mácula. Cabe decir que, cuando se trata de edema difuso, puede provocar cambios cistoides (cambios en la anatomía) en la fovea y, se denomina edema macular cistoide (EMC)¹⁰.

En la tabla 1 se muestra un resumen de la clasificación de la RD según los signos y síntomas que van apareciendo con respecto a los niveles de severidad que tiene la enfermedad.

CLASIFICACIÓN RETINOPATÍA DIABÉTICA SEGÚN SUS ESTADIOS	
Severidad	Signos/síntomas
No retinopatía diabética	-Sin evidencia de desarrollo de retinopatía diabética
RDNP leve	-Por lo menos, un microaneurisma
RDNP moderada	-Microaneurismas o hemorragias en mayor cantidad -Presencia de exudados duros, arrosamiento venoso o AMIR (anomalías de la microvasculatura intrarretiniana)
RDNP severa	-Presencia de exudados algodonosos, arrosamiento venoso o AMIR en al menos en dos de los cuadrantes retinianos -Hemorragias y microaneurismas en al menos dos de los cuadrantes retinianos
RDP precoz	-Aparición de neovascularización
Alto riesgo de existencia de RDP	-NV en el disco óptico con o sin la presencia de hemorragias vítreas o hemorragias prerretinianas -Hemorragias vítreas y/o prerretinianas, mayor NV en los cuatro cuadrantes
Presencia aparente de EMD	-Engrosamiento de la retina al menos de un diámetro papilar en la fovea (edema) -Exudados duros en la mácula con algún exudado al menos de un diámetro papilar en la fovea
EM clínicamente significativo	-Edema en la retina de al menos 500 micras en la fovea -Exudados duros en el engrosamiento de la fovea, asociados con edema adyacente retinal. -Edema de al menos el diámetro foveal, mayor o igual que el diámetro papilar.

Tabla 1: Clasificación de retinopatía diabética. Adaptado de [8]

Respecto a los factores de riesgo en el desarrollo de la patología, los factores genéticos juegan un papel muy importante. También, son significativos tanto la duración de la diabetes como el control glucémico que se lleve a cabo. Según los estudios que se han realizado, los genes de susceptibilidad que tienen un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad son aquellos que codifican: la aldosa reductasa (ALR2), la enzima convertidora de angiotensina-I (ECA), la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), el receptor de AGEs (RAGE) y el factor de crecimiento endotelial (VEGF)¹¹:

- La ALR2 forma parte de la ruta de los polioles, convierte la glucosa en sorbitol pero como en la diabetes hay un exceso de glucosa, el sorbitol se acumula y provoca un estrés osmótico intracelular que está asociado con la pérdida de pericitos y la formación de microaneurismas en la retina. Por ello, su función se asocia al riesgo de desarrollar RD.

- La ECA pertenece al sistema renina-angiotensina que convierte la angiotensina-I en angiotensina-II, la cual promueve la remodelización y la proliferación vascular, principalmente mediante el receptor de angiotensina-I. Esto puede provocar un incremento del crecimiento capilar, mayor permeabilidad capilar, y estrés oxidativo típico de la RD.
- La eNOS es una enzima clave en la producción del vasodilatador óxido nítrico, que se trata de un factor importante en el incremento del flujo sanguíneo retiniano. Por tanto, se cree que está asociado con el desarrollo de la retinopatía aunque hay mucha controversia al respecto.
- Los AGEs son el resultado de la glicosilación no enzimática de proteínas y lípidos secundaria a una exposición prolongada a la hiperglucemia. Los AGEs contribuyen potencialmente al desarrollo de la retinopatía diabética a través de su acumulación en los tejidos, provocando así daño en éstos y, la activación de los RAGEs. Esto conlleva la secreción de citoquinas que pueden incrementar la permeabilidad endotelial y acelerar la progresión de la patología.
- Por último, VEGF es una citoquina importante en la angiogénesis y la permeabilidad microvascular tras producirse una estimulación en sus niveles como consecuencia de la hipoxia existente en los cambios microvasculares de la diabetes. Además contribuye significativamente en la patología de la RD, estimulando la neovascularización y provocando la ruptura de la barrera hematorretiniana.¹¹

Por otra parte, aumenta el riesgo de desarrollar RD si los diabéticos no llevan unos hábitos de vida adecuados: el tabaquismo puede provocar hipertensión arterial e incluso enfermedades cardiovasculares; una alimentación adecuada, ya que las carencias, como un estado de anemia, empeoran los fenómenos isquémicos en la RD; incluso excesos en la alimentación, pueden producir hipertensión arterial o dislipemia. Se debe seguir un control metabólico correcto en los niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1C), la cual mide el nivel promedio de glucosa en sangre y así, permite ver la evolución de la diabetes. Es significativo decir que, tras veinte años de enfermedad, casi el cien por cien de los pacientes con diabetes tipo 1 de larga duración y el sesenta por ciento de los diabéticos tipo 2, padecen algún grado de RD.

2.2. Mecanismos moleculares

En la RD se producen a nivel molecular numerosos cambios que son provocados fundamentalmente por una hiperglucemia crónica. Ésta desencadena todos los procesos, incluyendo la disfunción mitocondrial y tras ella, un estrés oxidativo que da lugar al desarrollo de la retinopatía.

2.2.1. Hiperglucemia

La hiperglucemia juega un papel muy importante en la patogénesis del daño microvascular retiniano debido a que, múltiples rutas metabólicas, se ven activadas como consecuencia de la misma.

Las primeras respuestas de los vasos sanguíneos de la retina a la hiperglucemia son la dilatación y los cambios en el flujo sanguíneo y en el calibre de los vasos. Estos cambios son considerados una autorregulación metabólica para aumentar el metabolismo de la retina en sujetos diabéticos.⁴

La pérdida de pericitos es otro indicador del comienzo de la RD. Esta pérdida es provocada por un elevado nivel de glucosa. Como los pericitos son los responsables de proveer un soporte estructural a los capilares, la pérdida de todos ellos conduce a una hernia localizada de las paredes de los capilares. Este proceso se asocia a la formación de microaneurismas, el primer signo clínico de RD. Además, la apoptosis de las células endoteliales y el engrosamiento de la membrana basal también son detectados durante la patogénesis de la patología, que junto con la apoptosis de los pericitos, contribuyen al deterioro de la barrera hematorretiniana interna (BHRI) encargada de la regulación del flujo de solutos y líquidos de la retina, así como de sustancias tóxicas.¹¹

Igualmente, una pérdida pronunciada de pericitos y células endoteliales deriva en oclusiones capilares e isquemia. La isquemia retiniana conduce a la estimulación de VEGF como consecuencia de la activación del factor 1 inducido por la hipoxia (HIF-1). Además, se ha comprobado que la fosfolipasa-A2 (PLA2) que se encuentra elevada bajo la hiperglucemia, también desencadena una estimulación de VEGF, siendo un factor clave involucrado en la progresión de la RDP y el EMD. VEGF incrementa la permeabilidad vascular mediante la inducción de fosforilación en las uniones estrechas proteicas, como la ocludina y la zónula occludens-1 (ZO-1). Además, al ser un factor angiogénico, VEGF promueve la proliferación de las células endoteliales a través de la activación de la proteína activada por mitógeno (MAP). Por ello, se cree que los factores angiogénicos, como VEGF o las angiopoyetinas, estarían implicados en la alteración de la microvasculatura de la retina.⁴ Se ha descrito que los factores angiogénicos además de promover la proliferación, pueden promover la fuga vascular en la RD.¹² En la figura 1 se explica de forma esquemática lo que ocurre en la retina ante la hiperglucemia.

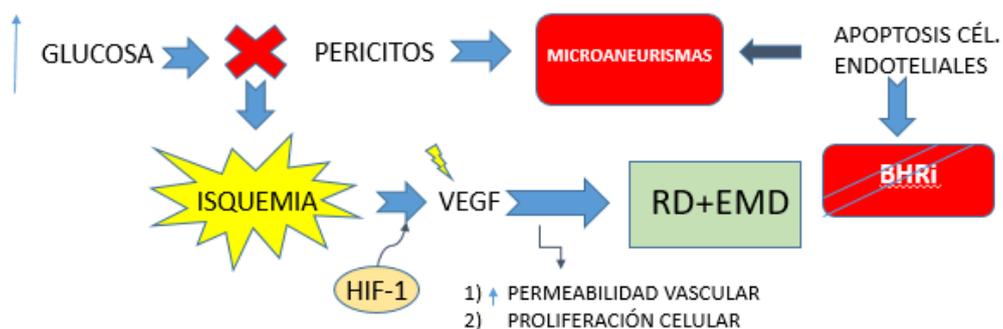


Figura 1: proceso de desarrollo de la RD como respuesta a la hiperglucemia.

Por lo que se concluye que el estado hiperglucémico de la diabetes es el principal desencadenante de todos los procesos que conducen al desarrollo de la RD.

2.2.2. Disfunción mitocondrial, ROS

La mitocondria es el orgánulo celular que genera la mayor parte de la energía a la célula y, la fisiología normal celular, depende estrechamente de las funciones mitocondriales como la conversión de energía o la regulación de la homeostasis entre iones y redox. Además, juega un papel esencial en la activación de las rutas metabólicas implicadas en el desarrollo de la RD¹³.

La disfunción mitocondrial consiste en un conjunto de síndromes secundarios a alteraciones en el ADN mitocondrial y/o en el ADN nuclear, que provocan una disfunción en la mitocondria en la que pueden verse afectados distintos órganos y tejidos. Según el grado de afectación y dependiendo del tejido u órgano afectado, se van a poder observar distintos fenotipos muy heterogéneos.

Con respecto a la diabetes, la disfunción mitocondrial puede contribuir a su aparición con el riesgo asociado de desarrollar retinopatía diabética. También puede contribuir a la desregulación metabólica del diabético, y por tanto aumentar el riesgo de complicaciones diabéticas tardías, como sería la propia retinopatía.

En la retinopatía diabética suele verse afectada la agudeza visual del paciente por los déficits neurológicos provocados por esa disfunción mitocondrial.¹⁴

La disfunción mitocondrial en los pacientes diabéticos induce la síntesis de numerosas especies reactivas del oxígeno (ROS) que, normalmente son eliminadas por la mitocondria. Se debe a que la hiperglucemia crónica incrementa la formación de AGEs mediante glicosilación no enzimática y, la unión de estos a su receptor (RAGE), resulta en el incremento de producción de ROS intracelulares por la vía de la NADPH oxidasa. Esto puede provocar estrés oxidativo y comprometer la función de la cadena de transporte de electrones, resultando en un trastorno en el ADN mitocondrial. Con ello, se reduce la transcripción de genes que codifican las enzimas esenciales y aumenta la perturbación de la función metabólica en la mitocondria, lo que inicia un ciclo vicioso que puede expandirse. Además, la mayor producción de ROS puede contribuir a la inducción de la autofagia en la retina conllevando la muerte celular. Todos estos procesos pueden ser causas importantes de la disfunción de la vasculatura retiniana, contribuyendo al desarrollo de la RD por la afección de pericitos y células endoteliales. Cabe destacar que la retina, debido a la alta cantidad de ácidos poliinsaturados que tiene en relación con otros tejidos, es más susceptible al estrés oxidativo.⁴

Cuando comienza a aumentar la producción de ROS en las células, la retina intenta superar ese estado de estrés oxidativo, mediante la regulación positiva de los genes importantes en la biogénesis del ADN mitocondrial y así, volver al estado inicial. Al continuar la súper producción de ROS, la biogénesis se satura y el ADN mitocondrial se daña comprometiendo el sistema de transporte de electrones. Posteriormente, se entra en un ciclo vicioso de ROS, continuando con la disfunción mitocondrial ya existente y, acelerando la pérdida de células de los capilares, los pericitos, y la apoptosis del sistema.¹³

Otro mecanismo de disfunción mitocondrial que tiene lugar en la RD es la formación de radicales libres. Estos componentes reactivos pueden provocar un

cambio en el metabolismo, como una actividad anómala de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, o en la ruta de los polioles, cambios en la formación de AGEs, la activación de la PKC y consecuentemente, el desarrollo de la RD a través de estas rutas metabólicas.

En resumen, en los pacientes diabéticos, los cambios en el metabolismo intermedio van a afectar a la función de la mitocondria a la hora de eliminar las ROS y los radicales libres, provocando estrés oxidativo y sus consecuencias.

2.2.3. Proteína quinasa C

La vía de la proteína quinasa C juega un papel clave en la patogénesis de la RD.

La PKC forma parte de la familia de las serinas/treoninas fosfoquinasas, que son enzimas con la capacidad de fosforilar proteínas. Presenta al menos 11 isoformas codificadas por 10 genes distintos, de las cuales las β y δ se activan principalmente por hiperglucemia.¹⁵ Su función es transducir las señales celulares procedentes de la hidrólisis de lípidos.

Con la hiperglucemia, se induce la acumulación de ROS y la síntesis de diacilglicerol (DAG), a partir de intermediarios glucolíticos como la dihidroxiacetona fosfato de la glucólisis, siendo el DAG un activador de la PKC.⁷ Como consecuencia de la activación anormal de la PKC, encontramos:

1) una disminución de eNOS, cambiando la biodisponibilidad del óxido nítrico y, un incremento en la producción de endotelina-1 y tromboxano, provocando vasoconstricción e hipoxia tisular.

2) Se induce la expresión de VEGF, lo que conlleva un aumento de la permeabilidad vascular y promueve la angiogénesis, y la inducción del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1), que estimula la producción de colágeno tipo IV y fibronectina. Estos últimos, se acumularán en la matriz extracelular aumentando el espesor de la membrana basal microvascular y modificando así su función.

3) Se activa el factor de necrosis tumoral Kappa B (NF κ B), inhibiendo así la expresión del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y activando la señalización de caspasa, lo que finalmente conduce a la pérdida de pericitos y la formación de microaneurismas.

4) Se provoca un incremento de la actividad de genes de respuesta al daño y se induce resistencia a la insulina.¹⁵

En resumen, los niveles elevados de DAG, existentes en los pacientes diabéticos, junto con la hiperactividad de PKC, son factores clave para el desarrollo de la RD.

2.2.4. Ruta de los polioles

La ruta de los polioles es una vía metabólica en la que se produce la transformación de glucosa en sorbitol mediante la enzima aldosa reductasa.¹⁶

La activación de la ruta de los polioles se trata de uno de los procesos que se observan durante la patogénesis de la RD, debido a las condiciones de estrés

oxidativo inducidas por la hiperglucemia crónica. Esta ruta también se conoce como la ruta de la sorbitol-aldosa reductasa debido a que esta enzima citosólica, que se encarga de la reducción de hexosas como la glucosa a sorbitol, interviene en el primer paso o primera reacción que se lleva a cabo en la ruta de los polioles, y es por ello, la enzima limitante del proceso.

La aldosa reductasa tiene baja afinidad por la glucosa cuando los niveles glucémicos tisulares son fisiológicos. Pero en la diabetes, se produce una sobreactivación de la ruta de los polioles por la hiperglucemia mantenida, provocando la acumulación de ROS e induciendo así estrés oxidativo en las células.

En esta ruta, la glucosa se reduce de forma irreversible a sorbitol a través de la aldosa reductasa, y el sorbitol se oxida a fructosa mediante la enzima sorbitol deshidrogenasa. Para que estas dos enzimas lleven a cabo su función, requieren como coenzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) en el caso de la aldosa reductasa y, nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) para la oxidación. En la figura 2, se pueden ver las reacciones esenciales de la ruta de los polioles junto a las consecuencias tras su activación.

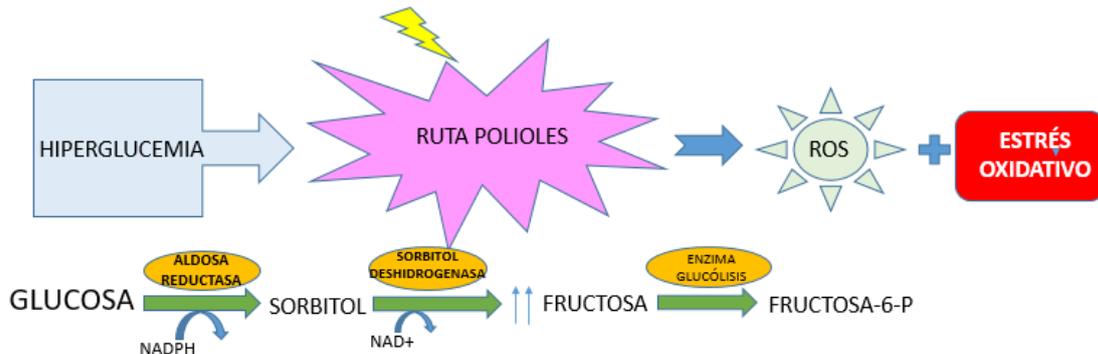


Figura 2: activación de la ruta de los polioles.

En condiciones hiperglucémicas, disminuyen los niveles de NADPH por el aumento en la actividad de la ruta, siendo esta coenzima la reguladora de la acción de las enzimas antioxidantes (catalasa, glutatión reductasa y óxido nítrico sintasa) que regeneran antioxidantes intracelulares como es el glutatión. Por tanto, se crea estrés oxidativo y una disminución en la síntesis de óxido nítrico. Además, se incrementan los niveles de sorbitol intracelular, provocando un aumento de la presión osmótica por su dificultad para difundir a través de las membranas celulares, y dañando de esta manera los tejidos por la aparición de edema celular.⁷

Al aumentar los niveles de sorbitol, aumenta la actividad de la enzima sorbitol deshidrogenasa y se reducen los niveles de NAD⁺, que actúa como coenzima de la reacción, teniendo como consecuencia la inhibición de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. La inhibición de esta enzima, provoca un paro en la glucólisis debido a que necesita ese NAD⁺ para transformar el gliceraldehído-3-fosfato en 1,3-bifosfoglicerato y continuar el proceso. Por tanto, ese gliceraldehído-3-fosfato se acumula junto a dihidroxiacetona fosfato que, son los dos compuestos resultantes de la transformación de la fructosa 1,6-bifosfato en triosas durante el proceso del metabolismo de la glucosa o glucólisis. Estas

dos triosas, contribuyen con el aumento de sus niveles a la aparición de estrés oxidativo, ya que son compuestos muy reactivos.¹⁵

Por otro lado, la dihidroxiacetona fosfato se reducirá a glicerol-3-fosfato, compuesto precursor del DAG y activador de la PKC.⁷

Igualmente, la fructosa resultante de la oxidación del sorbitol, aumentará sus niveles de producción y se fosforilará a fructosa-6-fosfato a través de una enzima de la glucólisis, relacionándose de esta manera la ruta de los polioles y la glucólisis. Debido a la hiperglucemia, hay un desequilibrio entre estos dos procesos, favoreciéndose la acumulación de sorbitol y fructosa.¹⁵

En resumen, se puede decir que la ruta de los polioles es otro desencadenante de estrés oxidativo celular y por ello, otra fuente de daño vascular, esencial para el desarrollo de la RD. Además de formar parte de la activación del proceso que desarrolla la PKC, uniéndose los dos mecanismos moleculares, resulta ser un nexo con la glucólisis.

2.2.5. Hexosamina

La hexosamina es un amino azúcar obtenido al sustituir un grupo hidroxilo por un grupo amino en una hexosa.¹⁷

En esta ruta metabólica, en primer lugar la glucosa se fosforila y posteriormente, se transforma en fructosa-6-fosfato. A continuación, a la fructosa-6-fosfato, la glucosamina le proporciona un grupo amino y, se forma glucosamina-6-fosfato a través de la enzima fructosa-6-fosfato aminotransferasa (GFAT), tratándose de una reacción irreversible. Después, la glucosamina-6-fosfato se acetila e isomeriza a N-acetilglucosamina-6-fosfato y se convierte en difosfato uracil-N-glucosamina (UDP-GlcNAC). Este último compuesto puede formar glucolípidos, glucoproteínas y proteoglicanos.¹⁹

En condiciones hiperglucémicas, se produce una gran cantidad de ROS que pueden inhibir la acción de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenada, encargada de transformar el gliceraldehído-3-fosfato en 1,3-bifosfoglicerato, facilitando de esta manera que productos de glucólisis puedan entrar en la ruta de la hexosamina. Además, con la inhibición de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa también se induce la actividad de la vía de los AGEs, provocando un aumento del estrés oxidativo en la retina.

De la misma manera, la glucosamina producida en la vía de la hexosamina, aumenta la producción de peróxido de hidrógeno, aumentando así la oxidación y provocando cambios en el endotelio celular, un aumento de la permeabilidad vascular e incluso la angiogénesis, ayudando al desarrollo de la RD.⁷

Además, cabe destacar que con la activación de esta vía, se ha demostrado que se estimula la expresión de genes tales como TGF- α o TGF- β 1, involucrados en la proliferación celular, la angiogénesis o la apoptosis celular que, también aparecen en la vía de la activación de la PKC. Incluso, se relaciona este proceso con la aparición de resistencia a la insulina.¹⁵

Los procesos que se llevan a cabo en la vía de la hexosamina, pueden verse de forma esquemática en la figura 3.

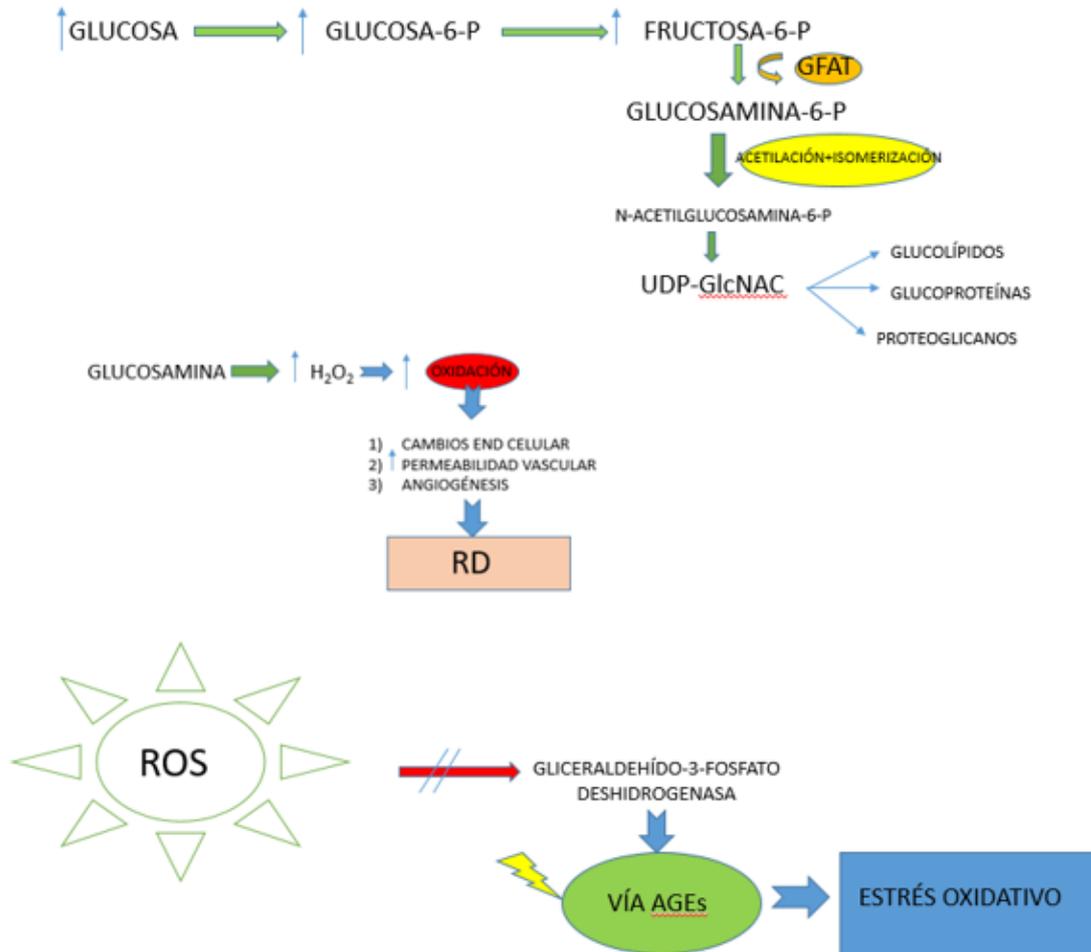


Figura 3: Ruta de la hexosamina en condiciones diabéticas.

En resumen, en la ruta de la hexosamina se produce la unión con la glucólisis y la vía de los AGEs, que contribuyen a la aparición de estrés oxidativo. También, esta ruta colabora en el desarrollo de la RD con los daños que se producen en la vasculatura retiniana por el acúmulo de distintos compuestos y, con la estimulación de factores que promueven la proliferación y muerte celular.

2.2.6. Productos finales de glicosilación avanzada, AGEs

Los AGEs son un grupo de moléculas que son generadas a través de reacciones no enzimáticas de glicosilación y de oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. El extremado incremento en su formación se produce en condiciones como la diabetes y el envejecimiento.¹⁹ Su acumulación en proteínas tisulares se ha visto implicada en complicaciones de tipo vascular en la RD.

La glicosilación de proteínas comienza con una reacción en la que se adiciona de forma nucleófila el grupo amino de una proteína y el carbonilo de un azúcar reducido, formando una base de Schiff. Cuando se forma la base de Schiff, se reordena el compuesto dando lugar a uno mucho más estable denominado producto de Amadori, siendo este proceso irreversible. Estas proteínas glicosiladas pueden derivar en productos de glicosilación avanzada

tras sufrir reacciones con compuestos dicarbonilos.²⁰ Este proceso de formación de AGEs puede verse esquematizado en la figura 4.

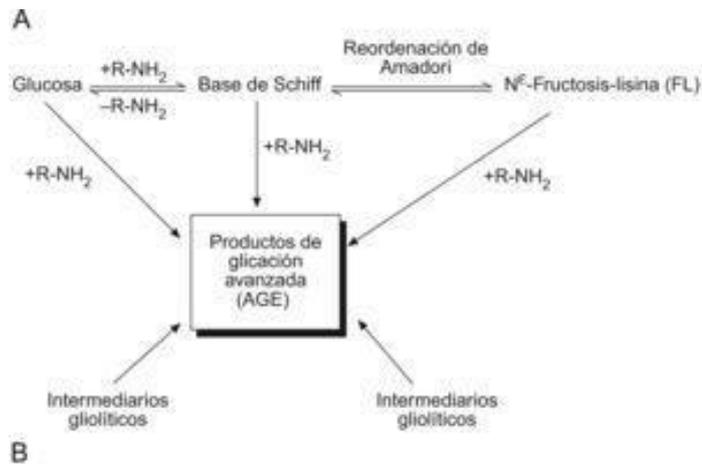


Figura 4: Proceso de glicosilación proteica a través de reacciones no enzimáticas dando como resultado productos finales de glicosilación avanzada. Modificada de [21]

Con respecto a la retinopatía diabética, es muy importante el papel que desempeña el receptor de AGEs, RAGE, debido a que su activación regula distintos procesos biológicos como el aumento de ROS, la liberación de citoquinas y VEGF, o la función celular. La interacción entre los AGEs y RAGE en la vasculatura retiniana, puede conllevar una disfunción endotelial. Además, la acumulación de AGEs induce la apoptosis de los pericitos de la retina, tras la activación de NF κ B. Por tanto, se ve comprometida la vasculatura retiniana, se aumenta la permeabilidad del endotelio, y se induce un proceso inflamatorio.⁷

En resumen, los AGEs provocan alteraciones metabólicas y vasculares a nivel micro y macrovascular en la retina del paciente diabético. Además, pueden provocar una disfunción endotelial y la apoptosis de los pericitos, siendo los signos de desarrollo de RD.

2.2.7. Sistema renina-angiotensina

El sistema renina-angiotensina se trata de un conjunto de reacciones que tienen como objetivo ayudar a regular la presión arterial.²²

Este sistema se activa con la presencia de hiperglucemia y, cuando esto ocurre, en primer lugar aparece una disminución de la presión arterial. En este momento, en los riñones se libera la enzima renina hacia el torrente sanguíneo. Esta enzima cataliza la conversión del angiotensinógeno, producido en el hígado, en angiotensina-I. Posteriormente, la angiotensina-I se transforma a través de la ECA, en angiotensina-II, la cual provoca la liberación de hormonas como la aldosterona y la vasopresina. La liberación de estas hormonas desencadena una retención de líquidos y cambia las concentraciones de electrolitos en los tejidos. Además, esto conlleva un aumento del volumen sanguíneo y de la presión arterial.²³

Otras acciones que provoca la angiotensina-II son inflamación, estrés oxidativo, angiogénesis y disfunción celular. Estos procesos los lleva a cabo

mediante la activación de NADPH provocando un aumento en la formación de ROS y dañando así las células del endotelio.⁷

La retención de líquidos que provoca la angiotensina-II en la retina da lugar a la aparición de edema macular, uno de los signos de desarrollo de RD. Asimismo, promueve la formación de neovasos siendo un potencial inductor de la expresión de VEGF.²²

En resumen, la vía del RAS es muy importante por el control de la presión arterial que realiza ya que, un valor elevado en la presión arterial conlleva daños en la vasculatura, ayudando al desarrollo de la RD. Además, la liberación de hormonas que se desencadena en condiciones hiperglucémicas, puede provocar la aparición de edema en la retina, siendo la principal causa de pérdida de visión en el diabético.

2.3. Posibles dianas terapéuticas

En los últimos años, se han realizado investigaciones sobre nuevas posibles dianas terapéuticas en el manejo de la RD. Tienen como objetivo prevenir el daño inducido por la diabetes en la microvasculatura retiniana mediante inhibiciones en los mecanismos moleculares que provocan el desarrollo de la RD. Se han hecho estudios experimentales con inhibidores de la PKC, moduladores del RAS, inhibidores de la ECA o con la administración de anti-VEGF entre otros.²³

Apoyándome de la bibliografía, yo propondría otras dianas terapéuticas para ralentizar el desarrollo de la RD. Por ejemplo, si se interviene el RAS, si se inhibe la ECA, lo que se podría conseguir sería que no hubiera liberación de las hormonas diuréticas. Por tanto, no se retendrían líquidos y no aparecería el edema macular.

Respecto a la inhibición de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, podría evitarse aumentando los niveles de NAD⁺, que actúa como coenzima del proceso. Esto, podría conseguirse mediante la administración de aminoácidos como el ácido aspártico o el triptófano, debido a que el NAD⁺ puede sintetizarse a partir de ellos. Entonces, si no se llega a inhibir la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, no se acumularía en las células gliceraldehído-3-fosfato y con ello, no aparecería estrés oxidativo.

Otra posibilidad es la inhibición de la PKC, con ella lo que se quiere conseguir es que no se produzca la activación del NFκβ, la inducción de VEGF, y la disminución de la acción de la eNOS para que no lleguen a aparecer daños en la microvasculatura. Para ello pueden utilizarse fármacos inhibidores de las diferentes isoformas de PKC como la estaurosporina.²²

CONCLUSIONES

Tras analizar con profundidad los distintos mecanismos moleculares que provocan el desarrollo de la RD, se concluye:

1. Todos los mecanismos son provocados por ese estado hiperglucémico existente en los pacientes diabéticos. La hiperglucemia activa las distintas rutas metabólicas produciendo un aumento de ROS y AGEs. Las mitocondrias no pueden eliminar todas las sustancias debido a cambios estructurales en el ADN mitocondrial y/o nuclear que provocan una disfunción mitocondrial.

2. Todas las rutas metabólicas involucradas en el desarrollo de la patología, tienen conexión entre ellas. La acumulación de sustancias que provoca una de las rutas, es aprovechada por otra. Entre todas producen el daño de la microvasculatura de la retina, la base del desarrollo la RD.

3. Un control glucémico adecuado del paciente diabético, junto a tratamientos como antiangiogénicos o aplicando en un futuro los tratamientos que actualmente se encuentran en experimentación, se podría reducir notablemente el desarrollo de la RD.

BIBLIOGRAFÍA

1. SED Sociedad Española de Diabetes, Menéndez Torre, E., Barrio Castellanos, R., & Novials Sardá, A. (2017). *Tratado de Diabetes Mellitus* (2ª edición). Madrid (España): Panamericana Editorial Médica.
2. Diabetes, F. I. de. (2017). *FID Diabetes Atlas. Federación Internacional de Diabetes* (Vol. 8).
3. Carmena, R., Gutiérrez, G., Martínez-Larrad, M. T., Rojo-Martínez, G., Franch, J., Bosch-Comas, A., ... Delgado, E. (2011). Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia*, 55(1), 88–93.
4. Wang, W., & Lo, A. C. Y. (2018). Diabetic retinopathy: Pathophysiology and treatments. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6).
5. Myron Yanoff & Jay S. Duker. (2014). *Ophthalmology, Fourth Edition- Myron Yanoff & Jay S. Duker*. (4ª edición). Editorial Elsevier. 541-550
6. Al-Kharashi, A. S. (2018). Role of oxidative stress, inflammation, hypoxia and angiogenesis in the development of diabetic retinopathy. *Saudi Journal of Ophthalmology*.
7. Wu, M.-Y., Yiang, G.-T., Lai, T.-T., & Li, C.-J. (2018). The Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction during the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1–12.
8. Primakov, F. D. (1980). [Classification of diabetic retinopathy]. *Oftalmol Zh*, 35(2), 115–117.
9. Lechner, J., O'Leary, O. E., & Stitt, A. W. (2017). The pathology associated with diabetic retinopathy. *Vision Research*, 139, 7–14.
10. Bowling, B. (2016). *Kanski. Oftalmología clínica. 8th edition. Un enfoque sistemático*. Editorial Elsevier.
11. Uhlmann, K., Kovacs, P., Boettcher, Y., Hammes, H. P., & Paschke, R. (2006). Genetics of diabetic retinopathy. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 114(6), 275–294.
12. Rangasamy, S.; Srinivasan, R.; Maestas, J.; McGuire, P.G.; Das, A. *A potential role for angiopoietin 2 in the regulation of the blood-retinal barrier in diabetic retinopathy*. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011, 52, 3784–3791
13. Kowluru, R. A. (2017). Diabetic retinopathy, metabolic memory and epigenetic modifications. *Vision Research*, 139, 30–38.
14. Bek, T. (2017). Mitochondrial dysfunction and diabetic retinopathy. *Mitochondrion*, 36, 4–6.
15. Cruz Hernández, J., Emiliano, M., Puig, L., Hernández García, P., Marcel, E. A. A., & Yanes Quesada, M. (2011). Aldosa reductasa y proteína quinasa C en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin*, 58(2), 102–107.

16. Vía del poliol. Diccionario Médico. Clínica de la Universidad de Navarra. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/via-del-poliol> (5/05/2019)
17. Hexosamina. (n.d.) *Diccionario Enciclopédico Vox* 1. (2009). <https://es.thefreedictionary.com/hexosamina> (5/05/2019)
18. D. R. Jones, W.-J. Keune, K. E. Anderson, L. R. Stephens, P. T. Hawkins, and N. Divecha, *The hexosamine biosynthesis pathway and O-GlcNAcylation maintain insulin-stimulated PI3K-PKB phosphorylation and tumour cell growth after short-term glucose deprivation*, *The FEBS Journal*, vol. 281, no. 16, pp. 3591–3608, 2014.
19. Carvajal Carvajal, C. (2015). Revisión bibliográfica productos finales de glicación (AGEs) y la nefropatía diabética, *Med. Leg. Costa Rica*, Ed. Heredia 32(1).
20. Clínicas, C., Hernández-Pérez, E., Velazco, R., Vega, E., Ducolomb, Y., & Román-Ramos, R. (2013). *Revista de docencia e investigación clínica AGEs, diabetes y su relación con la fibrosis hepática. Ciencias Clínicas* (Vol. 14).
21. Naudí, A., Jové, M., Ayala, V., Portero-Otín, M., & Pamplona, R. (2010). Glicación de proteínas mitocondriales, estrés oxidativo y envejecimiento. *Revista Espanola de Geriatria y Gerontologia*, 45(3), 156–166.
22. Funatsu, H., & Yamashita, H. (2003). Pathogenesis of diabetic retinopathy and the renin-angiotensin system. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 23(6), 495–501.
23. Safi, S. Z., Qvist, R., Kumar, S., Batumalaie, K., & Ismail, I. S. Bin. (2014). Molecular Mechanisms of Diabetic Retinopathy, General Preventive Strategies, and Novel Therapeutic Targets. *BioMed Research International*, 2014, 1–18.