

JORNADA CIENTÍFICA XL ANIVERSARIO  
CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO QUIRÚRGICAS

CIMEQ

Revisión Bibliográfica

Bases biomoleculares en la retinopatía diabética y su tratamiento actual.

Biomolecular bases in Diabetic retinopathy and its current treatment.

Dra. Elizabet Rodríguez Rodríguez <sup>(1)</sup>

Dr. Lexei Hernández Magaz <sup>(2)</sup>

(1) Especialista de primer Grado de Medicina General Integral y Oftalmología.

Correo: [elizabetro1985@gmail.com](mailto:elizabetro1985@gmail.com).

(2) Especialista de primer grado de Medicina General Integral y Oftalmología

Correo: [lexei.hernandez@gmail.com](mailto:lexei.hernandez@gmail.com)

ABREVIATURAS

AGEs: productos finales de glicosilación avanzada

ALR-2: aldosa reductasa-2

AMIR: anomalías de la microvasculatura intrarretiniana

Ang-2: angiotensina-2

bBGF: factor básico de crecimiento fibroblástico

BHR: barrera hematorretiniana

BHRi: barrera hematorretiniana interna  
BHRe: barrera hematorretiniana externa  
DAG: diacilglicerol  
DM/ DM I/ DM II: Diabetes Mellitus/ Diabetes Mellitus tipo 1/ Diabetes Mellitus tipo 2  
DNA: ácido dexociribonucleico  
EM/EMD: edema macular/ edema macular diabético  
EMDCS: Edema Macular Diabético Clínicamente Significativo  
EPR: epitelio pigmentario de la retina  
FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos  
FID: Federación internacional de la diabetes  
GNV: glaucoma neovascular  
HbA1C: hemoglobina glicosilada  
HV: hemorragia vítrea  
ICAM-1: molécula soluble de adhesión intercelular  
IGF-1: factor de crecimiento Insulina-like-1  
IgG: inmunoglobulina  
IL: interleucinas  
LDL: lipoproteína de bajo peso molecular  
MB: Membrana Basal  
MCP-1: monocito chemoattractant protein-1  
MEC: Matriz Extracelular  
NADPH+: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato  
NO: óxido nítrico  
OMS: Organización Mundial de la Salud  
PDEF: factor de crecimiento derivado del epitelio pigmentario  
PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas  
PIGF: factor de crecimiento placentario  
PKC: proteína quinasa C  
RD/RDNP: Retinopatía Diabética/Retinopatía Diabética No Proliferativa  
RDP: Retinopatía diabética proliferativa  
RL: radicales libres

ROS: especies reactivas del oxígeno

RVEGF: receptor del factor de crecimiento endotelial

TGF- $\beta$ 1: factor de crecimiento transformante beta 1

TIMP: inhibidor tisular de las metaloproteasas

TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tisular  $\alpha$

VEGF: factor de crecimiento endotelial

## Resumen estructurado

**Introducción:** La retinopatía diabética es la complicación microvascular más frecuente en pacientes con Diabetes Mellitus (DM) de larga data, a causa de la hiperglucemia crónica. **Propósito:** El objetivo de este trabajo es profundizar en las bases biomoleculares que participan en el desarrollo de esta patología con la intención de comprender mejor estos procesos bioquímicos. **Metodología:** para realizar este estudio se han revisado un número importante de artículos relacionados a mecanismos y bases moleculares de la Retinopatía Diabética. No se han hecho restricciones respecto al tipo de estudio. **Conclusiones:** Al considerarse a la DM como una epidemia de dimensiones globales y a la Retinopatía Diabética como la principal causa de ceguera irreversible en la edad laboral; debemos ahondar en las bases biomoleculares que intervienen en el desarrollo de esta complicación microvascular, para incidir de manera oportuna y retardar su progresión y profundizar en estudios e investigaciones orientadas a la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos.

**Palabras claves:** Retinopatía Diabética; Anti – Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (Anti-VEGF), Bevacizumab.

## Abstract:

**Introduction:** Diabetic retinopathy is the most frequent microvascular complication in patients with long-standing Diabetes Mellitus, due to chronic hyperglycemia. **Purpose:** The objective of this work is to deepen the biomolecular bases involved in the

development of this pathology with the intention of better understanding these biochemical processes. Methodology: To carry out this study, a significant number of articles related to mechanisms and molecular base of Diabetic Retinopathy have been reviewed. No restrictions have been made on the type of study. Conclusions: Considering DM as an epidemic of global dimensions and Diabetic Retinopathy as the main cause of irreversible blindness in the working age; we must delve into the biomolecular bases that intervene in the development of this microvascular complication, to affect in a timely manner and delay its progression and deepen studies and research aimed at the search for new therapeutic targets.

Keywords: Diabetic Retinopathy; endothelial vascular growth factor, (Anti-VEGF), Bevacizumab.

introducción:

La Diabetes Mellitus es una condición fisiopatológica, en la que existe un estado de hiperglucemia crónica debido a deficiencias en la secreción y utilización de la insulina, en estrecho vínculo a deficiencias en el metabolismo de grasas, carbohidratos y proteínas. Está caracterizada por una determinante base inmunológica (sustrato inflamatorio), que condicionaría cambios en la estructura del patrón vascular de toda la economía con énfasis en los vasos de pequeño y mediano calibre.

En la actualidad, es alarmante el avance exponencial de las enfermedades crónicas no transmisibles en el mundo. Entre ellas, a la DM se reconoce como a una epidemia, convirtiéndose en un problema de salud a gran escala en países en vías de desarrollo. Afecta mayormente a personas en edad laboral, en los que la hiperglucemia crónica pudiera producir complicaciones a largo plazo tanto visuales y renales, cardíacas y circulatorias y/o fallo de órganos como el hígado. <sup>(1)</sup>

Según la FID (año 2017), 425 millones de personas entre 20 y 79 años en todo el mundo, padecen DM. Se estima que, del total, 127 millones (30%) padecerían alguna de las formas clínicas de la RD, mientras que 12 millones (10%) llevarían tratamiento para mejorar visión por esta causa. El mismo estudio prevee aumenten hasta 629 millones para el año 2045, en este rango de edad, de los cuales 188 millones (30%)

padecerían alguna de las formas clínicas de la RD, mientras que 18 (10%) millones llevarían tratamiento para mejorar visión por esta causa. Este comportamiento en la prevalencia estaría determinado con la práctica de hábitos y estilos de vida no saludables. <sup>(2)</sup>

En el 2012 Yau JW et al, en su estudio acerca de la Prevalencia Global y principales factores de riesgos de la retinopatía diabética, realizó un metaanálisis que comprendió 35 estudios en 28 años, en un total de 22896 individuos con diabetes alrededor del mundo. Estimó que, la prevalencia global estandarizada por edad de cualquier tipo de retinopatía diabética es del 34,6 %. Distribuidos en 6.96 % para retinopatía diabética proliferativa y, del 6,81 % para EMD como promedio, respectivamente. La prevalencia de cualquier tipo de retinopatía diabética, incluido el EMD, aumenta mientras más antigua es la diabetes, mayor la HbA1c y la presión sanguínea. Con peor comportamiento para pacientes con DM I. Con una prevalencia ajustada por edad de EMD es de 14,25 % y 5,57 %, para pacientes con DM I y DM II, respectivamente. <sup>(3)</sup>

Cuba carece de estudios de prevalencia relacionados a la RD, sin embargo, la 8<sup>va</sup> Edición del Atlas de Diabetes de la FID/2017 nos coloca en la región de Norteamérica y el Caribe donde la prevalencia pasaría de ser 45.9 millones (13%) de diabéticos para el 2017 a unos 62.2 millones (14.8%) para el 2045, estimándose el incremento en más de un 62%. Al mismo tiempo, esta entidad concluye que, en Cuba, existe una prevalencia del 6,7% de personas afectadas por diabetes. Lo que constituye un serio problema para nuestros servicios de salud si consideramos que globalmente, uno de cada tres pacientes con DM sufre RD. <sup>(4)</sup>

Debido a bases fisiopatológicas, causales y terapéuticas la DM suele dividirse en dos grandes grupos: DM I (autoinmune e idiopática) y DM II (disminución de la capacidad funcional de las células betas del páncreas y resistencia de los tejidos periféricos a la insulina). La más común es la DM II, pues constituye cerca del 85% a 95% del total de la población diabética, en vínculo con un pernicioso estilo de vida. <sup>(5)</sup>

La RD es la complicación microvascular más frecuente en pacientes DM de larga data, a causa de la hiperglucemia crónica. La RD afecta a una de cada tres personas con diabetes. Constituye la tercera causa de ceguera a nivel mundial, y la primera de

personas en edad laboral en países en vías de desarrollo. <sup>(6)</sup> La OMS, según la Actualización de la Guía clínica de Retinopatía Diabética para Latinoamérica del 2015, estima que la RD produce casi 5% de los 37 millones de ciegos del mundo, a la vez que para Latinoamérica este número se incrementa hasta un alarmante 7 %. Existe una mayor prevalencia de la RD cuanto más evolucionada está la diabetes, prolongado uso de insulina y mayor edad del paciente. El EMD, mayormente detectado entre DM II, se describe como la causa más frecuente de invalidez visual, presumiblemente a causa de contarse el mayor porcentaje de pacientes diabéticos en este grupo.

Es interés de este estudio acercar, a nuestros tratantes clínicos, endocrinólogos, residentes y estudiantes, a mecanismos y bases biomoleculares que determinan las diferentes etapas del desarrollo de la RD con el propósito de intervenir con prontitud y eficacia esta enfermedad, con la aspiración de detener su progresión a la ceguera.

### Bases Moleculares de la Retinopatía Diabética

La retina es una estructura compleja que se localiza tapizando la porción posterior del ojo. Está formada por un conjunto de capas en las que se distribuyen vasos sanguíneos y células diferenciadas con funciones específicas. Como un todo garantizarán la captura, sostenibilidad y transmisión del estímulo luminoso a través de la vía óptica hacia la corteza visual (cisura calcarina-lóbulo occipital), en donde este se constituye en imágenes. <sup>(7,8)</sup>

Los elementos de metabolismo y nutrición de la retina están suplidos por tres plexos: el Superficial y Profundo. Ambos provienen de la Arteria Central de la Retina, rama de la Arteria Oftálmica, cubren el territorio extendido entre las capas Limitante Interna y Nuclear Interna. La irrigación del tercio comprendido entre la capa Plexiforme Externa y el EPR, lo suple el Plexo de la Coriocapilar, constituido por las Arterias Ciliares Posteriores (Cortas y Largas). <sup>(9,10)</sup>

Por otra parte, la BHR (barrera selectiva), separa la sangre de los tejidos y se divide en dos: BHR<sub>e</sub> conformada por el EPR y la MB o de Bruch, ambos aíslan la neuroretina de

la coroides; mientras la BHRi está constituida por el endotelio de los vasos capilares de la retina (células endoteliales y sus fuertes uniones).<sup>(10)</sup>

La retina, como ningún otro tejido en la economía, es altamente dependiente de la glucosa y del oxígeno para su metabolismo. Cambios deletéreos en la microvasculatura retiniana a causa de la hiperglucemia crónica involucran la ruta del sorbitol, la activación de la PKC y la glicación (AGEs). La expresión de los AGEs y el estrés oxidativo inducen la producción de ROS y la apoptosis de la célula endotelial, el pericito y las células de Müller, favorece el fallo de la BHR. Condición sine qua non de la acumulación de exudados y lipoproteínas en la MEC de la retina para el inicio del deterioro visual a causa del EMD. La deserción del pericito marca el progreso hacia la RD caracterizada por formación de AMIR, isquemia, anoxia tisular y exudación, HV, proliferación fibrovascular, edema macular, escotomas paracentrales, dolor ocular al involucrarse el GNV. Finalmente, ceguera, que obliga a adecuar tratamientos en función del estadio de la enfermedad.<sup>(11-15)</sup>

De ordinario la RD se divide en grupos teniendo en cuenta su gravedad: RDNP, referida a cambios vasculares intrarretinales en ausencia de tejido fibrovascular extrarretinal; y RDP asociado a formación de neovasos y hemorragias y el EMD que puede llegar a ser EMDCS con grave compromiso visual.

Clasificación de la Retinopatía Diabética y Edema Macular Diabético.	
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
RDNP severa	-Microaneurismas y microhemorragias en los 4 cuadrantes -Tortuosidades venosas en 2 o más cuadrantes -AMIRs en 1 o más cuadrantes

	-Sin signos de neovascularización
RDP precoz	NV o HV o prerretinianas
Alto riesgo de existencia de RDP	Neovascularización papilar mayor a 1/3 de área papilar y/o hemorragia prerretiniana o vítrea, con neovascularización retiniana o papilar
RDP avanzada	Proliferación fibrovascular, desprendimiento de retina, hemorragia vítrea que oculta el fondo, GNV o ptisis
EMD no clínicamente significativa	-Engrosamiento de la retina al menos de un diámetro papilar en la fóvea (edema) -Exudados duros en la mácula con algún exudado al menos de un diámetro papilar en la fóvea
EMD clínicamente significativa	-Edema en la retina de al menos 500 micras en la fóvea -Exudados duros en el engrosamiento de la fóvea, asociados con edema adyacente retinal. -Edema de al menos el diámetro foveal, mayor o igual que el diámetro papilar.

Tomado y modificado de ICO International Council of Ophthalmology | Guidelines for Diabetic Eye Care. Copy-right © ICO January 2017.

Ambas, la RD y el EMD, son potenciales causa de ceguera, caracterizada por cambios deletéreos retinales consecuencia del deterioro vascular de causa diabética (Hiperglucemia de larga evolución). En ellos son descritos tres procesos diferentes y vinculantes entre sí: Formación del producto de la glicación (AGEs), Deserción del Pericito y Disfunción endotelial. Como evento último asociado a estos procesos se describe un desbalance entre elementos pro-angiogénicos (TGF- $\beta$ , Angiotensina, PEDF, TIMP, etc.) y anti-angiogénesis (VEGF, bFGF, PDGF, etc.) mecanismo vinculado a la respuesta inflamatoria relacionada estrechamente a la proliferación fibrovascular, las hemorragias, el desprendimiento traccional de la retina y finalmente la ceguera. (4,15)

En lo adelante expondremos la relación entre los cambios estructurales y las bases biomoleculares de los diferentes procesos, así como la intervención de los mediadores de la respuesta inflamatoria, blanco terapéutico clave de la estrategia de tratamiento actual de la RDP y el EMD.

Productos finales de la Glicación (AGEs) y su relación con la microangiopatía del diabético.

La glicación implica azúcares, con énfasis en la glucosa, en una reacción no-enzimática de proteínas (en menor grado con lípidos y DNA) para formar los productos de glicación precoz, también llamados de Amadori o fructosamina. Proceso dependiente de la concentración de glucosa. (ej. Hemoglobina Glicosilada/HbA1c: imprescindible para monitoreo y pronóstico del paciente diabético, proporciona una estimación promedio de las glicemias en 2-3 meses previos). Descender un 1% representa un 37 % menos de complicaciones microvasculares, un 43 % menos de amputación o afección severa de los vasos, un 21% menos de muertes relacionadas con la DM, un 14% menos de infarto de miocardio y un 12% menos de ictus cerebrales. <sup>(16)</sup> Pequeños cambios en los niveles HbA1c determina un impacto en la progresión de la RD. <sup>(17)</sup>

Una segunda etapa de esta cascada enzimática, formaría los productos finales de la Glicación (AGEs: compuestos múltiples, muy reactivos). Este es un proceso de reordenamiento intramolecular y de reacciones oxidativas, en las que se combinan los productos la fructosamina con el oxígeno, liberándose en el medio agentes del estrés oxidativo y radicales libres. Esta segunda fase no es necesariamente dependiente de la glucosa, sino del oxígeno responsable de la aparición de los agentes superoxidantes y sus efectos deletéreos. <sup>(18)</sup> La formación de Radicales Libres (RL), induce la oxidación e inactivación de enzimas celulares y proteínas de transporte. Durante la glicación son alterados lípidos, el DNA y ciertas proteínas para formar la Glicación precoz, todo lo cual se enmarca en las alteraciones de la transmisión a la replicación del mensaje genético, así como sobre la síntesis de proteínas. <sup>(18,19)</sup>

Las proteínas que son modificadas por los AGEs están comúnmente localizados a nivel del plasma, los compartimientos intracelulares y MEC. Así mismo, las estructuras de órganos acumulan AGEs de preferencia en la pared arterial, mesangio glomerular,

membranas basales glomerulares y de otros capilares. Como resultado, el colágeno tipo I, por agregación covalente, arrastra proteínas plasmáticas tales como LDL, IgG y albúmina al espacio subendotelial. De este modo resulta el engrosamiento de la pared, cambios en el flujo laminar de la sangre que favorece la agregación plaquetaria, la leucostasis y la permeabilidad aumentada de la pared de los vasos implicados. Mientras que, a nivel molecular, suelen ligarse a proteínas de larga vida; tales ejemplos los constituyen su unión a algunos tipos de colágeno y las cristalinas (cataratas asociadas a estadios graves de hiperglucemia).<sup>(20,21)</sup>

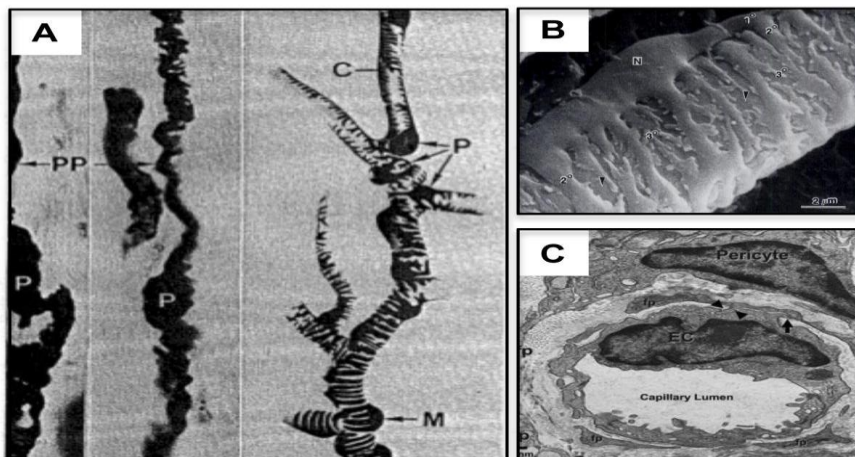
Se ha logrado relacionar la presencia de AGEs con la disminución de la elasticidad en arterias y arteriolas. Así mismo una relación directamente proporcional entre la acumulación de los AGEs y la inactivación del NO, el más potente vasodilatador fisiológico.<sup>(22)</sup>

En suma, la formación de AGEs en el colágeno de tipo IV de la MB desacondiciona la asociación lateral de estas moléculas en una estructura tridimensional sutil y compleja. Este mecanismo tiende a la reticulación de las fibras en forma anárquica, todo lo cual determina el aumento de la permeabilidad descrito en un escenario de hiperglucemia. Se cree que existe una estrecha relación entre las alteraciones condicionadas por la relación entre los AGEs y el colágeno tipo IV, con la deserción del pericito en esos vasos, que da sello anatómico la retinopatía diabética.<sup>(23)</sup>

## Deserción del pericito. Causas y consecuencias.

El pericito pertenece al tejido conjuntivo. Es una célula mural que da soporte al vaso, regula la proliferación y función microvascular (integridad vascular, angiogénesis y el remodelamiento). Se le encuentran rodeando a la célula endotelial en la microvasculatura, a las que están íntimamente ligado en forma de invaginaciones a través de la membrana basal del capilar, donde se hallan incrustados. Es un agente clave de la pervivencia y nutrición de la célula endotelial. <sup>(24)</sup>

Los pericitos son células contráctiles, que al compartir similitudes con las células musculares lisas de las arteriolas regulan el tono de los vasos capilares gracias a los filamentos de actina que contienen. De este modo, al contraerse participan en el mantenimiento de un flujo adecuado a nivel tisular. <sup>(24)</sup>



Imágenes de pericitos obtenidas con microscopía electrónica. A) Fotografía y representación esquemática realizados por Zimmermman K.

(1923) B) Imagen de microscopía de barrido de Sheprod D. (Shepro y Morel, 1993) C) Corte transversal de un capilar de Hayden M.R. (Hayden et al., 2008).

Este fenómeno se encuentra estrechamente vinculado a la disminución en la integridad estructural de la BHR. Las causas de la deserción del pericito aún no son del todo claras. Se conoce que su disminución favorece la aparición de edemas, diferentes tipos

de exudados y hemorragias ampliamente descritos en la RDP y estrechamente vinculados a la formación de aneurismas, engrosamiento de la membrana basal, aumento de la permeabilidad vascular, hipoxia y angiogénesis. <sup>(25)</sup>

En presencia de un ambiente de hiperglucemia crónica, tiene lugar una serie de eventos complejos a través del cual la enzima ALR produce sorbitol a partir de glucosa en presencia del NADPH+. La ALR-2 es una enzima citosólica que cataliza la reducción de hexosas (como la glucosa) a sorbitol. A la ALR se le encuentra en epitelio corneal, el cristalino, los pericitos retinales, etc. <sup>(26-29)</sup>

Cada vez que aumenta la glucemia, la ALR-2 transforma a la glucosa en sorbitol. Su incremento favorece el arrastre de sustancias a través de las membranas. El sorbitol se relaciona al aumento de la presión osmótica en el intersticio y daña los tejidos por edema, particularmente a las fibras nerviosas. Otra enzima, la sorbitol deshidrogenasa, transforma el sorbitol en fructosa, finalmente desvían el metabolismo de la glucosa hacia la vía de la "síntesis de novo de diacil-glicerol (DAG)". El DAG es un activador natural de la PKC. La enzima PKC favorece la expresión de la citocina, endothelin-1, inductora de la caída en el flujo capilar, causa de "isquemia retinal en la fase del pericito". Bajo estas circunstancias el pericito estimularía la producción del VEGF. <sup>(30)</sup>

El VEGF así producido por el pericito estimula en la célula endotelial subyacente receptores (RVEGF-1, RVEGF-2, etc.), momento descrito tras el cual deserta el pericito, destruido por los efectos combinados del sorbitol y de los AGEs, responsables del engrosamiento de la membrana basal que impide el contacto entre el pericito y la célula endotelial, dificultando su nutrición y favoreciendo su muerte celular por apoptosis. <sup>(31)</sup> Debe considerarse el papel coadyuvante de la hipertensión local y sistémica en este proceso. <sup>(32)</sup>

Los cambios en la pared vascular desencadenan la isquemia retinal, estímulo para la expresión en el medio de factores proangiogénicos inductores de la neovascularización y de la proliferación fibrovascular que tapiza la superficie vítrea. A partir de la anoxia, considerada la causa principal y masiva de la expresión del VEGF en el medio, se liberan igualmente citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) base molecular del mecanismo inflamatorio de la progresión de la RD. <sup>(33)</sup>

En adición, bajo condiciones de hiperglucemia, la mitocondria retinal falla, incrementándose las especies superoxidantes que eventualmente aceleran la liberación de la citocromo C, la apoptosis de células capilares y daños del DNA. <sup>(27)</sup>

A raíz del mecanismo de la deserción del pericito es que puede explicarse los cambios primeros en el capilar del paciente con RD y las alteraciones funcionales que le caracterizan, en asociación con dos eventos fundamentales: cambios en el endotelio vascular y la expresión del VEGF.

Disfunción endotelial (DE) y microangiopatía diabética.

El endotelio se puede definir como una monocapa que separa a los tejidos de la sangre. En la actualidad, se le considera órgano del sistema neuroendocrino difuso cuyas células ejercen múltiples funciones. <sup>(34)</sup>

En el desarrollo de la DE tiene lugar un deterioro de la Hemostasia Vascular. El endotelio vascular es una barrera altamente selectiva y un órgano metabólicamente muy activo con un papel crucial en la Hemostasia Vascular. Esta homeostasis implica un regulado balance entre un estado vasodilatador asociado con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitrombóticas; y un estado vasoconstrictor, más vinculado a un estado pro-oxidante, proinflamatorio y protrombótico, este último dominante en la DE. <sup>(35)</sup>

El endotelio capilar de la retina, lo constituye una capa continua de células endoteliales fuertemente unidas entre sí (“zona ocludens”, del inglés “tight junctions”-TJ), rodeadas por una membrana basal continua. Las uniones intercelulares están formadas por complejos multiproteicos, constituidos por proteínas transmembranales y citosólicas, que conectan las proteínas de membrana con el citoesqueleto intracelular. Las proteínas asociadas a TJ son descritas en más de 40, las principales proteínas en las uniones apretadas son las claudinas (cln), las ocludinas y las moléculas de adhesión JAMs. <sup>(36)</sup>

Es así que, la integridad del endotelio vascular en el que intervienen los TJ a modo de barrera semipermeable para el control del flujo de lípidos y proteínas, es determinante en la estabilidad de los medios tanto intracelular como de la matriz extracelular (MEC). Ambientes diana de las alteraciones descritas en la RDP y el EMD a consecuencia de los cambios en la pared del vaso capilar retiniano. <sup>(37,38)</sup>

En la DE hace presencia un fenotipo endotelial alterado caracterizado por una biodisponibilidad reducida de NO, estrés oxidativo aumentado, expresión aumentada de factores protrombóticos y proinflamatorios y una vasorreactividad aumentada. <sup>(38)</sup>

La deserción del pericito favorece la disminución del tono vascular y dilatación capilar por pérdidas en la producción de TGF- $\beta$  por esta causa. <sup>(39,40)</sup> Se ha descrito una vasodilatación, dependiente del endotelio deteriorado y una activación endotelial caracterizada por un estado proinflamatorio, proliferativo, pro-oxidante y procoagulante, asociado a la trombosis vascular e isquemia tisular. <sup>(41)</sup> En consecuencia la fosforilación de ocludina, permite la apertura de las uniones intercelulares (aumento de la permeabilidad capilar) <sup>(42)</sup>, con salida de plasma rico en lipoproteínas, lo que pudiera generar los exudados céreos característicos de la RD. <sup>(43)</sup>

En adición, la hiperactividad de la PKC en las células endoteliales de los vasos de la retina y el riñón, favorece la producción de prostaglandinas y de tromboxanos, los cuales modifican drásticamente la permeabilidad del endotelio, activándose el mecanismo de la Ang-2, dinamizador de la angiogénesis. <sup>(44)</sup>

La mitosis de las células endoteliales (estimulada por la PKC- $\beta$ II), sumada al debilitamiento estructural de la pared capilar (por la muerte de los pericitos) no sólo permite la salida de glóbulos rojos, formando microhemorragias, sino también la formación de dilataciones revestidas de células endoteliales, los microaneurismas. <sup>(30)</sup>

Tras años de hiperglucemia, tanto los capilares debilitados como los microaneurismas forman microtrombos, consecuencia de microinfartos de retina (exudados blandos o algodinosos), y la resultante “isquemia endotelio-dependiente” genera aún más VEGF, el cual estimula el crecimiento de vasos de neoformación y de paso fosforila más ocludina, lo que incrementa la permeabilidad capilar, a la vez que se inhibe el PEDF que guarda una función inhibitoria de la angiogénesis. <sup>(30,36,45,46)</sup>

Es en este momento donde observamos las anomalías microvasculares intrarretinianas (IRMA), descritas como dilataciones vasculares y arrosamiento venoso. Los neovasos así formados, pobres en endotelio, con una MB muy gruesa, fácilmente obstruibles a causa de la agregación de plaquetas o por la adhesión de leucocitos a la pared de los vasos (leucostasis), son frágiles y causan hemorragia vítrea, proliferación fibrovascular y progresivamente darán al traste con la ceguera. Estadio conocido como de RDP. <sup>(45,47)</sup>

Como se ha mostrado anteriormente tanto la formación de los AGEs, la deserción del pericito y la disfunción endotelial determinada por sus cambios estructurales, promueven la proliferación de células endoteliales y aumentan la expresión de proteasas e integrinas que favorecen la migración celular y el fenómeno de angiogénesis. El VEGF aparece como el elemento de mayor angiogenicidad y patogenicidad tanto en la RD y el EMD.

Microangiopatía diabética, angiogénesis y el VEGF.

La hiperglucemia crónica, induce una serie de cambios y la activación de procesos bioquímicos que generan la hiperactividad de la PKC; la de formación de los AGEs y en gran medida de la liberación de ROS responsable del daño por estrés oxidativo; la concentración aumentada de polioles que generan altos niveles de sorbitol mediante la activación de la vía de la aldosa-reductasa. Los procesos antes mencionados favorecen el aumento en la permeabilidad de los vasos retinianos, alteraciones en el fluido sanguíneo de la retina y señalización celular a través del VEGF. Estos mecanismos se asocian a diversos factores del crecimiento celular (VEGF, IGF-1, TGF- $\beta$ 1, PDEF, etc.) condicionantes de los cambios estructurales descritos en la vasculatura durante la RD. <sup>(4,15,33)</sup>

Consideraciones sobre el VEGF.

El VEGF, también conocido como Factor de Permeabilidad Vasculosa (FPV), es producido por una multiplicidad de células (tumoraes, macrófagos, plaquetas, queratinocitos y mesangiales). Entre sus funciones fisiológicas normales se cuentan la formación de huesos, hematopoyesis, fibrosis y cicatrización, además del desarrollo humano. Se le confiere la supervivencia de las células endoteliales, su proliferación, motilidad y la angiogénesis. El linaje del VEGF está compuesto por proteínas hemodinámicas, consistentes en VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y el PlGF, localizado en el cromosoma 6p12. <sup>(48,49)</sup>

La proliferación de la célula endotelial y el crecimiento de los nuevos vasos se debe a la combinación del VEGF con sus receptores de actividad Tirosin Kinasa Intrínseca (RVEGF-1, RVEGF-2, RVEGF-3), fundamentalmente localizada en células endoteliales. La angiogénesis es un complejo y coordinado proceso que requiere de una cascada de activación de esos receptores. En esta cascada, es la presencia del VEGF el elemento crítico a partir del cual el proceso fisiopatológico de la angiogénesis se desencadena. <sup>(50)</sup>

Se conoce que, la expresión del VEGF-A estaría estimulando tanto la angiogénesis como el aumento de la permeabilidad vascular, al ligarse con sus receptores en las

células endoteliales RVEGF-1 y RVEGF-2, los cuales transmiten hacia el interior de la célula señales de transducción para la activación de la cascada angiogénica. Se piensa que la activación RVEGF-2, sea la señal principal responsable de este mecanismo. <sup>(51)</sup> Altos niveles de VEGF han sido encontrado en el vítreo de pacientes con Retinopatías Isquémicas Proliferativas de la que la RD hace parte. Es conocida su vinculación con la formación de AMIR de la RD. <sup>(10)</sup> Promueve la producción de metaloproteínasa por la célula endotelial, causa de degradación de la MEC y la invasión de nuevos vasos. El poderoso efecto agonista de la permeabilidad del VEGF es origen de fuga a través del endotelio vascular de líquidos y proteínas plasmáticas. Este mecanismo induce la formación del gel proteico, el aumento de la presión oncótica en la MEC y el edema macular. En adición, favorece una entrega irregular de nutrientes y oxígeno, así como los daños deletéreos en la capa de fibra nerviosa descritos en la RD y el EMD. <sup>(38,45)</sup>

Parece desconocerse el mecanismo exacto que explicita como una hipoxia sostenida induce la expresión del gen para la transcripción del VEGF. Sin embargo, como respuesta al estrés metabólico resultante, tanto el EPR como el tejido retinal producen varios factores de crecimiento, con énfasis en el VEGF, responsables de la proliferación fibrovascular. En la actualidad, se acepta a la hipoxia como el principal desencadenante del VEGF y PIGF, los que parecen trabajar en forma sinérgica contribuyendo a la inflamación e infiltración leucocitaria. A la vez, favorece la quimiotaxis de macrófagos y de granulocitos a través de la pared hacia la MEC.

Diversos estudios han demostrado que al bloquearse la acción del VEGF, teniendo a la cavidad vítrea del ojo como reservorio de los Anti-VEGF, se restaura y mejora la función vital en las condiciones de RD y el EMD, dependiendo de su estadio. <sup>(44,46,50)</sup>

Terapia antiangiogénica.

La hiperglucemia es un desbalance metabólico que induce cambios en las vías enzimáticas de la glicación, del poliol, la PKC y, la aldosa-reductasa, capaces de estimular la expresión de factores del crecimiento y mediadores de la respuesta inflamatoria que inducen cambios en la estructura y permeabilidad de la membrana. A través de estos mecanismos se explicaría en parte las complicaciones vasculares de la DM en todos los vasos, con énfasis fisiopatológica en los vasos de pequeño calibre.

Yoshimura T et al (2009) y Kern TS et al (2007) en sendos estudios respectivos coinciden en describir el EMD como un escenario dominado por mediadores inflamatorios (VEGF, TNF- $\alpha$ , Ang-2, ICAM-1 y MCP-1), caracterizado por cambios en el flujo y dinámica circulatorias, en vasos con una elevada permeabilidad de la pared, leucostasia, disfunción endotelial y remodelación tisular; un cuadro inflamatorio in crescendo y el desarrollo del engrosamiento por edema de la retina macular. La progresión de este estado temprano de la enfermedad pudiera derivar en hipoxia e inflamación crónicas en la retina que favorecerían la angiogénesis.

Como explicáramos antes, la angiogénesis garantiza el crecimiento de nuevos vasos a demanda de exigencias metabólicas en los tejidos. Está determinada por un balance entre factores pro y anti angiogénicos (ej. equilibrio entre la secreción de VEGF y PEDF es crítico para mantener la anatomía y función normal de los vasos sanguíneos coroides), que garantizan la homeostasis tisular. La combinación del binomio hiperglucemia crónica-hipoxia con el VEGF, constituye el factor disruptor del balance entre pro y anti angiogénicos, a predominio de los proangiogénicos, resultando en daños en la pared pericítica, insuficiencia endotelial y trastornos del flujo, favoreciéndose la neoformación vascular. <sup>(52)</sup>

En el 2016, Peter A. Campochiaro et al describieron los mecanismos y los efectos inflamatorios encontrados en la cavidad vítrea del diabético, definiendo al VEGF como el actor principal inicial asociado entre otros a las IL 6-8, Ang-2, ICAM-1 y MCP-1, en los que se apoyan la farmacología moderna para determinar sus blancos terapéuticos.

Si bien un adecuado control de factores como la hiperglucemia, la dislipidemia o la HTA, representa un pilar en el tratamiento de pacientes con RD, la historia en la evolución clínica de la RD y el EMD ha experimentado un giro drástico en el paradigma de tratamiento luego del surgimiento de la terapia Anti-VEGF. <sup>(5,33)</sup>

La terapia Anti-VEGF tiene sus antecedentes décadas atrás cuando el Dr. Napoleone Ferrara, identificara esta proteína (Vascular Endothelial Growth Factor 1988-89), explicara su rol y diseñara una estrategia de terapia antiangiogénica. Desde entonces disímiles estudios han documentado sus efectos beneficiosos.

En la actualidad, tres tipos principales de fármacos anti-VEGF son ampliamente difundidos en el tratamiento de la RD: bevacizumab (Avastin, BAYER PHARMA A.G), aflibercept (Eylea; Hoffmann-La Roche) y ranibizumab (Lucentis, NORVARTIS PHARMA AG).

Bevacizumab. Anticuerpo monoclonal recombinante humanizado dirigido contra todas las isoformas biológicamente activas del VEGF. Registrado y desarrollado para uso oncológico, pero aún sin licencia se usa en todas las patologías oculares que cursan con edema macular o crecimiento anormal de vasos. Tiene dos sitios de unión para este factor. Al unirse bloquea los efectos del VEGF y actúa como antiangiogénico. <sup>(53)</sup>

Ranibizumab. Fragmento de anticuerpo recombinante humanizado, desarrollado para la administración intraocular dirigido contra el VEGF-A. Antígeno ligado al fragmento Fabs. Ostenta un tiempo de vida media corto comparado con otros anticuerpos. Ha sido ampliamente utilizado para tratar el EMD en diferentes estudios multicéntricos aleatorizados. <sup>(54)</sup>

Aflibercept. Proteína recombinante que actúa como señuelo soluble para los receptores ligados al VEGF-A, VEGF-B y al PIGF, con una alta afinidad por los receptores nativos (RVEGF-1/RVEGF-2 y PIGF-1/PIGF-2). Al ligarse el VEGF por error con el Aflibercept, reduce la actividad angiogénica. <sup>(55)</sup>

Pese a que el bevacizumab aún no recibe la autorización para el tratamiento ocular por la FDA, muestra resultados similares al resto de los anti-VEGF. Todos logran bloquear las isoformas del VEGF y detener el crecimiento de los vasos sanguíneos de neoformación, al tiempo de reducir el edema retiniano entre otras complicaciones. Sin embargo, la potencial resistencia a la terapia antiangiogénica debido a factores genéticos aparece como otro parámetro importante que no puede ser pasado por alto. Al mismo tiempo el beneficio clínico alcanzado por estas terapias es variable y los resultados cuestionados. <sup>(56)</sup>

A la vez de estar ampliamente documentados los beneficios de estos tres medicamentos, se han descrito la presencia de pacientes no respondedores, sugiriendo la presencia de otros mediadores de consideración en el complejo entramado del

desarrollo de la angiogénesis, que pudieran estar fuera de los blancos terapéuticos más usados. Nuevos blancos terapéuticos potenciales tales como: miembros de la familia PDGF, de la subfamilia de VEGF, de las familias del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento fibroblástico y de la superfamilia del TGF- $\beta$ 1, etc. Así también de angiopoyetinas, galectinas, integrinas, así como el PEDF, factor de crecimiento de hepatocitos, endotelinas, factores inducibles por hipoxia, factores de crecimiento similares a la insulina, citoquinas, metaloproteinasas de matriz y sus inhibidores y proteínas de glucosilación. <sup>(57)</sup>

El complejo entramado de factores que desencadenan la angiogénesis retiniana sugiere que la modulación de diferentes moléculas de este entramado, pudiera ser más eficiente que utilizar un solo blanco terapéutico. <sup>(33)</sup>

La aplicación de los actuales protocolos de tratamientos de la RD se implementa luego de la aparición de la neovascularización; estos son fotocoagulación, inyección intraocular de anticuerpos monoclonales contra VEGF y vitrectomía. Con el actual esquema terapéutico en algunos casos se logra detener o ralentizar el progreso de la microangiopatía, pero aún carecemos de protocolos que logren revertir el proceso con la consiguiente recuperación de la función retiniana. <sup>(52,57)</sup> Por tanto, consideramos de vital importancia seguir profundizando en las bases biomoleculares que intervienen en la patogenia de esta enfermedad, con el objetivo de adquirir nuevos conocimientos que faciliten el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, no solo para eliminar la neovascularización sino también para prevenirla y promover la normalización de los vasos retinianos y el restablecimiento de la función retiniana.

Estudios realizados en los que se administró antioxidantes en ratas diabéticas ha inducido la corrección del estrés oxidativo lo que ha permitido atenuar e incluso revertir los efectos vasculares de la diabetes. La administración oral de Trolox, un antioxidante, ha permitido la conservación parcial de sus pericitos retinianos y la utilización de ácido lipoico, otro antioxidante, ha permitido mejorar la reactividad vascular y la morfología de los vasos de las ratas diabéticas <sup>(58)</sup>, y prevenir un aumento de VEGF en sus retinas. <sup>(59,60)</sup> Se ha observado además que la administración de antioxidantes disminuye efectos deletéreos de la retinopatía diabética como la adhesión leucocitaria a

las células endoteliales, <sup>(41)</sup> la permeabilidad vascular, <sup>(60)</sup> la apoptosis de células retinianas <sup>(61)</sup> y el engrosamiento de la membrana basal. <sup>(62)</sup>

Otro estudio demostró que la administración oral de una mezcla de antioxidantes (bien una dieta rica en vitamina C, vitamina E o bien un complejo vitamínico) a ratas diabéticas un mínimo de 12 y un máximo de 18 meses permitió reducir a la mitad la pérdida de pericitos y el número de capilares acelulares. <sup>(63)</sup>

En humanos cabe destacar los resultados de un estudio reciente en que se siguió a un grupo de pacientes diabéticos con retinopatía no proliferativa durante cinco años (n= 220). Un subgrupo (n= 112) fue suplementado con un complejo antioxidante multivitamínico y otro no fue suplementado (n= 108). La suplementación con antioxidantes se reflejó en el mantenimiento y mejoría del estado antioxidante y el descenso paralelo de la actividad prooxidativa en plasma. Además, en el subgrupo suplementado no se observó progresión clínica en la retinopatía, a diferencia del grupo no suplementado, en que se evidenció un empeoramiento clínico. <sup>(64)</sup>

El flujo sanguíneo retiniano decrece en la diabetes temprana. El tratamiento con vitamina C mejora la vasodilatación derivada del endotelio en pacientes diabéticos. <sup>(65)</sup>

El tratamiento con vitamina E en ratas diabéticas reduce los niveles retinianos de DAG, normaliza la activación de la PKC- $\beta$ II retiniana, normaliza el flujo sanguíneo retiniano, <sup>(66)</sup> y restaura la relajación aórtica dependiente del endotelio mediada por ON, a pesar de la elevación mantenida de la hiperglucemia. En pacientes diabéticos que no tenían retinopatía o esta era mínima la administración de altas dosis de vitamina E durante 4 meses normalizó el flujo sanguíneo retiniano a pesar de que el control de la glucemia permaneció sin cambio. <sup>(67)</sup> La vitamina E, además de reducir la cantidad de radicales libres, inhibe la PKC directamente con lo que su acción puede ser dual a nivel de ambas vías, <sup>(67)</sup> que por otra parte están muy interrelacionadas.

Considerando los resultados de estos estudios podemos concluir que un aporte adecuado de antioxidantes es recomendable en los pacientes diabéticos para disminuir los riesgos de progresión de la retinopatía.

Actualmente se están desarrollando otros agentes terapéuticos que inhiben la formación de AGEs. El más estudiado es la aminoguanidina la cual reacciona principalmente con los intermediarios dicarbonilo tales como la 3-deoxiglucosona y bloquea la secuencia reaccional que conduce a los AGEs. Estudios recientes develan que el tratamiento con aminoguanidina retrasa la evolución de las lesiones microvasculares encontradas en la retina de pacientes diabéticos. <sup>(68)</sup>

Otras medidas que disminuyen los niveles séricos titulares de AGEs son: restricción calórica, ingesta de vitaminas y antioxidantes (glutati6n, vitaminas A-C-E) y particularmente B6, B12 y 6cido f6lico (estos 6ltimos frenan el paso de producto Amadori a carboximetil-lisina). Existen otros que activan las v6as de las pentosas (benfotiamina, derivado de la tiamina) desv6an la glic6lisis hacia la producci6n de sustancias reductoras que frenar6an las reacciones oxidantes en la g6nesis de AGEs. Se est6n desarrollando destructores de AGEs, capaces de romper los puentes anormales AGEs – prote6na y finalmente est6n los f6rmacos “atrapadores de AGEs” que son mol6culas similares al receptor de AGEs de los macr6fagos pero que circulan en forma soluble. <sup>(69-72)</sup>

Otra propuesta de blanco terap6utico en desarrollo consiste en la inhibici6n de la enzima PKC. Un exponente es el compuesto natural rottlerin que se encuentra en fase III de ensayos cl6nicos, el 6cido acetilsalic6lico, los inhibidores COX-2 y el octreocida un an6logo de la somostatina (inhibidor de factores de crecimiento) que ha demostrado disminuir la proliferaci6n del epitelio pigmentario de la retina en estudios in vitro. <sup>(73,74)</sup>

Los bloqueadores del TGF- $\beta$  han demostrado tener un efecto en la prevenci6n de la expansi6n mesangial y preservaci6n de la funci6n renal. <sup>(75)</sup>

## Conclusiones

En la actualidad, y a pesar de las m6s modernas estrategias de tratamientos en el enfrentamiento de la RD (control interdisciplinario, factores de riesgo, fotocoagulaci6n, vitrectom6a, inyecci6n intraocular de anticuerpos monoclonales contra VEGF), ellas siguen constituy6ndose en un creciente desaf6o. En solo un reducido por ciento de casos se logra detenerla o mejorarla, pese a que el advenimiento de los inhibidores de

VEGF se ha establecido como el pilar del tratamiento actual. <sup>(33)</sup> Existe aún mucho terreno de conocimiento por dominar en cuanto al manejo clínico de las enfermedades isquémicas de la retina. <sup>(56)</sup> En esta línea de pensamiento, la disponibilidad de potenciales blancos terapéuticos con que se cuenta en la actualidad aun es insuficiente, tanto a nivel celular como molecular.

Al considerarse a la DM como una epidemia de dimensiones globales y a la RD como la principal causa de ceguera irreversible en la edad laboral; debemos ahondar en estudios e investigaciones orientadas a la búsqueda de cada vez más y eficientes nuevos blancos y estrategias terapéuticas, orientadas a recuperar la función retiniana en desórdenes neovasculares. Si bien se han reportado numerosas moléculas con potencialidad terapéutica, aún no se ha logrado su profunda caracterización para avanzar hacia su implementación en la clínica oftalmológica.

## Bibliografía.

1. Informe mundial sobre la diabetes. Resumen de orientación. Autores: Organización Mundial de la Salud. Abril de 2016.
2. Projections for adults age 20-79 years. Map not draw according to scale of geopolitical borders. International Diabetic Federation. Diabetic Atlas 8th Edition. 2017.
3. Yau JW et al, Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. Diabetes Care. 2012 Mar;35(3):556-64. doi: 10.2337/dc11-1909. Epub 2012 Feb 1.
4. ICO International Council of Ophthalmology | Guidelines for Diabetic Eye Care. Copyright © ICO January.2017.Available: <http://www.icoph.org/downloads/ICOGuidelinesforDiabeticEyeCare.pdf>
5. Pezzullo L, Streatfeild J, Simkiss P, Shickle D. The economic impact of sight loss and blindness in the UK adult population. BMC Health Serv Res. 2018 30;18(1):63; DOI:10.1186/s12913-018-2836-0.
6. Cavan D, Makaroff L, da Rocha Fernandes J, Sylvanowicz M, Ackland P, Conlon J, et al. The Diabetic Retinopathy Barometer Study: Global perspectives on access to and experiences of diabetic retinopathy screening and treatment. Diabetes Res Clin Pract. 2017;129:16–24; DOI:10.1016/j.diabres.2017.03.023.
7. Fishman GA, Birch DG, Holder GE, Brigell MG. Electrophysiologic Testing in Disorders of the Retina, Optic Nerve, and Visual Pathway. Ophthalmology Monograph 2. 2nd ed. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2001.
8. Ogden TE. Clinical electrophysiology. In: Ryan SJ, Hinton DR, Schachat AP, Wilkinson CP, eds. Retina. 4th ed. Philadelphia: Elsevier/Mosby; 2006:351-371.
9. AAO. Retinal and vitreous. Section 12. Basic Anatomy. Chapter 1. Pag 7-18. 2014-2015
10. Fingler J, Zawadzki RJ, Werner JS, Schwartz D, Fraser SE. Volumetric microvascular imaging of human retina using optical coherence tomography

- with a novel motion contrast technique. *Optics Express* 2009; 17: 22.190-22.200.
11. Gabbay K. The sorbitol pathway and the complications of diabetes. *N Engl J Med* 1973; 288: 831-6.
  12. Lee AY, Chung SS. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J* 1999; 13(1): 23-30.
  13. (Skyler JS. Relation of metabolic control of diabetes mellitus to chronic complications. In: Rifkin H PDJ, ed. *Diabetes mellitus: theory and practice*. New York: Elsevier, 1990: 856-68.
  14. Dahl-Jorgensen K, Brinchmann-Hansen O, Bangstad HJ, Hanssen KF. Blood glucose control and microvascular complications-what do we know. *Diabetologia* 1994; 37: 1172-7.)
  15. Solomon SD, Chew E, Duh Ej, Sobrin L, Sun JK, Vanderbeek BL, et al. Diabetic Retinopathy: A Position Statement by Diabetic American Association. *Diabetic Care*. Marzo 2017;40(3):412-8
  16. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 12 de agosto de 2000;321(7258):405-12.
  17. Monnier V. Toward a Maillard reaction theory of aging. In: Baynes JW, Monnier VM, ed. *Proceedings of the NIH Conference on the Maillard Reaction in Aging, Diabetes and Nutrition*. New York: Liss, 1989: 1-22.
  18. Njoroge FG, Monnier VM. The chemistry of the Maillard reaction under physiological conditions: a review. *Prog Clin Biol Res* 1989; 304: 85-91.
  19. Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, Freeman WM, Gardner TW, Jefferson LS, Kester M, Kimball SR, Krady JK, LaNoue KF, Norbury CC, Quinn PG, Sandrasegarane L, Simpson IA; JDRF Diabetic Retinopathy Center Group. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes* 2006; 55:2401-2411.
  20. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Non enzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low-density lipoprotein. *Diabetes* 1985; 34: 938-41.

21. Brownlee M, Pongor S, Cerami A. Covalent attachment of soluble proteins by nonenzymatically glycosylated collagen: role in the in situ formation of immune complexes. *J Exp Med* 1983; 158: 1739-44.
22. Tanaka S, Avigad G, Brodsky B, Eikenberry EF. Glycation induces expansion of the molecular packing of collagen. *J Mol Biol* 1988; 495-505.
23. Haneda M, Kikkawa R, Horide N, Togawa M, Koya D, Kajiwarra N et al. Glucose enhanced type IV collagen production in cultured rat glomerular mesangial cells. *Diabetologia* 1991; 34: 198-200.
24. Armulik, A.; Abramsson, A. & Betsholtz, C. Endothelial/pericyte interactions. *Circ. Res.*, 97:512-23, 2005.
25. Mishra A, Reynolds JP, Chen Y, Gourine AV, Rusakov DA, Attwell D (2016). [«Astrocytes mediate neurovascular signaling to capillary pericytes but not to arterioles»](#). *Nat Neurosci.* 19 (12): 1619-1627.
26. Spiro RG. Role of insulin in two pathways of glucosa metabolism: in vivo glucosamine and glycogen synthesis. *Ann N Y Acad Sci* 1959; 82: 366-74.
27. Díaz M, Baiza LA, Ibáñez MA, Pascoe D, Guzmán AM, Kumate J. Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac Med Mex* 2004; 140 (4): 437-447.
28. Chung SS, Cheng SK. Genetic analysis of aldose reductase in diabetic complications. *Curr Med Chem* 2003; 10 (15): 1375-87.
29. 11. Hyndman D, Bauman DR, Heredia VV, Penning TM. The aldoketo reductase superfamily homepage. *Chen Biol Interact* 2003; 143-144: 621-631.
30. Armadá Maresca F, Romero Martín R, Ortega Canales I. Retinopatía diabética. *Studium Ophthalmologicum* 2006; 24 (1) 11-17. [Citado abril 2013]. Disponible en: <http://www.oftalmo.com/studium/studium2006/stud06-1/06a-03.htm>
31. Olmos P, Araya-Del-Pino A, González C, Laso P, Iribarra V, Rubio L. Fisiopatología de la retinopatía y nefropatía diabéticas. *Rev Méd Chile* 2009; 137(10): 1375-84.

32. Mathews DR et al. Risks of progression of retinopathy and vision loss related to tight blood pressure control in type 2 diabetes mellitus: UKPDS 60. *Archives of Ophthalmology*, 2004, 122:1631-1640
33. Tah, V., et al., Anti-VEGF Therapy and the Retina: An Update. *J Ophthalmol*, 2015. 2015: p. 627674
34. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004; 25: 581-611.
35. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complication in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*.1993;329:978-86.
36. Roberts WG, Palade GE. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *J Cell Sci*. 1995;108 ( Pt 6):2369-79.
37. Matter K Balda MS. Signalling to and from tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003;4(3):225-236.
38. Matter K Balda MS. Epithelial tight junctions, gene expression and nucleo-junctional interplay. *J Cell Sci*. 2007;120(Pt 9):1505-1511
39. Forrest JV, Knott RM. The pathogenesis of diabetic retinopathy and cataract. In: Pickup J, Williams G, eds. *Textbook of diabetes*. Vol. 2. Oxford: Blackwell Science; 1997:45.41-45.19.
40. Antonelli-Orlidge A, Saunders KB, Smith SR, D'Amore PA. An activated form of transforming growth factor beta is produced by cocultures of endothelial cells and pericytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86(12):4544-4848
41. Abiko T, Abiko A, Clermont AC et al. Characterization of retinal leukostasis and hemodynamics in insulin resistance and diabetes: role of oxidants and protein kinase-C activation. *Diabetes* 2003; 52:829-837.
42. Foster C. Tight junction and the modulation of barrier function in disease. *Histochem Cell Biol*. 2008;130910:55-70

43. Olmos P, Araya-Del-Pino A, González C, Laso P, Iribarra V, Rubio L. Fisiopatología de la retinopatía y nefropatía diabéticas. Rev Méd Chile 2009; 137(10): 1375-84.
44. Das, A. and P.G. McGuire, Retinal and choroidal angiogenesis: pathophysiology and strategies for inhibition. Prog Retin Eye Res, 2003. 22(6): p. 721-48.
45. Das Evcimen N, King GL. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. Pharmacol Res 2007; 55(6): 498-510.
46. Farreras Valentí P, Rozman C, Dollery C. Medicina interna. 14ª ed. Madrid etc.: Harcourt Brace; 2000. pp 2222-23.
47. Wilson H, Draunwald J, Isselbacher A, Petersdorf G, Martin A, Fauci M, Root S. Harrison: Principios de Medicina Interna. 16º Ed. Chile: Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, 2006. pp 2379-2380.
48. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA y cols. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. N Eng J Med 1994 Dec 1; 331(22):1480-7.
49. Al-Kharashi, A. S. (2018). Role of oxidative stress, inflammation, hypoxia and angiogenesis in the development of diabetic retinopathy. Saudi Journal of Ophthalmology.
50. Jump up to: 12.0 12.1 12.2 Ng EWM, Adamis AP. Targeting angiogenesis, the underlying disorder in neovascular age-related macular degeneration. Can J Ophthalmol. 2005;40(3):352-68.
51. Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G, Klagsbrun M. Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. Cell. 1998;92(6):735-45.
52. Das, A. and P.G. McGuire, Retinal and choroidal angiogenesis: pathophysiology and strategies for inhibition. Prog Retin Eye Res, 2003. 22(6): p. 721-48.
53. Avastin. Avastin prescribing information. Available at: <http://www.avastin.com/avastin/hcp/overview/index.html>. Accessed 27 June 2010.

54. Ferrara N, Damico L, Shams N, Lowman H, Kim R . Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina* 2006; 26: 859–870.
55. Sharma, Yog Raj, Koushik Tripathy, Pradeep Venkatesh, and Varun Gogia. “Aflibercept – How Does It Compare with Other Anti-VEGF Drugs?” *Austin J Clin Ophthalmol* 1, no. 3 (2014): 1016.
56. Diabetic Retinopathy Clinical Research, N., et al., Aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for diabetic macular edema. *N Engl J Med*, 2015. 372(13): p. 1193-203.
57. Cabral, T., et al., Retinal and choroidal angiogenesis: a review of new targets. *Int J Retina Vitreous*, 2017. 3: p. 31.
58. Kocak G, Aktan F, Canbolat O, Ozogul C, Elbeg S, Yildizoglu-Ari N, Karasu C, and The ADIC Study group. Antioxidants in Diabetes-Induced Complications Alpha-lipoic acid treatment ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes. *Diabetes Nutr Metab* 2000; 13:308-318.
59. Obrosova IG, Minchenko AG, Marinescu V, Fathallah L, Kennedy A, Stockert CM, Frank RN, Stevens MJ. Antioxidants attenuate early up regulation of retinal vascular endothelial growth factor in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 2001; 44:1102-1110.
60. Rota R, Chiavaroli C, Garay RP, Hannaert P. Reduction of retinal albumin leakage by the antioxidant calcium dobesilate in streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2004; 495:217-224.
61. Kowluru RA, Odenbach S. Effect of long-term administration of alpha-lipoic acid on retinal capillary cell death and the development of retinopathy in diabetic rats. *Diabetes* 2004; 53:3233-3238.
62. Robison WG Jr, Jacot JL, Katz ML, Glover JP. Retinal vascular changes induced by the oxidative stress of alphatocopherol deficiency contrasted with diabetic microangiopathy. *J Ocul Pharmacol Ther* 2000;16:109- 120.

63. Kowluru RA, Tang J, Kern TS. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experimental galactosemia. VII. Effect of long-term administration of antioxidants on the development of retinopathy. *Diabetes* 2001; 50:1938-1942.
64. García-Medina JJ. Estado oxidativo-metabólico y afectación retiniana en Diabetes Mellitus e Hipertensión arterial. Seguimiento a cinco años. Tesis Doctoral. Dirigida por Pinazo-Durán MD. 2005. Universidad de Valencia.
65. Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1996; 97:22-28.
66. Kunisaki M, Bursell S-E, Clermont AC, Ishii H, Ballas LM, Jirousek MR, Umeda F, Nawata H, King GL. Vitamin E treatment prevents diabetes-induced abnormality in retinal blood flow via the diacylglycerol-protein kinase C pathway. *Am J Physiol* 1995; 269:239-246.
67. Bursell SE, Clermont AC, Aiello LP, et al. Highdose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type I diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:1245-1252.
68. Kern TS, Engerman RI. Pharmacological inhibition of diabetic retinopathy. Aminoguanidine and aspirin. *Diabetes* 2001;50:1636-41
69. PEYROUX J, STERNBERG M. Advanced glycation endproducts (AGEs): Pharmacological inhibition in diabetes. *Pathologie Biologie* 2006; 54: 405-19.
70. Chen H, Cerami A. Mechanism of inhibition of advanced glycosylation by aminoguanidine in vitro. *J Carbohydrate Chem* 1993; 12: 731-42.
71. Kihara M, Schmelzer JD, Poduslo JF, Curran GL, Nicklander KK, Low PA. Aminoguanidine effects on nerve blood flow, vascular permeability, electrophysiology, and oxygen free radicals. *P Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6107-11
72. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *P Natl Acad Sci USA* 1991;88: 11555-8.

73. The PKC-DRS Study Group The effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with moderately severe to very severe nonproliferative diabetic retinopathy. *Diabetes* 2005;54:2188-2199.
74. Carballido F. Nuevos Tratamientos en Retinopatía Diabética, *Arch Soc Esp Oftalmol* 2003;78:525-527
75. HANEDA M, KOYA D, ISONO M, KIKKAWA R. Overview of glucose signaling in mesangial cells in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1374-82.