



FACULTAD DE BIOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA



UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA
CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE

Trabajo de fin de grado

**Análisis de las modificaciones del epitelio pigmentario humano
bajo condiciones patológicas similares a las ocasionadas en la
Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE)**

An analysis of the modifications in the retinal pigment epithelium under similar
conditions as age-related macular degeneration (AMD)

Grado en Biología

Universidad de Salamanca

Aitana Vázquez Sola

20TFG358

2019-2020

Contenido

| | |
|---|----|
| Resumen (Abstract)..... | V |
| Introducción | 1 |
| 1. El ojo humano | 1 |
| 2. Degeneración macular asociada a la edad..... | 2 |
| 3. Epitelio pigmentario humano | 3 |
| 3.1. Polaridad..... | 4 |
| 3.2. Funciones | 6 |
| Objetivos | 9 |
| Metodología | 9 |
| Resultados | 10 |
| 1. Variaciones espacio-temporales del EPR en situación normal | 10 |
| 1.1. Cambios en la distribución espacial..... | 10 |
| 1.2. Cambios a lo largo del tiempo | 11 |
| 2. Variaciones del EPR en presencia de DMAE | 13 |
| 2.1. EPR en DMAE atrófica o seca..... | 15 |
| 2.2. EPR en DMAE húmeda o exudativa | 21 |
| 2.3. Factores genéticos | 25 |
| 3. Tratamientos..... | 26 |
| Conclusiones | 27 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 28 |

Resumen (Abstract)

La degeneración macular asociada a la edad o DMAE es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a la visión central culminando en ceguera en estadios avanzados. Es la principal causa de pérdida de visión en ancianos de países desarrollados llegando a afectar hasta un 8.7% de la población mundial. En las etapas más avanzadas se distinguen dos modalidades: la **DMAE seca**, caracterizada por acumulación de drusas y un descenso de células del epitelio pigmentario retinal (EPR) con la consecuente pérdida de fotorreceptores; y la **DMAE húmeda**, con crecimiento anormal de vasos desde la coroides hacia el interior de la retina. El EPR es una estructura muy implicada en el desarrollo de la DMAE pues actúa como barrera entre los fotorreceptores y la coroides, teniendo un papel clave en la homeostasis de la retina. Los cambios moleculares y funcionales del epitelio son elementos clave en el desarrollo de la patología. Las drusas con propiedades proinflamatorias, la acumulación de gránulos de lipofuscina o el estrés oxidativo entre otros, causan malfuncionamiento de la retina. Como resultado obtenemos un **epitelio desorganizado y disfuncional** que no es capaz de mantener las necesidades de los fotorreceptores y, por tanto, la visión de los pacientes se ve comprometida.

Age-related macular degeneration is a neurodegenerative disease from the eyes that causes central vision impairments and vision loss in late stages. It is the leading cause of blindness among the elder population in developed countries. Indeed, it affects around 8.7% of the global population. Two different varieties are distinguished in the latter states: **wet AMD**, that it is known by the abnormal growth of choroid vessels towards the retina; and **dry AMD**, characterized by subretinal drusen and a decline in the number of retinal pigment cells and the consequent loss of photoreceptors. The RPE is one of the most relevant structures in the development of the disorder since it acts as a barrier between the choroid and the photoreceptors. Considering that, the RPE has a noteworthy role in the retina homeostasis. Molecular and functional alterations of the RPE are crucial for the development of this pathology. Drusen sprout, lipofuscin accumulation within the RPE cells, the increased oxidative stress, and many other factors cause impairments in the RPE function. As a result, the RPE becomes **disorganized and dysfunctional**. Considering that, it is not able to maintain photoreceptor necessities and so, the patient's vision is endangered.

Introducción

1. El ojo humano

Nuestros ojos son unas estructuras muy complejas, con multitud de estructuras perfectamente coordinadas para generar el fenómeno de la visión.

Los globos oculares están constituidos por 3 capas concéntricas (Fig.1). La capa externa está formada por la esclera y la córnea, la intermedia se subdivide a su vez en dos partes, la anterior compuesta por el iris y el cuerpo ciliar, y la posterior formada por la coroides. Por último, en la capa interna la parte sensorial del órgano está la **retina**¹. Su estructura es laminar y cuenta con 10 capas, de exterior a interior (Fig.1):

- Epitelio pigmentario retinal (EPR)
- Segmentos de fotorreceptores (SF)
- Membrana limitante externa (MLE)
- Capa nuclear externa (CNE)
- Capa plexiforme externa (CPE)
- Capa nuclear interna (CNI)
- Capa plexiforme interna (CPI)
- Capa de células ganglionares (CCG)
- Fibras del nervio óptico (FNO)
- Membrana limitante interna (MLI)

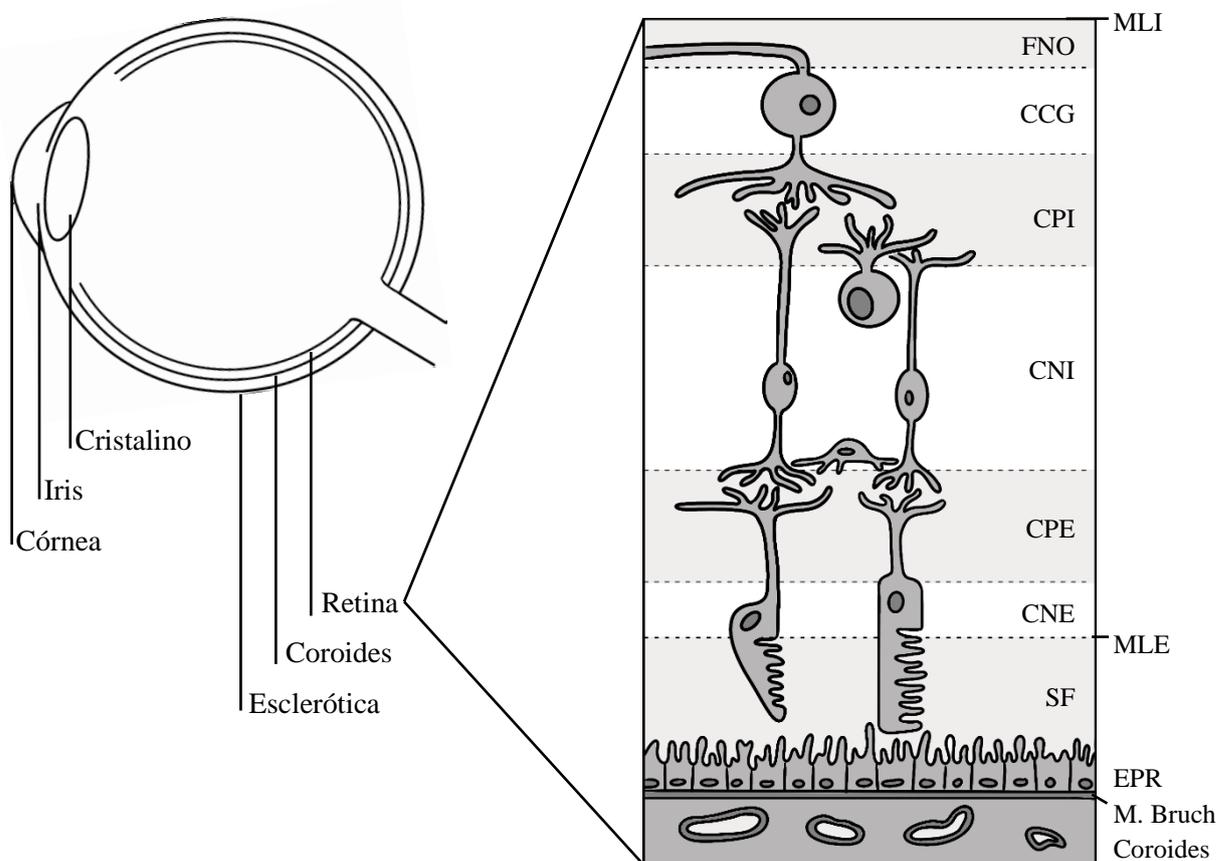


Figura 1. Estructuras del globo ocular y disposición laminar de la retina.
Elaboración propia.

2. Degeneración macular asociada a la edad

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE), es una patología degenerativa ocular que afecta principalmente a la coroides, la membrana de Bruch, el epitelio pigmentario de la retina y la mácula². El daño en estas estructuras causa pérdida progresiva de la visión central sin afectar a la visión periférica haciendo que tareas tan simples como leer, conducir o reconocer rostros sean imposibles de realizar en estadios avanzados de la enfermedad³. La DMAE es la principal causa de pérdida de visión en la población mayor de 60 años en los países desarrollados y su incidencia aumenta conforme lo hace el tamaño de población envejecida⁴.

Distinguimos dos tipos de degeneración macular, la DMAE húmeda o exudativa y la DMAE seca o atrófica. La incidencia de la forma húmeda es muy inferior a la de la forma seca, tan solo un 10-15% de los pacientes presentan el primer tipo frente a un 85-90% que sufren DMAE seca³.

La **DMAE seca** tiene una evolución lenta. A lo largo de los años la mácula disminuye su espesor y con ello el paciente pierde progresivamente la visión. Muchas veces no es detectada hasta mucho tiempo después de su inicio porque la pérdida de la visión es muy lenta. La **DMAE húmeda** se desarrolla rápidamente (semanas o meses) y si no se aplica un tratamiento de forma inmediata los efectos de la enfermedad son irreversibles. Los pacientes que padecen esta forma de degeneración macular sufren derrames y **hemorragias** oculares causados por capilares provenientes de la coroides que invaden la retina (neovascularización). Al contrario que la DMAE seca, la forma húmeda sí tiene tratamiento, el cual está basado en anti-angiogénicos que evitan la formación de vasos sanguíneos invasivos².

Uno de los signos más destacables de esta enfermedad es la acumulación de **drusas**, unas depósitos de residuos que se acumulan entre el epitelio pigmentario y la membrana de Bruch. Se pueden clasificar en dos grupos, drusas duras y blandas. Las **drusas duras** son pequeñas, redondas y tienen unos límites claros. Están muy extendidas en la población envejecida, alrededor del 80% de personas ancianas presentan este tipo de depósitos y generalmente no causan pérdida de visión, aunque cabe destacar que una gran acumulación de este tipo de drusas puede estar ligada a DMAE seca. Por otro lado, las **drusas blandas** son mucho más grandes y difusas. No son habituales en ojos sanos, preceden a la aparición de nuevos vasos en la retina, un claro indicativo de DMAE húmeda. Ambos tipos de drusas no son incompatibles en un mismo individuo, pueden **coexistir** ya que comparten factores de riesgo⁵.

La DMAE es una enfermedad **multifactorial**, son varios los factores implicados en que un individuo la desarrolle. Sabemos que influyen tanto aspectos biológicos, genéticos, ambientales y de comportamiento, siendo el más relevante la edad del individuo. En menor medida también afectan la etnia (mayor prevalencia en personas caucásicas), coloración del iris (mayor en personas con ojos claros), dietas deficitarias en vegetales y pescado, hipertensión, tabaquismo o una elevada exposición al sol entre muchos otros⁶.

3. Epitelio pigmentario humano

Una de las estructuras más relacionadas con el desarrollo de la degeneración macular es el **epitelio pigmentario de la retina (EPR)**, la capa más externa de la retina (Fig. 2).

El EPR es una monocapa simple de células hexagonales que contienen una elevada cantidad de gránulos de melanina en su citoplasma, por lo que se las denomina células pigmentarias. Se sitúa entre la coroides y el resto de capas de la retina, siendo el **nexo** entre ambos y, por tanto, es esencial en la **homeostasis** de los fotorreceptores (conos y bastones)⁸.

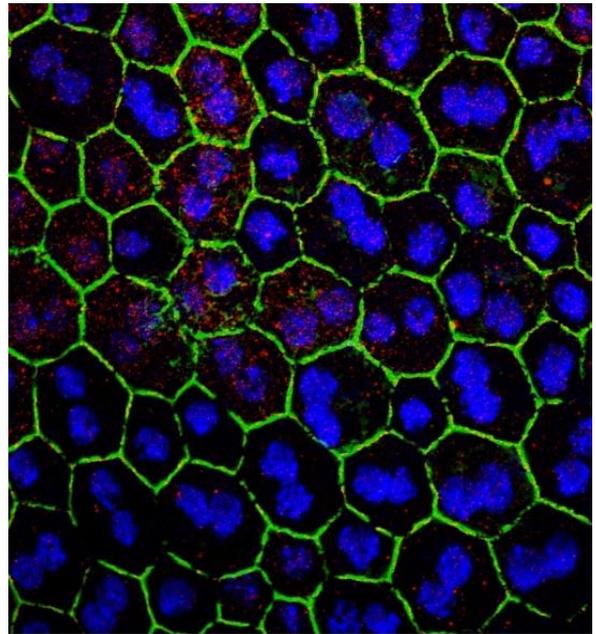


Figura 2. Disposición de las células en un epitelio pigmentario humano⁷.

La formación y establecimiento del EPR están muy controlados por el ciclo celular de las células que lo conforman. Las células mesenquimales se multiplican cubriendo todo el área que ocupará el epitelio. Llegado este punto las células paran de dividirse y comienzan a diferenciarse y polarizarse pasando a un estado quiescente. A este proceso se le denomina **transición mesénquima-epitelio (TME)** y es reversible. Las células pueden desdiferenciarse y volver a su estado inicial en un proceso conocido como transición epitelio-mesénquima (TEM), lo cual es relevante no solo en el desarrollo embrionario, sino también en el individuo adulto. Ante determinados daños el epitelio puede perder su integridad y para solventar el problema algunas células cercanas a la zona problemática se desdiferencian y dividen para repararlo. La TEM puede ser muy útil, pero también puede causar tumores si la proliferación es descontrolada.

3.1. Polaridad

Como todo epitelio, el EPR está polarizado y los ambientes fisicoquímicos que se generan a ambos lados son distintos. La superficie **apical** se encuentra junto a los segmentos externos de los **fotorreceptores** mientras que la membrana **basal** establece contacto con la **coroides** dando lugar a la denominada membrana de Bruch. Esta polarización viene dada por la regulación del tráfico de proteínas desde el retículo endoplasmático y aparato de Golgi hacia las distintas zonas de la membrana.

También influye enormemente la presencia de **uniones** entre células. Existen varios tipos de uniones que se agrupan a distintas alturas en la célula a modo de cinturones que rodea todo su perímetro (Fig. 3). Cada tipo de unión tiene una función determinada, desde la zona más apical a la basal encontramos uniones ocluyentes, uniones adherentes, desmosomas y uniones GAP⁸.

Las **uniones ocluyentes** forman una barrera selectiva al paso de iones y moléculas al espacio intercelular ya que lo cierran casi por completo.

Las **uniones adherentes** unen físicamente células adyacentes y coordinan su fisiología mediante la unión del citoesqueleto (actina). Forman una banda a lo largo de todo el perímetro celular dando lugar a la llamada zónula adherente.

Los **desmosomas** son uniones dependientes de calcio extracelular que unen células vecinas en zonas puntuales. Coordinan el citoesqueleto (filamentos intermedios) de células adyacentes. Además, tienen proteínas que regulan el estado fisiológico de la célula.

Las **uniones GAP** ponen en contacto directo el citoplasma de células vecinas permitiendo intercambio de iones y pequeñas moléculas polares.

El establecimiento de uniones permite que el epitelio actúe como barrera que regula el flujo de moléculas y evita la entrada de compuestos tóxicos en la retina. Además, permiten la regulación de muchos de los procesos fisiológicos que ocurren en las células (proliferación, diferenciación, migración...). Las uniones son especialmente relevantes en la polarización de la célula ya que los

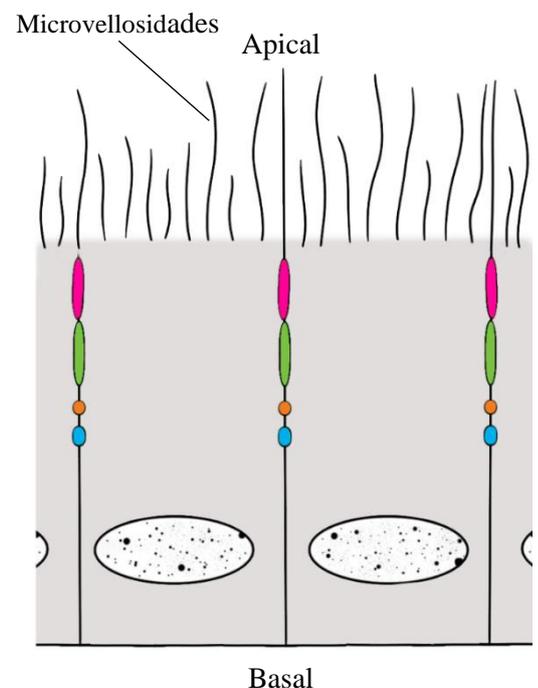


Figura 3. Disposición polarizada de las uniones entre células del epitelio pigmentario.

De arriba a abajo:

Rosa – uniones ocluyentes

Verde – uniones adherentes

Naranja – Desmosomas

Azul – Uniones GAP

Elaboración propia

distintos tipos de filamentos del citoesqueleto se unen a ellas y establecen un patrón determinado dependiendo de donde estén colocadas. Atendiendo a esta disposición los orgánulos y vesículas se dirigirán a un polo u otro de la célula consiguiendo la característica **distribución asimétrica** de las células del EPR (Fig. 4)⁹.

En la región basal aparecen pequeñas invaginaciones que aumentan la superficie para el intercambio de sustancias con la coroides. Está libre de pigmentos y en ella se distinguen el núcleo, aparato de Golgi y mitocondrias^{8,10}. En contraposición, la porción apical se caracteriza por presentar gránulos de retículo endoplasmático liso, lipofuscina y de melanina. También aparecen microvellosidades que se adentran entre los segmentos externos de los fotorreceptores y los rodean. Las microvellosidades de cada una de las células del epitelio pigmentario están en contacto con una media de 20-30 segmentos externos de bastones y tan solo un segmento externo de conos¹¹.

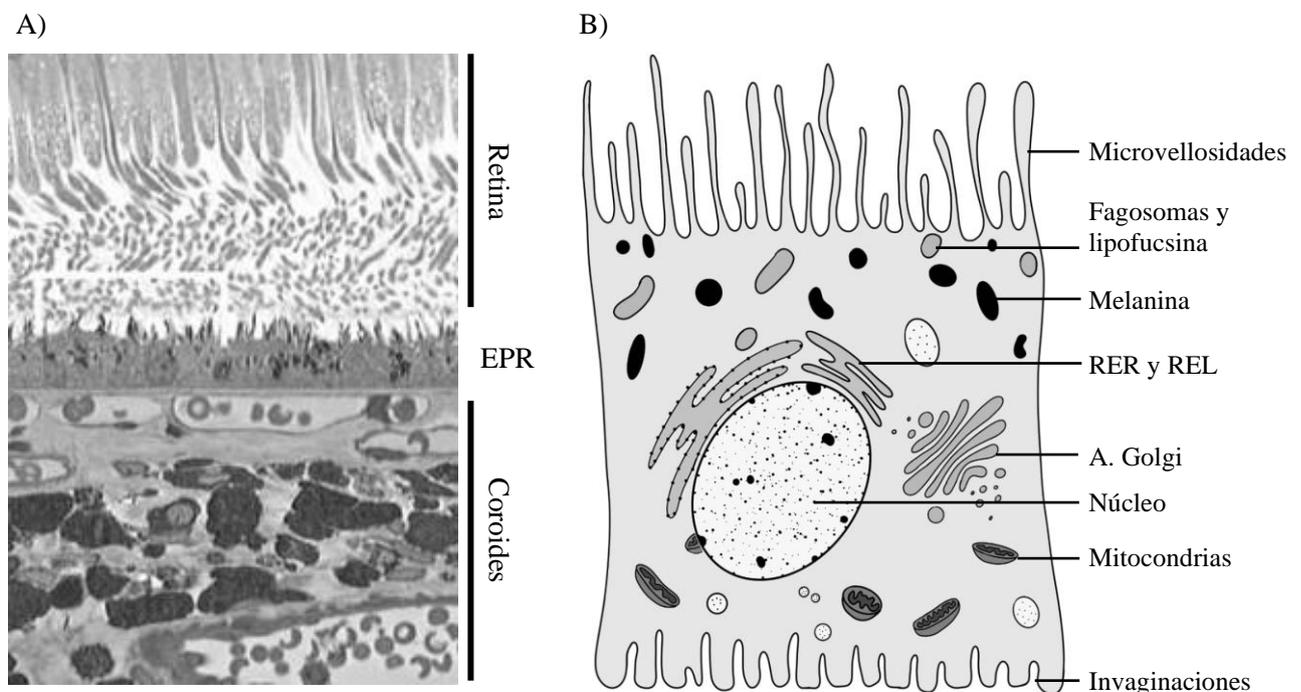


Figura 4. A) Orientación del EPR con respecto de las distintas capas del ojo¹². B) Célula del epitelio pigmentario humano en la que se muestra la distribución asimétrica de los orgánulos. Elaboración propia.

Existen conjuntos de proteínas que regulan la polaridad de las células, son tres complejos necesarios para la distribución asimétrica de los componentes de la célula y sin ellos se producen fallos en la segregación de orgánulos, canales y bombas. Son los **complejos de polaridad Scrib, Par y Crb**, y todos ellos se expresan en las células epiteliales al mismo tiempo. Los complejos Par y Crb se ubican y determinan la polaridad en la membrana apical y lateral, mientras que el complejo Scrib tan solo aparece en la membrana basal.

Gracias al complejo Crb la célula es capaz de mantener uniones ocluyentes y determinar la zona apical. El complejo Crb está constituido por las proteínas CRB (CRB1-3), PALS1 y PATJ, las cuales interaccionan con proteínas de las uniones ocluyentes formando un complejo que en caso de alteración causa problemas de visión como puede ser la DMAE. El complejo PAR acompaña a Crb en las zonas apicales siendo esencial en la maduración de las uniones ocluyentes. Y, por último, el complejo Scrib determina la zona basolateral ya que desplaza los componentes que determinan la zona apical y lateral de la célula¹³.

3.2. Funciones

a. Absorción de luz y protección frente a fotooxidación

Uno de los aspectos más remarcables de un epitelio pigmentario maduro es la gran cantidad de vesículas del pigmento **melanina** (Fig. 5). Es precisamente por esto que el epitelio retiniano recibe el nombre de epitelio pigmentario. La melanina absorbe el exceso de luz que llega a los segmentos externos de los fotorreceptores, lo que aumenta la calidad de la visión¹⁰.

Además de absorber luz, los gránulos de melanina actúan como **antioxidantes**, al igual que otros pigmentos (zeaxantina y luteína), ascorbato y enzimas como la superóxido dismutasa, también presentes en las células del EPR. Esto es de vital importancia ya que la luz que llega a la retina puede llegar a causar **fotooxidación** y en consecuencia daño en las estructuras del ojo⁸.

b. Transporte transepitelial

El EPR establece un punto de control del paso de sustancias entre la coroides y el espacio subretinal. Las uniones que se establecen entre sus células hacen de él una barrera resistente al movimiento de solutos conocida como la **barrera hematorretiniana**, la cual forma parte de la barrera hematoencefálica¹⁰.

El EPR transporta nutrientes desde la sangre (coroides) hasta los fotorreceptores. La mayor parte de dichos nutrientes son glucosa y vitamina A (*all-trans*-retinal) necesaria en el ciclo visual. Igualmente, el EPR es el responsable de la eliminación de todos los productos del metabolismo no deseados. Los

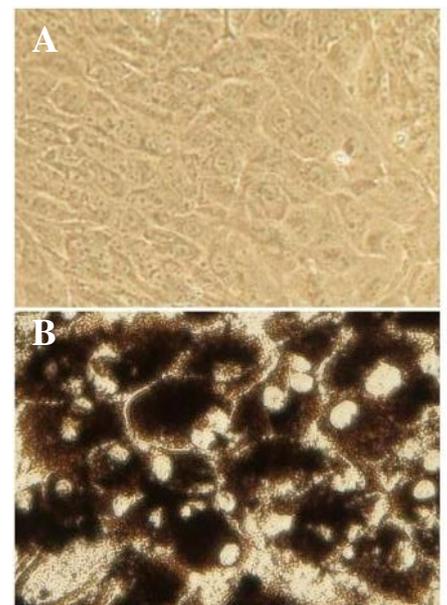


Figura 5.
A) Epitelio poco desarrollado, sin melanina.
B) Epitelio maduro con melanina¹⁴.

fotorreceptores tienen una alta tasa de recambio, así como una elevada tasa metabólica. Su consumo energético es de 3 a 4 veces superior al de las neuronas, por lo que producen muchos productos de desecho que deben ser eliminados.

El fenómeno de la visión se fundamenta en **cambios de potencial de membrana** de los fotorreceptores y en el intercambio iónico desde el espacio subretinal al interior de dichas células. Es necesario que las concentraciones de iones estén muy reguladas para que los cambios electroquímicos se desarrollen con normalidad. Para mantener la homeostasis del espacio subretinal, el epitelio pigmentario cuenta con una gran cantidad de transportadores distribuidos asimétricamente en sus membranas.

La actividad de los fotorreceptores causa una gran acumulación de **iones** en la cara apical del EPR (Fig. 6). Un cotransportador $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ de la membrana apical introduce los iones en el epitelio. El K^+ vuelve al espacio subretinal por los canales rectificadores de potasio (Kir7.1) y el Na^+ lo hace mediante una ATPasa de la membrana apical. El Cl^- por el contrario, no tiene un transportador que lo devuelva al espacio subretinal, sino que sale de la célula epitelial hacia la coroides por transportadores específicos en la membrana basolateral⁸.

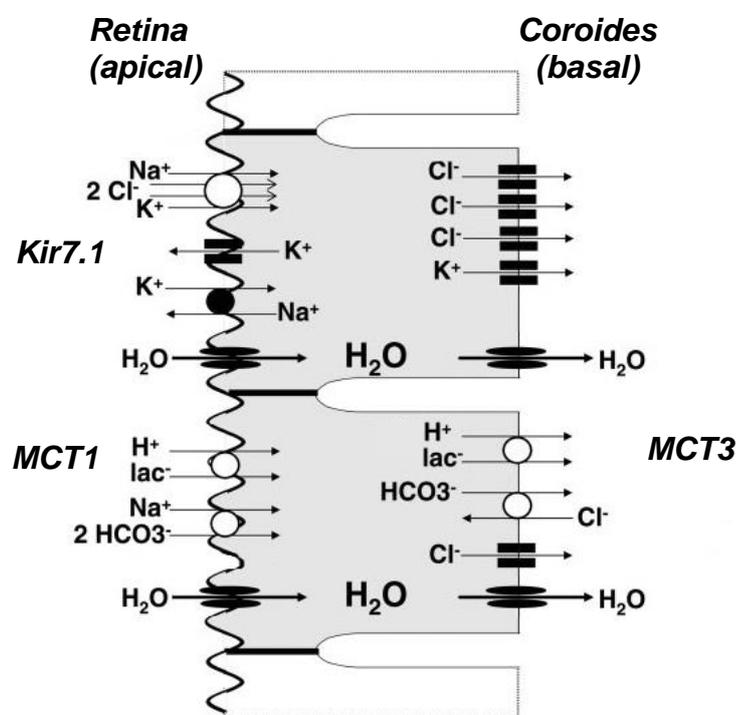


Figura 6. Transporte de iones y regulación de pH⁸.

Además, la actividad metabólica de los fotorreceptores resulta en una gran acumulación de **ácido láctico** en sus inmediaciones. Los transportadores MCT1 captan este ácido y lo transportan al interior del EPR junto con H^+ , posteriormente, en la membrana basal, los transportadores MCT3 lo liberarán en la sangre para su eliminación. El transporte de ácido láctico requiere un gran control del pH intracelular, para ello existen transportadores $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$. El HCO_3^- sale por la membrana apical en antiporte con Cl^- . Y como ya se ha mencionado, existen canales específicos de Cl^- que sustraen el ion hacia la coroides^{8,15}.

Los transportadores Cl^- - HCO_3^- unen en sí la función de regulación de pH y la de transporte de agua. Las múltiples células de la retina producen una elevada cantidad de agua que puede llegar a causar **edemas** y otros problemas oculares si no es retirada del ojo. La manera por la que se elimina toda esa agua es mediante el transporte acoplado a cloro. Las células del epitelio pigmentario están fuertemente unidas, por lo que el agua no puede pasar por transporte paracelular sino que ambas caras de la membrana presentan proteínas específicas para el transporte de agua denominadas **acuaporinas** (Fig. 6)^{8,16}.

El transporte transepitelial es esencial para el mantenimiento de la capa de fotorreceptores, se ha visto que una reducción del mismo causa degeneración de la retina y edemas entre otras patologías^{17,18}.

c. Ciclo visual

Los responsables directos de la visión son los **fotorreceptores**, son los encargados de transformar los estímulos luminosos en estímulos eléctricos que serán interpretados por el cerebro. Los fotorreceptores tienen pigmentos que cambian de conformación al incidir luz sobre ellos pasando a forma inactiva (*all-trans*-retinal). Para pasar a forma activa (*11-cis*-retinal) de nuevo deben **isomerizarse** en el epitelio pigmentario. Una vez en la célula pigmentaria, la forma inactiva sufre una serie de modificaciones que lo convierten en *11-cis*-retinal, que unido a una glicoproteína vuelve a conos y bastones para ejercer su función^{8,19}.

d. Fagocitosis

Como ya se ha adelantado en apartados anteriores, los altos niveles de luz a los que están expuestos los fotorreceptores causan daño a sus estructuras. Cuando ocurre el daño de estas células, la transducción de señales visuales se ve comprometida. Para evitar esto se necesita una **renovación** constante de las estructuras más dañadas, los segmentos externos de los fotorreceptores (SE), en concreto sus puntas. Y de nuevo, es el epitelio pigmentario quien desempeña esta función^{8,20}.

Las puntas de los SE se separan del resto del fotorreceptor y son internalizadas por las células del EPR, aquí se acumulan en fagosomas que viajan hacia la membrana basal, donde finalmente se degradan. La mera presencia de segmentos externos seccionados activa la fagocitosis por parte del epitelio pigmentario. Este proceso también está controlado por los ciclos circadianos, se ha observado un complejo patrón en el que, a grandes rasgos, se puede decir que la luz potencia la fagocitosis²¹⁻²³.

Objetivos

El presente trabajo pretende realizar un análisis de las modificaciones específicas que sufre el epitelio pigmentario humano mediante el estudio de la expresión y localización de diferentes proteínas propias de este tejido, así como las características morfológicas de las células en aquellos pacientes afectados por la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE).

Asimismo, se analizarán las implicaciones clínicas de dichas alteraciones en pacientes con DMAE tanto seca como exudativa y sus correspondientes tratamientos.

Metodología

Toda la información que sustenta las bases del trabajo ha sido obtenida a través de búsquedas bibliográficas en bases de datos tales como ScienceDirect, Web of Science, NCBI o Google Scholar. Todos los artículos y libros utilizados se encuentran en el apartado [Bibliografía](#).

No se descartaron publicaciones antiguas, pero se prestó mayor importancia a las más recientes, en especial aquellas orientadas hacia aspectos moleculares de los procesos en cuestión. Entre los campos de búsqueda se encuentran términos como “AMD (aged-related macular degeneration), RPE (retinal pigment epithelium), polarity, wet and dry AMD, aging o retina” todos ellos en inglés para ampliar el rango de búsqueda.

Resultados

1. Variaciones espacio-temporales del EPR en situación normal

1.1. Cambios en la distribución espacial

El epitelio pigmentario de la retina no se mantiene estable en morfología y composición durante toda la vida del individuo, ni siquiera es igual en toda su extensión en un mismo momento. Es habitual que las distintas zonas del EPR difieran en composición proteica, funciones y morfología.

Si observamos el fondo del ojo vemos la retina, en ella se diferencian dos estructuras principales, la **mácula** y el **disco óptico** (Fig. 7). La mácula es la zona donde el EPR tiene un mayor espesor. Las células aquí tienen unos 14µm desde la membrana basal a la zona apical de las vellosidades, y conforme nos alejamos de la mácula hacia la periferia, el epitelio se va haciendo menos grueso.

La densidad y superficie que ocupan las células tampoco es constante. En las zonas cercanas a la mácula las células son pequeñas y la densidad es mayor. Su tamaño aumenta y la densidad disminuye en las zonas más periféricas²⁴.

En cuanto a la geometría que adoptan las células en el epitelio también hay diferencias entre zonas. De nuevo, la variabilidad se da entre la zona de la mácula, donde las células tienden a ser hexagonales, y la periferia, donde el número de lados no es tan constante²⁵.

Volviendo de nuevo al fondo de la retina, se puede ver que en el centro de la mácula hay una pequeña mancha oscurecida, es la **fóvea**, el punto de mayor agudeza visual (Fig. 7). La fóvea es una depresión donde todas las células de las diferentes capas de la retina se retiran hacia los laterales dejando que los rayos de luz incidan directamente sobre los conos, no hay bastones en este punto. La diferencia en las células del EPR de la fóvea con respecto del resto de la retina radica en el mayor porcentaje de

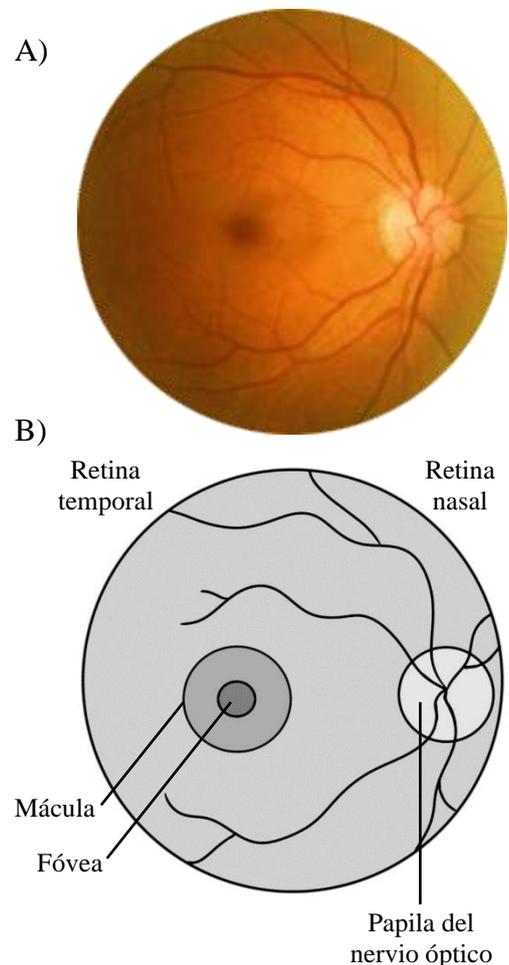


Figura 7. Imagen real y esquema del fondo del ojo.
A. [Clínicas oftalmológicas centrofarma](#)
B. Elaboración propia

melanina que encontramos en su citoplasma. Esto es así ya que al estar los fotorreceptores más expuestos a la luz necesitan un mayor nivel de protección²⁵.

También existen diferencias a nivel molecular. Las células cercanas a la mácula presentan menores niveles de enzimas lisosomales, menor actividad de la enzima citocromo oxidasa y un número reducido de bombas Na^+/K^+ ²⁵.

Toda esta variación entre células del epitelio es totalmente normal, sin embargo, se han encontrado diferencias incluso entre células de la misma zona. A este fenómeno se le denomina **mosaicismo** y está causado tanto por factores genético como epigenéticos²⁶.

La cantidad de gránulos por célula es muy variable, algunas presentan una gran cantidad de melanosomas y pocos gránulos de lipofuscina mientras en otras la proporción es inversa, e incluso hay células en las que apenas los hay. Las proteínas también presentan esta **distribución desigual**, vimentina (citoesqueleto), E-cadherina (unión entre células), ATPasas Na^+/K^+ o enzimas antioxidantes suelen aparecer en islotes irregulares de células, muchas veces interconectados entre sí²⁶.

Esta variabilidad intrínseca al epitelio es de vital importancia a la hora de entender cómo se comporta durante el envejecimiento, ya que no todas las células responderán igual. Es incluso de mayor interés si queremos comprender la incidencia de enfermedades como la DMAE.

1.2. Cambios a lo largo del tiempo

Una vez el epitelio se ha establecido y es completamente maduro sufre variaciones a lo largo de los años que hacen que sus características y funciones se vean alteradas.

Este es un tejido **post-mitótico**, lo que quiere decir que una vez alcanza un determinado número de células, estas entran en estado quiescente y no se dividen. Debido a esto no se generan muchas células nuevas y no se reponen aquellas que sufren daños o mueren. Lo lógico sería pensar que el número de células totales en el epitelio desciende con la edad, sin embargo, hay disparidad en los resultados de los estudios de densidad celular a lo largo del tiempo. De lo que sí se tiene certeza es de que la morfología del epitelio varía, se hace más irregular con la edad. Las células pierden su característica forma hexagonal (Fig. 8), pierden espesor y se hacen muy grandes, llegando incluso a montarse unas encima de otras haciendo que el epitelio tenga varias capas en zonas puntuales^{24,25,27}.

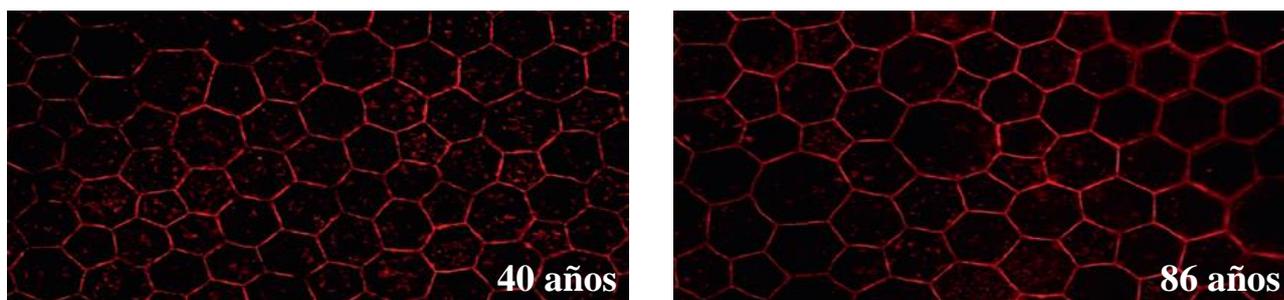


Figura 8. Cambios en la morfología del EPR a lo largo de los años en individuos sanos. Marcaje de F-actina del citoesqueleto mediante faloidina²⁸.

Al envejecer, el epitelio pierde gránulos de melanina. Esta **hipopigmentación** causa menor absorción de luz y bajada del potencial antioxidante. Hasta hace poco se creía que los gránulos de melanina y lipofuscina se fusionaban, pero estudios recientes apuntan a que la melanina se deposita activamente en los gránulos de lipofuscina y viceversa.

Al contrario que la melanina, la cantidad de **lipofuscina** aumenta exponencialmente con el envejecimiento, llegando a ocupar prácticamente el 20% de la célula en edades avanzadas (80 años). El epitelio pigmentario tiene una capacidad enorme a la hora de degradar productos por la vía lisosomal como se ha explicado anteriormente y con los años las células del EPR acumulan una gran cantidad de lisosomas secundarios y cuerpos residuales que contienen lipofuscina. El acúmulo de gránulos de lipofuscina satura el citoplasma y hace que la célula no se comporte como debería. Además, la lipofuscina favorece la aparición de especies reactivas de oxígeno (ROS) y descenso en la actividad enzimática, lo que no es nada beneficioso para la célula. El mal funcionamiento de las enzimas provoca aún más acumulación de radicales libres y ROS. Todo ese **estrés oxidativo**, que no puede ser contrarrestado por la escasez de melanina, causaría la **apoptosis** de células del epitelio pigmentario²⁷.

Otro de los factores presentes durante el envejecimiento es la aparición de **drusas**, unos acúmulos de residuos mayoritariamente lipídicos y proteicos entre el epitelio y la membrana de Bruch. En un ojo joven y sano es extraño encontrar drusas, pero en individuos envejecidos sanos es habitual observar drusas duras y pequeñas ($\leq 63\mu\text{m}$) en la periferia. Drusas más grandes van asociadas a patologías^{3,29}. Además, el envejecimiento afecta también a los tejidos circundantes al epitelio. Disminuye el número de fotorreceptores y la membrana de Bruch se hace más gruesa mientras que la coroides se vuelve más fina³.

Hay multitud de factores implicados en el envejecimiento del epitelio pigmentario, y cada vez se tiene más claro que no solo está causado por factores genéticos, sino también epigenéticos y ambientales. Todos ellos actúan en conjunto y pueden predisponer a que una persona desarrolle enfermedades degenerativas como la DMAE³⁰.

2. Variaciones del EPR en presencia de DMAE

En DMAE los cambios que ocurren en el epitelio de manera normal se ven acentuados, pero, además, se desarrollan signos propios de la enfermedad. De manera general la DMAE comienza con una pérdida progresiva de espesor del epitelio y con el crecimiento en tamaño de las células. Las diferencias ya existentes entre células del epitelio se acentúan aún más. Al mismo tiempo se da la acumulación de lipofuscina, mencionada anteriormente, y con ella aparece la fotooxidación, inflamación y daño en el epitelio. Su degeneración tiene una relación estrecha con el deterioro de las funciones celulares, el estrés oxidativo y la disminución en la actividad de los mecanismos de reparación del DNA y proteínas. Todo esto provoca que las proteínas no se plieguen adecuadamente y, por tanto, que se formen agregados extraños que hacen que la célula sea incapaz de funcionar normalmente e incluso pueden acabar en muerte celular. A su vez, estas variaciones en el EPR afectan a tejidos circundantes, como la membrana de Bruch, que se calcifica y fragmenta, o los fotorreceptores, que al no recibir aporte de nutrientes ni poder eliminar sus productos de deshecho, degeneran²⁴.

Los primeros signos de enfermedad son las drusas y la hipertrofia del epitelio que poco a poco van avanzando hasta la pérdida de la visión central. Dependiendo de los daños que presente el ojo se pueden distinguir tres estadios en la Degeneración Macular Asociada a la Edad, un estadio temprano, intermedio y uno avanzado en el que se da la pérdida de visión²⁴.

En la primera etapa la mayoría de pacientes son **asintomáticos** puesto que los daños en la estructura del ojo son mínimos. Aparecen drusas de mediano tamaño ($>63\mu\text{m}$, $<125\mu\text{m}$) y comienzan a darse los primeros cambios en la pigmentación, al igual que en el envejecimiento normal, solo que ligeramente más pronunciados³¹. En los estadios intermedios las drusas aumentan en cantidad y tamaño ($>125\mu\text{m}$) y se comienza a acumular más lipofuscina y menos melanina de la esperada en un epitelio sano. Durante estas dos etapas apenas hay manifestaciones de la enfermedad. Los cambios morfológicos en el epitelio no son lo suficientemente pronunciados como para que afecte de una manera significativa a la visión, es cuando pasamos a la tercera etapa que encontramos una rápida progresión hacia la ceguera³.

Es en el último estadio de la enfermedad cuando se ven los cambios más acentuados. Habitualmente los pacientes manifiestan una pérdida muy rápida de la visión normal. En este momento podemos distinguir las dos modalidades de DMAE, la DMAE seca o atrofia geográfica y la DMAE húmeda o exudativa. Cada uno de los dos tipos de DMAE presenta sus propios signos y alteraciones.

a. DRUSAS

Uno de los primeros signos en aparecer tanto en la DMAE seca como en la exudativa son las drusas entre el epitelio y la membrana de Bruch. La evolución varía de paciente en paciente, pero habitualmente con el paso del tiempo, las drusas se agrupan formando grandes agregados que **interrumpen la comunicación** entre el EPR y los vasos subyacentes. Se ha observado una disminución en la cantidad de drusas hacia estadios finales de la enfermedad, pero no está muy claro qué causa esta regresión³².

Las drusas en DMAE seca son más duras y definidas mientras que en DMAE exudativa son más difusas (Fig. 9), pero ambas provocan una separación física del epitelio resultando en su desprendimiento y la pérdida de contacto con la membrana de Bruch en ciertas zonas. Además de compuestos lipídicos, estos cuerpos extraños contienen **moléculas proinflamatorias** como proteínas de coagulación, proteínas de fase aguda, IgG y factores activadores del complemento. Sumado a esto está la presencia del **estrés oxidativo**, causado por la acumulación de productos tóxicos ya que el EPR no puede eliminarlos al no estar en contacto con la coroides. Ambos factores, moléculas proinflamatorias y estrés oxidativo, provocan respuestas inflamatorias y activación del complejo de ataque de membrana (MAC), que desorganizarán la normal conformación del epitelio. Algunos estudios apuntan a este mecanismo como el desencadenante de la DMAE, pero la etiología de la enfermedad sigue siendo una incógnita³⁴.

La inflamación no es el único efecto adverso causado por las drusas. Los depósitos ubicados tanto en el espacio subretinal (pseudodrusas) como en el espacio sub-EPR (drusas propiamente dichas) presionan los tejidos circundantes. El **estrés mecánico** ejercido sobre el epitelio afecta a su citoesqueleto ocasionando cambios, como por ejemplo interrupciones en el cinturón de actina, separaciones entre células adyacentes, bordes incompletos o fibras de estrés. Estas últimas son haces de actina que cruzan la célula y ejercen fuerzas a las que la célula no está sometida habitualmente. De esta forma se altera tanto la morfología externa de la célula como la disposición de los orgánulos y gránulos en su citoplasma³⁵.



Figura 9. Drusas duras y blandas. En la imagen superior se ven drusas duras más pequeñas y definidas. En la imagen inferior las drusas son blandas, más tenues y difusas³³.

Esto podría tener repercusión en la función transportadora de las células. Se ha observado que variaciones del citoesqueleto originan alteraciones en el transporte de las células del EPR. Concretamente ocasionan disminución en la **fagocitosis**, una de las principales funciones del epitelio y que podría causar acumulación de sustancias tóxicas en el espacio subretiniano o mal aporte de nutrientes a las células fotorreceptoras. Además, la separación entre células dada por los cambios en el citoesqueleto comprometería la función barrera del epitelio. Se perderían sus uniones permitiendo que vasos y células ajenas a la retina penetrasen en ella causando multitud de daños³⁵.

El estrés mecánico no solo afecta en enfermedades como la DMAE, sino que se ha observado en multitud de retinopatías que la presión ejercida sobre las distintas capas de la retina produce desorganización del epitelio y la pérdida de integridad del mismo³⁵.

2.1. EPR en DMAE atrófica o seca

La DMAE seca es la forma de DMAE con mayor prevalencia (80%) afectando hasta 5 millones de personas en todo el mundo. Habitualmente los pacientes manifiestan **escotomas** (puntos ciegos) y pérdida progresiva de la visión central en ambos ojos, aunque también existe un pequeño porcentaje de individuos con tan solo un ojo afectado. Las lesiones están muy definidas en el espacio, aparecen primero en las zonas perifoveales de la mácula y conforme discurre la enfermedad se extienden hacia el centro de la fovea. Si los daños abarcan a la fovea la pérdida de visión es mucho más acuciada que los casos en los que esta estructura no se ve afectada. Las lesiones crecen más despacio en pacientes con un solo ojo afectado (0.3-1.05mm² al año) que en pacientes con DMAE bilateral (0.9-1.97 mm² al año)³⁶. Sin embargo, no hay un patrón de desarrollo de la enfermedad común a todos los individuos que la padecen, lo cual no es de extrañar debido a la naturaleza multifactorial de la DMAE.

A grandes rasgos se podría decir que la DMAE seca viene dada por una **pérdida lenta de células** del EPR, neuroretina y coriocapilares. La membrana de Bruch se hace menos permeable impidiendo el paso de sustancias a través de ella y las drusas que durante los primeros estadios habían plagado el fondo de la retina desaparecen dejando una gran zona (diámetro superior a 175mm) denominada **atrofia geográfica** en la que las células del epitelio pierden su función. Todo ello hace que los fotorreceptores no reciban el aporte necesario para su mantenimiento ni vean eliminados los abundantes desechos provenientes de su actividad metabólica, de manera que al igual que el epitelio, acaban por degenerar³⁷.

a. Cambios en la estructura de la retina

No todo el epitelio se ve dañado en el mismo grado. En un mismo paciente y en el mismo momento existen zonas que no presentan alteraciones y otras en las que se pueden ver signos del estado temprano e intermedio de la enfermedad sin haber llegado al punto de máximo daño. Tan solo algunas zonas del ojo se ven afectadas por la atrofia geográfica y pierden el epitelio. Dependiendo de cómo se manifieste la enfermedad se han llegado a clasificar 15 fenotipos distintos³⁶.

En la zona afectada por la atrofia geográfica apenas hay fotorreceptores, en muchos casos ni siquiera los hay, y el EPR está ausente o es tan fino que no consigue apreciarse (Fig. 10). Los límites de la lesión están tan bien definidos ya que hay un cambio abrupto

en la estructura de la retina, la transición entre la zona dañada y la zona de retina sana es brusca. Aunque cabe destacar que en algunos casos la transición es más gradual y el EPR va ganando espesor conforme se aleja de la zona dañada hasta alcanzar un grosor normal³⁸.

La desaparición abrupta del epitelio conlleva daños en la estructura total de la retina. La membrana limitante externa (MLE) y la capa nuclear externa (CNE) subducen hacia la zona donde se encontraba el epitelio hasta desaparecer. En una situación normal los segmentos externos de los fotorreceptores (SF) estarían bajo la membrana limitante externa, pero en la atrofia geográfica no existen tales estructuras. Se pierden antes los bastones que los conos ya que estos últimos son algo más resistentes y pueden sobrevivir más tiempo sin los segmentos externos. El resto de las capas de la retina también sufren cambios, su espesor desciende de forma generalizada en la zona afectada. De esta manera se pierde visión en zonas puntuales y aparecen escotomas en el campo visual^{38,39}.

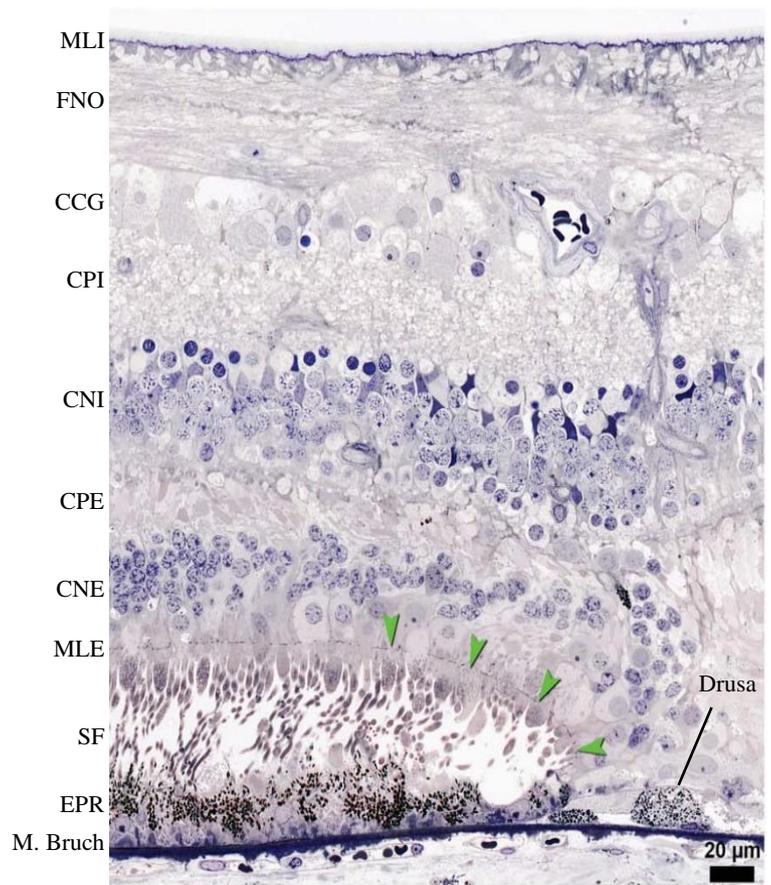


Figura 10. Límite entre zona sana (izquierda) y zona con atrofia geográfica (derecha). Sección de la retina de un varón de 86 años con atrofia geográfica. En la zona de la lesión la membrana limitante externa (flechas verdes) se curva y con ella también lo hace la capa nuclear externa, donde se encuentran los segmentos externos de los fotorreceptores³⁹.

b. Cambios en la pigmentación

A nivel celular, el epitelio sufre distintos cambios a lo largo de la enfermedad hasta su completa desaparición en aquellas zonas más afectadas por la atrofia geográfica. Una de las manifestaciones más evidentes es la evolución de la pigmentación del epitelio.

Como se ha explicado con anterioridad, el citoesqueleto del EPR manifiesta un desarrollo anormal en las células afectadas por esta patología. Los microfilamentos y microtúbulos desempeñan un papel fundamental en el funcionamiento y disposición de los orgánulos, así como de los gránulos. El citoesqueleto es necesario para el transporte de vesículas, así que en los casos en los que su funcionamiento no es el correcto pueden aparecer alteraciones en los patrones de pigmentación, bien dando como resultado zonas carentes de pigmento o zonas hiperpigmentadas^{24,28}.

Las áreas con una **mayor pigmentación** a la esperada suelen situarse rodeando aquellas áreas que han perdido el pigmento (Fig. 11). Se cree que esto sucede así para compensar la **hipopigmentación** de las zonas dañadas. Las células de las zonas adyacentes proliferarán más de lo habitual como respuesta a la poca densidad de células en las zonas de poca pigmentación. Esto concuerda con las observaciones de la densidad celular a lo largo de la retina, recordemos que, en comparación con las zonas sanas, áreas afectadas por DMAE presentaban células más grandes y, por tanto, menor densidad celular.

Los gránulos de lipofuscina están formados básicamente por fosfolípidos de membrana, proteínas de membrana, proteínas del ciclo visual y otros restos de proteínas que no se degradan por completo. Cuando estos componentes se encuentran en un entorno oxigenado y con incidencia de luz solar generan moléculas proinflamatorias que acaban por contribuir al ambiente, de por sí ya hostil, existente en el ojo. La lipofuscina aumenta el pH de los lisosomas e impide que lleven a cabo su papel en la degradación de proteínas. Con el tiempo los lisosomas se acumulan en el citoplasma del EPR y acaban conformando un alto porcentaje del total de la

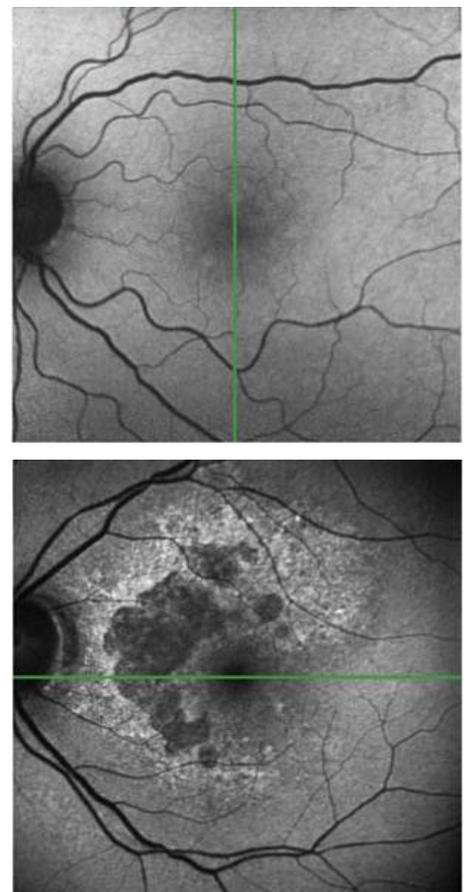


Figura 11. Autofluorescencia de fondo (FAF) de DMAE temprana (arriba) y un estado avanzado de DMAE seca (abajo). Se observan en oscuro las zonas con atrofia geográfica debido a la falta de lipofuscina (células apoptóticas). Las zonas que rodean la lesión muestran mayor fluorescencia por una elevada concentración de lipofuscina⁴⁰.

célula. En consecuencia, las proteínas que deberían ser degradadas se acumulan en el citosol en forma de agregados que se cree, podrían tener un papel clave en la muerte celular. En imágenes de autofluorescencia de fondo (FAF), una técnica que analiza las propiedades fluorescentes de la retina, se pueden ver claramente las zonas en las que hay ausencia de lipofuscina (oscuras) y las zonas hiperpigmentadas (claras) alrededor (Fig. 11)⁴⁰.

c. Transdiferenciación y migración

La **transdiferenciación** es el fenómeno por el cual células maduras pierden sus características y se convierten en otro tipo celular. Las células del epitelio pigmentario retinal no tienen esta capacidad, sin embargo, se ha visto que en ojos afectados por DMAE adquieren nuevas funciones asociadas a otros tipos celulares. Cuando las células epiteliales pierden el contacto con sus vecinas ven cambiada su morfología, ganan movilidad y capacidad migratoria⁴¹.

Se han descrito distintos fenotipos de EPR alrededor de la atrofia geográfica y se han propuesto las rutas que las células podrían seguir hasta alcanzar dichos fenotipos. Las dos vías que seguirían las células del EPR son la **vía apical o anterior**, por la cual las células migran hacia el espacio subretinal y hacia la propia retina, y la **vía basal**, por la cual agregados de gránulos migran hacia los depósitos drusenoides bajo el epitelio. A unos 500µm del borde de la lesión se encuentran células aisladas del resto del epitelio, que en muchos casos presentan marcadores típicamente presentes en células apoptóticas. Pero además se pueden observar células desprendidas que se mueven hacia la zona anterior del ojo, hacia la capa de fotorreceptores, que expresan marcadores típicamente asociados a macrófagos activados (CD163) o bien marcadores de monocitos (CDR2 y CD18). El estrés al que está sometido el epitelio hace que manifieste funciones relacionadas con el sistema inmunológico y que la inflamación aumente en la zona afectada⁴¹.

Conforme pasa el tiempo, la integridad del EPR se ve comprometida y debido a los fenómenos de muerte y migración se ve desprovisto de células. En estadios más avanzados, cuando el epitelio apenas cuenta con unas cuantas de sus células originales, se ha comprobado que comienzan a asentarse nuevas células pigmentarias bajo él. Es probable que estas células subduzcan desde la zona de atrofia geográfica, donde no están ancladas por sus complejos de unión, y se adhieren a la membrana de Bruch. Se aplanan y son capaces de migrar lateralmente hasta 100µm fuera del límite de la atrofia geográfica, donde se cree que podrían contribuir a la expansión de la lesión. Las células subducidas conservan muy pocos gránulos de pigmento y expresan marcadores asociados a inflamación^{36,41,42}.

Se ha observado que los distintos tipos celulares se disponen desde aquellos fenotipos más alterados a fenotipos menos modificados conforme nos alejamos del centro de la lesión. Con células con mayor similitud a las del EPR en la periferia y células con mayores diferencias en el centro de la lesión, lo que apoya la hipótesis de que las células del EPR varían sus características conforme avanza la enfermedad⁴¹.

Todas estas modificaciones que llevan a la adquisición de motilidad pueden deberse a una regulación positiva de moduladores de la **transición epitelio-mesénquima** (TEM). La TEM es un proceso por el cual las células del EPR tornan en células mesenquimales. Pierden aquello que más las caracteriza como su marcada polaridad o las uniones entre células, en favor de capacidades motoras y proliferativas (Fig. 12).

En una situación normal las células ya especializadas no experimentan estas alteraciones, permanecen en su estado sin cambios remarcables. Sin embargo, algunas situaciones como el estrés oxidativo, acumulación de proteínas, inflamación o heridas pueden desencadenar esta respuesta. Es común que las células del EPR pierdan los marcadores de uniones como por ejemplo zonula occludens-1 (ZO-1), citoqueratina o E-cadherina. En su lugar aparecen marcadores como vimentina, fibronectina o N-cadherina, todos ellos comunes en **células mesenquimales**⁴³.

Para mantener la integridad y fenotipo del epitelio es esencial el contacto entre sus células. Como se indicó en la introducción, las células se unen entre sí mediante distintos tipos de uniones, entre ellas adherentes y ocluyentes. En estudios *in vivo* con ratones mutantes que no expresan la proteína ZO-1

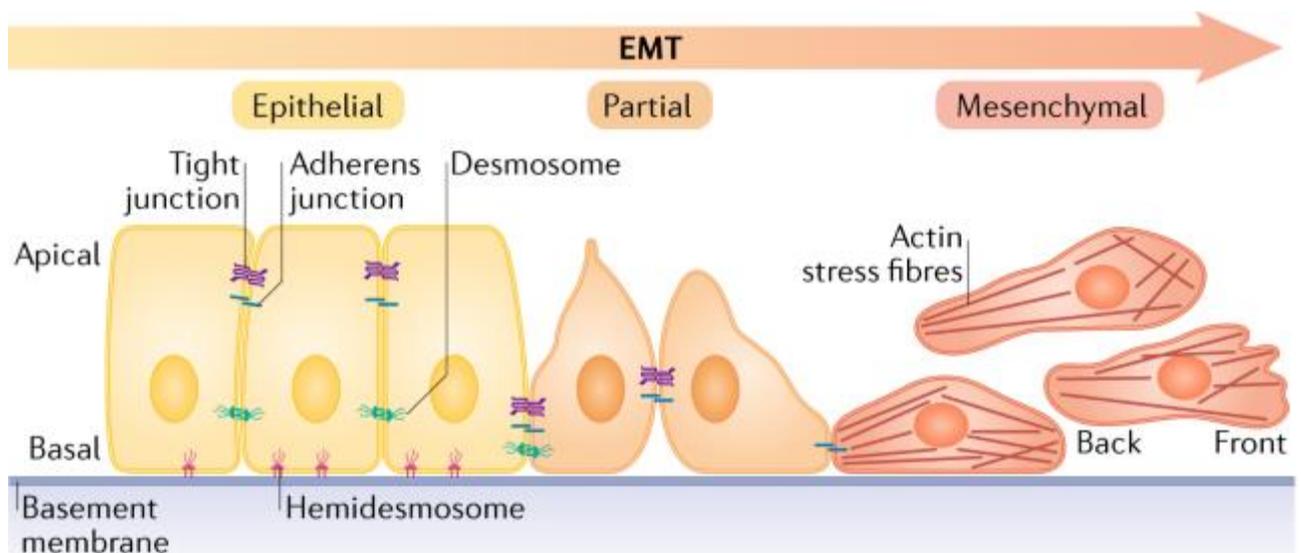


Figura 12. Transición epitelio mesénquima. Evolución de un epitelio desde un estado organizado hacia uno desorganizado en el que las células epiteliales se desdiferencian hacia células mesenquimales con capacidad migratoria⁴⁴.

(uniones ocluyentes) las células proliferan mucho más y se activa la expresión de marcadores de TEM⁴⁵. También se ha conseguido observar cómo en cultivos de células del EPR las células de los márgenes pierden su morfología y pigmentación. En los márgenes la densidad celular es menor y por tanto las células no están en contacto estrecho. En este estudio también se comprobó que había una mayor expresión de N-cadherina (uniones adherentes) y vimentina (marcador de citoesqueleto) en las células de los márgenes que en las células del centro de la placa⁴⁶.

Existen multitud de proteínas asociadas a uniones adherentes y ocluyentes que tienen un papel fundamental en mantener la TEM a raya. Habitualmente las uniones mantienen el fenotipo secuestrando señales que activan la TEM. Algunos ejemplos son **ZO-1**, que impide que ZONAB (ZO-1-associated Y-box factor) se transloque al núcleo de las células y active la expresión de las ciclinas dependientes de kinasa 4 (CDK4), que normalmente inducirían proliferación. Otro ejemplo es **E-Cadherina**, una proteína de uniones adherentes que mantiene en la membrana a β -catenina impidiendo así que, como en el anterior ejemplo, migre al núcleo. β -catenina en el núcleo activa promotores de la TEM como Snail o Ciclina D1. Lo mismo ocurre en la vía de señalización **Hippo-YAP**. Sin la presencia de los complejos de unión los efectores YAP y TAZ se transportan hasta el núcleo e inducen la activación de genes implicados en la transición epitelio-mesénquima y en la transcripción de enzimas de melanogénesis⁴³.

Otras proteínas que podrían estar implicadas en el mantenimiento de la homeostasis del epitelio son aquellas encargadas de estabilizar los complejos de unión, como por ejemplo la proteína **CRB2**. CRB2 es una isoforma CRB presente en el epitelio pigmentario y forma parte del complejo Crb, que como se explicó en la introducción (apartado 3.1 – [Polaridad](#)), es esencial en la determinación de la polaridad del EPR. La ausencia de CRB2 ocasiona modificaciones en las uniones ocluyentes ya que los complejos Par y Crb pierden su localización original. Además, el silenciamiento de CRB2 provoca la llegada de células microgliales fagocíticas al espacio subretinal, lo que contribuye a la inflamación crónica de la retina produciendo más muerte celular^{7,47}.

Todos estos datos apoyan el supuesto de que las uniones celulares son esenciales a la hora de mantener la integridad del epitelio pigmentario retinal. Y visto que los depósitos drusenoides, los fenómenos de inflamación y los agregados de proteínas que se acumulan en las células epiteliales modifican dichas uniones cabe esperar que un epitelio con atrofia geográfica tenga graves problemas estructurales.

2.2. EPR en DMAE húmeda o exudativa

La degeneración macular húmeda o exudativa tan solo supone un 10% de los casos totales de DMAE registrados. Esta modalidad de DMAE se caracteriza por la irrupción de vasos en la retina que emergen desde capas inferiores. A este fenómeno se lo conoce como **neovascularización**, por lo que la DMAE húmeda también recibe el nombre de **DMAE neovascular (DMAE-NV)**.

Ambos tipos de DMAE, seca y húmeda, comparten multitud de manifestaciones y rutas, así como desencadenantes y no son excluyentes la una de la otra. Sin embargo, se comprenden mejor los fenómenos asociados a la DMAE húmeda que sobre la modalidad seca ya que los modelos predictivos preclínicos son más precisos⁴⁸.

Al contrario que la DMAE seca, la húmeda avanza rápidamente, en cuestión de semanas los pacientes manifiestan una gran pérdida de la visión. Sin embargo, esta variante de la enfermedad sí tiene tratamiento. Una vez diagnosticada, la DMAE húmeda puede ser controlada mediante **inyecciones intravitreales** que previenen la pérdida de visión en casi el 95% de los pacientes tratados e incluso mejoran la situación de la persona afectada en un 40% de los casos³¹.

Habitualmente los pacientes afectados con DMAE húmeda presentan un rápido empeoramiento de la visión central y distorsión de líneas rectas (metamorfopsia) así como escotomas, zonas oscuras en el campo de visión (Fig. 13).

En los primeros estadios de la enfermedad, el estrés y daños ocasionados al EPR producen una disminución en la cantidad de vasos que nutren las distintas capas de la retina, la perfusión sanguínea disminuye y la zona se llena de macrófagos. Debido al mal aporte de sangre la retina sufre **hipoxia** y para intentar solucionarlo, aumenta la concentración de factores proangiogénicos en la coroides, principalmente el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). El resultado es la formación de

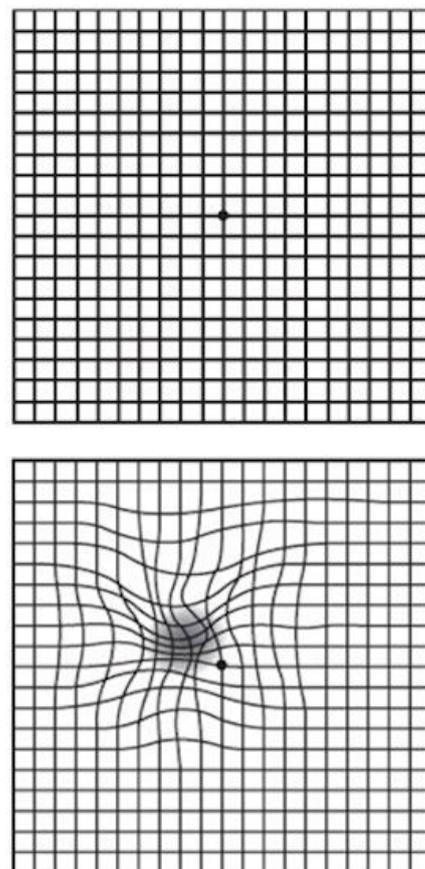


Figura 13. Rejilla de Amsler. Test que permite evaluar las variaciones en la visión en pacientes con problemas oculares. Arriba cómo vería la rejilla una persona sana, debajo cómo la vería una persona con degeneración macular asociada a la edad. [Barañano baja visión](#)

numerosos vasos patológicos anormales. En este estado los pacientes suelen ser asintomáticos y es a partir de la **neovascularización** de la retina que pierden visión³⁴.

Además de los nuevos coriocalpares, el EPR está bajo el estrés producido por los mismos factores que en la DMAE seca (drusas, modificaciones del citoesqueleto, estrés oxidativo etc.). Y no solo los coriocalpares en sí son los que presionan el epitelio, los fluidos y sangre que inundan la retina al romperse los vasos causan **edema**, lo que constituye una gran fuente de estrés mecánico. Como consecuencia encontramos los mismos signos que en la DMAE seca: alteraciones en el citoesqueleto celular, desorganización del epitelio, pérdida de uniones, apoptosis y la activación de rutas que desencadenan la transición epitelio-mesénquima entre otros^{28,34}.

La presión ejercida sobre el EPR causa heridas y que las células epiteliales entren en apoptosis. Pero además existen heridas producidas por los vasos que atraviesan el epitelio, lo que desencadena respuestas que llevan a la formación de cicatrices en la retina.

Una vez el epitelio ha sufrido el daño sus células manifiestan una gran actividad en el metabolismo de la actina, lo que constituye un indicio de **transición epitelio-mesénquima**, al igual que en DMAE seca. Seguidamente, entorno a la herida aparecen células endoteliales que expresan CD31, una molécula de adhesión de células, y se crea un entramado que impide a los capilares avanzar a través del epitelio. Es así que, en los ojos de pacientes con DMAE-NV es habitual encontrar cicatrices, también conocidas como **fibrosis subretinal**. Las células del epitelio no son las únicas en participar en la cicatrización, las células del sistema inmunológico juegan un papel esencial. La retina dañada se llena de macrófagos, células gliales y fibroblastos entre otros, todos ellos muy necesarios a la hora de formar una cicatriz fibrovascular⁴⁹.

En los estadios más avanzados de DMAE-NV el epitelio está tan desorganizado como en la DMAE seca pero adicionalmente aparecen multitud de cicatrices fibrosas. En estudios post-mortem realizados sobre retinas de pacientes con degeneración macular húmeda aparecen muy pocas células epiteliales en las áreas dañadas debido a los fenómenos de TEM desencadenados por los mismos factores que en DMAE seca. Las pocas células del EPR que se encontraron en las zonas con cicatrices fibrovasculares estaban sepultadas por la propia cicatriz entremezcladas con otros tipos celulares. No establecían uniones entre ellas ni recordaban a la estructura de la que una vez formaron parte. También aparecieron células del EPR con melanosomas de gran tamaño en las inmediaciones de la cicatriz, bien aisladas o formando capas en el espacio subretinal⁴¹.

a. Clasificación

No existe un solo tipo de DMAE-NV y las lesiones que encontramos al analizar distintos ojos son variadas. Generalmente los subtipos de DMAE-NV se clasifican atendiendo a las variaciones observadas en la mácula bajo fotografías del fondo del ojo. Los criterios habituales son desprendimiento de retina o del EPR, cicatrices fibrovasculares, hemorragias y acumulaciones lipídicas provenientes de edemas anteriores. Atendiendo a estas variaciones y a observaciones con técnicas de imagen más avanzadas las lesiones en DMAE-NV se clasifican en tres tipos: lesiones clásicas, ocultas y mínimamente clásicas.

En la **DMAE-NV clásica** los nuevos vasos que crecen desde los **coriocapilares atraviesan la membrana de Bruch** e interrumpen la continuidad del epitelio para verter su contenido en el espacio intraretinal. De esta manera, la sangre de los capilares inunda la capa de fotorreceptores y causa estrés en la retina haciendo que se pierdan fotorreceptores y células del EPR. Por otro lado, las lesiones de **DMAE-NV oculta** son más difusas y **no atraviesan el epitelio**, los vasos emergentes se limitan a ocupar el espacio anterior a esta capa y el fluido se acumula en el espacio subretinal. La presión de los vasos creciendo contra el epitelio causa una situación de estrés que desencadena la muerte de muchas células. Como consecuencia de la pérdida de células del epitelio también se pierden fotorreceptores ya que no reciben el aporte de nutrientes necesario ni ven eliminadas sus sustancias de desecho. Los nuevos vasos crecen más rápido en ojos afectados por DMAE-NV clásica que en aquellos con DMAE-NV oculta. El tercer tipo de lesiones, las **mínimamente clásicas** son aquellas que presentan características de los otros dos tipos de DMAE-NV (Fig. 14)³⁴.

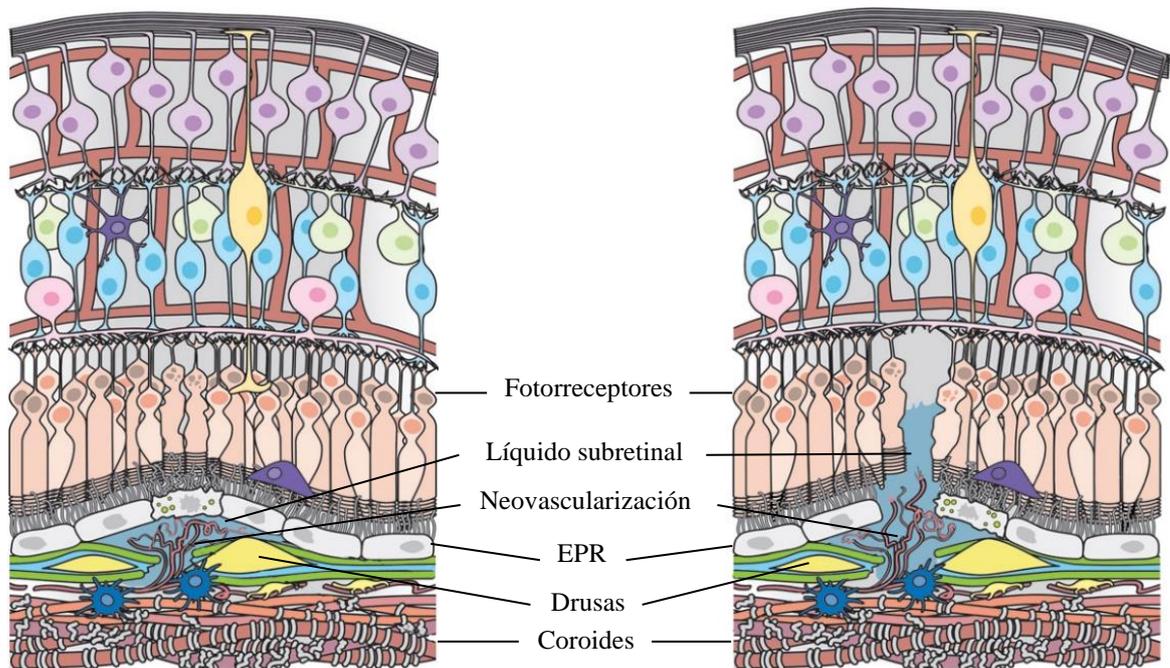


Figura 14. Subtipos de DMAE neovascular. Izquierda: DMAE-NV oculta. Derecha: DMAE-NV clásica³⁴.

b. Factores angiogénicos: VEGF

Aunque no es el único, el **factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)** es una de las proteínas clave en la generación de nuevos vasos en DMAE-NV. En una situación normal el epitelio pigmentario secreta VEGF basolateralmente hacia la membrana de Bruch para mantener una amplia red de coriocapilares que nutran y retiren las sustancias de desecho del EPR y, por ende, de los fotorreceptores. No obstante, en DMAE-NV la producción de VEGF se ve aumentada y la red de coriocapilares se extiende más allá de su posición habitual.

El VEGF está regulado positivamente por la falta de oxígeno en la retina. En situaciones de **hipoxia** la liberación de VEGF aumenta considerablemente por parte de las células de Müller (células gliales de la retina), los astrocitos residentes en la retina y las propias células del EPR. También existe evidencia de que componentes extraños en la matriz extracelular inducen la producción de VEGF por parte del EPR. No solo eso, estudios recientes han demostrado que **alteraciones en la continuidad** por pérdida de las uniones del epitelio también inducen la secreción de VEGF. Uno de los componentes de las uniones ocluyentes es la **claudina-19**, mutaciones en esta proteína causan un mal acoplamiento de las células del epitelio y se ha observado que se asocia a una mayor producción de VEGF, así como una mayor incidencia de TEM⁵⁰.

El VEGF no solo favorece la **angiogénesis**, sino que también interviene en la **quimiotaxis**. Atrae células endoteliales de vasos sanguíneos ya que incrementa su migración y proliferación, favoreciendo incluso más la formación de nuevos vasos que migran hacia el EPR. El incremento de VEGF desencadena la activación y producción de otras enzimas como la óxido nítrico sintasa endotelial y metaloproteinasas, así como la inactivación de inhibidores de metaloproteinasas. El resultado de esto es un mayor incremento de la neovascularización.

Es tal el papel del VEGF en la neovascularización que los tratamientos actualmente aplicados a pacientes con DMAE-NV están orientados a su bloqueo. Desde hace unos años se utilizan inyecciones periódicas intravitreales de bloqueadores de VEGF para reducir la proliferación de vasos extraños en la retina. Las inyecciones son mayoritariamente de **ranibizumab**, pero hay diversos fármacos en el mercado como el **bevacizumab**, **pegaptanib** o **aflibercept**. Con este procedimiento se consigue controlar el avance de la enfermedad y estabilizar la función visual^{6,31}.

Pero el VEGF no es el único factor angiogénico que participa en el desarrollo de la DMAE. El **Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β)** también tiene un papel importante en el proceso. Sin embargo, su función no está totalmente clara, hasta hace unos años los estudios apuntaban hacia una función **proangiogénica**, sin embargo, en los últimos artículos estas afirmaciones se han puesto en entredicho e indican funciones contrarias⁴³.

2.3. Factores genéticos

La DMAE es una enfermedad muy compleja en la que influyen tanto los factores ambientales como los genéticos. Se han descubierto más de 50 variaciones en 34 locis asociadas al desarrollo de DMAE y se estima que los factores genéticos pueden hacer variar la gravedad de la enfermedad hasta en un 70%³⁴. Los hermanos de pacientes de DMAE tienen entre tres y seis veces más posibilidades de desarrollarla en comparación con el resto de la población⁵¹.

Gracias a técnicas de secuenciación se ha podido observar que determinados conjuntos de alteraciones en los cromosomas 1, 6 y 10 tienen cierto papel en la respuesta inmune. Estas variaciones en las secuencias de los cromosomas propician el desarrollo de la DMAE por alteraciones en la homeostasis de la retina. Uno de los grupos principales de genes implicados es el de aquellos relacionados con la **vía del complemento**, genes como el del factor H (*CFH*), factor I (*CFI*) y las proteínas **C2** o **C3** han sido ampliamente estudiados. Es esencial que la vía del complemento funcione correctamente pues sin ella las respuestas inmunológicas no siguen los patrones que deberían. Se ha demostrado que variaciones en un solo nucleótido en secuencias clave son capaces de aumentar considerablemente las posibilidades de padecer DMAE. Es el caso del polimorfismo Y402H, en el que la tirosina (Y) en posición 402 de la proteína CFH cambia por una histidina (H). En el caso de que la persona presente esta alteración en uno de sus alelos las probabilidades de desarrollar DMAE aumentan un 10% con respecto del resto de la población. Pero si la persona presenta ambos alelos polimórficos el riesgo de DMAE llega hasta un 53%⁵². Se cree que la forma en la que esta variante de CFH propicia la DMAE es a través de la **proteína C reactiva**. Esta proteína se ha encontrado en drusas y unida a CFH puede incrementar la inflamación en la retina⁵³. El caso del polimorfismo Y402H es uno de los más extendidos, pero no es el único, existen multitud de variaciones en la secuencia de la proteína CFH, solo que son minoritarias.

Otro locus cuyas variaciones promueven la DMAE es el *ARMS2/HTRA1* (age-related maculopathy susceptibility 2/high-temperature requirement serine peptidase 1). Determinadas variantes en este gen, concretamente en el intrón 1 de *ARMS2*, tienen una fuerte correlación con la DMAE, aunque por el momento no se conoce exactamente el papel que desempeña⁵⁴.

Tanto en DMAE seca como húmeda los factores de riesgo genético son similares. Aunque existe cierta tendencia a desarrollar DMAE húmeda con alelos extraños de *HTRA1/ARMS2* y mayor incidencia de DMAE seca en pacientes con variaciones en alelos de *CFH*³⁴.

Y aunque estos genes por sí mismos hagan más susceptibles de padecer DMAE a determinadas personas existen maneras de minimizar la probabilidad de desarrollar la patología. Hábitos como fumar o dietas grasas pueden llegar a incrementar considerablemente el riesgo de sufrir alteraciones en el epitelio pigmentario^{3,34}.

3. Tratamientos

La DMAE es una enfermedad muy extendida en la población envejecida y a lo largo de los años se han desarrollado y mejorando distintas terapias y fármacos con el fin de controlar y mejorar la visión de individuos afectados.

Actualmente tan solo la DMAE exudativa cuenta con tratamiento. Frente a la DMAE seca se utilizan suplementos como vitaminas o antioxidantes que previenen la extensión de las lesiones atróficas en la retina⁵¹. Por el contrario, la DMAE húmeda sí ha contado con distintos tratamientos a lo largo de los años. En la década de los 80 se utilizaba generalmente **fotocoagulación con láser**, sin embargo, hoy en día este tipo de técnicas tan solo se utilizan para pequeñas lesiones neovasculares localizadas lejos de la fóvea. Años más tarde, a finales de la década de los 90 se desarrolló la **terapia fotodinámica**, que ya no se utilizan por sus numerosos efectos adversos entre los que destacan fuertes dolores de cabeza y espalda, además de una pérdida considerable de la visión en el 4% de los casos³¹. No fue hasta los primeros años de este siglo que se descubrió el papel del **VEGF** en la neovascularización de la retina. Hoy en día los tratamientos aplicados en la mayoría de pacientes son los de **terapia antiangiogénica**, orientados hacia la inhibición de la proteína VEGF que causa hipoxia en la retina. Actualmente hay varios fármacos anti-VEGF comercializados como el bevacizumab, ranibizumab, pegaptanib y aflibercept. Todos ellos con una efectividad similar y se suministran de la misma manera, por medio de inyecciones intravítreas mensuales³¹.

Estos tratamientos han demostrado su eficacia mejorando la visión de los pacientes considerablemente. No obstante, no están exentos de contraindicaciones a tener en cuenta. Estos fármacos atraviesan la barrera generada por el epitelio pigmentario y entran en la circulación sistémica, donde pueden ocasionar distintos efectos secundarios. La inhibición sistémica de VEGF puede desencadenar fallos en el sistema circulatorio como infartos cerebrales. Los datos clínicos indican que en pacientes sin antecedentes cardiológicos no aumenta la probabilidad de sufrir estos ataques, por el contrario, el 10% de pacientes con un historial previo de patologías cardíacas sí ven aumentada la probabilidad de ictus. Por el momento la muestra no es lo suficientemente grande como para considerar estos datos significativos y todavía se necesita más investigación al respecto³¹.

Conclusiones

El epitelio pigmentario de la retina es una estructura esencial en el mantenimiento de la visión, de forma que cualquier modificación en el mismo desencadena una cascada de cambios que pueden llevar a la total pérdida de la función visual. Las células de este epitelio nutren al resto de capas de la retina, principalmente a las células de la visión por excelencia, los fotorreceptores. De ellas depende el aporte de sustancias y que los productos de desecho del ciclo visual sean correctamente retirados, además de que el ambiente en el ojo no sea demasiado hostil para el resto de células de la retina.

Los daños ocasionados provocan un mal aporte de oxígeno y nutrientes a la zona afectada y las células del EPR sufren bien muerte celular, bien desdiferenciación y migración. El resultado final es un epitelio desorganizado e incluso ausente en algunas zonas.

Es tal la complejidad de la homeostasis del epitelio que a pesar de todos los estudios realizados sobre la DMAE no existe todavía un conocimiento pleno sobre los factores que rigen y sobre todo desencadenan esta enfermedad. Sin embargo, los avances realizados en las últimas décadas en el desarrollo de fármacos adecuados han permitido que la incidencia de la DMAE descienda considerablemente entre la población envejecida.

En la propia complejidad de la degeneración macular está el que existan distintos subtipos dentro de la misma. Sin embargo, ambas modalidades no son excluyentes y pueden coexistir en un mismo ojo. La barrera que las separa es fina y un tipo puede llevar al otro. Comparten multitud de factores de riesgo, características y patrones de desarrollo, por lo que no es de extrañar que los cambios ocurridos en el epitelio sean similares. Sin embargo, y a pesar de toda la semejanza hay una barrera que por el momento no se ha conseguido salvar, la del tratamiento. Al contrario que la DMAE húmeda o exudativa, que ha conseguido ver su incidencia reducida gracias a procedimientos como las inyecciones intravitreales, la DMAE seca todavía no cuenta con tratamiento, pero multitud de estudios siguen trabajando para descubrir más sobre su patogénesis y poder abordarla con más seguridad.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Kolb, H. (2011) Simple anatomy of the retina by Helga Kolb. *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*.
- (2) Ambati, J., Ambati, B. K., Yoo, S. H., Ianchulev, S., & Adamis, A. P. (2003). Age-related macular degeneration: Etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Survey of Ophthalmology*, 48(3), 257–293.
- (3) Mitchell, P., Liew, G., Gopinath, B., & Wong, T. Y. (2018). Age-related macular degeneration. *The Lancet*, 392(10153), 1147–1159.
- (4) Telegina, D. V., Kozhevnikova, O. S., & Kolosova, N. G. (2018). Changes in Retinal Glial Cells with Age and during Development of Age-Related Macular Degeneration. *Biochemistry (Moscow)*, 83(9), 1009–1017.
- (5) Bonilha, V. L. (2008). Age and disease-related structural changes in the retinal pigment epithelium. *Clinical Ophthalmology*, 2(2), 413–424.
- (6) Lambert, N. G., ElShelmani, H., Singh, M. K., Mansergh, F. C., Wride, M. A., Padilla, M., Keegan, D., Hogg, R. E., & Ambati, B. K. (2016). Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration. *Progress in Retinal and Eye Research*, 54, 64–102.
- (7) Paniagua, A. E., Herranz-Martín, S., Jimeno, D., Jimeno, Á. M., López-Benito, S., Carlos Arévalo, J., Velasco, A., Aijón, J., & Lillo, C. (2015). CRB2 completes a fully expressed Crumbs complex in the Retinal Pigment Epithelium. *Scientific Reports*, 5(14504), 1–11.
- (8) Strauss, O. (2005). The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiological Reviews*, 85(3), 845–881.
- (9) Alberts B, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition edn. *Garland Science*.
- (10) Lamb, T. D., & Pugh Jr., E. N. (2004). Dark adaptation and the retinoid cycle of vision. *Progress in Retinal and Eye Research*, 23(3), 307–380.
- (11) Ts’O, M. O. M., & Freidman, E. (1968). The Retinal Pigment Epithelium: III: growth and development. *Archives of Ophthalmology*, 80(2), 214–216.
- (12) Biesemeier, A. K. (2010). Ultrastructural characterisation of melanogenesis in adult human retinal pigment epithelial cells after adenoviral transduction with the tyrosinase gene. *Tesis doctoral. Universität Tübingen*.
- (13) Segurado Gelado, A. (2016). Análisis del establecimiento de las uniones intercelulares del epitelio pigmentario de la retina humana y su relación con las proteínas de polaridad celular “CRB.” *Trabajo de fin de Máster. Universidad de Salamanca*.
- (14) Hellinen, L., Hagström, M., Knuutila, H., Ruponen, M., Urtti, A., & Reinisalo, M. (2019). Characterization of artificially re-pigmented ARPE-19 retinal pigment epithelial cell model. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10.
- (15) Fujii, S., Gallemore, R. P., Hughes, B. A., & Steinberg, R. H. (1992). Direct evidence for a basolateral membrane Cl⁻ conductance in toad retinal pigment epithelium. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 262(2), 374–383.
- (16) Quinn, R. H., & Miller, S. S. (1992). Ion transport mechanisms in native human retinal pigment epithelium. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 33(13), 3513–3527.
- (17) Seeliger, M. W., Biesalski, H. K., Wissinger, B., Gollnick, H., Gielen, S., Frank, J., Beck, S., & Zrenner, E. (1999). Phenotype in retinol deficiency due to a hereditary defect in retinol binding protein synthesis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 40(1), 3–11.
- (18) Marmor, M. F. (1990). Control of subretinal fluid: Experimental and clinical studies. *Survey of Ophthalmology*, 4(2), 340–344.
- (19) Xue, Y., Shen, S. Q., Jui, J., Rupp, A. C., Byrne, L. C., Hattar, S., Flannery, J. G., Corbo, J. C., & Kefalov, V. J. (2015). CRALBP supports the mammalian retinal visual cycle and cone vision. *Journal of Clinical Investigation*, 125(2), 727–738.
- (20) Kevany, B. M., & Palczewski, K. (2010). Phagocytosis of Retinal Rod and Cone Photoreceptors. *Physiology*, 25(60), 8–15.
- (21) Nguyen-Legros, J. & Hicks, D. (2000). Renewal of photoreceptor outer segments and their phagocytosis by the retinal pigment epithelium. *International review of cytology*, 196(6), 245-313.

- (22) Teirstein, P. S., Goldman, A. I., & O'Brien, P. J. (1980). Regulation of Rat Rod Outer Segment Disc Shedding. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 19(11), 1268–1273.
- (23) Bobu, C., & Hicks, D. (2009). Regulation of retinal photoreceptor phagocytosis in a diurnal mammal by circadian clocks and ambient lighting. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 50(7), 3495–3502.
- (24) Klettner, A. K., & Dithmar, S. (2020). Retinal Pigment Epithelium in Health and Disease. *Springer Nature*.
- (25) Ach, T., Huisinigh, C., McGwin, G., Messinger, J. D., Zhang, T., Bentley, M. J., Gutierrez, D. B., Ablonczy, Z., Theodore Smith, R., Sloan, K. R., & Curcio, C. A. (2014). Quantitative autofluorescence and cell density maps of the human retinal pigment epithelium. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 55(8), 4832–4841.
- (26) Burke, J. M., & Hjelmeland, L. M. (2005). Mosaicism of the retinal pigment epithelium: Seeing the small picture. *Molecular Interventions*, 5(4), 241–249.
- (27) Boulton, M. & Dayhaw-Barker, P. (2001). The role of the retinal pigment epithelium: Topographical variation and ageing changes. *Eye*, 15(3), 384–389.
- (28) Tarau, I. S., Berlin, A., Curcio, C. A., & Ach, T. (2019). The Cytoskeleton of the Retinal Pigment Epithelium: from Normal Aging to Age-Related Macular Degeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 1–19.
- (29) Balaratnasingam, C., Yannuzzi, L. A., Curcio, C. A., William, H., Querques, G., Capuano, V., Souied, E., Jung, J. & Bailey, K. (2016). Associations Between Retinal Pigment Epithelium and Drusen Volume Changes During the Lifecycle of Large Drusenoid Pigment Epithelial Detachments. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 57(13), 5479–5489.
- (30) Ardeljan, D. & Chan, C.-C. (2013). Aging is not a disease: Distinguishing age-related macular degeneration from aging. *Progress in Retinal and Eye Research*, 37, 68–89.
- (31) Lim, L. S., Mitchell, P., Seddon, J. M., Holz, F. G. & Wong, T. Y. (2012). Age-related macular degeneration. *The Lancet*, 379(9827), 1728–1738.
- (32) Zając-Pytrus, H. M., Pilecka, A., Turno-Kręćicka, A., Adamiec-Mroczek, J. & Misiuk-Hojło, M. (2015). The dry form of age-related macular degeneration (AMD): The current concepts of pathogenesis and prospects for treatment. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 24(6), 1099–1104.
- (33) Mittal, D., & Kumari, K. (2015). Automated detection and segmentation of drusen in retinal fundus images. *Computers and Electrical Engineering*, 47, 82–95.
- (34) van Lookeren, M., LeCourter, J., Yaspan, B. L., & Ye, W. (2014). Mechanisms of age-related macular degeneration and therapeutic opportunities. *Journal of Pathology*, 232(2), 151–164.
- (35) Ach, T., Tolstik, E., Messinger, J. D., Zarubina, A. V., Heintzmann, R., & Curcio, C. A. (2015). Lipofuscin redistribution and loss accompanied by cytoskeletal stress in retinal pigment epithelium of eyes with age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 56(5), 3242–3252.
- (36) Zanzottera, E. C., Messinger, J. D., Ach, T., Theodore Smith, R., Bailey Freund, K., & Curcio, C. A. (2015). The project macula retinal pigment epithelium grading system for histology and optical coherence tomography in age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 56(5), 3253–3268.
- (37) Binder, S., Stanzel, B. V., Krebs, I. & Glittenberg, C. (2007). Transplantation of the RPE in AMD. *Progress in Retinal and Eye Research*, 26(5), 516–554.
- (38) Bird, A. C., Phillips, R. L., & Hageman, G. S. (2014). Geographic atrophy: A histopathological assessment. *JAMA Ophthalmology*, 132(3), 338–345.
- (39) Li, M., Huisinigh, C., Messinger, J., Dolz-marco, R., Ferrara, D., Bailey Freund, K., & Curcio, C. A. (2018). Histology of geographic atrophy secondary to Age-related Macular Degeneration: a multilayer approach. *Retina*, 38(10), 1937–1953.
- (40) Bowes Rickman, C., Farsiu, S., Toth, C. A. & Klingeborn, M. (2013). Dry age-related macular degeneration: Mechanisms, therapeutic targets, and imaging. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 54(14), 68–80.

- (41) Curcio, C. A., Zanzottera, E. C., Ach, T., Balaratnasingam, C. & Freund, K. B. (2017). Activated Retinal Pigment Epithelium, an Optical Coherence Tomography Biomarker for Progression in Age-Related Macular Degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 58(6), 211–226.
- (42) Zanzottera, E. C., Ach, T., Huisinigh, C., Messinger, J. D., Freund, K. B. & Curcio, C. A. (2016). Visualizing retinal pigment epithelium phenotypes in the transition to geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Retina*, 36, 12–25.
- (43) Zhou, M., Geathers, J. S., Grillo, S. L., Weber, S. R., Wang, W., Zhao, Y., & Sundstrom, J. M. (2020). Role of Epithelial-Mesenchymal Transition in Retinal Pigment Epithelium Dysfunction. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(501), 1–13.
- (44) Dongre, A., & Weinberg, R. A. (2019). New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(2), 69–84.
- (45) Georgiadis, A., Tschernutter, M., Bainbridge, J. W. B., Balaggan, K. S., Mowat, F., West, E. L., Munro, P. M. G., Thrasher, A. J., Matter, K., Balda, M. S. & Ali, R. R. (2010). The tight junction associated signalling proteins ZO-1 and ZONAB regulate retinal pigment epithelium homeostasis in mice. *PLoS ONE*, 5(12), 1–10.
- (46) Tamiya, S., Liu, L. & Kaplan, H. J. (2010). Epithelial-mesenchymal transition and proliferation of retinal pigment epithelial cells initiated upon loss of cell-cell contact. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 51(5), 2755–2763.
- (47) Rubio Pomareta, P. (2019). Study of retinal Müller cells and microglia and their interaction during the development of Age-related Macular Degeneration. *Trabajo de fin de grado. Universidad de Salamanca*.
- (48) Holz, F. G., Strauss, E. C., Schmitz-Valckenberg, S. & Van Lookeren Campagne, M. (2014). Geographic atrophy: Clinical features and potential therapeutic approaches. *Ophthalmology*, 121(5), 1079–1091.
- (49) He, L. & Marneros, A. G. (2013). Macrophages are essential for the early wound healing response and the formation of a fibrovascular scar. *American Journal of Pathology*, 182(6), 2407–2417.
- (50) Caceres, P. S. & Rodriguez-Boulan, E. (2020). Retinal pigment epithelium polarity in health and blinding diseases. *Current Opinion in Cell Biology*, 62, 37–45.
- (51) Al-Zamil, M. & Yassin, S. A. (2017). Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clinical Interventions in Aging*, 12, 1313–1330.
- (52) Klein, R. J., Zeiss, C., Chew, E. Y., Tsai, J. Y., Sackler, R. S., Haynes, C., Henning, A. K., SanGiovanni, J. P., Mane, S. M., Mayne, S. T., Bracken, M. B., Ferris, F. L., Ott, J., Barnstable, C., & Hoh, J. (2005). Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science*, 308(5720), 385–389.
- (53) Toomey, C. B., Johnson, L. V., & Rickman, C. B. (2018). Complement factor H in AMD: Bridging genetic associations and pathobiology. *Progress in retinal and eye research*, 62, 38-57.
- (54) Grassmann, F., Heid, I. M., Weber, B. H. & International AMD Genomics Consortium. (2017). Recombinant haplotypes narrow the ARMS2/HTRA1 association signal for age-related macular degeneration. *Genetics*, 205(2), 919-924.