

# Neurodegeneración en la retinopatía diabética

## *Neurodegeneration in diabetic retinopathy*

O. Simó-Servat, C. Hernández, R. Simó

### Resumen

La neurodegeneración de la retina es un evento precoz en la retinopatía diabética (RD) y se observa incluso antes de que aparezcan cambios en la vascularización retiniana. A nivel histológico se caracteriza por la apoptosis neuronal, que afecta principalmente a la capa de células ganglionares de la retina, y la gliosis reactiva, que traduce la activación de las células de la glía, fundamentalmente las células de Müller. En su desarrollo están implicados el estrés oxidativo, la excitotoxicidad por glutamato, la pérdida de factores neuroprotectores y la inflamación, entre otros. Es posible detectarla en pacientes diabéticos, incluso sin alteraciones vasculares en el examen fundoscópico, mediante estudios morfológicos (tomografía de coherencia óptica) o funcionales (electrorretinograma multifocal), y su detección de forma precoz abre la posibilidad de aplicar tratamientos neuroprotectores en fases muy iniciales de la enfermedad. El estudio de los mecanismos patogénicos implicados en la neurodegeneración y su relación con las alteraciones vasculares ayudará a comprender la fisiopatología de la RD y a explorar nuevas dianas terapéuticas.

### Resum

La neurodegeneració de la retina és un esdeveniment precoç en la retinopatia diabètica (RD) i s'observa fins i tot abans que apareguin canvis en la vascularització retiniana. A nivell histològic es caracteritza per l'apoptosi neuronal, que afecta principalment a la capa de cèl·lules ganglionars de la retina, i la gliosi reactiva, que tradueix l'activació de les cèl·lules de la glia, fonamentalment les cèl·lules de Müller. En el seu desenvolupament estan implicats l'estrès oxidatiu, l'excitotoxicitat per glutamat, la pèrdua de factors neuroprotectors i la inflamació, entre d'altres. És possible detectar-la en pacients diabètics, fins i tot sense alteracions vasculares en l'examen fundoscòpic, mitjançant estudis morfològics (tomografia de coherència òptica) o funcionals (electrorretinograma multifocal), i la seva detecció de manera precoç obre la possibilitat d'aplicar tractaments neuroprotectors en fases molt inicials de la malaltia. L'estudi dels mecanismes patogènics implicats en la neurodegeneració i la seva relació amb les alteracions vasculares ajudarà a comprendre la fisiopatologia de la RD i a explorar noves dianes terapèutiques.

### Abstract

Neurodegeneration of the retina is an early event in the pathogenesis of diabetic retinopathy (DR) and it can be observed even before the presence of vascular abnormalities. Histologically, the main features of neurodegeneration are neuronal apoptosis, affecting the retinal ganglionar cell layer, and reactive gliosis, which translates the activation of glial cells, mainly Müller cells. The mediators involved in its development are oxidative stress, glutamate excitotoxicity, the loss of neuroprotective factors and inflammation. Interestingly, it is possible to detect neurodegeneration of the retina in diabetic patients, even in those without microcirculatory abnormalities in the ophthalmoscopic examinations, by means of a morphological examination with OCT (Optical Coherence Tomography) or a functional examination with multifocal electrorretinogram. This new concept opens the possibility to apply neuroprotective treatments at early stages of the disease. The study of the pathogenic mechanisms involved in neurodegeneration and its relationship with vascular alterations may help to further understand the pathophysiology of DR and to explore new therapeutic targets.

## 3.2. Neurodegeneración en la retinopatía diabética

### Neurodegeneration in diabetic retinopathy

**O. Simó-Servat, C. Hernández, R. Simó**

*Grupo de Investigación en Diabetes y Metabolismo. Instituto de Investigación Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.*

**Correspondencia:**

Cristina Hernández

E-mail: [cristina.hernandez@vhir.org](mailto:cristina.hernandez@vhir.org)

### Introducción

La retinopatía diabética (RD) ha sido considerada clásicamente una enfermedad de la microcirculación de la retina, pero existe neurodegeneración de la retina antes de que se detecten lesiones vasculares en el examen fundoscópico. Así, la neurodegeneración es un evento precoz en la fisiopatología de la RD y constituye un tema de gran interés, ya que puede tener importantes implicaciones terapéuticas.

### Alteraciones morfológicas principales de la neurodegeneración: apoptosis y gliosis reactiva

La neurorretina está formada por varias capas de neuronas interconectadas por sinapsis, entre las que destacan las células ganglionares, que forman una capa en la retina interna, y las células gliales, que forman la macroglía y la microglía. Las células de Müller son las predominantes en la macroglía. Son unas células fusiformes que se extienden por toda la retina, desde la membrana limitante externa hasta la capa de células ganglionares. Las células de Müller producen factores capaces de modular el flujo sanguíneo, la permeabilidad vascular y la supervivencia celular, y sus prolongaciones rodean todos los vasos sanguíneos de la

retina. En segundo lugar, en la macroglía también encontramos los astrocitos, que son menos abundantes y forman una monocapa en la membrana limitante interna. La microglía está formada por células inmunitarias residentes en la retina<sup>1,2</sup>.

En la neurodegeneración, las dos características histológicas más importantes son la apoptosis neuronal y la gliosis reactiva<sup>3</sup>. La apoptosis en la capa de células ganglionares se observa de forma precoz en el desarrollo de la RD. Incluso en pacientes diabéticos sin lesiones vasculares evidentes en el fondo del ojo ya se puede observar un adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas, utilizando la tomografía de coherencia óptica<sup>4</sup>. Paralelamente, se observa la gliosis reactiva, que traduce una activación de las células de la glía. En el ámbito de las células de Müller, la gliosis reactiva se objetiva por la hiperexpresión de la proteína glial ácida fibrilar<sup>1</sup>. Por otro lado, también se produce una activación de las células inmunitarias que forman la microglía, las cuales, en respuesta a la hiperglucemia crónica, migrarán a través del epitelio pigmentario de la retina y liberarán citocinas proinflamatorias desde el espacio subretiniano, contribuyendo al daño neuronal<sup>2</sup>. Además, las células de la microglía activadas adyacentes a los vasos sanguíneos parecen tener también un importante papel en la regresión vascular, que es una alteración vascular importante en los estadios precoces de la RD<sup>5</sup>.

## Alteraciones funcionales en la neurodegeneración

### Alteraciones en el electroretinograma

El electroretinograma multifocal mide la respuesta eléctrica de diversos tipos celulares en la retina y permite identificar anomalías en la función de la retina en pacientes diabéticos sin evidencia de lesiones microvasculares. El uso del electroretinograma multifocal ha proporcionado evidencia de la estrecha relación que existe entre la disfunción neuronal y las alteraciones vasculares en la RD. Así, se ha observado que un retraso en el tiempo de latencia (que es una de las primeras alteraciones que se observan en el electroretinograma en la RD) en una determinada localización de la retina indica la localización en la que aparecerán las primeras lesiones vasculares, siendo un predictor de las anomalías vasculares en un período de 1 a 3 años. Además, se correlaciona con la gravedad de la retinopatía<sup>6,7</sup>.

### Alteración del acoplamiento neuronal

El acoplamiento neuronal es el mecanismo fisiológico intrínseco por el que la actividad neuronal se acopla al flujo sanguíneo y al metabolismo. Así, la estimulación visual es un modulador importante del flujo sanguíneo en la retina y el nervio óptico<sup>8</sup>. De hecho, para estudiar el acoplamiento neuronal se ha utilizado la estimulación lumínica intermitente, puesto que se ha comprobado que incrementa la actividad neuronal. En pacientes diabéticos se ha hallado que, de forma precoz, es decir, sin alteraciones estructurales en el árbol microvascular, se altera el cambio del diámetro de los microvasos de la retina inducido por el estímulo lumínico<sup>9,10</sup>. Así, la alteración del acoplamiento neuronal que acompaña a la neurodegeneración es un evento también precoz en el desarrollo de la RD. Los mecanismos implicados en el acoplamiento neuronal son complejos y multifactoriales, y en él intervienen diferentes tipos de células (neuronas, células gliales, endoteliales y pericitos) y diversos mediadores vasoactivos; entre ellos, el óxido nítrico, liberado por las neuronas y el endotelio, es uno de los principales<sup>11</sup>.

## Mediadores de la neurodegeneración

En esta sección nos centraremos en los mecanismos más importantes implicados en la neurodegeneración: la acumulación

extracelular de glutamato, el estrés oxidativo y la disminución de factores neuroprotectores sintetizados por la propia retina.

### Acumulación extracelular de glutamato

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador de la retina y se encuentra incrementado tanto en la retina, en modelos experimentales de diabetes, como en el vítreo de pacientes diabéticos<sup>12,13</sup>. El exceso de glutamato extracelular y presináptico da lugar a una hiperactivación de los receptores de glutamato, que resulta en una entrada de calcio intracelular a nivel postsináptico y la muerte neuronal<sup>14,15</sup>. Este efecto nocivo del glutamato se conoce como excitotoxicidad. Las causas del acúmulo de glutamato en la diabetes son las siguientes: la disminución de la actividad de la enzima glutamina sintetasa (que convierte el glutamato en glutamina en las células de Müller), la disminución de la capacidad de la retina de oxidar el glutamato y la alteración de la captación del glutamato por parte de las células de Müller a través del transportador de alta afinidad por el glutamato (GLAST, *L-glutamate/L-aspartate transporter*), que se encuentra comprometido en la retina diabética<sup>16</sup>.

### Estrés oxidativo

La producción aberrante de productos reactivos del oxígeno por parte de la mitocondria es crucial en el desarrollo de la RD. Este exceso de radicales libres de oxígeno dará lugar a una disfunción mitocondrial con la subsiguiente pérdida de función tisular<sup>17</sup>. También contribuirá a la disfunción del receptor GLAST, favoreciendo la excitotoxicidad por glutamato<sup>16</sup>, el cual producirá, en su momento, una depleción de la cantidad de glutatión (que actúa como antioxidante), incrementando aún más el estrés oxidativo<sup>18</sup>.

### Desequilibrio en la producción de factores neuroprotectores

Se ha observado que en las retinas de los pacientes diabéticos existe una disminución, con respecto a los controles sanos, de algunas sustancias neuroprotectoras producidas endógenamente en la retina, tales como el PEDF (*pigment epithelial-derived factor*), la somatostatina y la IRBP (*interstitial retinol-binding protein*). Así, los pacientes diabéticos tienen alterada la neuroprotección endógena de la retina, con lo que se favorece la neurodegeneración<sup>19</sup>.

Aparte de la disminución de los factores neuroprotectores producidos en la retina, también hallamos un incremento de algunos factores neurotróficos, como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la eritropoyetina (EPO), en la retina de los pacientes diabéticos. Hay que destacar que este incremento se detecta en estadios precoces de la enfermedad, cuando aún no está presente la isquemia<sup>20,21</sup>. Tanto el VEGF como la EPO, además de tener propiedades neuroprotectoras también favorecen la neovascularización en respuesta a la isquemia, contribuyendo al desarrollo de la RD proliferativa. Así, la sobreexpresión de estos factores puede tener un papel dual en la fisiopatología de la enfermedad, siendo en las etapas tempranas factores protectores y favoreciendo en las tardías la progresión de la enfermedad<sup>19</sup>.

### Otros factores

La inflamación también desempeña un papel relevante en el desarrollo de la RD, y se ha visto que las células de Müller tienen respuestas ligadas a la inflamación inducida por la hiperglucemia<sup>22</sup>. Concretamente, los productos avanzados de la glucación (AGE), que se producen como consecuencia de la hiperglucemia crónica, y la interacción con su receptor (RAGE), dan lugar a la activación de las células de Müller y a la producción de citocinas<sup>23</sup>. Además, como ya hemos dicho, las células inmunitarias de la microglía también liberan citocinas proinflamatorias. Los mecanismos por los que estas citocinas contribuyen a la apoptosis de las neuronas no están claros, pero parece ser que intervienen en la inducción de excitotoxicidad, en el estrés oxidativo y en la disfunción mitocondrial. Finalmente, la investigación experimental también sugiere que la activación del sistema renina-angiotensina contribuye a la neurodegeneración inducida por la diabetes<sup>24,25</sup>.

## Mecanismos que relacionan la neurodegeneración de la retina con las anomalías microvasculares

La neurodegeneración de la retina participa en los cambios microvasculares iniciales (la rotura de la barrera hematorretiniana, la regresión vascular y la alteración del acoplamiento neurovascular) que se producen en la RD. Los mecanismos principales implicados están resumidos en la Figura 1.

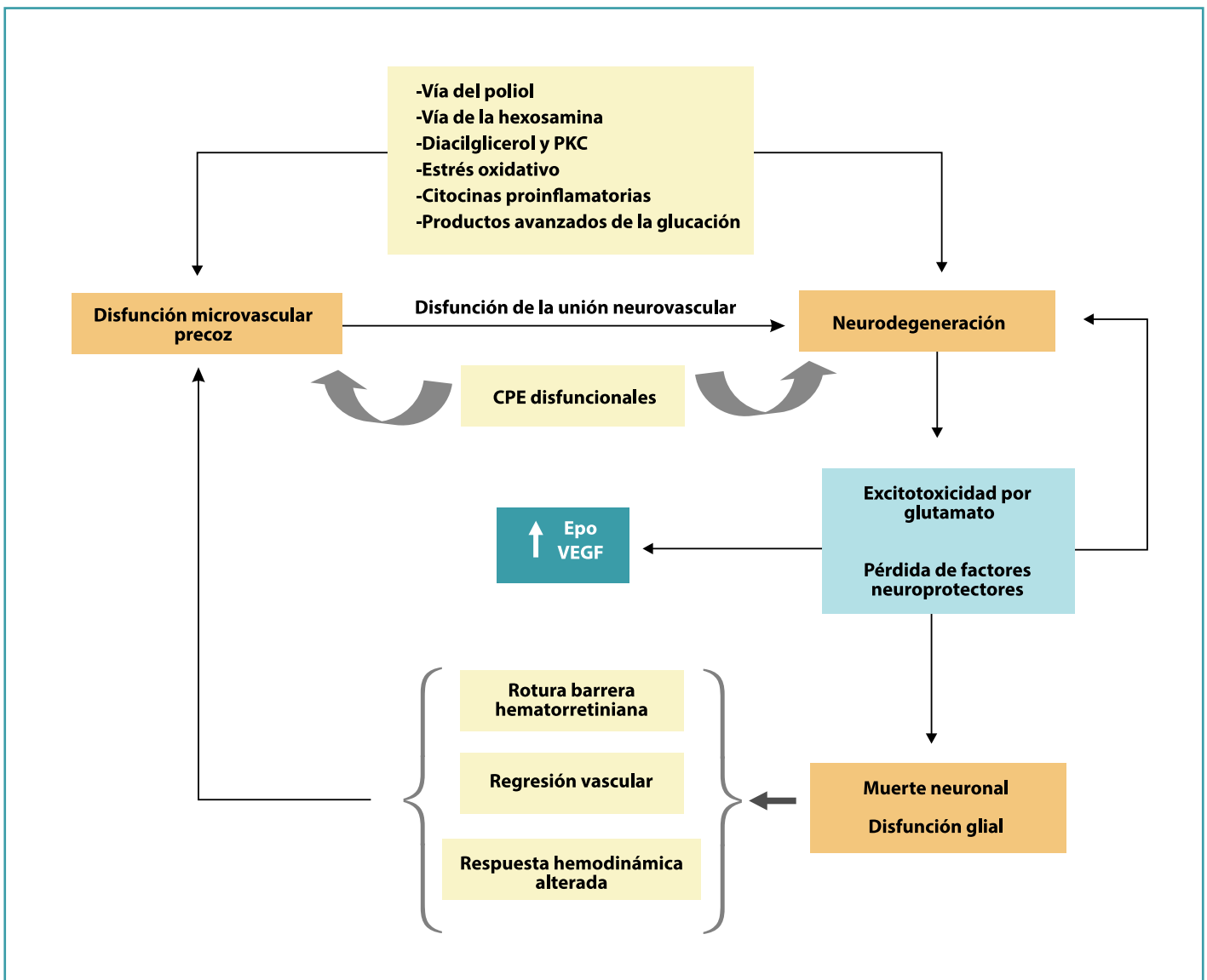
Uno de los mecanismos propuestos es que el exceso de glutamato y la activación de su receptor dan lugar a un incremento del VEGF,

que es uno de los factores implicados en la rotura de la barrera hematorretiniana<sup>26</sup>. En segundo lugar, en un modelo animal se ha observado que la activación de la microglía se relaciona con la regresión vascular, que es la primera alteración microvascular que se observa en la RD y que se caracteriza por la pérdida de pericitos seguida de la formación de capilares acelulares<sup>5</sup>. También, como ya se ha comentado previamente, las células de la glía desempeñan un importante papel en la alteración del acoplamiento neurovascular, ya que son las encargadas de la producción de múltiples sustancias vasoactivas que regulan el flujo sanguíneo<sup>27</sup>.

Otro elemento importante son las células progenitoras endoteliales (CPE) derivadas de la médula ósea, encargadas de reparar el tejido vascular y prevenir la isquemia. Estas células son disfuncionales en los pacientes diabéticos, ya que producen menos células endoteliales y con un reducido potencial proliferativo y de migración<sup>28</sup>. Estas CPE podrían ser uno de los mecanismos implicados en la vasorregresión y la neurodegeneración que se observan en las fases iniciales de la RD. Otros mecanismos implicados podrían ser la activación del receptor de los AGE y del sistema renina-angiotensina<sup>11</sup>.

## Conclusiones y perspectivas de futuro

- La neurodegeneración es un evento precoz en el desarrollo de la RD, por lo que es preciso investigar si las estrategias terapéuticas basadas en la neuroprotección pueden prevenir o reducir la progresión de la RD.
- La neurodegeneración se produce principalmente por la excitotoxicidad por glutamato, el estrés oxidativo, la pérdida de sustancias neuroprotectoras y la inflamación.
- Las principales alteraciones morfológicas son la apoptosis y la activación glial. La neurodegeneración de la retina se puede identificar en pacientes diabéticos por un adelgazamiento de la capa de fibras ganglionares y de la capa de fibras nerviosas del nervio óptico mediante tomografía de coherencia óptica.
- Con respecto a las alteraciones funcionales, estas son objetivables gracias al electroretinograma multifocal y se detectan antes de que aparezcan lesiones microvasculares en el examen fundoscópico.
- La alteración en el acoplamiento neuronal, es decir, el cambio en el calibre de los vasos sanguíneos en res-



**Figura 1.** Esquema de los mecanismos que vinculan la neurodegeneración con la disfunción vascular precoz en la retinopatía diabética. (Adaptado de: Simó y Hernández<sup>11</sup>).

puesta al estímulo lumínico, es también una alteración precoz en la RD.

- Mediante tomografía de coherencia óptica y electroretinograma se podrá identificar a los pacientes con neurodegeneración antes de que aparezcan alteraciones vasculares, y serían estos los que podrían

beneficiarse de los tratamientos neuroprotectores. Dado que el tratamiento debería administrarse en etapas muy precoces de la RD, habría que investigar vías de administración no invasivas. En este sentido, la administración tópica ocular (colirios) ha demostrado ser útil en modelos experimentales<sup>29</sup>. Actualmente se está realizando el primer ensayo clínico para evaluar la

eficacia de los agentes neuroprotectores (somatostatina y brimonidina), administrados en colirio, para prevenir la neurodegeneración de la retina y las primeras lesiones vasculares causadas por la diabetes<sup>30</sup>.

## Bibliografía

- Mizutani M, Gerhardinger C, Lorenzi M. Müller cell changes in human diabetic retinopathy. *Diabetes*. 1998;47:445-9.
- Zeng HY, Green WR, Tso MO. Microglial activation in human diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 2008;126:227-32.
- Kern TS, Barber AJ. Retinal ganglion cells in diabetes. *J Physiol*. 2008;586:4401-8.
- Jonsson KB, Frydkjaer-Olsen U, Grauslund J. Vascular changes and neurodegeneration in the early stages of diabetic retinopathy: which comes first? *Ophthalmic Res*. 2016;56:1-9.
- Feng Y, Wang Y, Stock O, Pfister F, Tanimoto N, Seeliger MW, et al. Vasoregression linked to neuronal damage in the rat with defect of polycystin-2. *PLoS ONE*. 2009;4:e7328.
- Han Y, Schneck ME, Barse MA Jr, Barez S, Jacobsen CH, Jewell NP, et al. Formulation and evaluation of a predictive model to identify the sites of future diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:4106-12.
- Harrison WW, Barse MA Jr, Nw JS, Jewell NP, Barez S, Burger D, et al. Multifocal electroretinograms predict onset of diabetic retinopathy in adult patients with diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:772-7.
- Riva CE, Logean E, Falsini B. Visually evoked hemodynamical response and assessment of neurovascular coupling in the optic nerve and retina. *Prog Retin Eye Res*. 2005;24:183-215.
- Lecleire-Collet A, Audo I, Girmens JF, Sofroni R, Erginay A, LeGargasson JF, et al. Evaluation of retinal function flicker light-induced retinal vascular response in normotensive patients with diabetes without retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:2861-7.
- Nguyen TT, Kawasaki R, Wang JJ, Kreis AJ, Shaw J, Vilser W, et al. Flicker light-induced retinal vasodilation in diabetes and diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2009;32:2075-80.
- Simó R, Hernández C. Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25:23-33.
- Lieth E, LaNoue KF, Antonetti DA, Ratz M. Diabetes reduces glutamate oxidation and glutamine synthesis in the retina. The Penn State Retina Research Group. *Exp Eye Res*. 2000;70:723-30.
- Ambati J, Chalam KV, Chawla DK, D'Angio CT, Guillet EG, Rose SJ, et al. Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate, and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 1997;115:1161-6.
- Ng YK, Zeng XX, Ling EA. Expression of glutamate receptors and calcium binding proteins in the retina of streptozotocin-induced diabetic rats. *Brain Res*. 2004;1018:66-72.
- Santiago AR, Gaspar JM, Baptista FI, Cristóvão AJ, Santos PF, Kamphuis W, et al. Diabetes changes the levels of ionotropic glutamate receptors in the rat retina. *Mol Vis*. 2009;15:1620-30.
- Li Q, Puro DG. Diabetes-induced dysfunction of the glutamate transporter in retinal Müller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:3109-16.
- Jarret SG, Lin H, Godley BF, Boulton ME. Mitochondrial DNA damage and its potential role in retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res*. 2008;27:596-607.
- Kaur C, Foulds WS, Ling EA. Hypoxia-ischemia and retinal ganglion cell damage. *Clin Ophthalmol*. 2008;2:879-89.
- Villarreal M, Ciudad A, Hernández C, Simó R. Neurodegeneration: an early event of diabetic retinopathy. *World Journal of Diabetes*. 2010;1:57-64.
- Amin RH, Frank RN, Kennedy A, Elliott D, Puklin JE, Abrams GW. Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38:36-47.
- Hernández C, Fonollosa A, García-Ramírez M, Higuera M, Catalán R, Miralles A, et al. Erythropoietin is expressed in the human retina and it is highly elevated in the vitreous fluid of patients with diabetic macular edema. *Diabetes Care*. 2006;29:2028-33.
- Kern TS. Contributions of inflammatory processes to the development of early stages of diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res*. 2007;2007:95103.
- Zhong Y, Li J, Chen Y, Wang JJ, Ratan R, Zhang SX. Activation of endoplasmic reticulum stress by hyperglycemia is essential for Müller cell-derived inflammatory cytokine production in diabetes. *Diabetes*. 2012;61:492-504.
- Berner AK, Brouwers O, Pringle R, Klaassen I, Coulhon L, McVivar C, et al. Protection against methylglyoxal-derived AGEs by regulation of glyoxalase 1 prevents retinal neuroglial and vasodegenerative pathology. *Diabetologia*. 2012;55:845-54.
- Wilkinson-Berka JL. Angiotensin and diabetic retinopathy. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38:752-65.
- Kusari J, Zhou SX, Padillo E, Clarke KG, Gil DW. Inhibition of vitreoretinal VEGF elevation and blood-retinal barrier breakdown in streptozotocin-induced diabetic rats by brimonidine. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:1044-51.
- Metea MR, Newman EA. Glial cells dilate and constrict blood vessels: a mechanism of neurovascular coupling. *J Neurosci*. 2006;26:2862-70.
- Li Calzi S, Neu MB, Shaw LC, Grant MB. Endothelial progenitor dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy: treatment concept to correct associated deficits. *EPMA J*. 2010;1:88-100.
- Simó R, Hernández C. Novel approaches for treating diabetic retinopathy based on recent pathogenic evidence. *Prog Retin Eye Res*. 2015;48:160-80.
- Simó R, Hernández C; European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR). Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy: therapeutic implications. *Br J Ophthalmol*. 2012;96:1285-90.