

Editorial

Factores angiogénicos y antiangiogénicos en la retinopatía diabética

R. SIMÓ-CANONGE

Unidad de Investigación en Diabetes. Sección Endocrinología. Hospital General Vall d'Hebron. Barcelona. España.

La retinopatía diabética proliferativa (RDP) continúa siendo la principal causa de ceguera en población de edad laboral en los países industrializados. Aunque el buen control de la glucemia y de la presión arterial son piezas clave para prevenir su aparición, lo cierto es que los objetivos terapéuticos son difíciles de alcanzar en la práctica clínica diaria. Además, cuando se presenta la RDP tan sólo disponemos de la fotocoagulación con láser, un tratamiento de eficacia limitada y no exento de efectos secundarios. La cirugía vitreoretiniana es otra opción para el tratamiento de estados muy avanzados de la RDP (hemovítreo, desprendimiento de retina por tracción, membranas epiretinales), pero para que tenga éxito es necesario disponer de un equipo experto y, de hecho, traduce el fracaso de las medidas de detección temprana de la enfermedad y la inoperancia del tratamiento médico. Por tanto, es fundamental diseñar nuevas estrategias terapéuticas basadas en el conocimiento fisiopatológico de la enfermedad.

En las últimas décadas, se ha constatado, tanto en estudios clínicos como en experimentales, que los factores angiogénicos de síntesis intraocular desempeñan un papel fundamental en la etiopatogenia de la RDP^{1,2}. De entre los factores angiogénicos implicados en el desarrollo de la RDP destacan el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y las angiopoyetinas. Otros factores angiogénicos, tales como la angiogenina, el factor derivado del estroma (SDF-1), el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) o

diversos mediadores proinflamatorios (interleucina [IL] 8, proteína quimioatrayente de monocitos [MCP-1]) liberados tras el fenómeno de la leucostasis (unión irreversible de los leucocitos al endotelio), también ejercerán un papel relevante en la etiopatogenia de la RDP¹⁻³. Recientemente, se ha demostrado la síntesis por parte de la retina de diversos factores antiangiogénicos tales como el factor de crecimiento derivado del epitelio pigmentario (PEDF), el factor de crecimiento de transformación β (TGF- β), la trombospondina (TSP), la angiostatina, la somatostatina (SS), la endostatina, el factor plaquetario IV, el *kringle 5* del plasminógeno y las IL-10 y 4, que contrarrestan la acción de los factores angiogénicos^{1,2}. Es decir, será el balance entre factores angiogénicos y antiangiogénicos lo que determinará si se inician o no los pasos secuenciales de la formación de neovasos que, sin duda, es la característica fundamental de la RDP. Así, sólo si predominan los factores angiogénicos, se iniciará el proceso de neovascularización. Por tanto, en la etiopatogenia de la RDP no sólo será importante la activación o hiperexpresión de los factores angiogénicos, sino también la disminución de los factores antiangiogénicos. El estudio simultáneo de factores angiogénicos y antiangiogénicos abre una nueva perspectiva fisiopatológica de la retinopatía diabética y será fundamental para el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas. Evidentemente, la descripción detallada de todos estos factores y sus interrelaciones superaría el objetivo del presente editorial, que se centrará en los conceptos esenciales que atañen a los principales factores que han sido motivo de estudio en los últimos años por nuestro grupo de investigación.

El VEGF es fundamental para el desarrollo normal de los vasos en el estado embrionario y también para la vasculogénesis retiniana⁴. La hiperglucemia, a través de los productos avanzados de la glucosilación no enzimática (AGE)⁵ y especialmente la hipoxia, a través del factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1), un factor de transcripción, son potentes estímulos para la síntesis de VEGF⁶. Aparte de la regulación por la hiperglucemia y la hipoxia existen otros mecanismos de regulación del VEGF. Así, se ha demostrado que el

Correspondencia: Dr. R. Simó-Canonge.
Unidad de Investigación en Diabetes. Sección de Endocrinología.
Hospital Vall d'Hebron.
P.º Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona. España.
Correo electrónico: rsimo@vhebron.net

Manuscrito recibido el 22-8-2005; aceptado para su publicación el 5-9-2005.

tratamiento intensivo con insulina incrementa de forma significativa la expresión del VEGF en la retina de ratas diabéticas por vía de la activación de la p-38 MAPK y PI 3-kinasa, dependiente de la activación del HIF-1 α ⁷. Este hallazgo podría explicar, en parte, el empeoramiento transitorio de la retinopatía diabética que se produce cuando se inicia un tratamiento intensivo con insulina. Diversos estudios inmunohistoquímicos y de biología molecular han demostrado la existencia de expresión, tanto de VEGF como de sus receptores, aumentada en la retina de los pacientes diabéticos y, actualmente, no existe ninguna duda de que el VEGF ejerce un papel fundamental en la etiopatogenia de la RDP^{4,8}. Estudios en humanos han demostrado que las concentraciones intravítreas de VEGF están significativamente elevadas en pacientes con RDP en comparación con sujetos no diabéticos^{9,10}. Cabe mencionar que nuestro grupo fue el primero en comunicar que el aumento de las concentraciones intravítreas de VEGF no era atribuible a un aumento en la difusión sérica¹⁰ y también que las concentraciones intravítreas de VEGF se correlacionaban con las de VCAM-1, una molécula de adhesión celular directamente involucrada en el proceso de angiogenesis¹¹. Además, se ha demostrado que las concentraciones intravítreas de VEGF son más elevadas cuando existe actividad de la retinopatía (predominio de neovasos) que cuando la retinopatía está en fase quiescente (predominio que fibrosis)^{9,12}. Por todo ello, no cabe duda de que las nuevas estrategias terapéuticas encaminadas al bloqueo de la acción del VEGF representan un futuro prometedor en el tratamiento de la RDP.

El IGF-1 es otro factor angiogénico que se ha implicado en la patogenia de la RDP. Aunque se sintetiza fundamentalmente en los hepatocitos, se expresa en múltiples tejidos y no es un mero efector de la hormona de crecimiento (GH) tal como se creía hasta hace poco, sino que posee efectos autocrinos y paracrinos independientes de los valores circulantes de GH¹³. Así, en ratas hipofisectomizadas, la expresión de IGF-1 se mantiene en numerosos tejidos entre los que se incluye la retina^{13,14}. Las células endoteliales y las células del epitelio pigmentario de la retina expresan IGF-1 y su receptor¹. Recientemente, se ha descrito que el IGF-1 tiene propiedades antiapoptóticas. Así, en cultivos de células de neurorretina procedentes de ratas diabéticas, el IGF-1 mejora la supervivencia de las células bajo condiciones de hipoxia¹⁵. Por otra parte, se ha demostrado, en cultivos de células endoteliales de retina humana, que la adición de IGF-1 protege a las células de la apoptosis inducida por las concentraciones elevadas de glucosa y la privación de suero¹⁶. Además, parece que el IGF-1 desempeña un papel crucial para la vascularización fisiológica de la retina¹⁷. En este sentido, cabe mencionar que nuestro grupo ha comunicado que la proporción de IGF-1 libre en el humor vítreo de sujetos controles no diabéticos

alcanza el 42% respecto al IGF-1 total, cifra que en suero no supera el 1%, lo que apoya el concepto de que la producción intraocular de IGF-1 desempeña un papel fundamental en la homeostasis de la retina¹⁸. Existen evidencias experimentales que abogarían por un papel esencial del IGF-1 en la etiopatogenia de la RDP^{19,20}. Además, la inyección intravítrea de dosis suprafisiológicas de IGF-1 en animales de experimentación²¹ o la producción de un ratón transgénico que hiperexpresa IGF-1²² producen una microangiopatía retiniana que guarda numerosas similitudes con la microangiopatía diabética. Sin embargo, se ha demostrado una disminución de los valores de ARNm del IGF-1 en la retina, tanto de ratas diabéticas²³ como de pacientes afectados de una diabetes mellitus tipo 2¹⁴. Además, nuestro grupo ha demostrado que la mayoría del aumento del IGF-1 que existe en el humor vítreo de los pacientes diabéticos con RDP se debe a difusión sérica y que, en realidad, existe un déficit de producción intraocular de IGF-1 libre en los pacientes diabéticos con RDP^{18,24}. Además, no hemos detectado relación entre las concentraciones intravítreas de IGF-1 libre y la actividad de la RDP ni con los valores intravítreos de VEGF¹². Por último, recientemente se ha comunicado que en el modelo *knockout* para el receptor del IGF-1 (VENIFARKO) sólo se reduce la neovascularización en un 34% en comparación con el 57% de inhibición de neovascularización que se observa con el *knockout* para el receptor de la insulina (VENIRKO)²⁵. Por tanto, aunque parece indiscutible que el IGF-1 ejerce una acción fundamental para la angiogenesis fisiológica de la retina, su papel en la patogenia de la RDP no está del todo claro.

El HGF, inicialmente denominado *scatter factor*, es un potente mitógeno para los hepatocitos (de ahí su nombre), pero además es un potente factor angiogénico. En estudios efectuados en tejido ocular se ha demostrado que las células corneales, las células del epitelio pigmentario de la retina y las células gliales de las membranas epiretinales expresan su receptor, el c-met²⁶. Sin embargo, el papel del HGF en la patogenia de la RDP es aún controvertido. Varios grupos, incluido el nuestro, han demostrado que existen valores aumentados de HGF en el humor vítreo de los pacientes diabéticos con RDP²⁷⁻²⁹. Sin embargo, en estos estudios no se realizó la corrección por proteínas intravítreas. Recientemente, hemos demostrado que al efectuar el ajuste por proteínas intravítreas la concentración de HGF por miligramo de proteína es más baja en los pacientes diabéticos que en los controles y, además, no existe relación entre los valores intravítreos de HGF y el grado de actividad de la retinopatía^{30,31}. En este sentido, cabe mencionar que, al contrario de lo que ocurre con el VEGF, tanto las concentraciones elevadas de glucosa como la hipoxia desregulan la expresión del HGF en las células endoteliales¹. Por otra parte, hemos demostrado que no

existe relación entre los valores intravítreos de HGF y VEGF³⁰, pero sí entre el HGF y el VCAM-1³¹. Además, los valores intravítreos de HGF se hallan más elevados en presencia de membranas epiretinianas, ya sea en el contexto de la RDP como en pacientes no diabéticos con membranas epiretinianas idiopáticas³². Todo ello sugiere que el HGF de producción intraocular puede ser más importante como mediador de los procesos inflamatorios y fibroproliferativos que para la neovascularización asociada a la RDP.

Dentro de los factores antiangiogénicos cabe destacar el PEDF, que además de ser un factor neurotrófico de la retina es uno de los factores antiangiogénicos naturales más potentes y el principal responsable de las propiedades antiangiogénicas del humor vítreo³³. Recientemente, se ha comunicado que no sólo contrarresta la acción del VEGF en el proceso de angiogénesis, sino también en el aumento de permeabilidad dependiente del VEGF³⁴. Al contrario que el VEGF, su expresión es inhibida por la hipoxia³³. En la retina, tal como indica su nombre, su principal fuente de producción es el epitelio pigmentario y se encuentra en concentraciones elevadas en la matriz interfotorreceptor, en el humor vítreo y en la córnea¹. En el modelo murino de retinopatía inducida por la isquemia, la administración sistémica de PEDF a dosis inferiores a las halladas en el vítreo normal fue capaz de bloquear el desarrollo de neovasos³⁵. En el humor vítreo se han hallado concentraciones disminuidas de PEDF en pacientes con RDP^{36,37}, lo que sugiere que la neovascularización en el contexto de la RDP puede ser el resultado de la pérdida de uno de los principales inhibidores de la angiogénesis, el PEDF, en combinación con un aumento de expresión de factores angiogénicos, como el VEGF.

La SS es un péptido de origen hipotalámico que actúa como principal inhibidor de la liberación de la GH por parte de la hipófisis. Sin embargo, actualmente sabemos que su distribución es ubicua y ejerce múltiples funciones biológicas que incluyen la neurotransmisión, las actividades antiproliferativas y antisecretoras, y las acciones neurotróficas. Existen 2 formas activas predominantes generadas tras la digestión proteolítica de la prohormona prosomatostatina: la SS14 y la SS28. Tanto la SS como sus receptores (SSTR1-SSTR5) se sintetizan en la retina neural de todas las especies estudiadas, incluido el ser humano¹. Diversos estudios han demostrado que los análogos de la SS tienen un efecto angiostático para las células endoteliales de la retina¹. Este mecanismo, junto con su acción neurotrófica, puede ser más relevante que la propia inhibición del IGF-1 circulante en su potencial indicación como nuevo tratamiento de la retinopatía diabética. Nuestro grupo demostró que existen valores muy elevados de SS en el humor vítreo de sujetos control no diabéticos, por lo que la SS puede añadirse a la lista de los factores antiangiogénicos naturales de

síntesis retiniana³⁸. Además, en los pacientes diabéticos encontramos un déficit de SS, lo que podría favorecer la neovascularización de la retina³⁸. Recientemente, hemos demostrado que el déficit de SS que presentan los pacientes con RDP es fundamentalmente a expensas de la SS28³⁹. Además, también observamos que la cortistatina (una molécula similar a la SS, pero codificada por un gen distinto) también existe en cantidades abundantes en el humor vítreo y que es deficitaria en la RDP³⁹. Estos hallazgos pueden contribuir no sólo al diseño de análogos de la SS más específicos para el tratamiento de la retinopatía diabética, que podrían administrarse mediante inyecciones intravítreas como tratamiento sustitutivo, sino que también identifican nuevas dianas para una eventual terapia génica.

En definitiva, el conocimiento del papel que ejercen los factores angiogénicos y antiangiogénicos en la etiopatogenia de la RDP será fundamental para implementar nuevos abordajes terapéuticos que permitan minimizar los devastadores efectos de esta complicación de la diabetes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Simó R, Carrasco E, García-Ramírez M, Hernández C. Angiogenic and antiangiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Diabet Rev.* 2006;2:71-98.
2. Grant MB, Afzal A, Spoerri P, Pan H, Shaw LC, Mames RM. The role of growth factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Expert Opin Investig Drugs.* 2004;13:1275-93.
3. Hernández C, Segura RM, Fonollosa A, Carrasco E, Francisco G, Simó R. Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabet Med.* 2005;22:719-22.
4. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev.* 2004;25:5881-611.
5. Treins C, Giorgetti-Peraldi S, Mordaca J, Van Obberghen E. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by advanced glycation end products. *J Biol Chem.* 2001;276:43836-41.
6. Ozaki H, Yu AY, Della N, Ozati K, Luna JD, Yamada H, et al. Hypoxia inducible factor-1 alpha is increased in ischemic retina: temporal and spatial correlation with VEGF. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:182-9.
7. Poulaki V, Qin W, Joussen AM, Hurlbut P, Wiegand SS, Rudge J, et al. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1alpha and VEGF. *J Clin Invest.* 2002;109:805-15.
8. Caldwell RB, Bartoli M, Behzadian MA, El-Kemessy AF, Al-Shobracuey H, Platt DH, et al. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Diabetes Metab Res Rev.* 2003;19:442-55.
9. Aiello L, Avery R, Arrigg P, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med.* 1994;331:1480-7.
10. Burgos R, Simó R, Audí L, Mateo C, Mesa J, García-Ramírez M, et al. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentration in diabetic retinopathy. *Diabetologia.* 1997;40:1107-9.

11. Hernández C, Burgos R, Cantón A, García-Arumí J, Segura RM, Simó R. Vitreous levels of vascular adhesion molecule and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study. *Diabetes Care*. 2001;24:516-21.
12. Simó R, Lecube A, Segura RM, García-Arumí J, Hernández C. Free insulin growth factor-I and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2002;134:376-82.
13. Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev*. 2001;22:53-74.
14. Gerhardinger C, McClure KD, Romeo G, Podesta F, Lorenzi M. IGF-1 mRNA and signalling in the diabetic retina. *Diabetes*. 2001;50:175-83.
15. Seigel GM, Chiu L, Paxhia A. Inhibition of neuroretinal cell death by insulin-like growth factor-I and its analogs. *Mol Vis*. 2000;31:157-63.
16. Wilson SH, Davis MI, Caballero S, Grant MB. Modulation of retinal endothelial cell behaviour by insulin-like growth factor I and somatostatin analogues: implications for diabetic retinopathy. *Growth Horm IGF Res*. 2001;11 (Suppl A):S53-9.
17. Hellstrom A, Carlsson B, Niklasson A, Segnestam K, Boguszecki M, De Locerda L, et al. IGF-I is critical for normal vascularization of the human retina. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:3413-6.
18. Simó R, Hernández C, Segura RM, García-Arumí J, Sararols L, Burgos R, et al. Free IGF-I in the vitreous fluid of diabetic patients with proliferative diabetic retinopathy. A case-control study. *Clin Sci (Lond)*. 2003;104:223-30.
19. Smith LEH, Kopchick JJ, Chen W, Knapp J, Kinose F, Doley D, et al. Essential role of growth hormone in ischemia-induced retinal neovascularization. *Science*. 1997;276:1706-9.
20. Smith LEH, Shen W, Perruzzi C, Soker S, Kinose F, Xu X, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization by insulin-like growth factor-1 receptor. *Nature Med*. 1999;5:1390-5.
21. Danis RP, Bingham DP. Insulin-like growth factor-1 retinal microangiopathy in the pig eye. *Ophthalmology*. 1997;104:1661-9.
22. Ruberte J, Ayuso E, Navarro M, Corretero A, Nachez V, Hougnot V, et al. Increased ocular levels of IGF-1 in transgenic mice lead to diabetes-like eye disease. *J Clin Invest*. 2004;113:1149-57.
23. Lowe WL, Florkiewicz RZ, Yorek MA, Spanheimer RG, Albrecht BN. Regulation of growth factor mRNA levels in eyes of diabetic rats. *Metabolism*. 1995;44:1038-45.
24. Burgos R, Mateo C, Cantón R, Hernández C, Mesa J, Simó R. Vitreous levels of IGF-1, IGF binding protein 1, and IGF binding protein 3 in proliferative diabetic retinopathy. A case-control study. *Diabetes Care*. 2000;23:80-3.
25. Kondo T, Vicent D, Suzuma K, Yanagisawa M, King GL, Holzenberg M, et al. Knockout of insulin and IGF-1 receptors on vascular endothelial cells protects against retinal neovascularization. *J Clin Invest*. 2003;111:1835-42.
26. Grierson I, Heathcote L, Hiscott P, Hogg P, Briggs M, Hagan S. Hepatocyte growth factor/scatter factor in the eye. *Prog Retin Eye Res*. 2000;19:779-802.
27. Katsura Y, Okano T, Noritake M, Kosono H, Nishigori H, Kado S, et al. Hepatocyte growth factor in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy and other retinal disorders. *Diabetes Care*. 1998;21:1759-63.
28. Nishimura M, Ikeda T, Ushiyama M, Nanbu A, Kinoshita S, Yoshimura M. Increased vitreous concentrations of human hepatocyte growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:659-62.
29. Cantón A, Burgos R, Hernández C, Mateo C, Segura RM, Mesa V, et al. Hepatocyte growth factor in vitreous and serum from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2000;84:732-5.
30. Simó R, Lecube A, García-Arumí J, Carrasco E, Hernández C. Hepatocyte growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy: its relationship with vascular endothelial growth factor and retinopathy activity. *Diabetes Care*. 2004;27:287-8.
31. Hernández C, Carrasco E, García-Arumí J, Segura RM, Simó R. Intravitreal levels of hepatocyte growth factor/scatter factor and vascular cell adhesion molecule-1 in the vitreous fluid of diabetic patients with proliferative retinopathy. *Diabetes Metab*. 2004;30:341-6.
32. Simó R, Vidal MT, García-Arumí J, Carrasco E, García-Ramírez N, Segura RM, et al. Intravitreal hepatocyte growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;71:36-44.
33. Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, Crawford SE, Xu H, Benedict W, et al. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science*. 1999;285:245-8.
34. Liu H, Ren JG, Cooper WL, Hawkins CE, Cowan MR, Tong PY. Identification of the antivascular permeability effect of pigment epithelium-derived factor and its active site. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;27:6605-10.
35. Stellmach V, Crawford SE, Zhou W, Bouck N. Prevention of ischemia-induced retinopathy by the natural ocular antiangiogenic agent pigment epithelium-derived factor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:2593-7.
36. Spranger J, Osterhoff M, Reimann M, Mohlig M, Ristow M, Francis MK, et al. Loss of the antiangiogenic pigment epithelium-derived factor in patients with angiogenic eye disease. *Diabetes*. 2001;50:2641-5.
37. Ogata N, Tombran-Tink J, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Sakamoto T, et al. Pigment epithelium-derived factor in the vitreous is low in diabetic retinopathy and high in rhegmatogenous retinal detachment. *Am J Ophthalmol*. 2001;132:378-82.
38. Simó R, Lecube A, Sararols L, García-Arumí J, Segura RM, Casamitjana R, et al. Deficit of somatostatin-like immunoreactivity in the vitreous fluid of diabetic patients. *Diabetes Care*. 2002;25:2282-6.
39. Hernández C, Carrasco E, Casamitjana R, Deulofeu R, García-Arumí J, Simó R. Somatostatin molecular variants in the vitreous fluid: a comparative study between diabetic patients with proliferative diabetic retinopathy and nondiabetic control subjects. *Diabetes Care*. 2005;28:1941-7.