

# VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

PROGRAMA DE DOCTORADO 3139 MEDICINA



**TESIS DOCTORAL 2015**

**EVALUACIÓN DE FACTORES DE RIESGO EXÓGENOS Y  
ENDÓGENOS PARA LA RETINOPATIA DIABÉTICA EN  
PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE  
LARGA EVOLUCION EN UN SEGUIMIENTO A 18 MESES**

**MARÍA JOSÉ ROIG REVERT**

Facultativo especialista en oftalmología

Dirección:

**Dra. María Dolores Pinazo Durán**

**Dr. Roberto Gallego Pinazo**

**Dra. Elena Bendala Tufanisco**



DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA. FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA.

**EVALUACIÓN DE FACTORES DE RIESGO EXÓGENOS Y ENDÓGENOS  
PARA LA RETINOPATIA DIABÉTICA EN PACIENTES CON DIABETES  
MELLITUS TIPO 2 DE LARGA EVOLUCION EN UN SEGUIMIENTO A 18  
MESES**

**MARÍA JOSÉ ROIG REVERT**  
Facultativo especialista en oftalmología

Dirección:

**M<sup>a</sup> DOLORES PINAZO DURAN**, Profesora Asociada del Departamento de Cirugía de la Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València,

**ROBERTO GALLEGO PINAZO**, Doctor en Medicina y Cirugía. Médico adjunto del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia,

**ELENA BENDALA TUFANISCO**, Doctora en Medicina y Cirugía. Profesora del Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad Cardenal Herrera de Valencia.

**C E R T I F I C A N:**

Que el trabajo presentado por D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> José Roig Revert, con el tema "Evaluación de factores de riesgo exógenos y endógenos para la retinopatía diabética en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de larga evolución en un seguimiento a 18 meses". Dicho trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección, reuniendo todos los requisitos necesarios para ser defendida ante un tribunal y optar al grado de doctor.

Y para que así conste, firmamos el presente certificado en Valencia a veintiocho de octubre de dos mil quince.

Fdo.: Prof<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Dolores Pinazo Durán

Fdo.: Dr. Roberto Gallego Pinazo

Fdo.: Prof<sup>a</sup> Elena Bendala Tufanisco



**A mis padres, Pilar y Vicente  
por su apoyo incondicional  
y su infinita paciencia.**



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar y especialmente a la Dra. María Dolores Pinazo Durán que ha sido mi motivación y mi apoyo en todo momento durante la realización de este proyecto y quien ha despertado en mí el interés y la fascinación por el mundo de la investigación. Gracias por creer en mí. Eres un espejo donde mirarse tanto a nivel médico, científico y sobre todo personal.

Al increíble y sabio Dr. Roberto Gallego, le doy las gracias porque desde que entré en este pequeño mundo de la oftalmología, sin serlo me has acogido como una más de tus residentes y me has animado a trabajar duro. Te admiro increíblemente como oftalmólogo y más aún como persona. Sin ti la oftalmología no sería lo mismo.

A la Dra. Elena Bendala por su disposición para ayudarme en todo momento, por el interés mostrado sobre mi progresión, la revisión del texto y sus consejos.

Al Dr. Vicente Zanón porque gracias a las horas invertidas desinteresadamente conmigo, este proyecto ha salido adelante. Sin sus explicaciones y sobre todo sin su paciencia no hubiera podido concluir el análisis estadístico.

A los doctores Antonio Estrela, Pedro Madrigal, Leonor Pérez, Teresa Herranz, Lola Fuster, Carola Font, Amparo Soriano, Alma Pastor, Beatriz Valls, Teresa Diago, Susana Molina, Maria Jesús Pérez y Laura Fabra, todos ellos médicos adjuntos del Servicio de Oftalmología del Hospital de Sagunto, que me han aportado lo mejor de cada uno para formarme en esta maravillosa especialidad.

A mi compañero residente pero por encima de todo amigo Fernando Díaz, porque tus palabras continuas de apoyo y admiración me sacan siempre una sonrisa.

A todos y cada uno de los miembros del Estudio Valencia sobre Retinopatía Diabética (EVRD) por haber conseguido reunirse en un equipo excepcional, y continuar de forma exitosa con la realización de este trabajo. En especial deseo agradecer la colaboración de Maria Andreu, trabajadora incansable y ejemplo del interés por la investigación en enfermería.

A mis compañeros de la Unidad de Investigación Oftalmológica “Santiago Grisolia”, y en especial a Óscar Álvarez, Toni Lleó, Barbara Vivar, Carla Marco y Carmina Galbis. Gracias por apoyarme en los momentos que más lo necesitaba.

A D. Carlos Amador y Laboratorios Thea, por su apoyo incondicional a la investigación oftalmológica y el interés particular por este trabajo y las personas que lo llevan a cabo.

Y de forma muy especial deseo dar las gracias a mis padres, Pilar y Vicente que siempre me han animado y aceptado mis decisiones. Vuestro apoyo incondicional durante 6 años de estudio de medicina, preparación para el examen MIR, 4 años de especialización en oftalmología y durante la realización de este proyecto fueron imprescindibles para poder llegar hasta aquí y ser quien soy. No hay suficientes palabras para agradeceros todo lo que en silencio y sin esperar nada a cambio hacéis por mí. Os quiero muchísimo.

## **FINANCIACIÓN DEL ESTUDIO**

El Estudio Valencia sobre Retinopatía Diabética (EVRD) recibe financiación directa o indirecta de las siguientes entidades:

- Laboratorios Thea, Barcelona (España).
- Red Temática de Investigación Cooperativa del Instituto de Salud Carlos III (Madrid, España), “Prevención, detección precoz y tratamiento de la patología ocular prevalente degenerativa y crónica: OFTARED” en la que han colaborado los nodos de Valencia, Valladolid y Murcia.
- Proyecto FIS/FEDER PI13/0480 del Instituto de Salud Carlos III (Madrid, España) (Investigador Principal: Dra. Maria D. Pinazo-Durán).
- Asociación de Oftalmólogos e Investigadores en Oftalmología (AOFINV).



# ÍNDICE GENERAL

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>7</b>
<b>FINANCIACIÓN DEL ESTUDIO</b> .....	<b>9</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS MÁS UTILIZADOS</b> .....	<b>15</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>21</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>25</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>27</b>
<b>1. DIABETES MELLITUS</b> .....	<b>29</b>
1.1 DEFINICIÓN.....	29
1.2 DIAGNÓSTICO .....	29
1.3 CLASIFICACIÓN .....	30
1.4 ETIOPATOGENIA DE LA DIABETES .....	35
1.4.1 DM1 .....	35
1.4.2 DM2 .....	36
1.5 EPIDEMIOLOGÍA .....	37
1.5.1 EPIDEMIOLOGÍA DM1 .....	37
1.5.2 EPIDEMIOLOGÍA DM2 .....	37
1.5.3 INCIDENCIA .....	43
1.6 FACTORES DE RIESGO DE LA DM2 .....	44
1.7 COMPLICACIONES DE LA DM .....	44
1.7.1 COMPLICACIONES AGUDAS.....	44
1.7.2 COMPLICACIONES CRÓNICAS.....	44
1.7.3 COMPLICACIONES MIXTAS .....	45
<b>2. ANATOMÍA RETINIANA</b> .....	<b>45</b>
2.1 ANATOMÍA MACROSCÓPICA .....	45
2.2 HISTOLOGÍA.....	46
2.3 VASCULARIZACIÓN RETINIANA .....	49
<b>3. RETINOPATÍA DIABÉTICA (RD)</b> .....	<b>50</b>
3.1 EPIDEMIOLOGIA .....	51
3.1.1 A NIVEL MUNDIAL .....	51
3.1.2 A NIVEL NACIONAL (ESPAÑA) .....	54
3.2 FACTORES DE RIESGO .....	57
3.2.1 DURACIÓN DE LA DM .....	57
3.2.2 HIPERGLUCEMIA .....	58
3.2.3 PUBERTAD .....	60
3.2.4 EMBARAZO .....	60
3.2.5 HIPERTENSIÓN ARTERIAL (HTA) .....	60
3.2.6 HIPERLIPIDEMIA E HIPERCOLESTEROLEMIA (73-78) .....	62
3.2.7 GENÉTICA.....	63
3.2.8 CIRUGÍA DE LA CATARATA .....	63
3.2.9 OTROS .....	64
3.3 PATOGENIA.....	65
3.3.1 CAMBIOS BIOQUÍMICOS: ESTRÉS OXIDATIVO.....	66
3.3.2 ALTERACIÓN MICROVASCULAR.....	77
3.3.3 ALTERACIÓN NEURORRETINIANA .....	80
3.4 DIAGNÓSTICO DE LA RD .....	81
<b>4. MACULOPATÍA DIABÉTICA</b> .....	<b>84</b>

<b>JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO .....</b>	<b>87</b>
<b>1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....</b>	<b>89</b>
<b>2. HIPÓTESIS.....</b>	<b>89</b>
<b>3. OBJETIVO PRINCIPAL .....</b>	<b>90</b>
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL .....	90
3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS .....	90
<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>93</b>
<b>1. DISEÑO DEL ESTUDIO .....</b>	<b>95</b>
<b>2. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES .....</b>	<b>96</b>
<b>3. TAMAÑO MUESTRAL.....</b>	<b>97</b>
<b>4. ANAMNESIS.....</b>	<b>98</b>
<b>5. CUESTIONARIO NUTRICIONAL .....</b>	<b>98</b>
<b>6. ESTUDIO OFTALMOLÓGICO.....</b>	<b>99</b>
<b>7. ESTUDIO SISTÉMICO .....</b>	<b>101</b>
<b>8. OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS .....</b>	<b>102</b>
8.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	102
8.2 PROCESAMIENTO DE TUBOS PARA EL ESTUDIO DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS CLÁSICOS .....	104
8.2.1 HEMOGLOBINA GLICOSILADA (HBA1C).....	104
8.2.1 GLUCEMIA BASAL.....	104
8.2.2 TRIGLICÉRIDOS .....	104
8.3 PROCESAMIENTO DE TUBOS PARA EL ESTUDIO DE PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO.....	105
8.3.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPOPEROXIDATIVA (MDS/TBARS) .....	105
8.3.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (AOX) .....	108
<b>9. DISEÑO ESTADÍSTICO .....</b>	<b>111</b>
9.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA .....	112
9.2 ESTADÍSTICA ANALÍTICA .....	112
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>115</b>
<b>1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS Y SUBGRUPOS .....</b>	<b>117</b>
1.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS .....	117
1.1.1 SEXO.....	117
1.1.2 EDAD.....	117
1.1.3 RAZA .....	118
1.2 ANTECEDENTES FAMILIARES .....	119
1.3 ANTECEDENTES PERSONALES (AP).....	120
1.3.1 DURACIÓN DE LA DM2.....	120
1.3.2 AP DE HTA.....	121
1.4 ESTILO DE VIDA Y HÁBITOS TÓXICOS .....	121
1.4.1 EJERCICIO FÍSICO.....	121
1.4.2 HÁBITO TABÁQUICO .....	122
1.4.3 HÁBITO ALCOHÓLICO .....	122
1.4.4 DIETA ESPECIAL .....	122
1.5 CUMPLIMIENTO DE LA DIETA MEDITERRÁNEA.....	123
1.6 DATOS ANTROPOMÉTRICOS.....	124
<b>2. RESULTADOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS DE LOS GRUPOS Y SUBGRUPOS AL INICIO DEL ESTUDIO .....</b>	<b>126</b>
2.1 EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA .....	126
2.1.1 MAVC .....	127
2.1.2 PIO .....	127
2.1.3 FUNDUSCOPIA.....	128
2.1.4 EDEMA MACULAR .....	128
2.1.5 CST.....	129
2.2 HEMOGRAMA Y BIOQUÍMICA CONVENCIONAL.....	130

2.2.1 HbA1c.....	130
2.2.2 GLUCEMIA.....	131
2.2.3 TG.....	131
2.3 ANÁLISIS REDOX.....	133
2.3.1 MDA/TBARS.....	133
2.3.2 AOX.....	133
<b>3. RESULTADOS DE LOS GRUPOS Y SUBGRUPOS AL FINAL DEL ESTUDIO .....</b>	<b>136</b>
3.1 EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA.....	136
3.1.1 MAVC.....	136
3.1.2 PIO.....	137
3.1.3 FUNDUSCOPIA.....	137
3.1.4 EDEMA MACULAR.....	138
3.1.5 CST.....	138
3.2 HEMOGRAMA Y BIOQUÍMICA CONVENCIONAL.....	139
3.2.1 HbA1c.....	139
3.2.2 GLUCEMIA.....	140
3.2.3 TG.....	140
3.3 ANÁLISIS REDOX.....	142
3.3.1 MDA/TBARS.....	142
3.3.2 AOX.....	142
<b>4. COMPARACIÓN DE RESULTADOS ENTRE EL INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO .....</b>	<b>145</b>
4.1 RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA ENTRE INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO.....	145
4.2 RESULTADOS COMPARATIVOS DEL ANÁLISIS DE SANGRE ENTRE EL INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO.....	147
4.3 RESULTADOS COMPARATIVOS ENTRE EL INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO EN RELACIÓN AL GRADO DE RD (GDRPG).....	149
4.3.1 AL INICIO DEL ESTUDIO.....	149
4.3.2 AL FINAL DEL ESTUDIO.....	152
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>157</b>
<b>1. SOBRE EL DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO.....</b>	<b>159</b>
1.1 DIABETES MELLITUS Y RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	159
1.2 DISEÑO Y SUJETOS DEL ESTUDIO.....	159
<b>2. SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS .....</b>	<b>162</b>
2.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD Y ESTILO DE VIDA.....	162
2.2 RESULTADOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS.....	169
2.2.1 EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA.....	169
2.2.2 HEMOGRAMA Y BIOQUÍMICA CONVENCIONAL.....	171
2.2.3 ANÁLISIS REDOX.....	173
<b>3. APLICABILIDAD BIOMÉDICA.....</b>	<b>178</b>
<b>4. COMENTARIOS SOBRE EL TRABAJO EXPUESTO, CONSIDERACIONES FINALES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN SOBRE RD .....</b>	<b>179</b>
<b>5. COMENTARIOS PERSONALES.....</b>	<b>188</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>191</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>195</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>231</b>
ANEXO 1.....	233
ANEXO 2.....	234
ANEXO 3.....	235
ANEXO 4.....	236
ANEXO 5.....	239



**LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS MÁS UTILIZADOS**

μA: Microaneurismas

AC: Anhidrasa carbónica

ACCORD: *The Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes*

ACR: Arteria central de la retina

ADA: *American Diabetes Association* (Asociación Americana de Diabetología)

ADO: Antidiabéticos orales

AF: Antecedentes familiares

AGEs: *Advanced glycosilation end products* o productos finales de la glicosilación avanzada

AGE-R: Receptor de AGEs

AGF: Angiografía con fluoresceína

AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados

AINEs: Anti-inflamatorios no esteroideos

ALA: Ácido α-linoleico

Anti-PDGF: Antifactor de crecimiento derivado de plaquetas

Anti-VEGF: Antifactor de crecimiento endotelial vascular

AO: Ambos ojos

AOVE: Aceite de oliva virgen extra

AOX: Actividad antioxidante total

AR: Aldosa reductasa

AREDS: *Age-Related Eye Disease Study-Results*

AT1R: Receptor de la angiotensina 1

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

AV: Agudeza visual

AVI: Angiografía con verde de indocianina

bFGF: *Basic fibroblast growth factor*

BHRE: Barrera hemato-retiniana interna

BHRI: Barrera hemato-retiniana interna

Ca<sup>2+</sup>: Calcio

CAT: Catalasa

CE: Células endoteliales

CFN: Capa de fibras nerviosas

Col-T: Colesterol Total

COX: Ciclooxygenasa

CST: Central subfield thickness

CV: Cardiovasculares

CVR: Cirugía vitreo-retiniana

DAG: Diacilglicerol

DCCT: *The Diabetes Control and Complications Trial*

DG: Diabetes Gestacional

DHA: Ácido docosahexaenoico

DietMed: Dieta Mediterránea

DietMed+AOVE: Dieta Mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen extra

DM: Diabetes Mellitus

DM1: Diabetes Mellitus tipo 1

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

DMAE: Degeneración macular asociada a la edad

DMID: Diabetes Mellitus insulino dependiente

DMNID: Diabetes Mellitus no insulino dependiente

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

DRS: *Diabetes Retinopathy Study*

ECV: Enfermedad cardiovascular.

EDTA: Ácido etildiaminotetraacético.

EEUU: Estados Unidos

EMA: *European Medicines Agency*

EMCS: Edema macular clínicamente significativo

EMD: Edema macular diabético

EPO: Eritropoyetina

EPR: Epitelio pigmentario retiniana

EROx: Especies reactivas de oxígeno.

ETDRS: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group*

EVC: Enfermedad vascular cerebral

EVP: Enfermedad vascular periférica

EVRD: Estudio Valencia sobre retinopatía diabética

FDA: *Federal Drug Administration*

FIELD: *Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes*

FR: Fotorreceptores

GAPDH: Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa

GDM2: Grupo de pacientes con DM2

GDM2-RD: Grupo de pacientes con DM2 sin RD

GDM2+RD: Grupo de pacientes con DM2 con RD

GDRPG: *Global Diabetic Retinopathy Project Group*

GFAT: Glutamina-fructosa-6-fosfato amidotransferasa

GR: Proteínas de unión a metales

GSH-Px: Glutation peroxidasa

GSH: Glutation reducido

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

GSSG: Glutation oxidado

HbA1c: Hemoglobina glicosilada

HDL: *High Density Lipoprotein*

HDL-Col: Colesterol HDL

HLA: *Human Leucocyte Antigen*

HTA: Hipertensión arterial.

H<sub>2</sub>O: Agua

H<sub>2</sub>H<sub>2</sub>: Peróxido de hidrógeno

ICAM-1: *Intercellular Adhesion Molecule 1*

IDF: *International Diabetes Federation*

IECA: Inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina

IGF: Factor de crecimiento insulínico

IL: Interleucina

IMC: Índice de masa corporal

IRMA: Anormalidades microvasculares intrarretinianas

LDL: *Low Density Lipoprotein*

LDL-Col: Colesterol LDL

MB: Membrana basal

MDA: Malondialdehído

MDA/TBARS: Actividad lipoperoxidativa

MLI: Membrana limitante interna

MLE: Membrana limitante externa.

MnSOD: superóxido dismutasa de manganeso

MODY: *Maturity Onset Diabetes of the Young*

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NF-κB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

activadas

NO: Óxido nítrico

NOX: NADPH oxidasa

NV: Neovascularización

O<sup>2</sup>: Oxígeno

O<sub>2</sub><sup>•</sup>: Anión superóxido.

OCT: Tomografía de coherencia óptica

OD: Ojo derecho

OI: Ojo izquierdo

OH<sup>•</sup>: Radical hidroxilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

ONCE: Organización Nacional de Ciegos

OR: *Odds Ratio*

PAI-1: Inhibidor del activador plasminógeno tipo 1

PAN: Panfotocoagulación retiniana

PAS: Presión arterial sistólica

PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas

PET: Polipropileno

PGA: Productos finales de la glicación avanzada

PKC: Protein quinasa C

PPAR- $\alpha$ : *Peroxisome Proliferator Activated Receptor*

PREDIMED: Grupo de Prevención con dieta Mediterránea

Prot-T: Proteínas Totales

RNS: Retina neurosensorial

RD: Retinopatía diabética

RDNP: Retinopatía diabética no proliferativa

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

RDP: Retinopatía diabética proliferativa

RL: Radicales libres

SD-OCT: Spectral Domain *Optical Coherence Tomography* (Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral)

SOD: Superóxido dismutasa

SRA: Sistema renina-angiotensina

TBARS: Productos reactivos al ácido tiobarbitúrico.

TG: Triglicéridos

TKI: Tirocin quinasa

TNF $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral alfa

UKPDS: *U.K. Prospective Diabetes Study Grup*

UDP-GlcNac: Uridina difosfato-N-acetilglucosamina

VCAM: *Vascular cell adhesion molecule*

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

VPP: Vitrectomía pars plana

WESDR: *Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy*

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Características de la diabetes MODY .....	32
Tabla 2. Clasificación de la Diabetes Mellitus.....	34
Tabla 3: Datos mundiales de incidencia de la DM1. ....	37
Tabla 4: Datos mundiales de prevalencia de DM2 .....	38
Tabla 5: Datos mundiales de prevalencia por regiones .....	39
Tabla 6. Porcentaje de españoles > 16 años con DM diagnosticada por profesionales de la medicina, según sexo y grupo de edad.....	41
Tabla 7. Prevalencia estimada de RD en diabéticos ≥40 años en EE.UU.....	52
Tabla 8: Patologías visuales en afiliados a la ONCE en 2014.....	55
Tabla 9: Estudios de prevalencias de ceguera en población diabética española.....	56
Tabla 10: Factores de riesgo relacionados con la RD.....	65
Tabla 11. Clasificación clínica internacional de la RD (GDRPG).....	83
Tabla 12. Relación entre el nivel de adherencia a la dieta mediterránea respecto a la puntuación total obtenida en el cuestionario.....	99
Tabla 13. Correspondencia numérica de los grados de RD.....	101
Tabla 14. Categoría de masa corporal en relación al IMC según criterios de la OMS.....	102
Tabla 15: Concentración MDA, tampón (PBS) y volumen MDA .....	106
Tabla 16: Preparación de los estándares .....	109
Tabla 17. Características demográficas de los individuos del GC y GDM2 al inicio del estudio .....	118
Tabla 18. Características demográficas de los pacientes diabéticos en función de la presencia o ausencia de RD al inicio del estudio .....	118
Tabla 19. Distribución de la frecuencia de AF al inicio del estudio en GC y GDM2 ..	119
Tabla 20. Distribución de la frecuencia de AF al inicio del estudio en GDM2-RD y GDM2+RD .....	119
Tabla 21. Estilo de vida y hábitos tóxicos al inicio del estudio en GC y GDM2.....	123
Tabla 22. Estilo de vida y hábitos tóxicos al inicio del estudio en pacientes GDM2-RD y GDM2-RD.....	123
Tabla 23. Distribución del GC y GDM2, al inicio del estudio, según su nivel de adherencia a la dieta mediterránea .....	123
Tabla 24. Distribución del GDM2-RD y GDM2+RD, al inicio del estudio, según su nivel de adherencia a la dieta mediterránea.....	124
Tabla 25. Resultados de los datos antropométricos en GC y GDM2 expresados como media±desviación estándar. Resultados estadísticamente significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2 .....	125
Tabla 26. Resultados de datos antropométricos en GC, GDM2-RD y GDM2+RD.....	125
Tabla 27 Resultados de la exploración oftalmológica en la visita inicial en el GC y GDM2.....	129
Tabla 28. Resultados de la exploración oftalmológica en la visita inicial en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD.....	129
Tabla 29. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 en la visita inicial.....	131
Tabla 30. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD RD y GDM2+RD .....	132
Tabla 31. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 en la visita inicial.....	132

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 32. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en el GDM2-RD y GDM2+RD en la visita inicial.....	132
Tabla 33. Comparación al inicio del estudio de la actividad lipoperoxidativa (MDA/TBARS) y actividad antioxidante total (AOXT) en los grupos principales en la visita inicial.....	133
Tabla 34. Comparación al inicio del estudio de la actividad lipoperoxidativa (MDA/TBARS) y actividad antioxidante total (AOX) en GC, GDM2-RD y GDM2+RD .....	134
Tabla 35. Distribución en la visita final del GDM2-RD y GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) .....	137
Tabla 36. Resultados de la exploración oftalmológica al final del estudio, en el GC y GDM2, expresados como media±desviación estándar.....	138
Tabla 37. Resultados de la exploración oftalmológica al final del estudio, en el GC y DM2 subdivididos según ausencia o presencia de RD.....	139
Tabla 38. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 al final del estudio .....	141
Tabla 39. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD al final del estudio.....	141
Tabla 40. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 al final del estudio .....	141
Tabla 41. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en los grupos GDM2-RD y GDM2+RD al final del estudio .....	141
Tabla 42. Resultados del análisis Redox en el GC y GDM2 al final del estudio, expresados como media±desviación estándar .....	142
Tabla 43. Resultados del análisis Redox en el GC y GDM2 sin y con RD al final del estudio .....	143
Tabla 44. Comparación de los resultados visuales en la visita inicial y final en pacientes del GC y GDM2. ....	145
Tabla 45. Comparación de los resultados visuales en la visita inicial y final en pacientes diabéticos sin y con RD.....	146
Tabla 46. Comparación de los resultados analíticos en la visita inicial y final en el GC y GDM2.....	147
Tabla 47. Comparación de los resultados analíticos en la visita inicial y final en pacientes diabéticos sin y con RD.....	148
Tabla 48. Distribución de la frecuencia de AF al inicio del estudio en el GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). ....	149
Tabla 49. Duración de la enfermedad expresada en media±desviación estándar en pacientes DM2 según el grado de retinopatía .....	149
Tabla 50. Estilo de vida y hábitos tóxicos al inicio del estudio en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) .....	150
Tabla 51. Distribución del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG), al inicio del estudio .....	150
Tabla 52. Resultados de los datos antropométricos en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial .....	150
Tabla 53. Resultados de la exploración oftalmológica en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial.....	150
Tabla 54. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial.....	151

Tabla 55. Resultados del análisis Redox en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial .....	151
Tabla 56. Distribución en la visita final del GDM2-RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). .....	152
Tabla 57. Distribución en la visita final del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) .....	152
Tabla 58. Distribución de progresión del GDM2-RD y GDM2+RD en visita final. ....	152
Tabla 59. Resultados de la exploración oftalmológica en los pacientes del GDM2 que progresaron en su grado de RD en la visita final .....	153
Tabla 60. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en los pacientes del GDM2 que progresaron en su grado de RD en la visita final .....	154
Tabla 61. Resultados del análisis Redox en los pacientes del GDM2 que progresaron en su grado de RD en la visita final.....	154



**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Prevalencia comparativa (%) de adultos con DM en 2013 .....	39
Figura 2. Número de adultos con DM en 2013.....	40
Figura 3. Proporción de adultos con DM no diagnosticada en 2013.....	40
Figura 4. Prevalencia (%) de DM por edad y sexo en el año 2013 .....	41
Figura 5. Imagen retiniana obtenida mediante el sistema de retinógrafo de campo amplio P200C Optomap FA® .....	46
Figura 6. Sección vertical de retina de ojo humano vista con microscopía óptica.....	48
Figura 7. Tipos de células y capas histológicas de la retina humana. ....	48
Figura 8. Vascularización retiniana y coroidea.....	49
Figura 9. Microscopía electrónica de un capilar retiniano.....	50
Figura 10: Causas de ceguera según The Global Economic Cost of Visual Impairment (2010).....	54
Figura 11: Incidencia acumulada de cambios significativos en RD en pacientes con DMID.....	59
Figura 12. Fisiopatología de la RD.....	66
Figura 13. Las reacciones redox y transferencia electrónica. ....	67
Figura 14. Sistema defensivo antioxidante .....	69
Figura 15. A. Equilibrio entre las EROx la producción y la defensa antioxidante (AOX). B. Estrés oxidativo.....	70
Figura 16.Mecanismo potencial mediante el cual la hiperglicemia produce sobreproducción del anión $O_2^{\cdot -}$ mitocondrial y se activan las cuatro rutas de generación de daño por hiperglicemia .....	77
Figura 17: Signos de RD en funduscopia.....	82
Figura 18. A: RD incipiente. B: RD leve. C: RD moderada. D: RD severa. E: RD muy severa. F: RDP .....	84
Figura 19. Imagen de EMD en OCT .....	85
Figura 20. Retinógrafo TOPCON ImageNet TRC 50 JA Retinal.....	100
Figura 21. Tomógrafo de coherencia óptica de dominio espectral (HD-Cirrus).....	100
Figura 22. Tubos BD Vacutainer® para la obtención de muestras.....	103
Figura 23. A. placa de 96 pocillos de microtiter para fluorescencia. B Fluorímetro y luminómetro de microplacas.....	107
Figura 24: Preparación de la placa microtiter. A-G = Pocillos para estándares. S1-S41 = Pocillos para la muestra.....	110
Figura 25: Curva estándar Trolox .....	111
Figura 26. Frecuencia de la variable raza en el GC y GDM2.....	118
Figura 27. Comparación de la duración en años en paciente del GDM2-RD y GDM2+RD .....	120
Figura 28. Distribución de la frecuencia de AP de HTA al inicio del estudio en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD .....	121
Figura 29. Distribución de estado nutricional entre los diferentes grupos de estudio..	126
Figura 30. MAVC en la visita inicial en los diferentes grupos del estudio. ....	127
Figura 31. Distribución de los pacientes del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) .....	128
Figura 32. Datos comparativos correspondientes a la HbA1c media de cada uno de los grupos al inicio del estudio. ....	130

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 33. Resultados del análisis Redox en plasma humano del GC y GDM2 en la visita inicial.....	134
Figura 34. Resultados del análisis Redox en plasma humano del GC, GDM2-RD y GDM2-RD en la visita inicial. ....	135
Figura 35. Regresión logística en la que se observa como al aumentar el MDA/TBARS disminuye el AOX en la visita inicial .....	135
Figura 36. MAVC en la visita final en los diferentes grupos del estudio. ....	136
Figura 37. Distribución en la visita final del GDM2-RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) .....	137
Figura 38. Distribución en la visita final del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) .....	138
Figura 39. Sugerencia de calculadora de riesgo de desarrollo de RD en pacientes con DM2 .....	179

## **INTRODUCCIÓN**



# 1. DIABETES MELLITUS

---

## 1.1 DEFINICIÓN

La **Diabetes Mellitus (DM)** se define como un grupo de enfermedades metabólicas, genética y clínicamente heterogéneas, caracterizadas por una hiperglucemia crónica debido a un trastorno en el metabolismo de los hidratos de carbono, pero también de los lípidos y proteínas. Dicha alteración se produce como consecuencia de defectos en la secreción y/o en la acción de la insulina (hormona secretada por las células beta de los islotes de Langerhans pancreáticos que se encarga de regular el metabolismo de la glucosa y el metabolismo intermediario de las grasas, glúcidos y proteínas) y/o en la captación celular de la glucosa, produciéndose un aumento de ésta en sangre y en tejidos intersticiales (1). La hiperglucemia mantenida en el tiempo (de al menos 5-10 años de evolución) asocia a largo plazo complicaciones vasculares importantes ya sea en forma de macroangiopatía (cardiopatía isquémica, enfermedad cerebro-vascular, enfermedad vascular periférica) o de microangiopatía (retinopatía, nefropatía y neuropatía).

## 1.2 DIAGNÓSTICO

En el año 1997, la Asociación de Diabetología Americana (ADA) (2) publicó una serie de criterios diagnósticos y de clasificación que sustituían a los del *National Diabetes Data Group* publicado en 1979 (3). Cada año, en el mes de enero, se publica un suplemento monográfico en la revista *Diabetes Care* con los *Standards of Medical Care in Diabetes* que regularmente difunde esta asociación. Los criterios diagnósticos de DM empleados y aceptados en la actualidad fueron publicados en su último documento de 2014 y son los siguientes (4):

- Glucemia en ayunas (no ingesta calórica al menos durante 8 horas)  $\geq 126$  mg/dl (7.0mmol/L).
- Glucemia al azar  $\geq 200$  mg/dl (11.1mmol/litro) en presencia de síntomas clásicos de hiperglucemia (poliuria, polidipsia o pérdida de peso inexplicada) o crisis hiperglucémicas.
- Glucemia  $\geq 200$  mg/dl (11.1mmol/l) a las 2 horas tras la sobrecarga oral con 75 gramos de glucosa (SOG).

## INTRODUCCIÓN

- Hemoglobina glicosilada (HbA1c)  $\geq 6,5\%$ . El test debe realizarse en un laboratorio que use un método certificado por el *National Glicohemoglobin Standardized Program* (NGSP) y estandarizado según el ensayo *Diabetes Control and Complication Trial* (DCCT) (5).

Una cifra diagnóstica de DM con cualquiera de los test (salvo si hay síntomas de hiperglucemia o hiperglucemia severa) debe de confirmarse mediante una segunda determinación preferentemente con el mismo test.

En determinadas circunstancias, como hemoglobinopatías o situaciones en las que existe una alteración del hematocrito (gestación, anemia ferropénica, hemólisis), el diagnóstico debe hacerse sólo con los criterios de glucemia.

En ocasiones se dispone de resultados de dos test diferentes (por ejemplo glucemia en ayunas y hemoglobina glicosilada) de un mismo paciente. Si los resultados de ambos test están por encima del punto de corte, se establece el diagnóstico de DM. Si son discordantes, se debe repetir el que esté por encima del punto de corte para poder confirmar el diagnóstico. Si esta segunda determinación estuviera por debajo del punto de corte de diagnóstico, se recomienda seguimiento del paciente y repetir la prueba en 3-6 meses.

### 1.3 CLASIFICACIÓN

La clasificación previa agrupaba bajo el término DM, alteraciones que difieren marcadamente en su patogénesis, evolución natural, respuesta terapéutica y prevención. A esto se agregan distintos factores genéticos y del medio ambiente que conducen a formas de DM que parecen fenotípicamente similares pero que pueden tener etiologías distintas. Por ello, los criterios de clasificación y diagnóstico elaborados por el *National Diabetes Data Group* y recomendados por la Organización mundial de la Salud (OMS), han sido revisados por el Comité de Expertos para el Diagnóstico y Clasificación de la Diabetes Mellitus de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) con el objetivo de plantear una nueva clasificación, dejando de lado el criterio terapéutico y teniendo en cuenta la etiología de la enfermedad (3), de esta forma se establecieron cuatro tipos principales de DM:

**1. Diabetes mellitus tipo 1 (DM1):** Constituye el 5-10% del total y aparece como resultado de un déficit (habitualmente absoluto) en la secreción de insulina.

- **Diabetes inmunomediada.** Previamente denominada DM insulino-dependiente (DMID) o diabetes de comienzo juvenil. Se produce por destrucción autoinmune (inmunidad celular) de las células beta ( $\beta$ ) pancreáticas por lo que la secreción de insulina termina siendo mínima o inexistente. Se presenta en general durante la primera infancia y la adolescencia y la cetoacidosis puede ser la primera manifestación de la enfermedad; sin embargo, su aparición puede ocurrir a cualquier edad.

La predisposición genética es múltiple y además se relaciona con factores ambientales aún mal definidos; aunque es rara la presencia de obesidad no es incompatible con el diagnóstico.

Otras enfermedades autoinmunes, tales como enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, vitíligo y anemia perniciosa, pueden asociarse.

- **Diabetes idiopática:** Se refiere a las formas de etiología desconocida de mínima prevalencia. En algunos casos la insulinopenia es persistente y hay tendencia a la cetoacidosis sin evidencias de enfermedad autoinmune. Tiene una importante carga hereditaria y carece de evidencias inmunológicas para autoinmunidad celular, no vinculada al complejo HLA.

**2. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2):** Previamente denominada diabetes mellitus no insulino-dependiente (DMNID), diabetes mellitus tipo 2 o diabetes de inicio en la edad adulta. Es el tipo más frecuente, constituyendo el 90-95% del total. Aparece en sujetos que presentan resistencia a la insulina y un déficit relativo (más que absoluto) y progresivo de insulina por alteraciones en su secreción. Presenta una importante predisposición genética aunque no bien aclarada, mayor que la forma autoinmune de la diabetes tipo 1.

**3. Otros tipos específicos de DM debidos a otras causas:**

- **Defectos genéticos en la función de las células  $\beta$ pancreáticas.** Previamente denominada diabetes mellitus tipo MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*): Es una forma de diabetes secundaria a la mutación

de genes que intervienen en la secreción de insulina por las células  $\beta$  y que ocasionan por ello una disminución en su secreción. Se caracteriza por un debut de diabetes en estados precoces, generalmente antes de los 25 años y con una hiperglucemia leve. Su herencia es autosómico dominante y se han identificado en la actualidad seis tipos de MODY causados por la mutación en seis genes diferentes (tabla 1).

Tipo de MODY	Gen implicado	Cromosomas
MODY 1	FHN 4 <sup>a</sup>	20
MODY 2	Glucoquinasa	7
MODY 3	FHN 1 <sup>a</sup>	12
MODY 4	FPI 1	13
MODY 5	FHN 1b	17
MODY 6	NEURID1	$\beta$ E-box-TA2

Tabla 1. Características de la diabetes MODY

- **Defectos genéticos en la acción de la insulina:** Se produce por mutaciones en el gen que codifica el receptor de la insulina.
- **Enfermedades del páncreas exocrino:** Cualquier patología que afecte de manera difusa al páncreas puede causar diabetes.
  - Entre los procesos adquiridos se incluyen: pancreatitis, trauma, infección, pancreatectomía y carcinoma de páncreas (el cual puede provocar diabetes a pesar de que la afectación no sea extensa).
  - Entre los procesos congénitos podemos destacar la fibrosis quística y hemocromatosis.
- **Endocrinopatías:** Existen múltiples patologías como la acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma, feocromocitoma e hipertiroidismo en las que se puede producir hiperglucemia por el efecto contrainsular de las hormonas liberadas (hormona del crecimiento, cortisol, glucagón, epinefrina). En el caso de somatostatina y aldosteronoma, la hiperglucemia se debe a un defecto de secreción de la insulina, secundario a las hipopotasemia que se produce en dichas enfermedades.

- **Diabetes inducida farmacológica o químicamente:** Existen múltiples fármacos que pueden producir hiperglucemia, tales como los glucocorticoides, tiacidas, fenitoína, anticoagulantes orales, pentamidina, etc.
  - **Infecciones:** Se han asociado algunos virus con la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas como la rubeola, coxsakie B, citomegalovirus, adenovirus y virus de la parotiditis.
  - **Formas no comunes de diabetes inmunomediada.**
    - **Anticuerpos anti-receptor de la insulina** (antiguamente denominado síndrome de resistencia a la insulina tipo B): Se debe a la presencia de autoanticuerpos contra los receptores de la insulina. El bloqueo de dichos receptores puede provocar hiperglucemia o hipoglucemia si se produce una estimulación de los mismos. Estos pacientes pueden asociar otras enfermedades autoinmunes como por ejemplo el lupus eritematoso sistémico.
    - El **síndrome de la persona rígida** o **SPS** (*Stiff person syndrome* o *stiff-man syndrome*) es una enfermedad autoinmune del sistema nervioso central, infrecuente, de etiología desconocida y que se caracteriza por contracciones musculares tónicas, fluctuantes y progresivas de la musculatura axial y espasmos dolorosos (6). Estos pacientes suelen tener títulos elevados de auto-anticuerpos circulantes contra la decarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y aproximadamente 1/3 desarrollan diabetes (7, 8).
  - **Otros síndromes genéticos ocasionalmente asociados con la diabetes.** Existen múltiples síndromes genéticos acompañados de un incremento de la incidencia de diabetes: síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, síndrome de Wolfram, entre otros.
- 4. Diabetes mellitus gestacional (DMG):** Se define como un grado de intolerancia a la glucosa que se inicia o diagnostica por primera vez durante el embarazo, independientemente de la severidad, requerimiento insulínico, o persistencia post-parto. La mayoría de estas pacientes son mujeres con predisposición genética o metabólica a la diabetes, incapaces de compensar de forma adecuada los efectos diabetógenos del embarazo (resistencia a la insulina, aumento de lipólisis y disminución de gluconeogénesis).

## INTRODUCCIÓN

Los principales factores de riesgo para desarrollar esta enfermedad son: DMG previa, obesidad materna, edad mayor de 30 años, antecedentes familiares de diabetes, grupos étnicos de alto riesgo, antecedentes de macrosomía fetal y mortalidad perinatal previa.

Se debe considerar que en el momento del diagnóstico muchos pacientes no presentan criterios claros para ser incluidos en una clase diagnóstica definida, pero sí es posible que el diagnóstico se haga más claro con la evolución de la enfermedad.

<b>DM1</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Inmunomediada</li><li>• Idiopática</li></ul>
<b>DM2</b>
<b>Otros tipos específicos:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Defectos genéticos en la función de las células <math>\beta</math> pancreáticas.</li><li>○ Defectos genéticos en la acción de la insulina.</li><li>○ Enfermedades del páncreas exocrino<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Pancreatitis</li><li>▪ Pancreatectomía/trauma</li><li>▪ Neoplasia</li><li>▪ Fibrosis quística</li><li>▪ Hemocromatosis</li><li>▪ Pancreatopatía fibrocalculosa</li><li>▪ Otros</li></ul></li><li>○ Endocrinopatías:<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Acromegalia</li><li>▪ Síndrome de Cushing</li><li>▪ Glucagonoma</li><li>▪ Feocromocitoma</li><li>▪ Hipertiroidismo</li><li>▪ Somatostatina</li><li>▪ Aldosteronoma</li><li>▪ Otros</li></ul></li><li>○ Diabetes inducida farmacológica o químicamente</li><li>○ Infecciones (Rubeola congénita, coxsakie B, citomegalovirus, adenovirus y virus de la parotiditis).</li><li>○ Formas no comunes de diabetes inmunomediada.<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Anticuerpos anti-receptor de la insulina</li><li>▪ Síndrome de la persona rígida o SPS</li><li>▪ Otros</li></ul></li><li>○ Otros síndromes genéticos ocasionalmente asociados con la diabetes:<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Síndrome de Down</li><li>▪ Síndrome de Klinefelter</li><li>▪ Síndrome de Turner</li><li>▪ Síndrome de Wolfram</li><li>▪ Ataxia de Friedrich</li><li>▪ Corea de Huntignton</li><li>▪ Distrofia miotónica</li><li>▪ Otros</li></ul></li></ul>
<b>Diabetes mellitus gestacional (DMG)</b>

Tabla 2. Clasificación de la Diabetes Mellitus

## 1.4 ETIOPATOGENIA DE LA DIABETES

### 1.4.1 DM1

La DM1 es una enfermedad multifactorial con un fuerte componente genético. La secuencia patogénica actualmente más admitida es la de una predisposición genética seguida de una agresión ambiental que desencadena una respuesta autoinmune frente a las células  $\beta$  pancreáticas generando un déficit absoluto de insulina.

Se han asociado más de 40 vínculos genéticos con esta enfermedad, pero la más dominante se ha establecido con el locus de histocompatibilidad HLA (*Human Leucocyte Antigen*) tipo II, localizado en el cromosoma 6 (9).

Múltiples estudios han demostrado que los haplotipos más fuertemente asociados con la susceptibilidad a la enfermedad son DQB1 A (\*02:01), DQA1 V (\*03:02), DRB1 H y DRB1 K (HLA-DRB1\*03:01, \*04:01, \*04:02, y \*04:05), mientras DPB1 YD, HLA-B C, y HLA-C YY tienen una asociación más débil.

No obstante, para desencadenar el proceso autoinmune en sujetos genéticamente predispuestos se requieren de otros factores ambientales (10), lo que explicaría porqué sólo entre el 30-70% de los gemelos monocigóticos son concordantes en la aparición de este tipo de diabetes (11, 12). Aunque se han señalado numerosos factores ambientales, no se ha relacionado de manera concluyente con ninguno de ellos; podrían ser virus (13) (principalmente los enterovirus (14)), tóxicos u otros inmunogénicos.

Los individuos susceptibles frente a condiciones ambientales expresarían en las células  $\beta$  pancreáticas, antígenos del tipo II de histocompatibilidad anormales, que serían desconocidos por el sistema de inmunocompetencia del sujeto. Ello inicia un proceso de autoinmunoagresión, de velocidad variable, que lleva en meses o años a una reducción crítica de la masa de células  $\beta$  y a la expresión de la enfermedad.

En la actualidad, es posible detectar el proceso en su fase pre-clínica (Prediabetes) a través de la detección de anticuerpos anti-islotos celulares (*Islet Cell Antibodies* o ICAs), anti-decarboxilasa del ácido glutámico (GAD), anticuerpos frente a la fosfatasa de protein-kinasa de células  $\beta$  (IA-2 e IA-2 $\beta$ ) y anticuerpos contra la insulina (INS-Ab) los cuales, en concentraciones elevadas y persistentes, junto a un deterioro de la respuesta de la fase rápida de secreción de insulina permiten predecir la aparición de la enfermedad. Normalmente uno o más de estos autoanticuerpos están presentes en el 85-90% de individuos en los que se detecta inicialmente hiperglucemia (4).

## INTRODUCCIÓN

Si bien el fenómeno de la autoinmunoagresión es progresivo y termina con la destrucción casi total de las células  $\beta$ , la enfermedad puede expresarse antes de que ello ocurra, al asociarse a una situación de estrés que inhibe de forma transitoria la capacidad secretora de insulina de las células residuales.

En la etapa clínica puede haber una recuperación parcial de la secreción insulínica que dura algunos meses ("luna de miel"), para luego tener una evolución irreversible con insulinopenia que se puede demostrar por los bajos niveles de péptido C ( $< 1\text{ng/ml}$ ). Los pacientes van entonces a depender de la administración exógena de insulina para mantener la vida y no desarrollar una cetoacidosis.

### **1.4.2 DM2**

La fisiopatología de la DM2 es menos conocida que la DM1. Es una enfermedad poligénica y multifactorial en la que siempre existen tres alteraciones constantes: resistencia periférica a la insulina, secreción alterada de la insulina y producción aumentada de glucosa por parte del hígado (15).

El mecanismo de herencia en la DM2 no es conocido, pero la influencia genética es importante (mayor que en la DM1). La concordancia entre gemelos monocigóticos es del 70-90%, y el riesgo de presentar intolerancia a la glucosa o DM en familiares de primer grado de DM2 es considerable, hasta el 40% en un sujeto en el que ambos progenitores padezcan esta enfermedad. Es muy probable que existan varios genes implicados en el origen de la DM2, aunque todavía no han sido identificados ni se ha observado ninguna relación con el sistema HLA.

También se han asociado una serie de factores ambientales con este tipo de DM, destacando entre ellos la obesidad, envejecimiento, inactividad física y dietas hipercalóricas.

Reunidas estas condiciones, en los sujetos que desarrollan la enfermedad existen dos alteraciones principales: déficit de la secreción de insulina por el páncreas y resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos. La mayoría de autores considera que la resistencia a la insulina provoca una hipersecreción de dicha hormona para compensar la resistencia y finalmente la capacidad de las células  $\beta$  pancreáticas se acaba agotando conduciendo al sujeto a una hiperglucemia.

## 1.5 EPIDEMIOLOGÍA

### 1.5.1 EPIDEMIOLOGÍA DM1

La DM1 sólo representa una pequeña parte de la carga total de enfermedad aunque parece observarse un rápido e importante incremento anual en el número de niños que desarrolla este tipo de DM, especialmente entre los niños más pequeños.

Tres proyectos de colaboración internacional, el estudio *Diabetes Mondiale (DIAMOND)* (16) y el estudio *Europa and Diabetes (EURODIAB)* (17), y más recientemente en Estados Unidos, el estudio *SEARCH for Diabetes in Youth* (18), han sido decisivos a la hora de monitorizar las tendencias en su incidencia observándose un aumento total anual del 3% de esta enfermedad en niños menores de 15 años (16, 19). Hay fuertes indicios de diferencias geográficas en estas tendencias observándose un aumento más pronunciado en algunos países de Europa Central y del Este, donde la enfermedad es menos frecuente.

En definitiva, se estima que unos 79.100 niños y niñas menores de 15 años desarrollan DM1 cada año en todo el mundo. De los aproximadamente 497.100 niños que viven con DM1, el 26% vive en la Región de Europa, con tasas más altas en los países del norte y más bajas en los de Europa central, sur y este.

<b>DM1 EN NIÑOS (0-14 años)</b>	<b>2013</b>
Población infantil total (miles de millones)	1,9
Número de niños con DM1 (miles)	497,1
Número de niños por año (miles)	79,1
Incremento anual de la incidencia (%)	3

Tabla 3: Datos mundiales de incidencia de la DM1. Fuente: IDF Diabetes Atlas 2013 (20)

### 1.5.2 EPIDEMIOLOGÍA DM2

Debido a que este proyecto se basa en el estudio de pacientes con DM2 vamos a desarrollar su epidemiología de forma más amplia.

#### 1.5.2.1 PREVALENCIA A NIVEL MUNDIAL

La DM2 es sin duda uno de los problemas de salud más graves del siglo XXI. Sus proporciones son ya epidémicas mundialmente afectando a más de 366 millones de

## INTRODUCCIÓN

personas en el mundo y constituyendo la primera causa de ceguera, tratamiento sustitutivo renal y amputación no traumática en los países occidentales; y asociándose a las enfermedades cardiovasculares como primera causa de muerte.

En la última edición del 2013 del Atlas de Diabetes de la *International Diabetes Federation* (IDF) (20) se hace una estimación de la prevalencia de la DM para los años 2013 y 2035. La prevalencia mundial estimada por la IDF en su último informe se sitúa en el 8,3 %, que supone 382 millones de personas entre 20 y 79 años, y se prevé, con el mantenimiento de esta tendencia, que el número de diabéticos se incremente en más de 592 millones en menos de 25 años, es decir, una de cada 10 personas padecerá de DM en el año 2035.

Hay que tener en cuenta que aproximadamente 175 millones de casos no han sido diagnosticados en la actualidad por lo que una gran cantidad de personas con DM no conocedoras de su enfermedad van a desarrollar progresivamente importantes complicaciones. Por otra parte, el 80% del número total de afectados viven en países de ingresos medios y bajos donde la epidemia se está acelerando a un ritmo alarmante.

<b>DM2</b>	<b>2013</b>	<b>2035</b>
Prevalencia global (%)	8,3	10,1
Prevalencia comparativa (%)	7,2	8,8
Milones de personas con diabetes	382	592

Tabla 4: Datos mundiales de prevalencia de DM2. Fuente: IDF Diabetes Atlas 2013 (20)

Los datos de la IFD proceden de 219 países y territorios, agrupados en las siete regiones en las que la prevalencia de DM se distribuye de forma desigual:

- Las estimaciones sugieren que más del 8% de adultos, entre 20 y 79 años, residentes en países de la Unión europea (56,3 millones de personas) padecían DM en 2013. En el continente europeo existe disparidad en la prevalencia entre países.
- El Pacífico Occidental constituye la región con mayor número de diabéticos.
- La población diabética africana es actualmente la de menor prevalencia, aunque se prevé que en el año 2035 sea el doble.

- En América Central y del Sur también se prevé un aumento del 60% en el año 2035.
- Respecto al Sudeste Asiático, el rápido desarrollo ha conducido a una epidemia de la DM de veloz crecimiento que representa cerca de una quinta parte del total de casos en todo el mundo.
- Del mismo modo, la riqueza y el desarrollo en Oriente Medio y Norte de África han conducido a una gran proporción de DM, y uno de cada diez adultos de la región tiene la enfermedad.

REGIÓN DE LA IDF	2013 (millones)	2035 (millones)	AUMENTO (%)
África	19,8	41,4	109
Oriente medio y Norte de África	34,6	67,9	96
Sudeste asiático	72,1	123	71
América central y del Sur	24,1	38,5	60
Pacífico Occidental	138,2	201,8	46
América del Norte y Caribe	36,7	50,4	37
Europa	56,3	68,9	22
A nivel mundial	381,8	591,9	55

Tabla 5: Datos mundiales de prevalencia por regiones. Fuente: IDF Diabetes Atlas 2013 (20)

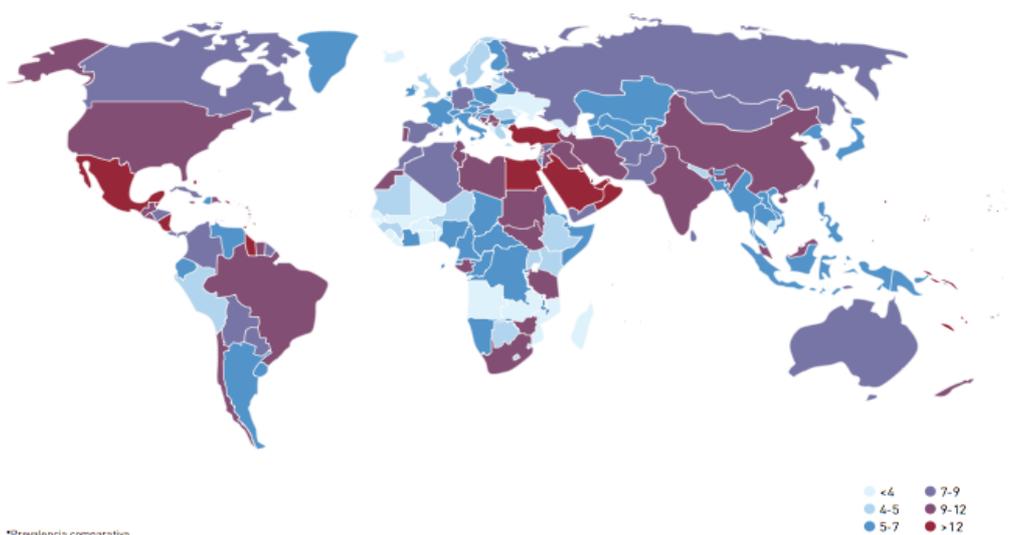


Figura 1. Prevalencia comparativa (%) de adultos con DM en el año 2013. Fuente: IDF Diabetes Atlas 2013 (20)



Figura 2. Número de adultos con DM en 2013. Fuente: IDF Diabetes Atlas 2013 (20)

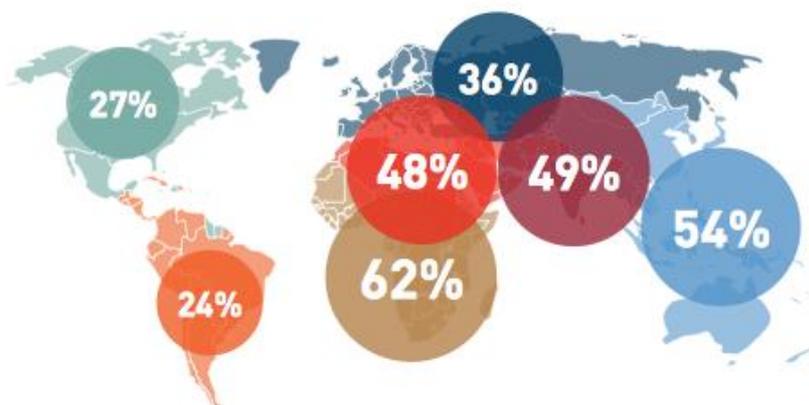


Figura 3. Proporción de adultos con DM no diagnosticada en 2013. Fuente: IDF Diabetes Atlas 2013 (20)

### A. Distribución por edades

Casi el 50% de todos los adultos con DM tienen entre 40 y 59 años de edad. Más del 80% de los 184 millones de personas con DM de este grupo de edad vive en países de ingresos medios y bajos. En 2035, se espera que este número aumente a 264 millones, viviendo más del 86% en países de ingresos medios y bajos.

### B. Distribución por sexos

Hay una pequeña diferencia entre sexos en el número global de personas con DM en 2013 o 2035. Hay alrededor de 14 millones más de hombres que de mujeres con DM (198 millones de hombres frente a 184 millones de mujeres). Sin embargo, se espera

que esta diferencia aumente en 15 millones (305 millones de hombres frente a 288 millones de mujeres) en 2035.

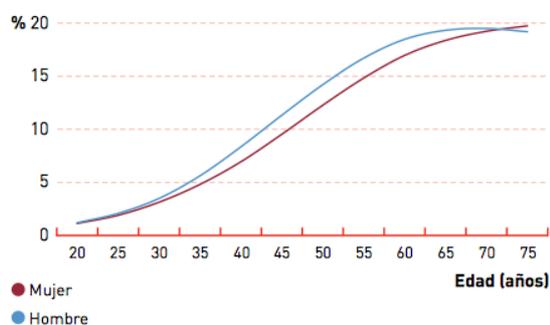


Figura 4. Prevalencia (%) de DM por edad y sexo en el año 2013. Fuente: IDF Diabetes Atlas 2013 (20)

### 1.5.2.2 PREVALENCIA EN ESPAÑA

Existe una gran variabilidad en la prevalencia reportada de DM en nuestro país. La situación epidemiológica de la DM2 en España revisada en el año 2012 y publicada en el informe Estrategia en Diabetes del Sistema Nacional de Salud, del Ministerio de Sanidad y Consumo (21) recoge una prevalencia de aproximadamente un 6,5% en la población entre 16 y 75 años o más, si bien puede variar entre el 6% y el 12% en función de los distintos estudios, poblaciones y métodos utilizados para el diagnóstico (tabla 6).

Grupo de edad	Ambos sexos	Hombres	Mujeres
De 16-24	0,3	0,5	0,2
De 25-34	1,0	0,5	1,5
De 35-44	1,5	1,5	1,5
De 45-54	4,2	5,3	3,1
De 55-64	11,5	13,4	9,7
De 65-74	17,7	18,9	16,6
Mayores de 75	20,4	20,3	20,5
<b>TOTAL</b>	<b>6,4</b>	<b>6,4</b>	<b>6,4</b>

Tabla 6. Porcentaje de españoles > 16 años con DM diagnosticada por profesionales de la medicina, según sexo y grupo de edad. Fuente: Encuesta Europea de Salud en España 2009. IIS (MSSSI) e INE(22).

## INTRODUCCIÓN

A día de hoy, el estudio di@bet (23) es el único estudio realizado íntegramente en territorio español para obtener los datos más actualizados en lo referente a la prevalencia de DM2 en España, así como de otros factores de riesgo cardio-metabólicos como la obesidad, la hipertensión arterial (HTA), y los hábitos de salud en general. Se trata de un estudio transversal realizado el 2009-10 con un reclutamiento de 5419 participantes. Los resultados obtenidos mostraron que casi el 30% de la población incluida en el estudio tenía algún trastorno de la glucosa y que la prevalencia total (IC del 95%) de DM2 ajustada por edad y sexo fue de 13,8% (12,8, 14,7%). De éstos la DM desconocida es del 6%, [5.4-6.7%, IC 95%].

Por otro lado, el estudio DARIOS realiza un análisis agrupado de datos individuales de 28.887 personas entre 35 y 74 años (edad media 54 años) de 11 estudios poblacionales españoles. Para estas edades, este estudio encuentra una prevalencia total de DM del 16% en hombres y del 11% en mujeres (conocida 13% y 10% respectivamente) (24).

Respecto al análisis por regiones, en la Comunidad Valenciana el porcentaje de personas mayores de 16 años que declaran haber tenido DM diagnosticada por profesionales de la medicina alguna vez en su vida es, según datos de la ENSE de 2009, del 7,3% (7,4% hombres y 7,1% mujeres), siendo la cuarta comunidad autónoma con mayor prevalencia de DM2 por detrás de Ceuta y Melilla (9.4% y 10.5%, respectivamente) y la región de Murcia (8.6%) y Extremadura (8.3%).

Cabe señalar que existe una diferencia entre lo que declara la población y la prevalencia encontrada en el estudio di@bet. Según datos de la Encuesta Europea de Salud (EES) realizada en España en el año 2009 (22), el porcentaje de personas que declaran haber padecido alguna vez en su vida, DM diagnosticada (por profesionales de la medicina) es de 6,4% (sin prácticamente diferencias entre sexos). Un 5,9% de los encuestados refiere tener DM diagnosticada y haberla padecido en los 12 meses antes de la entrevista. En este análisis de situación y por razones de comparación con datos de encuestas anteriores se usará la cifra de 6,4% de prevalencia de DM padecida alguna vez y diagnosticada por profesionales de la medicina.

La tendencia en la prevalencia declarada de DM ha sido ascendente desde 1993 según las diferentes Encuestas Nacionales de Salud en España (ENSE). La prevalencia de DM declarada por la población en mayores de 16 aumentó de 4,1% en 1993 a 6,4% en 2009. Esta tendencia ascendente se atribuye a factores como el envejecimiento de la población

y los cambios en estilos de vida (alimentación hipercalórica y menor actividad física) que redundan en una mayor obesidad. El seguimiento estructurado de detección en el ámbito del Programa de Actividades Preventivas y de Promoción de la Salud en Atención Primaria (PAPPS) también ha podido jugar un papel en este incremento.

Cabe destacar que el mayor problema lo constituye el ritmo de crecimiento. Las previsiones para las próximas décadas debido al incremento mundial de la obesidad, y la vida sedentaria calculan proporciones pandémicas de DM2, y para el 2030 se prevé que uno de cada 10 adultos tendrá DM.

### **1.5.3 INCIDENCIA**

Cada vez más son los estudios que valoran la incidencia de DM2 y sus factores de riesgo asociados, pero son pocos los estudios observacionales que valoran la incidencia de DM2 en la población total. Es por ello, que los resultados obtenidos llegan a ser muy variables dependiendo de la zona geográfica, los criterios diagnósticos establecidos y el estado fisiopatológico de la población estudiada. Goday *et al.* en su estudio epidemiológico estiman una incidencia de DM2 en 8/1.000 habitantes año (25).

Entre los estudios poblacionales, el llevado a cabo en Lejona (Vizcaya) obtuvo una incidencia de DM2 total de 8,2 casos/1.000 sobre todo a partir de los 60 años de edad. (26). Posteriormente, en un estudio longitudinal retrospectivo realizado en población de Barcelona de más de 14 años (27), la incidencia acumulada fue de 3,79 casos/1000 personas-año, mientras que en 2004-2005 en una población asturiana de 630 sujetos de 30-45 años de edad las cifras fueron de 10.8 casos/1000 personas-año (IC95%: 8,1-14,8) (28). En 2003-2004 en 714 sujetos del estudio Pizarra (Málaga) de 18-65 años de edad se observó una incidencia de 19.1 casos/1000 personas-año (29). Estudios más recientes como el realizado en el año 2012 en la Comunidad de Madrid, se ha observado que la incidencia de diabetes fue de 8.59 casos/1000 personas-año en población mayores de 24 años (30). En Cataluña, el estudio ITG realizado en población con intolerancia a la glucosa o alteraciones de la glucemia basal y con una media de seguimiento de 3.11 años mostró una cifras de incidencia media de DM2 del 9.26% (31).

No hay información sobre la incidencia de la DM tipo 2 en la Comunidad Valenciana, no disponemos de datos suficientemente representativos, y tampoco conocemos la evolución de la incidencia de la DM2 por edad y sexo en nuestra población.

## 1.6 FACTORES DE RIESGO DE LA DM2

La obesidad y la inactividad física son factores de riesgo para la DM2. Tanto un Índice de Masa Corporal (IMC) elevado como especialmente la obesidad central o abdominal se asocian a la enfermedad. Está documentado que el riesgo de padecer DM aumenta de forma lineal al aumentar el IMC y, en mujeres este aumento en el riesgo empieza con un IMC considerado como normal ( $22 \text{ kg/m}^2$ ).

Estos dos elementos, junto con una presión arterial (PA) elevada, el consumo de tabaco, el nivel elevado de glucosa en sangre, han sido identificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como los principales factores de riesgo de mortalidad (32).

## 1.7 COMPLICACIONES DE LA DM

Las complicaciones debidas a la DM son una causa importante de discapacidad, disminución de la calidad de vida y muerte. Las complicaciones de la DM pueden afectar a diferentes partes del cuerpo, y se manifiestan de diferentes maneras en diferentes personas.

Dichas complicaciones se clasifican en:

- **Agudas:** En forma de hiperglucemia descontrolada o hipoglucemia.
- **Crónicas:** Relacionadas con la hiperglucemia mantenida y las comorbilidad asociadas a la DM (obesidad, HTA, dislipemia...), dando lugar a macro y microangiopatías

### 1.7.1 COMPLICACIONES AGUDAS

Las complicaciones agudas de la DM incluyen: cetoacidosis, coma hiperosmolar no cetósico y la hipoglucemia.

### 1.7.2 COMPLICACIONES CRÓNICAS

Distinguimos dos tipos de complicaciones crónicas:

- **Macroangiopatías:** Lesiones difusas de vasos de gran tamaño. En este grupo se

incluye la enfermedad cardiovascular (ECV) que incluye: cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, enfermedad vascular cerebral (EVC) y la enfermedad vascular periférica (EVP).

La ECV es la principal causa de morbimortalidad en los individuos con DM, presentando un riesgo de ECV de dos a cuatro veces superior al de los que no tienen DM (33); concretamente en España, es la causa de muerte en al menos la mitad de los individuos con DM2 (34, 35), si bien otros estudios indican que este porcentaje es de hasta un 75-80% (25). El control estricto de la glucemia, junto con el control multifactorial (HTA, dislipemia, tabaquismo y obesidad) ha demostrado disminuir el riesgo de ECV (36).

- **Microangiopatías:** Son lesiones difusas de vasos de pequeño tamaño. En este grupo se incluye la nefropatía, neuropatía y RD (ver apartado 3). El control estricto de la glucemia ha demostrado reducir estas complicaciones microvasculares (37).

### 1.7.3 COMPLICACIONES MIXTAS

Se incluyen complicaciones que pueden tener un origen tanto macro como microvascular. Dentro de éstas se incluye el pie diabético y la disfunción eréctil.

## 2. ANATOMÍA RETINIANA

---

La retina es una estructura ocular altamente organizada encargada de recibir los estímulos luminosos del exterior y convertirlos en un impulso eléctrico hacia la corteza occipital donde se procesarán las imágenes.

### 2.1 ANATOMÍA MACROSCÓPICA

De todas las capas del globo ocular, la retina constituye la capa más interna, en íntimo contacto con el humor vítreo internamente y con la coroides en su parte externa. Por su parte anterior limita con el epitelio ciliar de la pars plana, en esta zona la retina forma una corona circular dentada denominada ora serrata.

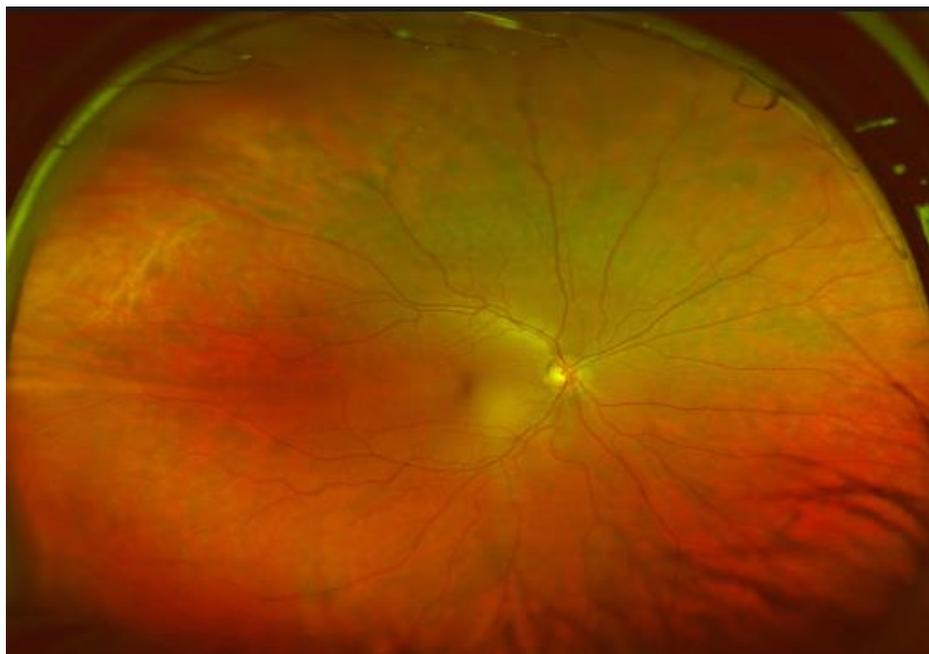


Figura 5. Imagen retiniana obtenida mediante el sistema de retinógrafo de campo amplio P200C Optomap FA<sup>®</sup> (Optos Plc, Dunfermline, Scotland, UK)

## 2.2 HISTOLOGÍA

Histológicamente, en la retina distinguimos dos grandes capas: la retina neurosensorial (RNS) y el epitelio pigmentario retiniano (EPR) (figura 6).

- La **RNS** está compuesta por cuatro tipos de células: neuronas (fotorreceptores, células bipolares, célula amacrinas, células horizontales, células ganglionares y células interfasciculares), células vasculares (pericitos y células endoteliales) y células gliales (células de Müller, astrocitos y células microgliales) (figura 7) organizadas en nueve capas contiguas que del vítreo al EPR se organizan de la siguiente forma:
  - Membrana limitante interna (MLI): El polo proximal de las células de Müller finaliza en una expansión denominada pie terminal, que descansa en su lámina basal, denominada MLI Fibrillas vítreas de colágeno se fusionan con esta membrana aumentando su espesor.
  - Capa de fibras nerviosas (CFN): Formada por los axones de la capa de células ganglionares. Los axones de las células ganglionares se disponen paralelos a la superficie interna de la retina para formar esta capa y

posteriormente a la salida forman el nervio óptico junto con las células gliales de sostén..

- Capa de células ganglionares: Capa constituida por los núcleos de las células ganglionares.
- Capa plexiforme interna: En esta capa los axones de las células bipolares, amacrinas e interfasciculares hacen contacto sináptico con las células ganglionares.
- Capa nuclear o granulosa interna: Constituida por los núcleos de las células bipolares, horizontales, interfasciculares, amacrinas y células de Müller.
- Capa plexiforme externa: Constituida por sinapsis entre fotorreceptores con células bipolares, células horizontales e interfasciculares.
- Capa nuclear o granulosa externa: Constituida por los núcleos de los fotorreceptores.
- Membrana limitante externa (MLE): No es una verdadera membrana y está formado por uniones desmosómicas entre fotorreceptores con los procesos apicales o prolongaciones externas de las células de Müller.
- Capa de fotorreceptores: Formada por células neuroepiteliales altamente diferenciadas denominadas conos y bastones. Están formadas por un segmento externo en contacto con el EPR, un núcleo y un terminal sináptico (denominado esférula en los bastones, penachos o pedículos en los conos). Concretamente en esta capa encontramos los segmentos externos de dichas células.
- El **EPR** es una capa de tejido monocelular de densidad irregular. Tiene forma cuboidal y hexagonal, con procesos vellosos que envuelven los segmentos externos de los fotorreceptores. También contiene gránulos de melanina y es más alto, de pigmentación más densa y de forma más columnar en la mácula central. El EPR constituye la barrera hemato-retiniana externa (BHRE) y actúa bombeando fluidos por transporte activo desde la retina a la coroides.

## INTRODUCCIÓN

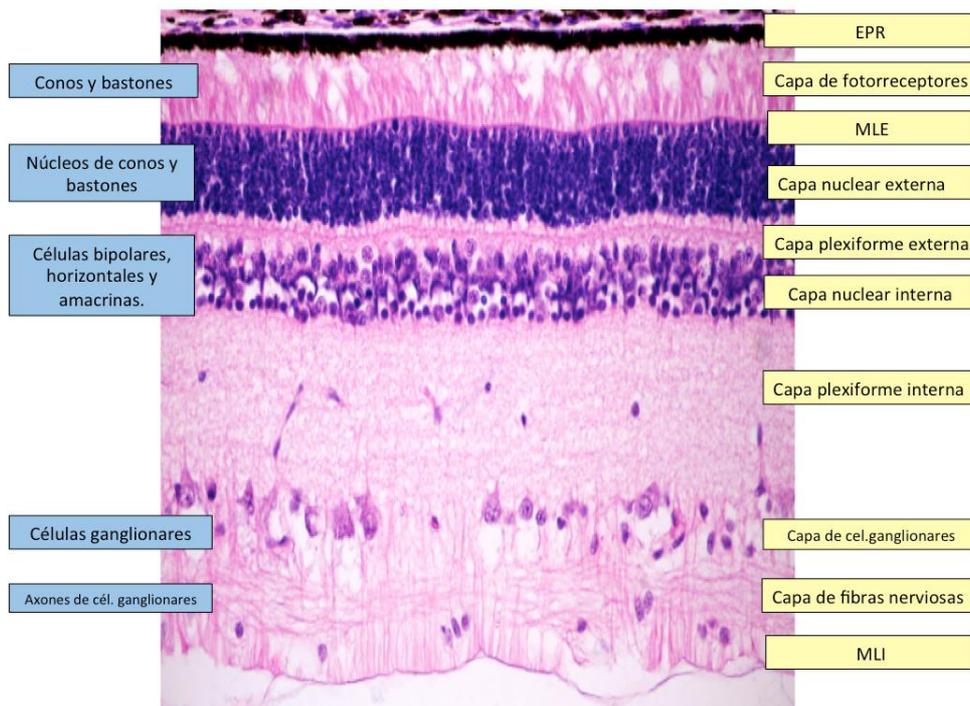


Figura 6. Sección vertical de retina de ojo humano vista con microscopía óptica.

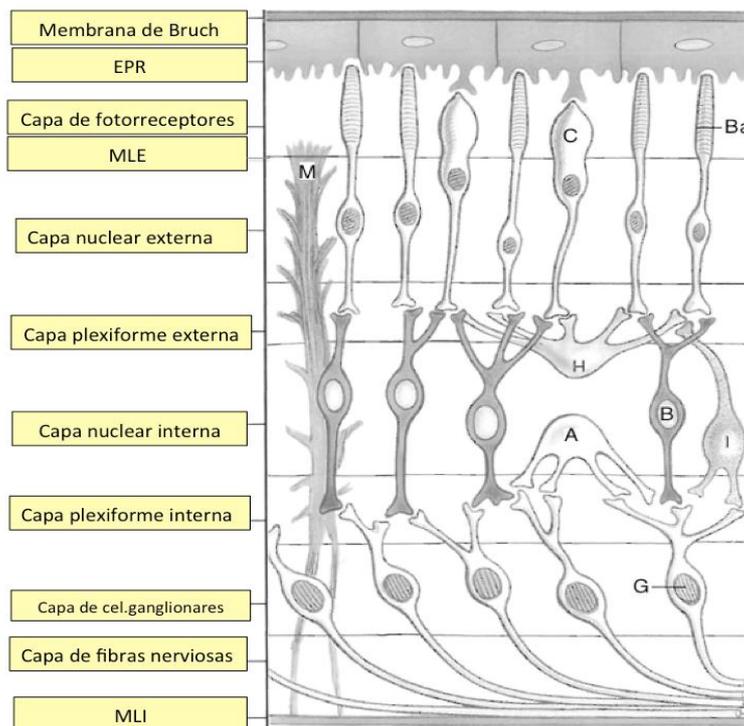


Figura 7. Tipos de células y capas histológicas de la retina humana. Se observa la relación sináptica básica entre bastones (Ba), conos (C), células bipolares (B), horizontales (H) e interfasciculares (I) en la capa plexiforme externa, así como las sinapsis entre células bipolares, interfasciculares y amacrinas (A) con las células ganglionares en la capa plexiforme interna. Las células de Müller (M) se extienden a través de casi todo el espesor de la retina neurosensorial; los procesos apicales de estas células forman la MLE; las prolongaciones internas forman parcialmente la MLI. Fuente: American Academy of Ophthalmology (38).

## 2.3 VASCULARIZACIÓN RETINIANA

La nutrición y oxigenación de la retina proviene de dos fuentes:

- La retina más externa, que corresponde a células del EPR y fotorreceptores, se nutre por difusión a través de la capa **coriocapilar** de la coroides.
- Los dos tercios internos de la retina (desde capa nuclear interna a MLI) reciben la vascularización de los **capilares retinianos** derivados de la arteria central de la retina (ACR), rama de la arteria oftálmica (figura 8). Dicha circulación se dispone en dos planos separados:
  - La red capilar superficial se localiza en la capa de fibras nerviosas y células ganglionares.
  - La red capilar profunda, más densa y compleja que la capa superficial, se localiza en la capa nuclear interna.

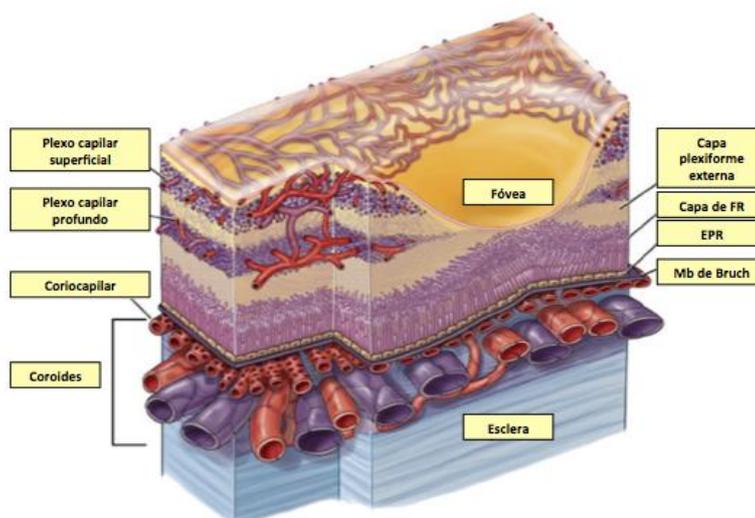


Figura 8. Vascularización retiniana y coroidea. Fuente: Kur et al. (39).

Para entender la fisiopatología de la retinopatía diabética es importante recordar la histología de los capilares retinianos (figura 9). Éstos están formados por:

- Células endoteliales (CE): Se disponen entre sí conectadas por uniones estrechas a modo de monocapa no fenestrada constituyendo la barrera hematorretiniana interna (BHRI).
- Membrana basal (MB): Capa de matriz extracelular formada por colágeno tipo IV, laminina, fibronectina y proteoglicanos, principalmente heparán-sulfato. Cubre la superficie externa de las CE.

## INTRODUCCIÓN

- **Pericitos:** Son células prácticamente embebidas en las glicoproteínas de la matriz extracelular y se sitúan en la parte externa de la MB manteniendo un íntimo contacto. Tienen múltiples procesos pseudopodales que contactan y forman uniones comunicantes con las CE a través de fenestraciones de la MB. Poseen filamentos de actina y receptores de endotelina, lo cual le permite actuar como si en realidad se tratara de una célula muscular lisa de los capilares regulando su calibre, y por tanto participan en la autorregulación de la circulación microvascular (capacidad de los vasos para mantener un flujo adecuado ante los cambios de presión y las necesidades metabólicas). También producen glicoproteínas de matriz y contribuyen al mantenimiento de la BHR. También secretan factores que inhiben el crecimiento de las células endoteliales (ej. TGF $\beta$ 1), aumentan su secreción de prostaglandina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) y las protegen del estrés oxidante (40).

El componente celular (CE y pericitos) y la MB deben considerarse una unidad anatómico-funcional, donde las modificaciones que se produzcan en el componente celular influirán de forma importante en la MB y viceversa.

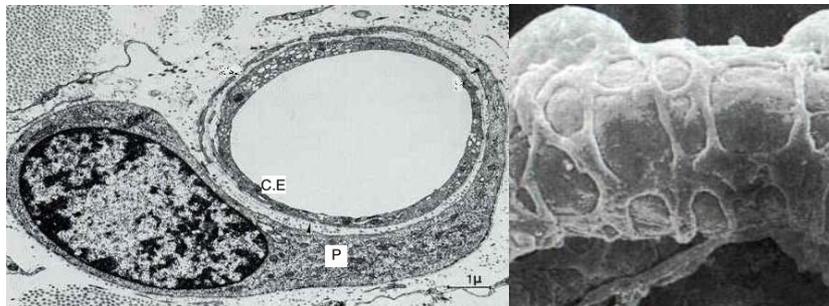


Figura 9. Microscopía electrónica de un capilar retiniano. C.E=Célula endotelial. P=Pericito.

### **3. RETINOPATÍA DIABÉTICA (RD)**

---

Aproximadamente un tercio de las personas con diabetes desarrollan retinopatía o algún grado de lesiones en los ojos relacionadas con la DM. La RD es una de las complicaciones microvasculares más comunes, siendo la causa principal de pérdida de visión y ceguera legal en adultos en edad laboral, entre 20 y 65 años, en los países industrialmente desarrollados. Se caracteriza por cambios microvasculares que afectan

principalmente a arteriolas, capilares y vénulas postcapilares, aunque también pueden estar afectados vasos de mayor tamaño.

La DM1 está asociada a afectación visual con más frecuencia y con más severidad que la DM2, sin embargo como sólo supone un 5-10% de toda la población diabética, los diabéticos tipo 2 constituyen la mayor parte de los afectados por RD (41).

El **edema macular diabético (EMD)** es una de las complicaciones oculares más temidas de la DM y constituye, en la actualidad, la principal causa de pérdida grave de visión en estos pacientes, especialmente en los que padecen DM2. Se caracteriza por la presencia de un engrosamiento retiniano en el área macular, clínicamente visible y que puede ir acompañado o no de exudados duros. Se trata de una complicación que puede ocurrir en cualquier etapa de la enfermedad y conduce a un rápido deterioro de la visión.

### **3.1 EPIDEMIOLOGIA**

#### **3.1.1 A NIVEL MUNDIAL**

##### **3.1.1.1 PREVALENCIA DE LA RD**

En un amplio metaanálisis publicado en el año 2013 sobre la prevalencia de la RD llevado a cabo por Ruta LM *et al.* (42), se dieron datos de 33 países en los que las estimaciones de prevalencia variaron ampliamente. Desde un mínimo de 10% en Noruega hasta un máximo de 61% en África del Sur en las personas con DM conocida y de 1,5% en afroamericanos hasta el 31% en China entre pacientes con DM de nuevo diagnóstico. En todos los estudios, la mediana (rango intercuartil) de prevalencia de cualquier RD en la DM conocida fue del 27,9% (22-37%) y 10.5% (16.6%) en la DM de nuevo diagnóstico. En este trabajo también se observó que aunque las cifras disponibles son sólo de unos pocos países de ingresos medios y bajos seleccionados, la prevalencia de la RD fue superior en los países en vías desarrollo en general.

En un estudio sobre prevalencia llevado a cabo en EEUU por el equipo de Zhang, X. (43) utilizando los datos del estudio nacional de salud y nutrición 2005-2008 (*National Health and Nutrition Examination Surveys*; NHANES) (44) se observó que la prevalencia estimada y amenaza visual por RD fue del 28,5% (95% intervalo de

## INTRODUCCIÓN

confianza [IC], 24,9-32,5%) y 4,4% (IC del 95%, 3,5-5,7%) entre los adultos estadounidenses diabéticos con o mayores de 40 años, respectivamente. Incluso, excluyendo la DM no diagnosticada, estas estimaciones aumentarían al 32,8% y el 5,2% respectivamente. Aproximadamente el 1,5% (IC del 95%, 1,1-2,2%) tenía RDP y el 2,7% (IC del 95%, 1,8-4,0%) tenían edema macular clínicamente significativo (EMCS).

La RD fue ligeramente más frecuente entre los hombres que en las mujeres, 31,6% frente a 25,7% de forma estadísticamente significativa ( $p=0,04$ ). Las personas negras no hispanas tuvieron una mayor prevalencia que las personas blancas no hispanas, 38,8%; frente a 26,4% ( $p=0,01$ ).

Crude Prevalence of Diabetic Retinopathy							
Characteristics	No. <sup>a</sup>	No. <sup>b</sup>	Weighted Size, in Thousands <sup>c</sup>	Diabetes Population		US Population	
				% (95%CI)	P Value	% (95%CI)	P Value
Total	1006	324	4202	28.5 (24.9–32.5)		3.8 (3.2–4.5)	
Age, y							
40–64	575	189	2588	28.0 (23.0–33.6)	.64	3.1 (2.4–3.9)	<.001
≥65	431	135	1613	29.5 (25.4–33.9)		6.1 (5.1–7.3)	
Sex							
Male	504	173	2257	31.6 (26.8–36.8)	.04	4.3 (3.5–5.3)	.046
Female	502	151	1944	25.7 (21.7–30.1)		3.3 (2.7–4.1)	
Race/ethnicity							
Non-Hispanic white	396	107	2507	26.4 (21.4–32.2)	.008	2.9 (2.2–3.9)	<.001
Non-Hispanic black	306	119	1006	38.8 (31.9–46.1)		9.6 (7.7–11.9)	
Mexican American	197	70	401	34.0 (26.7–42.1)		6.7 (5.4–8.4)	
Other	107	28	286	19.7 (12.5–29.7)		3.3 (2.3–4.7)	

Tabla 7. Prevalencia estimada de RD en diabéticos  $\geq 40$  años en EE.UU. Fuente: Zhang, X (43)

### 3.1.1.2 RD Y CEGUERA EN EL MUNDO

Con arreglo a la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10, actualización y revisión de 2006), la función visual se subdivide en cuatro niveles:

- Visión normal:  $AV=1$
- Discapacidad visual moderada:  $AV<0,33$
- Discapacidad visual grave:  $AV<0,1$
- Ceguera:  $AV<0,05$

La discapacidad visual moderada y la discapacidad visual grave se reagrupan comúnmente bajo el término «baja visión»; la baja visión y la ceguera representan conjuntamente el total de casos de discapacidad visual.

En el año 2014, la OMS estimaba que en el mundo había aproximadamente 285 millones de personas con discapacidad y de éstas, 39 millones que sufrían ceguera y 246 millones presentaban baja visión. Aproximadamente un 90% de la carga mundial de discapacidad visual concentra en los países en desarrollo.

En términos mundiales, los errores de refracción no corregidos constituyen la causa más importante de discapacidad visual (43%), pero en los países de ingresos medios y bajos las cataratas siguen siendo la principal causa de ceguera (33%), siendo dicha causa reversible(45), seguida del glaucoma y tracoma.

Según el análisis realizado en *The Global Economic Cost of Visual Impairment*, el 4% de ceguera se asoció a la RD, por detrás del glaucoma, degeneración macular asociada a la edad (DMAE) y opacidades corneales (46) (figura 10). No obstante y teniendo en cuenta otro estudios a nivel mundial, la prevalencia de ceguera entre la población diabética oscila entre el 0,5 y el 2,4%.

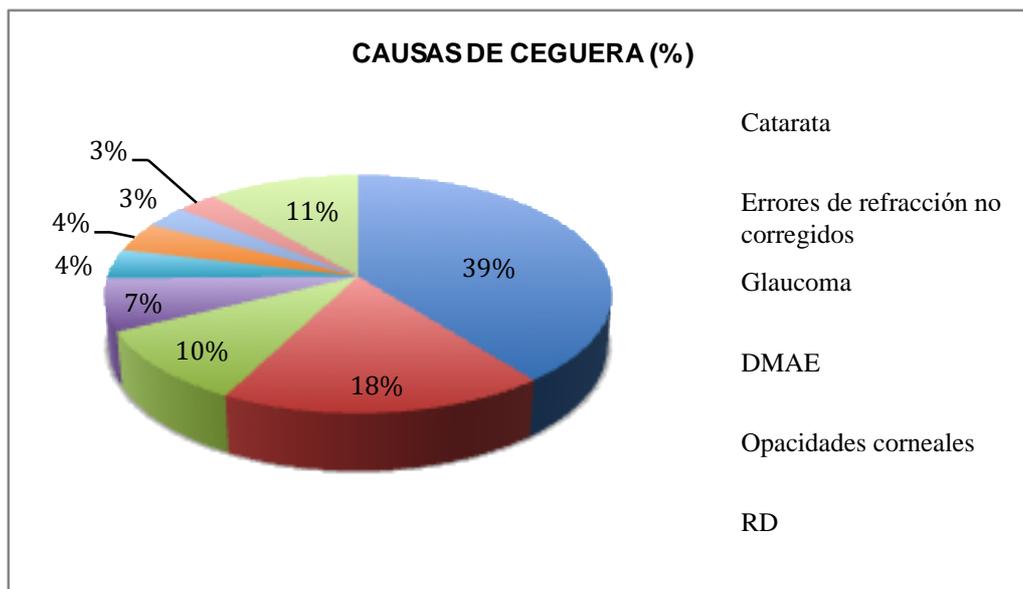


Figura 10: Causas de ceguera según *The Global Economic Cost of Visual Impairment* (2010)

### 3.1.2 A NIVEL NACIONAL (ESPAÑA)

#### 3.1.2.1 PREVALENCIA

La prevalencia de ceguera en personas diabéticas en España oscila entre 4% a 11% y es más alta que en otros países (entre el 1 y el 5%). Si nos referimos a la población diabética, la prevalencia de RD es del 40% en pacientes con DM1 y aproximadamente del 20% en DM2. Aunque las cifras varían en los distintos estudios, el trabajo llevado a cabo por Vila L *et al.* en 2008 (47) sitúa la prevalencia general de RDNP en DM1 y DM2 en aproximadamente el 40%, mientras que la de RDP entre el 4% al 6%, y la del EMD entre el 1,4 y 7,9%. Es mayor en la DM tipo 1 (40%) que en la tipo 2 (20%).

No hay referencias epidemiológicas en España que den una visión general de la evolución de la RD en los últimos años. Los estudios realizados más recientemente muestran una disminución en su prevalencia, respecto a los que se hicieron en los años noventa.

Según estudios realizados por la Sociedad Española de Oftalmología, no existen prácticamente diferencias entre la prevalencia de RD global según el sexo pero sí según la edad, observándose que las edades superiores a 79 años fueron las que asociaron una mayor frecuencia de retinopatía.

### 3.1.2.2. RD Y CEGUERA EN ESPAÑA

La RD se ha establecido como la causa más frecuente de ceguera legal entre los 20 y 65 años de edad.

Según la Organización Nacional de Ciegos (ONCE), entre el total de sus afiliados en 2014 el 8,91% padece RD, ocupando el sexto lugar entre las causas más frecuentes de ceguera o discapacidad visual (tabla 8) (48). Las tendencias de futuro según esta organización prevén un incremento de ceguera a base de un incremento de la RD.

Patologías Visuales	Altas en el año 2014	% sobre total altas en el año 2014
Miopía Magna	501	15,28%
Degeneraciones Retinianas	365	11,13%
Maculopatías	822	25,07%
Patología del Nervio Óptico	337	10,28%
Patología Congénita	83	2,53%
Retinopatía Diabética	292	8,91%
Glaucoma	283	8,63%
Patología Vías Ópticas	152	4,64%
Otras	67	2,04%
Nistagmus	83	2,53%
Patología Corneal	84	2,56%
Desprendimiento de Retina	67	2,04%
Otra Patología Vasculare Retiniana	58	1,77%
Corio-retinosis	38	1,16%
Cataratas	25	0,76%
Uveítis	16	0,49%
Ptisis Bulbi	6	0,18%
Causa Desconocida	0	0,00%
<b>TOTAL</b>	<b>3.279</b>	<b>100,00%</b>

Tabla 8: Patologías visuales en afiliados a la ONCE en 2014. Fuente: Registro ONCE 2014 (48)

## INTRODUCCIÓN

Entre la población diabética, los estudios realizados en España muestran una prevalencia más elevada de ceguera que la establecida a nivel mundial, entre el 4,6 y el 5,8% (tabla 9) (47). La principal causa de ceguera entre la población con DM es la RD, aunque también son importantes las cataratas, el glaucoma y otras causas no relacionadas con la diabetes, como la DMAE.

Estudios	Tipo de DM	Prevalencia baja visión (%)	Prevalencia ceguera (%)
Fernández-Vigo <i>et al</i> , 1993, Galicia (49)	RDID	17	6
	RDNID		5,5
Chacón, 1993, Extremadura (50)	RDID	10,2	4,1
	RDNID		6
Hernández-Mira, 1996, Barros (51)	RDID	13,3	1,9
	RDNID		4,9
Goldaracena <i>t al</i> , Pamplona (52)	DM1 y DM2	14,6	5,4
Vizcaíno <i>et al</i> , 2000, Badajoz (53)	DM1		8,3
	DM2		3,9
Romero Aroca <i>et al</i> . 2007, Reus (54)	DM2	13,9	4,9

Tabla 9: Estudios de prevalencias de ceguera en población diabética española. Fuente: Vila L *et al*. (47).

Este impacto de la deficiencia visual va más allá de los individuos. Puesto que esta complicación afecta principalmente a individuos en edad laboral, las comunidades y las economías pierden en capacidad laboral y productividad, y se crea la necesidad de un mayor apoyo social. Por lo tanto, los costes sociales y económicos de la discapacidad visual y la ceguera son importantes no sólo para los directamente afectados y sus familias, sino también para las comunidades y países enteros.

## 3.2 FACTORES DE RIESGO

Se han identificado numerosos factores de riesgo que pueden actuar bien favoreciendo el desarrollo y progresión de las RD o bien sobre aspectos específicos de la misma como la gravedad de la RDP, EMD, repercusión funcional, etc. (tabla 11) (3). Los factores de riesgo intervienen frecuentemente asociados y entre ellos destacan:

### 3.2.1 DURACIÓN DE LA DM

Es el factor de riesgo más importante y estudiado para el desarrollo de RD. Su prevalencia está íntimamente relacionada con el tiempo de evolución de la DM:

- Uno de los estudios epidemiológicos sobre la progresión de la RD que más hallazgos epidemiológicos reportó asociados con esta enfermedad es *The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy* (WESDR) (41). En éste se destaca la duración de la DM como un importante factor directamente asociado al aumento de la prevalencia de la RD, tanto en la DM tipo 1 como en la tipo 2. En este estudio se observa que tras 20 años de DM, casi el 99% de los pacientes con el tipo 1 y el 60% con tipo 2 tenían algún grado de RD. En tiempos más cortos y dependiendo del tipo de DM y tratamiento se observa que la RD se desarrolla dentro de los cinco años del diagnóstico de la DM en alrededor del 25% de las personas con DM1, el 40% de las personas con DM2 tratados con insulina, y el 24% de las personas con DM2 no insulino dependientes. La tasa acumulada a los 25 años de progresión a RD, edema macular diabético (EMD), y EMCS fue del 83%, 29% y 17%, respectivamente. También se hace referencia al desarrollo de RDP la cual cifró en el 2,0% de las personas con DM de menos de cinco años y en 15,5% en las personas con DM de 15 o más años. Otro gran estudio longitudinal realizado en Suecia por Jerneld B *et al.* (55) observó una prevalencia del 47% en pacientes con DMID, alcanzando cifras del 100% después de 30 años del inicio de la diabetes, estableciéndose una relación estadísticamente significativa entre duración de dicha enfermedad y desarrollo de RD ( $P < 0,001$ ). En las guías prácticas de la sociedad española de vítreo-retina se observa que tras 15 años de DM desarrollan algún tipo de retinopatía, el 97,7% de pacientes con DM1 y el 77,8% de pacientes con DM2 (56).

- En menor medida se ha relacionado el tiempo de evolución de DM con el riesgo de desarrollo de EMD, sobre todo en pacientes DM2 tras 5 años de evolución. Además se observa que para el mismo grado de edema, la AV es peor en DM2 que en los tipo 1 (57).
- Además, los pacientes con un mal control de la glucemia e HTA no controlada se encuentran en mayor riesgo que aquellos con buen control de estos factores.

A nivel clínico y para el desarrollo de estrategias de prevención, debemos por tanto tener en cuenta que la RD raramente se desarrolla en los 5 primeros años del inicio de la DM1 o antes de la pubertad, no obstante suele estar presente en el momento del diagnóstico de DM2.

### 3.2.2 HIPERGLUCEMIA

El estrecho control de los niveles de glucemia, sobre todo en el inicio de la enfermedad, puede prevenir o retrasar el desarrollo o progresión de RD (58). Los pacientes con DM1 se benefician más de dicho control que los tipo 2. El estudio Diabetes Control and Complications Trial (DCCT; NCT00360815) llevado a cabo entre 1983 y 1993 (5), demostró que un régimen de terapia intensiva (mediante bomba de insulina externa o 3 o más inyecciones diarias de insulina), en una media de 6,5 años de seguimiento, destinada a mantener los valores de glucosa en sangre cercanos a la normalidad reducía notablemente los riesgos de desarrollo (76%) y progresión (54%) de la RD (figura 11) y otras complicaciones de la DMID en aproximadamente en comparación con la terapia convencional (una o dos inyecciones diarias de insulina), por lo que el DCCT recomienda **que la instauración de una terapia intensiva, con el objetivo de lograr una glucemia casi normal, debería implementarse lo antes posible en el mayor número de pacientes con DMID (5).**

La medición de la hemoglobina glicosilada o A1c (HbA1c) es un examen importante recomendado por la ADA y su utilidad se aclaró con los estudios UKPDS y DCCT. Actualmente el examen HbA1c se recomienda para pacientes diabéticos cada 2 ó 3 meses como parte del programa de control para la diabetes. La HbA1c se produce por adición no enzimática de glucosa a los grupos amino de la hemoglobina. La HbA1c se refiere a la hemoglobina A modificada por la glucosa (HbA) específicamente en el

terminal-N de valina residual de las cadenas beta de la Hb. Su medición es por tanto un buen indicador del control glucémico de los 2-3 meses anteriores

Los valores de hemoglobina glicosilada (HbA1c) se han asociado a un aumento de riesgo de RD (59), de modo que la disminución del 1% en su valor equivale aproximadamente a una disminución en el riesgo de desarrollo de RD en un 40%, de la progresión en un 25%, de la necesidad de la terapia con láser en un 25%, y la ceguera en un 15%. Aunque el nivel de HbA1c es uno de los principales factores de riesgo para predecir el desarrollo y la progresión de la RD, representó sólo el 11% del riesgo de RD en el DCCT (5).

También se ha asociado el valor de HbA1c con el riesgo de desarrollo de EMD; para Klein (57), la prevalencia de EMD es del 3,5% cuando la HbA1C está en el primer cuartil y de 9,6% si está en el último (O.R.= 2,74,  $p<0,05$ ) (60)

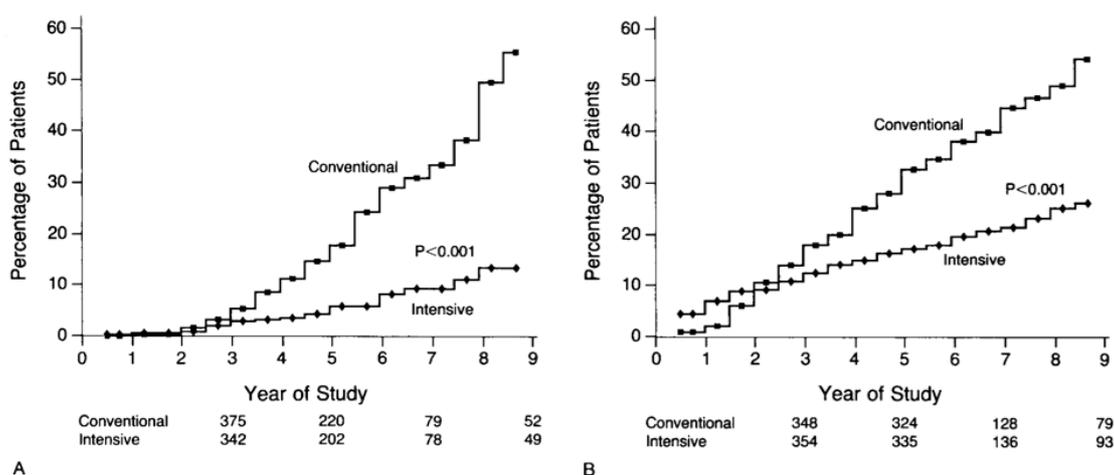


Figura 11: Incidencia acumulada de cambios significativos en RD en pacientes con DMID. Gráfico A: En la cohorte de pacientes sin RD de base, la terapia intensiva redujo el riesgo de desarrollo de RD en el 76% en comparación con la terapia convencional ( $p<0,001$ ). Gráfico B: En la cohorte de pacientes con RD leve, se observa como la terapia intensiva redujo el riesgo de progresión en el 54% de pacientes comparado con la terapia convencional ( $p<0,001$ ). Fuente: The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (5)

La duración de la DM (41, 55, 57) y el control glucémico (59, 61) han sido identificados a través de grandes estudios prospectivos longitudinales como los principales factores de riesgo para el desarrollo de RD.

### **3.2.3 PUBERTAD**

La etapa de desarrollo sexual, como se refleja por el estado menarquia, se asocia a un aumento de riesgo de desarrollo y progresión de la RD (62). En los resultados del WESDR (41), la duración de la DM después de la menarquia, como marcador de inicio de la pubertad, se asoció con un exceso de 30% riesgo de RD en comparación con la duración de la DM antes de la menarquia.

### **3.2.4 EMBARAZO**

El embarazo puede promover la aparición de la RD en aproximadamente el 10% de los casos, así como contribuir a su empeoramiento cuando ya está presente. La RDP debe tratarse siempre y el tratamiento debe ser más precoz en mujeres embarazadas en comparación con las mujeres no embarazadas. El embarazo también puede causar edema macular; que retrocede de manera espontánea durante el posparto y por lo tanto no requiere de tratamiento inmediato.

El embarazo en pacientes con DM puede promover la aparición de RD en aproximadamente el 10% de casos, así como contribuir a su empeoramiento cuando está presente (63). Se observa mayor riesgo de progresión durante el primer trimestre (64) y cuando niveles de HbA1c son elevados (65). Los factores predictivos son un mal control de la DM previamente al embarazo, ajuste demasiado rápido de la glucemia durante las etapas precoces del embarazo, el desarrollo durante la gestación de preeclampsia y desequilibrio de líquidos. El riesgo de progresión no persiste a largo plazo, no obstante la evolución a RDP debe tratarse siempre y de forma precoz, mientras que la aparición de EMD con frecuencia se resuelve espontáneamente tras el embarazo y no suele requerir de tratamiento. Por todas estas nociones es importante llevar a cabo una vigilancia oftalmológica exhaustiva durante el embarazo y el primer año después del parto.

### **3.2.5 HIPERTENSIÓN ARTERIAL (HTA)**

Su mal control se asocia a un empeoramiento de la RD y particularmente con el desarrollo de RDP. Es de gran importancia el control de cifras tensionales por debajo de 140/80mmHg, principalmente en la DM2. 10 mmHg de disminución de la PA sistólica

(PAS) equivale aproximadamente a una disminución del riesgo de progresión de RD en un 35%, necesidad de la terapia con láser en un 35%, y pérdida visual en un 50%. El estudio aleatorizado más significativo en estos momentos, diseñado para valorar si el control de la PA reduce el riesgo de macro y microangiopatía diabética, es el del *United Kingdom Prospective Diabetes Study Group* (UKPDS) (66), en el que se estudiaron 4.297 pacientes con DM2 una media de 8,4 años. En él se concluyó que un estricto control de la HTA en estos pacientes (objetivo de PA<150/85) reduce de forma considerable el riesgo y gravedad de RD, así como de otras complicaciones. Al cabo de 9 años de seguimiento se observa una reducción de riesgo de disminución de AV (empeorar 3 o más líneas ETDRS) del 47% en el grupo de pacientes con mayor estrecho control de la HTA ( $p=0,004$ ).

Otros estudios no muestran resultados tan favorables en relación al control de la HTA y progresión de RD. El estudio llevado a cabo por el grupo ACCORD (67) observan un ratio de progresión a RD del 10,4% en el grupo de pacientes que recibieron tratamiento para el control intensivo de la HTA con el objetivo de mantener la PA sistólica <120mmHg, en comparación con el 8,8% de pacientes que recibieron el mismo tratamiento pero con objetivos de PA sistólica <140mmHg (OR=1,23; 95% CI, 0,84 a 1,79;  $p= 0,29$ ), por lo que al no haber diferencias estadísticamente significativas no se pudo demostrar el efecto beneficioso del control intensivo de la PA sobre la progresión de RD.

También en el Estudio Epidemiológico Wisconsin (57) sólo atribuye un riesgo del 9-10% de la PA y el colesterol sérico total en relación al aumento del riesgo de RD.

El tipo de tratamiento de la HTA también puede influir en el desarrollo de la RD. Algunos estudios sugieren que los inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina (IECA) pueden tener un beneficio directo mediante la disminución de la incidencia y riesgo de progresión de la RD (68-71). Sin embargo, en el UKPDS (72), no se observan diferencias estadísticamente significativas de riesgo ni de grado de RD en el grupo de pacientes tratados con IECAs (lisinopril, captopril) respecto al grupo tratado con antagonista beta-adrenérgico.

### 3.2.6 HIPERLIPIDEMIA E HIPERCOLESTEROLEMIA (73-78)

- El HDL (*High density lipoprotein*) colesterol (HDL-Col) es inversamente proporcional al riesgo de desarrollar enfermedades vasculares. Un valor de HDL-Col alto se asocia con el síndrome de "longevidad".
- Los niveles elevados de LDL (*Low density lipoprotein*) colesterol (LDL-Col) son un conocido factor de riesgo cardiovascular y se relacionan no sólo con la DM2 sino también con otras enfermedades como el hipotiroidismo y los antecedentes familiares de hiperlipidemia.
- Una proporción de HDL/LDL colesterol baja es directamente proporcional al riesgo de desarrollar enfermedades de las arterias coronarias.
- La PA y el colesterol sérico total en conjunto representaron del 9 a 10% del riesgo de RD en el Estudio Epidemiológico Wisconsin (57).

El agonista de PPAR- $\alpha$  (*Peroxisome Proliferator Activated Receptor*), fenofibrato, reduce el riesgo de progresión hasta en un 40% entre los pacientes con RDNP, como se muestra en varios estudios. Que el mecanismo de acción subyacente a este efecto preventivo del fenofibrato esté relacionada con su acción hipolipemiente no está claro, en el estudio multicéntrico FIELD (*Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes*) 9795 pacientes con DM2 entre 50 y 75 años fueron divididos en dos grupos dependiendo de si recibían 200mg/día de fenofibrato (grupo 1) o placebo (grupo 2) observándose que en el grupo 1 se redujo la necesidad de iniciar tratamiento con láser para la RD ( $p=0,0002$ ), aunque el mecanismo de este efecto no parece relacionado con las concentraciones plasmáticas de lípidos (79). En el estudio ACCORD (*Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes*) (67, 80) los pacientes con DM2 y dislipemia se dividieron en dos grupos que recibieron tratamiento con simvastatina asociada a fenofibrato (grupo 1) o placebo (grupo 2) observándose que en el grupo 1 se incrementaron los valores HDL-Col ( $p=0,002$ ), se redujeron los niveles de TG ( $p<0,01$ ), no alcanzando significación estadística suficiente el descenso de LDL-Col ( $p=0,68$ ), y disminuyó de forma estadísticamente significativa la tasa de progresión de RD a los 4 años de forma significativa ( $p=0,006$ ).

### 3.2.7 GENÉTICA

Existe una fuerte evidencia del riesgo que supone el componente genético en el desarrollo de RD, demostrado a través de múltiples estudios de agregación familiar y ensayos clínicos como el llevado a cabo por el grupo DCCT (81) que establece que la susceptibilidad a padecerla tiene un componente hereditario independiente del control de la glucemia, la duración de la diabetes y otros factores de riesgo comunes. Un metaanálisis realizado en 2009 por Abhary y colaboradores (82), analiza 82 estudios en los que se examinaron 20 genes y 34 polimorfismos relacionados con la RD, siendo los que con más frecuencia se relacionan con ésta el gen aldosa reductasa familia 1 miembro B1 (AKR1B1), el gen factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), y sus polimorfismos (SNP). El gen AKR1B1 es el que cuenta con mayor número de estudios que examinan la relación entre sus polimorfismos con el desarrollo de RD, independientemente de su origen étnico, destacando que el microsatélite z-2 mostró la asociación más significativa con la RD, especialmente en la DM2, confirmando también riesgo para la RDNP y RDP. El gen VEGF es el que mayor número de SNP individuales han sido examinados en relación con la RD aunque según los resultados de este metanálisis, la mayoría de los estudios no encontró una asociación estadísticamente significativa

**Respecto al tipaje HLA**, se ha sugerido que HLA-DR4 es un marcador de predisposición genética a la RDP (83). Cruickshanks *et al.* realizaron un tipaje para HLA-A, B, C Y D.R. en su grupo de estudio, mediante modelos de regresión logística y con repetidas medidas. Personas con HLA-DRA4 que eran negativas para DR3 resultaron tener 5 veces más de probabilidad de tener RDP que los negativos para ambos genes, después de ajustar otros potenciales factores de riesgo. HLA-C2, AK-2 y MNSs-S también fueron asociados positivamente con la RDP.

### 3.2.8 CIRUGÍA DE LA CATARATA

En la DM existe un riesgo incrementado de desarrollo de catarata por lo que la facoemulsificación de la misma es un procedimiento quirúrgico frecuente en pacientes diabéticos. De forma inversa, ya se describieron casos de progresión de RD tras la extracción intra y extracapsular de cataratas (84-86), y en la práctica clínica habitual no es infrecuente observar que tras la facoemulsificación no complicada, muchos pacientes

desarrollan un empeoramiento post-quirúrgico del edema macular (EM) y experimentan un avance en el estado de RD, lo que se ha corroborado por múltiples estudios (87-90), aunque otros autores no han encontrado una progresión significativa (91, 92). Incluso recientemente se ha aprobado el uso de antiinflamatorios no esteroideos tópicos como el nepafecano 0,1% tópico (Nevanac<sup>®</sup>) para la prevención de EM post-quirúrgico en pacientes diabéticos. También cabe destacar que principales factores de riesgo para el desarrollo de complicaciones intra y postoperatorias son la edad avanzada, historia previa de RD en DMID y niveles elevados de HbA1c (93).

Por otra parte, se ha visto que el desarrollo de EMQ en diabéticos aumenta significativamente con la disminución de los niveles de antioxidantes, el aumento de las actividades las especies reactivas de oxígeno (EROx), la HTA, nefropatía diabética, y la hiperlipidemia (94).

### 3.2.9 OTROS

Resultados de estudios epidemiológicos anteriores tienen también muestran que la RD se asocia con muchos otros factores sistémicos y de estilo de vida, incluyendo:

- Nefropatía (77): Si es grave, se asocia con un empeoramiento de RD. Sin embargo, el tratamiento de la enfermedad renal (por ejemplo, trasplante renal) puede asociarse con mejoría de la misma y una mejor respuesta a su tratamiento con láser.
- Obesidad (95)
- Consumo de alcohol (96, 97)
- Marcadores hematológicos de anemia (78, 98, 99)
- Marcadores de hipotiroidismo (100)
- Tabaco: Respecto al tabaco existe controversia ya que se ha encontrado asociación significativa en algunos estudios (101, 102), mientras en otros no se ha conseguido establecer dicha relación (103, 104)

Duración de la DM
Niveles y control de glucemia y HbA1c
Pubertad
Embarazo
HTA
Nefropatía
Genética
Cirugía de cataratas
Dislipemia
Otros

Tabla 10: Factores de riesgo relacionados con la RD.

### 3.3 PATOGENIA

La RD se trata de un proceso de etiopatogenia compleja y multifactorial, la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos subyacentes está en constante evolución y estudio.

La exposición crónica a la hiperglucemia y otros factores de riesgo se cree que son los responsables para iniciar una cascada de cambios bioquímicos y fisiológicos que en última instancia conducen a un daño microvascular y disfunción retiniana (figura 12) (105).

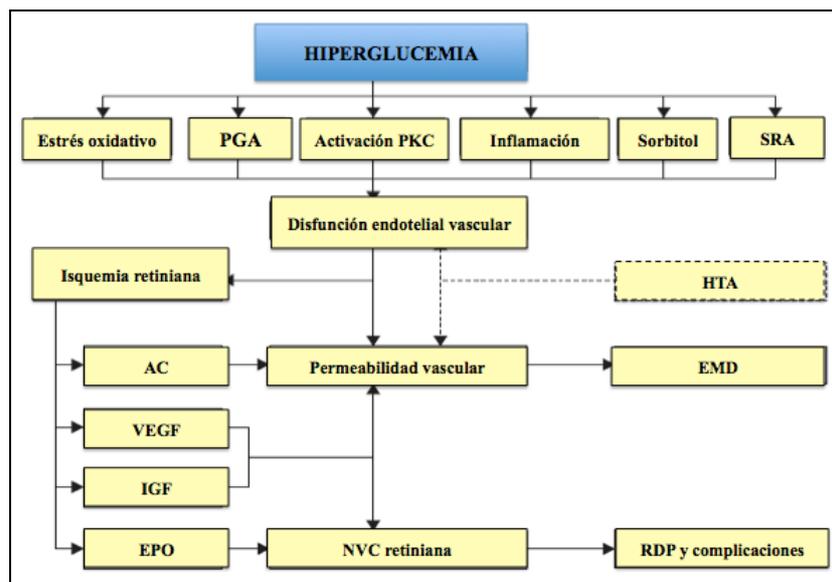


Figura 12. Fisiopatología de la RD. La hiperglucemia instiga una cascada de eventos que conducen a la disfunción endotelial vascular retiniana (tabla 1). PGA=productos finales de la glicación avanzada. PKC=proteín quinasa C. SRA=sistema renina-angiotensina. CA=carbonic anhydrase. VEGF=factor de crecimiento endotelial vascular. IGF-1=Factor de crecimiento insulínico. EMD=Edema macular diabético. Fuente: Ning Cheung (105)

### 3.3.1 CAMBIOS BIOQUÍMICOS: ESTRÉS OXIDATIVO

La hiperglucemia genera una serie de alteraciones metabólicas que contribuye a la patogénesis de la RD mediante el estrés oxidativo, inflamación, activación de la proteína quinasa C (PKC), acúmulo de sorbitol y productos finales de glicación avanzada (PGA), activación de la vía de los polioles, regulación positiva del sistema de renina-angiotensina y producción de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y eritropoyetina (EPO) (106-108).

En los últimos años diversos estudios han demostrado la implicación crítica del estrés oxidativo en la patogénesis de la DM y sus complicaciones (109-114). Teniendo en cuenta que la retina es particularmente susceptible a éste debido a la alta demanda de energía (con el consecuente consumo de  $O_2$ ), la elevada exposición lumínica causando foto-oxidación y la extraordinaria concentración de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), objeto de peroxidación lipídica, el estudio del mismo como factor implicado en la patogénesis de la RD ha cobrado especial importancia (115-117).

Para entender el estrés oxidativo es necesario tener en cuenta una serie de conceptos bioquímicos básicos empezando por las reacciones de reducción-oxidación (redox) que se basan en eventos de transferencia de electrones provocando un cambio en los estados

de oxidación. La **reducción** es consecuencia de una ganancia de electrones, mientras que la pérdida de electrones da como resultado una **oxidación**. Por tanto, para que se lleven a cabo estas reacciones debe haber elementos que capten electrones (agentes oxidantes) y otros que los acepten (agentes reductores) (figura 13) (118).

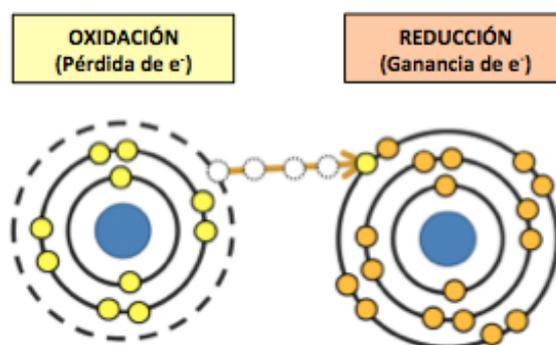


Figura 13. Las reacciones redox y transferencia electrónica.  $e^-$ =electrón.

### 3.3.1.1 ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (EROX)

En condiciones normales de metabolismo aerobio, las células utilizan  $O_2$  para la obtención de energía, no obstante el  $O_2$  no se consume en su totalidad y en este pequeño porcentaje no utilizado se induce una reducción incompleta que da lugar a la formación de las denominadas especies reactivas de  $O_2$  (EROx) las cuales pueden ser clasificadas en dos grupos: radicales y no radicales. Los grupos radicales también denominados radicales libres (RL) se caracterizan por ser muy inestables y reactivos. Inestables por tener un electrón desapareado en su último orbital electrónico y reactivos porque debido a esa inestabilidad, tenderán a estabilizarse, cediendo o captando un electrón de otra molécula, que se convertirá en RL a su vez. Entre estos RL destacan:

- Anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ): Resultado de múltiples procesos y por tanto el más abundante entre los RL. Aunque no tiene una reactividad suficiente para atacar macromoléculas directamente, es el responsable de la generación de otras EROx.
- Radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ): Es el RL más potente y dañino de todos

- Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que aunque químicamente es un compuesto no radical, se considera tradicionalmente como RL debido a su capacidad para generar otros RL. Al ser una molécula pequeña que carece de carga electroquímica, difunde fácilmente, y puede pasar a través de las membranas celulares por lo que propaga sus efectos más lejos que otras especies

### 3.3.1.2 SISTEMAS ANTIOXIDANTES DEFENSIVOS (AOX)

El organismo dispone de una serie de moléculas que se oponen a este proceso tóxico en el organismo, los llamados sistemas antioxidantes defensivos (AOX). Estas defensas se encuentran en el citoplasma, membrana celular, y el espacio extracelular, y protegen a los tejidos de los efectos de los RL (119-122). Se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Dependiendo de la función (figura 14):
  - Primarios: Son los grupos enzimáticos que protegen al organismo contra los RL ya formados mediante su eliminación:
    - Superóxido dismutasa (SOD): Se trata de una metaloproteína que cataliza la dismutación del  $O_2^{\bullet}$  en  $O_2$  y  $H_2O_2$ .
    - Glutación peroxidasa (GSH-Px): Enzima que convierte el  $H_2O_2$  y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que puedan formar RL. Estas reacciones están asociadas con la transformación de glutatión reducido (GSH) en GSH oxidado (GSSG). Se debe destacar la función del selenio como elemento esencial y cofactor para la actividad de este enzima, ya que sus deficiencias pueden inducir modificaciones del estado oxidativo celular y la aparición de enfermedades (123).
    - Catalasa (CAT): Enzima encargada de catalizar la descomposición del  $H_2O_2$  en  $O_2$  y  $H_2O$ .
    - Proteínas de unión a metales (GR): Son moléculas como los flavonoides que frenan la disponibilidad del hierro y cobre, necesarios para la formación del radical  $OH^{\bullet}$ .

- Secundarios: Grupos no enzimáticos que captan los RL y los transforman en componentes menos agresivos. Distinguimos dos grupos:
  - Hidrosolubles: Vitamina C (ácido ascórbico), ácido úrico y GSH (dona su electrón al  $H_2O_2$  para reducirlo en  $O_2$  y  $H_2O$ ).
  - Liposolubles: Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), carotenoides ( $\beta$ -caroteno, luteína, zeaxantina y licopenos).
- Terciarios: Son los encargados de reparar biomoléculas dañadas por los RL.
  - Proteasas reparadoras de ADN
  - Metionina sulfóxido reductasa.
- Dependiendo del origen:
  - Exógenos: Antioxidantes aportados por la dieta (Vitamina C, vitamina E, carotenoides, flavonoides)
  - Endógenos : Antioxidantes producidos por el propio organismo (SOD, GSH-Px, CAT).

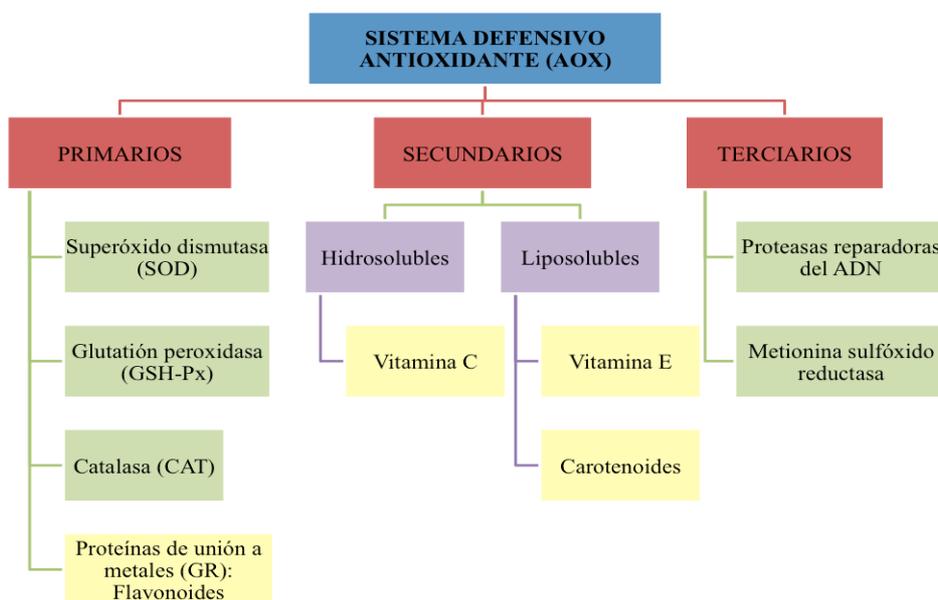


Figura 14. Sistema defensivo antioxidante. Los cuadros verdes hacen referencia a antioxidantes endógenos, los cuadros amarillos a antioxidantes exógenos.

### 3.3.1.3 ESTRÉS OXIDATIVO

Las EROx que se producen en condiciones fisiológicas por reacciones metabólicas que utilizan O<sub>2</sub> y factores ambientales, como los contaminantes del aire y el tabaco. En bajas concentraciones las EROx son neutralizados por los mecanismos AOX; pero cuando esta producción se incrementa de forma sustancial, se produce un desequilibrio entre las fuerzas oxidantes y el AOX, que se conoce como estrés oxidativo (figura 15).

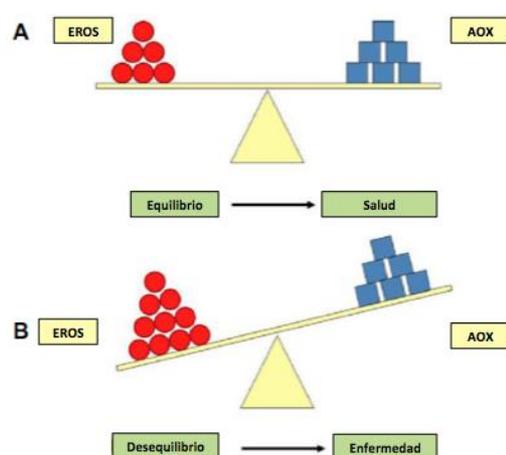


Figura 15. A. Equilibrio entre las EROx la producción y la defensa antioxidante (AOX). B. Estrés oxidativo: situación de desequilibrio entre EROx y AOX, que se asocia con múltiples patologías. Fuente: Pinazo-Durán, Oxidative stress and its downstream signaling in aging eyes (121).

La acumulación de EROx es perjudicial ya que éstas pueden lesionar macromoléculas como el ADN, los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos, alterando sus funciones y pudiendo provocar lesiones y muerte celular (120, 122, 124).

- **ADN:** EROx pueden conducir a modificaciones del ADN de varias maneras (degradación de las bases, roturas uni o bicatenarias de la molécula ADN, modificaciones en las purinas, pirimidinas o enlaces fosfodiéster, mutaciones, deleciones o translocaciones). La mayoría de estas modificaciones del ADN son de gran relevancia para la carcinogénesis, envejecimiento y enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, y enfermedades autoinmunes.
- **Lípidos:** Mediante la vía de la peroxidación lipídica los RL capturan electrones de los AGPI de los fosfolípidos de la bicapa lipídica de la membrana celular. El daño producido en la célula variará en función de la susceptibilidad de las membranas biológicas a la peroxidación lipídica aumentando en la medida en

que se incrementa el grado de insaturación de lípidos (número de enlaces dobles que estos contienen), por tanto, un grado elevado de este fenómeno puede llegar a producir la autodestrucción y muerte celular, constituyendo un importante mecanismo patogénico por el cual los RL pueden dañar la retina (107, 125, 126). La cadena de dicha peroxidación comienza con la formación del anión superóxido, y en presencia de metales de transición (Fe) pueden formar los radicales más dañinos,  $H_2O_2$  y  $OH^\cdot$ .

- Proteínas: Las EROx pueden causar la fragmentación de la cadena peptídica, alteración de la carga eléctrica, rotura de enlaces químicos de las proteínas, y la oxidación de aminoácidos específicos, aumentando la susceptibilidad a la proteólisis por proteasas específicas (127). Este daño a proteínas afecta las funciones de receptores, enzimas del AOX y reparadoras, proteínas transportadoras y otras biomoléculas (128).

Todos estos cambios en pacientes diabéticos pueden desencadenar una muerte celular no fisiológica (necrosis) o programada (apoptosis) a nivel de las células endoteliales y pericitos de los capilares retinianos (129).

El estrés oxidativo se determina indirectamente mediante la determinación de la oxidación de los subproductos de proteínas y lípidos, lo que refleja la extensión del daño celular:

- Malondialdehído (MDA): Biomarcador de estrés oxidativo más popular y más frecuentemente utilizado.
- Componentes del sistema antioxidante tanto enzimático como no enzimático, entre ellos: GSH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), la coenzima Q, y vitaminas A, C y E.

Clapés S. y colaboradores (106) realizaron un estudio en 2001 en el que utilizaron muestras de suero de 30 pacientes diabéticos y 20 controles sanos, reportando para los pacientes diabéticos valores superiores de MDA, valores inferiores de CAT y GSH, siendo estos resultados estadísticamente significativos, aunque la disminución de SOD no alcanzó suficiente significado estadístico. En 2011 Mancino y colaboradores (107) publicaron un estudio en el que evaluaban los niveles de MDA y capacidad antioxidante total en sangre, humor acuoso y vítreo en 19 pacientes con DM2 (9 con RDNP, 10 con RDP) y 14 controles no diabéticos, observándose que el MDA era significativamente

más elevado en pacientes con RDP y que la capacidad antioxidante total estaba más disminuida en pacientes con RDNP en humor acuoso y vítreo, pero no en sangre, en comparación con los controles y pacientes con RDP. Concluyeron así que el estrés oxidativo y la disminución del AOX se asocian con la progresión de RD hacia formas proliferativas. Ambos estudios proponen que el suministro de sustancias antioxidantes puede tener un efecto corrector del estrés oxidativo e inhibición de la progresión de la RD.

Con estos estudios, entre otros muchos, en los que se demuestra que la determinación de la capacidad total de captura de RL es inferior en paciente diabéticos mediante los indicadores descritos, se demuestra la estrecha interrelación entre la hiperglicemia, sus complicaciones y el estrés oxidativo. Aunque los mecanismos involucrados no son aún conocidos en detalle, para intentar explicar los eventos por los que la hiperglucemia es responsable de complicaciones micro y macroangiopáticas se han referido, cuatro vías interrelacionadas entre sí, que contribuyen al estrés oxidativo: Incremento de la vía de los polioles, activación de la PKC, aumento de los PGA e incremento de la vía de las hexosaminas.

**A. Incremento de la vía de los polioles o vía sorbitol aldosa reductasa:** Es una ruta de gran trascendencia en las complicaciones diabéticas.

En condiciones normales, el metabolismo de la glucosa por la ruta del poliol ó vía sorbitol aldosa reductasa es bajo (aproximadamente un 3%), no obstante, en condiciones de hiperglucemia, el aumento de la concentración de glucosa intracelular aumenta la activación. La aldosa reductasa (AR) es un enzima que reduce la glucosa no utilizada a sorbitol mediante la oxidación de NADPH a NADP<sup>+</sup>. Posteriormente la sorbitol deshidrogenasa oxida el sorbitol a fructosa, generándose NADH. Los resultados de esta ruta son por tanto:

- Incremento de sorbitol: Su acúmulo origina un efecto osmótico lesivo debido a su capacidad limitada para difundir a través de las membranas.
- Incremento del cociente NADH/NAD<sup>+</sup>: Este aumento genera una situación de pseudoisquemia por la inhibición de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), aumentando así las concentraciones intracelulares de triosa fosfato. Este incremento induce la formación de metilgloxal, un precursor de diacilglicerol (DAG), lo que conduce a la activación de los AGE y PKC (130).

- Disminución de los niveles NADPH:
  - En condiciones normales el NADPH actúa regenerando el GSH a partir del GSSG. El GSH es uno de los principales mecanismos de eliminación de los RL, por lo que su disminución favorece y exacerba el estrés oxidativo (131)
  - Genera un déficit de óxido nítrico (NO), uno de los vasodilatadores más importantes en los vasos sanguíneos, ya que tanto la AR como NO sintasa compiten por el NADPH como cofactor.

### **B. Sobreactivación de la ruta de las hexosaminas**

El aumento de glucosa intracelular aumenta el flujo de la fructosa 6-fosfato en la vía hexosamina. La fructosa 6-fosfato se desvía de la vía glicolítica a la vía hexosamina, donde sirve como sustrato para la enzima glutamina-fructosa-6-fosfato amidotransferasa (GFAT), y se convierten en glucosamina-6-fosfato, que se convierte posteriormente en uridina difosfato-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNac). Este compuesto se une a los residuos específicos serina y treonina en factores de transcripción, lo que lleva a la modificación postraduccional de proteínas citoplasmáticas y nucleares (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 y PAI-1) (132). Además la UDP-GlcNac induce aumento de la activación de Spl a través de esta vía, lo que conduce a la estimulación del PAI-1 en células musculares lisas vasculares (133) y el en las células endoteliales arteriales (132).

### **C. Activación de la proteín quinasa C (PKC)**

La PKC es una familia de proteín quinasas consistentes en al menos 11 isoformas que se agrupan según el segundo mensajero que promueve su activación. Los enzimas PKC son activados por señales, tales como el aumento en la concentración de DAG o los iones de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). La hiperglucemia puede activar además la PKC como consecuencia de la unión de PGA a su receptor o activación de la vía de los polioles, probablemente por el incremento de ERO. La activación de la PKC puede actuar mediante mecanismos muy variados que serán de vital importancia en la etiopatogenia de la microangiopatía diabética:

- Alteraciones del flujo sanguíneo y capacidad de relajación dependiente

del endotelio debido a la disminución de la producción de NO por inhibición de la NO sintasa endotelial (eNOS) expresada en las CE(134).

- Incremento de la permeabilidad vascular y la angiogénesis debido al aumento de VEGF (135) en las células musculares lisas vasculares (136).
- Favorece la oclusión vascular: La expresión de la transformación del factor de crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), principal mediador de proteínas de matriz extracelular como la fibronectina y colágeno tipo IV, propicia la acumulación de las mismas en la matriz microvascular y el aumento de la MB(137).
- Acción procoagulante.
- Alteración de diversos sistemas de señales de transducción: Activación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB), que conecta el estrés oxidativo inducido por la hiperglucemia y la inflamación (138).

### **D. Aumento intracelular de productos terminales de la glicación avanzada (*en inglés AGEs*)**

En los pacientes diabéticos se ha demostrado que la hiperglucemia conduce al estrés oxidativo ya que *per sé* no sólo tiene un efecto nocivo sobre el AOX, generándose un aumento de RL, sino que también favorece el proceso de glicosilación no enzimática (139, 140).

Los AGEs son proteínas, lípidos, o ácidos nucleicos que sufren una glicosidación no enzimática (reacción de Maillard) por azúcares reductores sufriendo alteraciones permanentes en sus características físicas y funciones biológicas. Los principales mecanismos por los cuales los AGEs pueden causar daños patológicos son los siguientes:

- Rápida formación de AGEs intracelular por glucosa, fructosa y otros metabolitos intermediarios de diferentes rutas, para producir proteínas intracelulares modificadas con alteraciones funcionales.
- La interacción de AGEs con el receptor de AGE (AGE-R) en células endoteliales, pericitos, EPR y macrófagos desencadena la activación de segundos mensajeros tales como la PKC y la translocación del NF-kB al núcleo, donde incrementa la transcripción de proteínas incluyendo

*intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1), E-selectina, endotelina-1, factor tisular, VEGF y citoquinas proinflamatorias (141). Además la fijación de estos AGEs sobre los AGE-R estimulan la proliferación de CE, aumenta la síntesis proteica de proteínas de matriz e inducen cambios procoagulantes en la superficie endotelial.

- Los componentes estructurales de la matriz del tejido conectivo y en particular los componentes de las membranas basales como el colágeno tipo IV, son dianas preferentes para la glicación, pero otras proteínas de vida media larga también pueden ser objeto de glicación avanzada, incluyendo la mielina, tubulina, el activador del plasminógeno 1 y el fibrinógeno. La formación de entrecruzamientos intra e intermoleculares con el colágeno conduce a alteraciones estructurales que conllevan una pérdida de la elasticidad y aumento de la resistencia a la digestión proteolítica (109, 142). Todo ello favorece el depósito de proteínas plasmáticas en la MB disminuyendo su capacidad de ensamblaje y contribuyendo a la pérdida de proteoglicanos heparán-sulfato.
- Secuestro del NO en la matriz extracelular, que impide su acción vasodilatadora y anticoagulante.
- Acción trombogénica, ya sea por inactivación del NO o por inhibición de la PGI<sub>2</sub> y la trombomodulina.
- Aumento de la expresión del VEGF.
- Inactivación de diversas enzimas metabólicas como la glutatión reductasa, con el consiguiente aumento de RL, o la glucosa-6-P-dehidrogenasa, que producirá un acúmulo intracelular de glucosa-6-fosfato, un azúcar activo glicador, que a su vez aumentará la producción de AGEs.

En este contexto, la hemoglobina en los eritrocitos sufre un proceso de glicación dando lugar a la denominada HbA<sub>1c</sub>. En la actualidad, la medida clínica de la HbA<sub>1c</sub> en los eritrocitos se ha convertido en indicador de los niveles de glucosa circulantes en sangre, y se utiliza de forma rutinaria para confirmar el control de la diabetes durante el periodo de 3-4 semanas previo al muestreo.

### **E. Mecanismo unificador de la hiperglucemia y el daño celular inducido.**

La activación de estas 4 vías está estrechamente vinculada a la sobreproducción del anión  $O_2^{\bullet}$  por la cadena de transporte de electrones mitocondrial, lo cual se ha evidenciado por un cúmulo de resultados experimentales:

- Durante el curso de la DM, cada célula del paciente se expone a concentraciones anormalmente altas de glucosa. En tejidos específicos como la retina, el riñón y los tejidos nerviosos, las células ven afectada su capacidad de transporte de glucosa cuando se enfrentan a elevadas concentraciones de glucosa extracelular, lo que conduce a altos niveles de glucosa intracelular (143). Ésta se metaboliza y oxida a través del ciclo del ácido tricarbóxico o ciclo de Krebs, aumentando así el flujo de NADH y FADH<sub>2</sub> en la cadena de transporte de electrones mitocondrial y causa un acúmulo excesivo de electrones a la coenzima Q, que finalmente conduce a la generación de  $O_2^{\bullet}$  (144).
- La sobreexpresión de la superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD) abolió la señal generada por las ERO. Este enzima de captación mitocondrial tiene funciones importantes en la protección celular del daño oxidativo asociado a la exposición a RL, por lo que su sobreexpresión protege a las células endoteliales del daño oxidativo inducido por la hiperglucemia (145).
- La sobreexpresión de la proteína desacoplante-1 (UCP-1) colapsó el gradiente electroquímico protónico previniendo la inducción de ERO por la hiperglicemia.
- La inhibición, por MnSOD o UCP-1 de la sobreproducción de  $O_2^{\bullet}$  mitocondrial, inducido por la hiperglicemia, previno completamente el incremento en la Vía del Polirol, el aumento en la formación de PGA, la activación de PKC y el incremento de la Ruta de las Hexosaminas, en células endoteliales (130).

En resumen, la hiperglucemia induce a un aumento de flujo de la vía de los polioles, activa la PKC, aumenta la producción intracelular de los AGEs, y sobreactiva la vía hexosamina con la consecuente generación de RL mitocondriales. Este mecanismo se constituye como el enlace entre la hiperglucemia, el estrés oxidativo y la progresión de la RD.

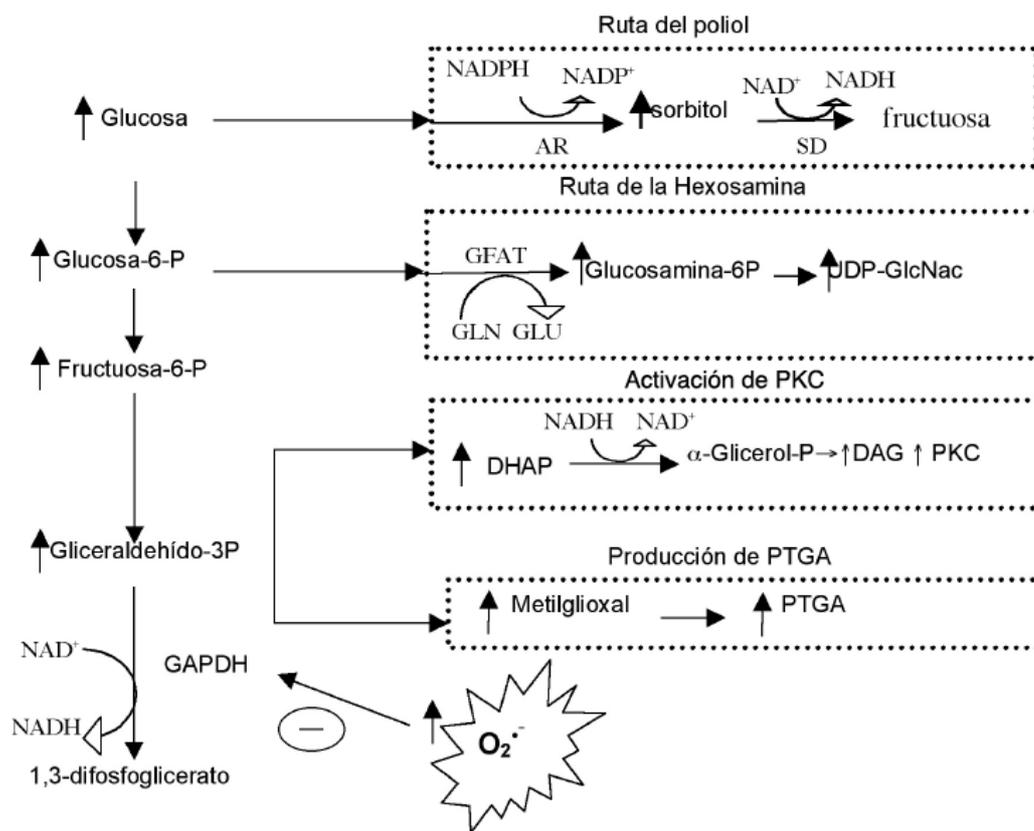


Figura 16. Mecanismo potencial mediante el cual la hiperglicemia produce sobreproducción del anión  $O_2^-$  mitocondrial y se activan las cuatro rutas de generación de daño por hiperglicemia. GFAT=glucosaminafructuosa-6-fosfatoaminotransferasa; GAPDH=gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa; DHAP=dihidroxiacetona fosfato; PTGA=AGEs=Productos Terminales de la Glicosilación Avanzada; DAG=diacilglicerol; PKC=proteína quinasa C; GLN=glutamina; AR=aldosa reductasa; SR=sorbitol deshidrogenasa; GLU=glutámico. Fuente: Al-Dallen, El Equilibrio Redox en la Diabetes y sus Complicaciones (114)

### 3.3.2 ALTERACIÓN MICROVASCULAR

#### 3.3.2.1 ALTERACIONES ESTRUCTURALES

**A. Membrana basal (MB):** Durante el desarrollo de la RD, uno de los primeros cambios es el engrosamiento de la MB. Éste se produce a expensas del aumento del colágeno tipo IV, laminina y fibronectina estimulado por la hiperglicemia y la glicación no enzimática, y a la disminución concomitante de los proteoglicanos heparán-sulfato que supone una disminución de las cargas aniónicas contribuyendo a un aumento de permeabilidad.

Consecuencia de todo ello se produce una limitación en la vasodilatación capilar, un aumento de permeabilidad y cambios fenotípicos en las CE.

**B. Pericitos:** Posteriormente se produce una pérdida de pericitos por varios motivos:

- a. Alteraciones en su nutrición: Los pericitos están embebidos dentro de la MB y los nutrientes tienen que filtrarse a través de la matriz y/o ser transportados por las CE, por lo que el engrosamiento y las alteraciones biológicas de la MB pueden cerrar estos contactos e interferir con su nutrición.
- b. Elevada vulnerabilidad a la hiperglucemia.
- c. Disminución de estímulos para replicarse en el medio diabético.

Como los pericitos tienen propiedades contráctiles, su pérdida provoca una alteración de la regulación del tono microvascular que favorece la formación de microaneurismas. Su pérdida también interfiere en la secreción de factores que inhiben el crecimiento de las CE por lo que hay mayor predisposición para la proliferación de las mismas

**C. Células endoteliales (CE):** Una de las primeras alteraciones de las CE es la pérdida de la integridad de las uniones estrechas, y por tanto un aumento de permeabilidad a nivel de la BHRI. En los estadios iniciales la función metabólica del endotelio aún no ha fracasado y se sintetizan activamente sustancias vasodilatadoras (ej. NO, PGI<sub>2</sub>), pero en estadios avanzados, se produce un cambio en el perfil de metabolitos secretados con predominio claro de los prostanoídes vasoconstrictores (ej. TXA<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>), de los RL sobre el NO y la PGI<sub>2</sub> y disminución de la producción de sustancias anticoagulantes. Todo ello favorecerá la vasoconstricción y la formación de microtrombos, que evidentemente generará una situación de isquemia.

**D. Neovascularización (NV):** Con la progresión de la RD se produce una pérdida total de CE con aparición de capilares acelulares exponiéndose la MB al torrente circulatorio, situación protrombótica que facilita la oclusión capilar y la propia degradación de la misma. La oclusión capilar agravará la situación de hipoxia, lo que favorecerá la síntesis de diversos factores de crecimiento (VEGF, Basic fibroblast growth factor (bFGF), factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ )) e interleucinas (IL-1, IL-6, IL-8) que participarán de forma activa en la NV, que será la fase final y más dramática de la RD.

### 3.3.2.2 ALTERACIONES FUNCIONALES

Las alteraciones estructurales van acompañadas de alteraciones funcionales con repercusión recíproca, que conducirán a un estado hiperdinámico motivado por el **aumento del flujo sanguíneo y de la permeabilidad capilar**. Estas alteraciones preceden incluso a las modificaciones estructurales y en sus primeras fases presentan un alto grado de reversibilidad con la normalización de la glucemia. Sin embargo, con el transcurso del tiempo los cambios histológicos ya serán irreversibles y conducirán al fracaso de la microcirculación.

**A. Aumento del flujo sanguíneo.** Se asocia a mayor riesgo de progresión de RD.

Se produce por varias causas:

- a. Hiperglucemia. El flujo sanguíneo a nivel de la retina está directamente relacionado con la concentración de glucosa. Los pacientes con RDNP y RDP muestran incrementos del flujo aproximadamente en un 30 y 50% respectivamente en comparación con los pacientes sin retinopatía.
- b. Pérdida de la autorregulación. El flujo sanguíneo depende fundamentalmente de los mecanismos de autorregulación. En la circulación retiniana de los sujetos diabéticos, cuando los niveles de glucemia están en valores normales, la autorregulación fracasa a incrementos tensionales del 30%; mientras que si la glucemia está elevada (>15mmol) el fracaso es ya evidente con incrementos del 15%.

Las consecuencias del aumento del flujo es su contribución al daño endotelial a través de la tensión tangencial o *shear stress*. Las CE reciben una fuerza tangencial que dependerá del flujo sanguíneo(Q), la viscosidad ( $\eta$ ) que se ve incrementada en la DM y el calibre del vaso ( $r^2$ ):

$$\text{Tensión tangencial} = 4hQ/\pi r^2$$

La tensión tangencial elevada sobre el endotelio reduce la tasa de replicación celular, no obstante, en zonas de endotelio dañado se estimulan la proliferación de CE, la migración celular, la síntesis de proteínas de la matriz intersticial, y se favorece el estado protrombótico a través de modificaciones en la síntesis de activadores del plasminógeno, disminución de la producción de endotelina-1 (crucial para la producción de PKC en los pericitos para su contracción), y aumento de la producción de NO y prostaciclina que producirán mayor flujo y,

en consecuencia, mayor alteración de la autorregulación.

**B. Aumento de la permeabilidad:** Los vasos retinianos se hacen progresivamente más permeables a varios constituyentes plasmáticos, que inicialmente pueden ser absorbidos por las células retinianas, pero finalmente se acumulan en el espacio intersticial formando depósitos extravasculares y contribuyen al engrosamiento de la MB. Este aumento se debe principalmente a un aumento del VEGF/VPF (*vascular endothelial growth factor*/vascular permeability factor) y de la PKC.

Las consecuencias de este aumento de permeabilidad serán un engrosamiento de la MB debido al acúmulo de productos derivados de la circulación (ej. fibronectina, plasminógeno, alfa-2-macroglobulina), la aparición de exudados duros visibles en el fondo de ojo y edema macular.

**C. Cambios hematológicos:** En la DM se ha observado una deformación de los eritrocitos y formación de eritrocitos en pila de monedas, activación y deformabilidad reducida de los leucocitos, aumento de la adhesión y agregación plaquetaria y aumento de la viscosidad plasmática. Todo ello genera una oclusión microvascular, falta de perfusión capilar y la consecuente hipoxia retiniana.

**D. Neovascularización (NV):** La isquemia es el principal estímulo para la NV. Dependiendo de los cambios producidos a este nivel distinguimos dos tipos de RD, la no proliferativa (RDNP) y la proliferativa (RDP).

### 3.3.3 ALTERACIÓN NEURORRETINIANA

La visión tradicional de que la RD es únicamente una manifestación de daño microvascular es incompleta ya que se ha demostrado que existe un compromiso neurorretiniano que podría desarrollarse de forma temprana, incluso antes de la aparición de cambios microvasculares (146). Los resultados de estudios experimentales sugieren que la DM afecta negativamente a la totalidad de la retina neurosensorial, con la apoptosis neuronal acelerada y la activación o alteración del metabolismo de células de soporte neurorretinianas. Estos hallazgos sugieren que la RD puede ser una neuropatía sensorial que afecta el parénquima de la retina, de forma similar a lo que

ocurre en la neuropatía diabética periférica. Aunque la interacción entre los elementos neurales y vasculares en la RD es desconocida, la comprensión de cómo la DM afecta a la retina neurosensorial podría conducir al desarrollo de fármacos neuroprotectores como nuevas modalidades de tratamiento.

### **3.4 DIAGNÓSTICO DE LA RD**

Clínicamente, la RD se define como la presencia de signos microvasculares de la retina típicos en un individuo con DM. Los primeros cambios son generalmente asintomáticos, pero con su progresión puede sobrevenir una pérdida AV como consecuencia de las secuelas de una maculopatía (edema macular y la isquemia) y NV de la retina (hemorragia vítrea y desprendimiento de retina) y el iris (glaucoma neovascular). Por lo tanto, la evaluación clínica debe tener como objetivo detectar estas manifestaciones oculares graves, y en su ausencia evaluar el riesgo de progresión de la enfermedad que amenaza la visión.

Los signos microvasculares en la RDNP definidos por el grupo *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* (ETDRS) (147) son: microaneurismas, hemorragias, exudados duros (ED) correspondientes a depósitos lipídicos, exudados blandos o algodinosos (EB) que corresponden a acumulaciones de escombros axoplásmicos dentro de paquetes adyacentes de axones células ganglionares, dilatación y tortuosidad venosa (TV), y anormalidades microvasculares intrarretinianas (IRMA) (figura 17).

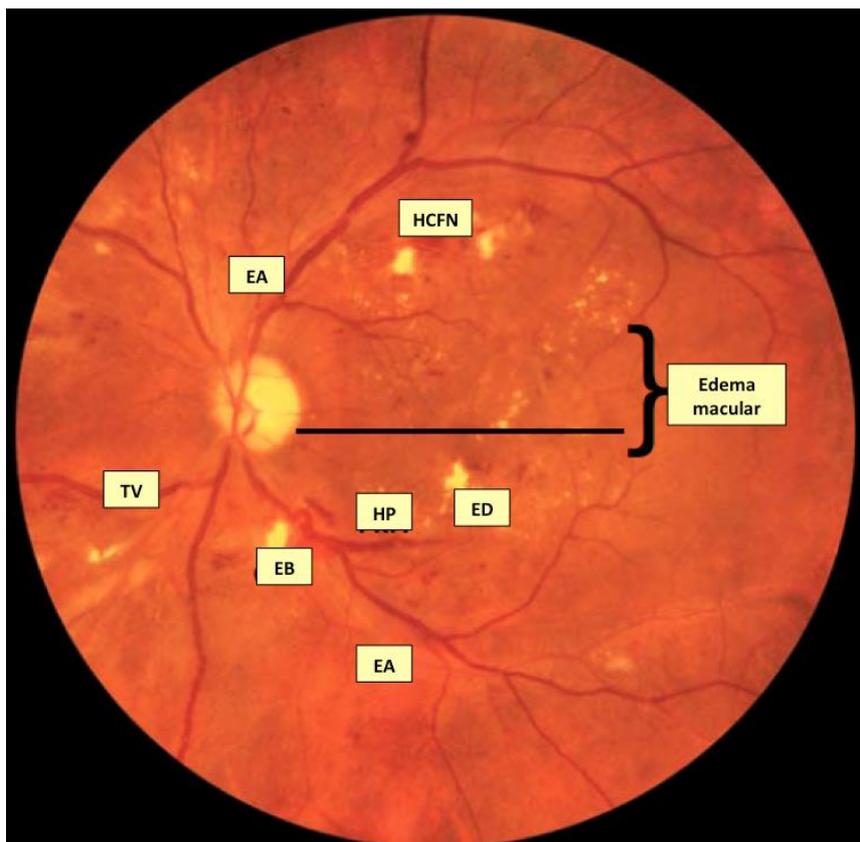


Figura 17: Signos de RD en funduscopia. Hemorragia en capa de fibras nerviosas (HCFN), hemorragia prerretiniana (HP), exudados duros (ED), exudados blandos o algodinosos (EB), estenosis arteriolar (EA), tortuosidad venosa (TV) y edema macular.

La aparición de la NV retiniana anuncia un cambio crítico en la progresión de la RD. La proliferación fibrovascular indica RDP y es una característica de la enfermedad avanzada en la cual la pérdida de visión pueden tener lugar repentinamente debido a hemorragia vítrea o desprendimiento de retina traccional. La tasa de progresión a RDP después de 10 años se ha cifrado en el 6,6%.

Dependiendo de estos signos la RD se clasifica en diferentes estadios para facilitar su manejo diagnóstico y terapéutico. En el año 2002 el grupo GDRPG (Global Diabetic Retinopathy Project Group)(148) propuso una nueva clasificación para la RD que es la más ampliamente utilizada en la práctica clínica habitual: la Escala Internacional de Severidad de la retinopatía (tabla 11, figura 18).

ESTADÍO	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	IMPLICACIONES CLÍNICAS	FRECUENCIA DE EXPLORACIÓN OCULAR	TRATAMIENTO	
RETINOPATÍA DIABÉTICA NO PROLIFERATIVA (RDNP)	SIN RD APARENTE	Ausencia de microaneurismas ( $\mu$ A)	Sin riesgo de amenaza visual	HbA1c < 7 y sin FR: Control bianual HbA1c elevada y FR: Control anual	Observación
	RD LEVE	Sólo microaneurismas ( $\mu$ A)	Progresión a RDP: 5% (en año) y 14% (en 3 años)	Control anual. Adelantar si: $\mu$ A que afectan a fovea. Paso de ADO a insulina. Embarazo	Observación
	RD MODERADA	$\mu$ A + < 20 hemorragias intrarretinianas en cada uno de los 4 C, exudados duros, exudados algodonosos y tortuosidad vascular en 1 sólo cuadrante	Riesgo de progresión a RDP: 12-26% (en 1 año), 30-48% (en 3 años)	Control cada 6 meses	Observación
	RD SEVERA	$\mu$ A + uno de los siguientes hallazgos: 4C con $\geq$ 20 hemorragias intrarretinianas; $\geq$ 2C con tortuosidad vascular; $\geq$ 1C con IRMA.	Riesgo de progresión a RDP: 52% (en 1 año), 71% (en 3 años)	DM1: Cada 2 meses. DM2: Cada 3-4 meses	PAN temprana: DM2 con mal control metabólico, no cumplimiento de revisiones, RDP en el otro ojo, progresión de RD, cataratas, previo a cirugía de cataratas, embarazo o intención de lograrlo, <b>áreas de isquemia generalizada en AGF.</b>
	RD MUY SEVERA	$\mu$ A + al menos 2 de los hallazgos anteriores			PAN
RD PROLIFERATIVA (RDP)	NV y/o hemorragia prerretiniana o hemovítreo	Indicación obligada de PAN	Cada 3-6 meses	PAN en medio mes máximo: Si no respuesta: EGF o CVR	

Tabla 11. Clasificación clínica internacional de la RD (GDRPG).  $\mu$ A=microaneurismas. ADO=Antidiabéticos orales. C=Cuadrantes. IRMA=Anormalidades microvasculares intrarretinianas. PAN=Panfotocoagulación retiniana. AGF=Angiografía con fluoresceína. NV=neovascularización. CVR=Cirugía vítreo-retiniana.

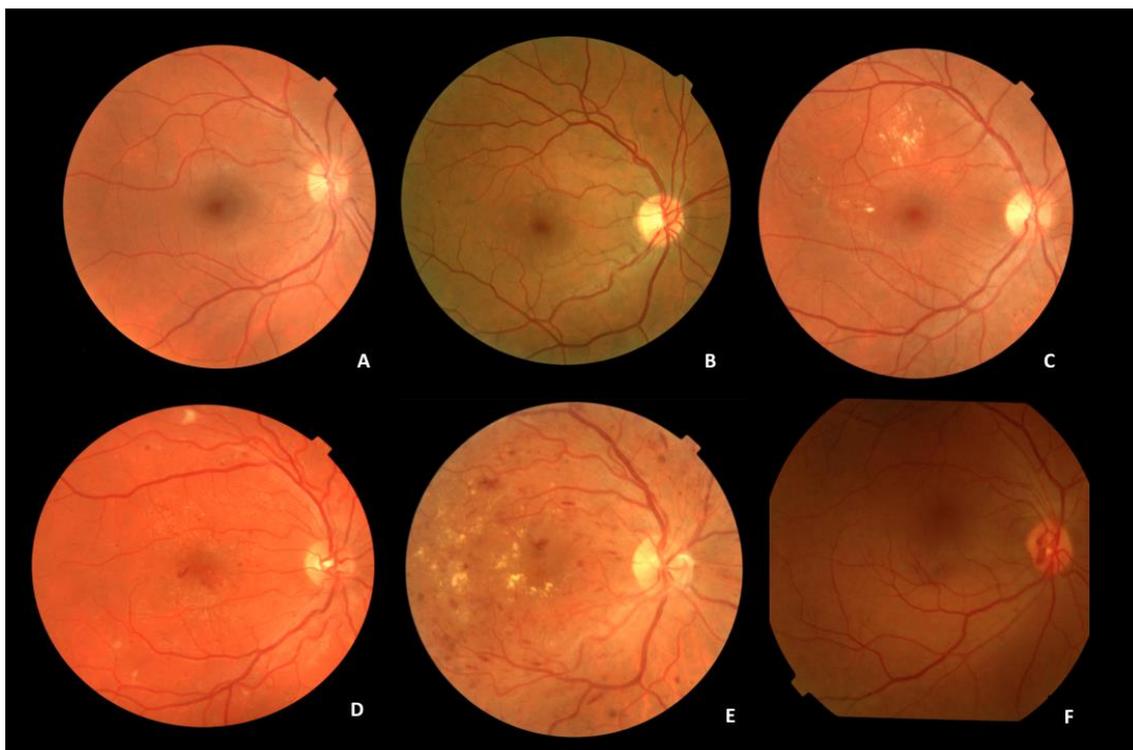


Figura 18. A: RD incipiente. B: RD leve. C: RD moderada. D: RD severa. E: RD muy severa. F: RDP

## 4. MACULOPATÍA DIABÉTICA

---

La maculopatía diabética ocurre cuando la retinopatía afecta a la mácula y la AV central se ve amenazada. Los pacientes con DM tipo 2 tienen una mayor prevalencia de maculopatía que aquellos con DM tipo 1 (53% v 42%). Dentro de la maculopatía diabética englobamos dos condiciones que a menudo coexisten:

- La isquemia macular: Se caracteriza por la pérdida capilar en el área macular; se demuestra el uso de la angiografía con fluoresceína y en la actualidad es incurable.
- El EMD: Causado por el aumento de permeabilidad de la BHRI y la disminución de flujo de salida de fluido a través del EPR, lo cual conduce a una acumulación de líquido intrarretiniano que provoca inflamación de la retina y la reducción de la visión central. Es una de las complicaciones oculares más temidas de la DM y constituye, en la actualidad, la principal causa de pérdida grave de visión en estos pacientes, especialmente en los que padecen DM2. Puede ocurrir en cualquier etapa de la enfermedad, no entra dentro de los

critérios de clasificación de la RD y conduce a un rápido deterioro de la visión. Actualmente su detección, respuesta a tratamiento y recurrencias tras el mismo, se ha visto facilitada por la utilización de la tomografía de coherencia óptica (OCT) (figura 19).

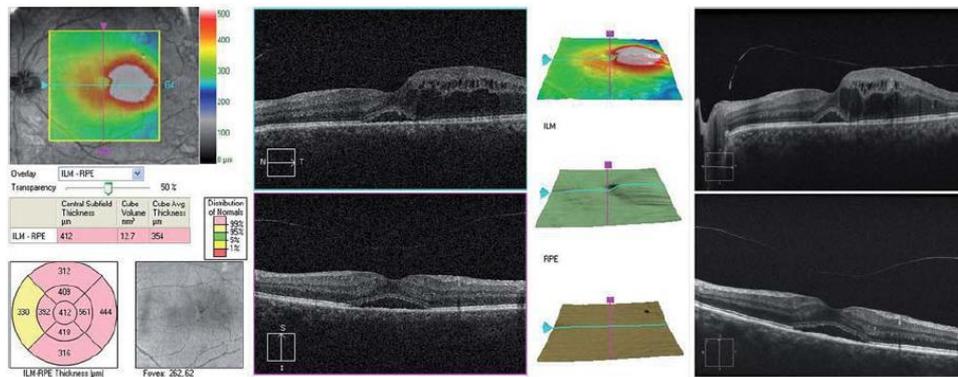


Figura 19. Imagen de EMD en OCT. Las imágenes de la OCT nos dan información cuantitativa (espesor macular central) y cualitativa (distribución y morfología del edema) del EM.



**JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL  
ESTUDIO**



## **1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

---

El aumento exponencial de la DM en todo el mundo tendrá como consecuencia el aumento de las complicaciones derivadas de la enfermedad, entre ellas las oculares. Como consecuencia de ello, se producirá un aumento de los costes sanitarios derivados de la asistencia a los pacientes con RD, lo que repercutirá en los presupuestos en salud de todas las comunidades.

La DM es una enfermedad crónica pero controlable mediante la asistencia a las visitas programadas y las actuaciones que promuevan un estado de vida saludable. La prevención primaria mediante una mejor gestión médica de la DM, la detección temprana y el tratamiento oportuno contribuiría a reducir el riesgo de pérdida visual. Además, la aparición de nuevos tratamientos va a cambiar la gestión de este tipo de retinopatía (149). No obstante, las bases celulares y moleculares que inducen la presencia de retinopatía en los diabéticos permanecen sin esclarecer.

## **2. HIPÓTESIS**

---

El diagnóstico precoz de las complicaciones oculares de la DM es esencial para favorecer el pronóstico visual, y consiste no sólo en detectar la pérdida de la visión, sino en definir la extensión y profundidad de las lesiones y sus características etiopatogénicas, con el fin de abordar el diagnóstico y tratamiento más adecuado. Sin embargo, la práctica nos indica que las manifestaciones oftalmológicas (subjetivas y objetivas) aparecen en muchas ocasiones cuando la lesión ya está en una fase avanzada. Los nuevos avances en biomedicina y biotecnología y el desarrollo de la informática han favorecido la aparición de nuevas técnicas, muchas de las cuales han supuesto una gran ayuda a las actuales, sobre todo en relación a las enfermedades retinianas (150, 151).

Como hemos comentado anteriormente, no conocemos las bases celulares y moleculares de la RD hasta el punto en el que no existe un tratamiento efectivo, que actualmente pueda frenar la pérdida de visión y la disminución de la calidad de vida en los pacientes afectados. El envejecimiento desempeña un papel fundamental en la mayoría de

patologías oculares. El conjunto de evidencias científicas obtenidas en la práctica clínica nos conducen a intentar analizar factores de riesgo exógenos y endógenos relacionados con los principales mecanismos etiopatogénicos de la enfermedad, que potencialmente podrían ser utilizados como nuevos marcadores de progresión de la enfermedad diabética y de las complicaciones oculares. La población objetivo son los habitantes de nuestra área mediterránea, de edad avanzada y con un mínimo de 5 años de evolución de su enfermedad diabética.

### **3. OBJETIVO PRINCIPAL**

---

#### **3.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

El objetivo principal de este trabajo de investigación es determinar las posibilidades de predecir el riesgo de presentación o progresión de la RD en base a la integración de diversos factores de riesgo exógenos y endógenos en una población mediterránea de pacientes con diabetes tipo 2 de larga duración.

#### **3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Analizar los datos demográficos, características de los pacientes, hábitos tóxicos, estilo de vida, factores de riesgo personales y familiares y características de la enfermedad diabética, en relación a la presentación o no de la RD.
- Estudiar los datos antropométricos (peso, talla, índice de masa corporal) en relación a la presentación o no de la RD.
- Realizar entrevista personal para evaluar las costumbres nutricionales (Encuesta validada para el cumplimiento de la dieta mediterránea) y su influencia en la presentación o no de la RD.
- Analizar los resultados del examen oftalmológico sistematizado (MAVC, exploración de fondo de ojo y retinografías) para delimitar las características de la retina en los pacientes con DM2 de larga evolución.
- Evaluar los resultados del hemograma (Hb y Hto) y análisis bioquímico convencional en sangre (glucemia basal, HbA1c y triglicéridos) en pacientes con

DM2 de larga duración y compararlos con los obtenidos de pacientes controles y analizar su posible relación de esta actividad con la presencia o no de la RD

- Valoración de los niveles plasmáticos de peroxidación lipídica mediante la determinación plasmática de malondialdehído y sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (MDA/TBARS), en pacientes con DM2 de larga evolución y compararlos con los de los pacientes controles y analizar una posible relación entre estos niveles y la presencia o no de la RD.
- Evaluación del estado antioxidante total (AOX) en el plasma de pacientes con DM tipo 2 de larga duración y compararlos con el de pacientes controles y estudiar su posible relación de esta actividad con la presencia o no de la RD.
- Integrar los resultados demográficos, nutricionales, bioquímicos y cualquier dato obtenido de este estudio para investigar si pueden influir en la presentación o progresión de la RD en DM2 de larga duración.
- Definir protocolos de actuación en clínica, tanto a nivel de atención primaria como especializada en relación a los hallazgos de este estudio para mejorar la asistencia oftalmológica y prevenir la pérdida de visión en los pacientes con DM2 de larga evolución.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**



## 1. DISEÑO DEL ESTUDIO

---

Este trabajo se integra en el **estudio multicéntrico para evaluar los efectos de la suplementación oral con antioxidantes y ácidos grasos en la RD en un seguimiento a tres años**, llevado a cabo por el grupo de estudio Valencia sobre retinopatía diabética (EVRD) cuya investigadora principal es la Dra. María Dolores Pinazo Durán. En este trabajo participan 10 centros de la Comunidad Valenciana: Hospital Universitario Dr. Peset y Centro de Especialidades Monteolivete (Valencia), Hospital Universitario y Politécnico La Fe y Centro de Especialidades Alboraya (Valencia), Hospital de Sagunto (Valencia), Hospital Arnau de Vilanova (Valencia), Clínica Rahhal (Valencia), Centro de Estudios Oftalmológicos de Valencia (CEOVA), Hospital General de Castellón de la Plana (Castellón), Consorcio Hospitalario Provincial de Castellón, Hospital de Vinaroz (Castellón), Unidad de Investigaciones Oftalmológicas del Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia (Valencia) y Unidad de Investigación Oftalmológica “Santiago Grisolia” (Valencia).

Todos los centros participantes se adhirieron al estudio y firmaron el consentimiento para su realización (anexo 1), obteniendo los permisos de cada uno de los comités éticos de investigación clínica (CEICs) así como de los jefes de servicio de las unidades de oftalmología participantes y de los coordinadores del estudio en cada centro, de acuerdo con el coordinador general del estudio, para realizar la investigación planteada. Además se obtuvo el permiso de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) para llevar a cabo todas las investigaciones de este estudio. Todos los ensayos se ajustaron a la normativa de la Comunidad Europea para la investigación humana (Declaración de Helsinki).

En este proyecto de tesis doctoral se plantea un estudio longitudinal prospectivo, de casos y controles en el contexto de la investigación anteriormente mencionada.

## 2. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES

Entre los meses de Junio a Diciembre de 2012 se llevó a cabo la selección de participantes por cada investigador principal de los diferentes centros teniendo en cuenta una serie de criterios de selección que se exponen a continuación.

<b>CRITERIOS DE INCLUSIÓN</b>	
<b>Pacientes con DM 2</b>	<b>Controles</b>
≥25 años y ≤80 años.	
Ambos sexos	
Capacidad para entender el estudio y colaborar	
Firmar consentimiento informado	
Padecer DM2 durante al menos 5 años	Individuos sanos que no padezcan enfermedad sistémica o tratamiento que pueda interferir en los resultados (afecciones graves del sistema cardiovascular, patología onco-hematológica)
Estadio de retinopatía diabética (según ETDRS): Sin RD hasta RD severa	

<b>CRITERIOS DE EXCLUSIÓN</b>	
<b>Pacientes con DM 2</b>	<b>Controles</b>
<25 años y >80 años	
Padecer cualquier otra enfermedad ocular que interfiera en la clasificación y obtención de los distintos resultados (glaucoma, distrofia corneal, otra retinopatía...).	
Tratamiento previo con láser argón, láser YAG o láser EXCIMER realizado 12 meses antes o menos	
Cirugía oftalmológica realizada durante el último año	
Padecer otra patología a nivel sistémico que pueda afectar a los resultados por su propio padecimiento o por su tratamiento (afección grave del sistema cardiovascular, patología onco-hematológica, procesos neurodegenerativos, patología renal y/o hepática...)	
Embarazo, lactancia o uso inadecuado de contracepción.	
Sospecha o confirmación de consumo de drogas ilegales	
Trastorno nutricional	
Sin capacidad para entender el estudio, ni colaborar	
Suplementación dietética con vitaminas, minerales o hierro	
No padecer DM2	
Padecer DM2 menos de 6 años	
Estadio de la RD muy severo o proliferativo según ETDRS, o lesiones que hayan requerido o requieran tratamiento específico (láser, inyección de medicación intravítrea, vitrectomía...)	

### 3. TAMAÑO MUESTRAL

---

Para determinar la muestra óptima se ha aplicado el programa EPIDAT 6.0. Para conseguir una precisión del 3,0% en la estimación de una proporción mediante un intervalo de confianza asintótico normal al 95% bilateral, era necesario incluir al menos 200 individuos en el estudio (125 diabéticos tipo 2 y 75 controles sanos).

De forma aleatoria y siguiendo los criterios de inclusión y exclusión establecidos en este estudio, seleccionamos 200 sujetos de ambos sexos y edades comprendidas entre 25 y 80 años que acudieron a las consultas de oftalmología de los centros expuestos en el apartado 1 entre el primer y segundo semestre del 2012. A todos los participantes se les informó y presentó el proyecto y una vez resueltas sus dudas y confirmada la comprensión de la investigación de la que iban a formar parte procedieron a firmar el consentimiento informado específico para las exploraciones oftalmológicas sistematizadas y la manipulación de muestras de sangre con fines de estudio.

A partir de este momento, los investigadores principales de cada centro procedieron a la realización de una anamnesis detallada, estudio sistémico y oftalmológico, y recogida dicha información se realizó una división de los participantes en dos grupos:

- Grupo control (GC): Este grupo está constituido por sujetos sanos ( $n=75$ ) que se reclutaron de entre los acompañantes de familiares que acudían a consulta por seguimiento o tratamiento de alguna patología oftalmológica y personal del hospital.
- Grupo con DM2 de larga evolución (GDM2): Individuos diagnosticados de DM2 de al menos 5 años de evolución:  $n=125$ .

El GDM2 a su vez fue subdividido en dos subgrupos dependiendo de los hallazgos obtenidos en la exploración funduscópica.

- Pacientes con DM2 sin RD (GDM2-RD):  $n=70$ .
- Pacientes con DM2 con algún grado de RD (GDM2+RD) según los hallazgos descritos por el grupo ETDRS:  $n=55$ .

## 4. ANAMNESIS

---

La anamnesis de todos los sujetos incluía:

- Registro de datos demográficos: Nombre y apellidos, teléfono de contacto, historia clínica y/o SIP, sexo, edad, raza, lugar de nacimiento, lugar de residencia actual. Respecto a la raza, se consideraron 5 etnias: caucásica o blanca, amerindia o hispana, afroamericanos o negra, amarilla o asiática y australiana.
- Antecedentes personales (AP): Enfermedades anteriores de interés. Enfermedad diabética (tipo de DM, inicio, duración (en años), medicación, desde cuándo y qué tipo). Otras enfermedades presentes, principalmente HTA.
- Antecedentes familiares (AF) (padres, tíos, hermanos, abuelos) de DM, HTA y otras ECV.
- Hábitos y estilo de vida:
  - Hábito alcohólico o tabáquico actual.
  - Vida activa o sedentaria según la realización de ejercicio diario o esporádico.
  - Se les interrogó también sobre los hábitos nutricionales aunque de forma global, valorando si llevaban o no a cabo algún tipo de dieta especial (hipocalórica, baja en carbohidratos o prescrita por el médico de atención primaria o endocrinólogo en base a enfermedad diabética, HTA, hipertrigliciremia o hipercolesterolemia..).

Cada vez que se citaba al paciente o se hablaba con él para controlar su seguimiento se reflejaron los posibles cambios de su situación basal.

## 5. CUESTIONARIO NUTRICIONAL

---

En la visita inicial a cada paciente se le realizó un cuestionario nutricional validado sobre dieta mediterránea utilizando el diseño modificado de Trichopoulou *et al.* en 2003 (152) (anexo 5).

La cumplimentación de esta encuesta precisaba la presencia del investigador principal con el objetivo de asegurarnos que el paciente entendía las cuestiones planteada y resolver posibles dudas.

En este cuestionario se utiliza un sistema de puntuación en el que se conceden puntos (mínimo 0, máximo 1) en función de su ingesta diaria de los distintos componentes de la dieta mediterránea. Al final se realiza la suma de todos ellos (mínima 0, máxima 14). Una puntuación a partir de 9 refleja un elevado grado de adherencia (tabla 12).

Nivel de cumplimiento	Puntuación total
Baja	<9
Buena	≥9

Tabla 12. Relación entre el nivel de adherencia a la dieta mediterránea respecto a la puntuación total obtenida en el cuestionario.

## 6. ESTUDIO OFTALMOLÓGICO

---

A todos los pacientes se les realizó una exploración oftalmológica de ambos ojos (AO) que incluyó:

- Mejor agudeza visual corregida (MAVC) con optotipos de Snellen y expresada según el logaritmo decimal del tamaño angular en minutos de arco (logMAR).
- Biomicroscopía completa en lámpara de hendidura descartando patología ocular asociada y verificando que no exista contraindicación para la dilatación pupilar.
- Tonometría ocular mediante tonómetro de aplanación de Goldmann para valorar presión intraocular (PIO) estimada en milímetros de mercurio (mmHg).
- Funduscopia de los siete campos del DIABETIC. La valoración del fondo de ojo se llevó a cabo con lámpara de hendidura y lente de 78 Dioptrías. Además, se tomaron retinografías de cada paciente con retinógrafo TOPCON ImageNet TRC 50 JA Retinal (fig. 20).



Figura 20. Retinógrafo TOPCON ImageNet TRC 50 JA Retinal

- El estudio morfométrico macular se realizó mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (HD-Cirrus; Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA) (fig.21).



Figura 21. Tomógrafo de coherencia óptica de dominio espectral (HD-Cirrus)

Se consideró la ausencia o presencia de RD en función de las lesiones funduscópicas característica definidas por el grupo de estudio DIABETIC (147): microaneurismas, hemorragias, exudados duros, exudados blandos o algodinosos, dilatación o tortuosidad venosa, anormalidades microvasculares intrarretinianas (IRMAS) y/o NV. Dependiendo de estos signos clasificamos a los pacientes con RD en función de la Escala Internacional de Severidad de la retinopatía propuesta por el grupo GDRPG (148) como (tabla 11, figura 18). A cada grado de retinopatía de cada ojo se le asignó un valor numérico según la siguiente correspondencia:

Sin retinopatía	0 puntos
Con retinopatía leve	1 punto
Con retinopatía moderada	2 puntos
Con retinopatía severa	3 puntos

Tabla 13. Correspondencia numérica de los grados de RD

El grado de RD para cada paciente se obtuvo considerando el ojo que más afectación tuviese de ambos.

## 7. ESTUDIO SISTÉMICO

---

Para el estudio sistémico, a todos los sujetos se determinaron los datos antropométricos:

- Peso en kilogramos (kg): Se midió el peso de los pacientes a primera hora de la mañana, en condiciones de ayuno en una balanza para adultos
- Talla en metros (m): Se midió la altura de los pacientes mediante un tallímetro integrado en la balanza.

A partir de estos datos se obtuvo el índice de masa corporal (IMC) mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IMC} = \text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 (\text{m}^2)$$

Siguiendo los valores propuestos por la OMS atribuimos a cada valor de IMC una categoría de masa corporal de acuerdo con la siguiente tabla.

CLASIFICACIÓN	IMC (kg/m <sup>2</sup> )
<b>BAJO PESO</b>	<18,5
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Delgadez severa</li> <li>• Delgadez moderada</li> <li>• Delgadez aceptable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;16,00</li> <li>• 16,00 - 16,99</li> <li>• 17,00 - 18,49</li> </ul>
<b>NORMAL</b>	18,5 - 24,99
<b>SOBREPESO</b>	25,00 - 29,99
<b>OBESIDAD</b>	≥30,00
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Obesidad tipo 1</li> <li>• Obesidad tipo 2</li> <li>• Obesidad tipo 3</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 30,00 - 34,99</li> <li>• 35,00 - 39,99</li> <li>• ≥40,00</li> </ul>

Tabla 14. Categoría de masa corporal en relación al IMC según los criterios de la OMS.

## 8. OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

### 8.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

La extracción de muestras de sangre se realizó de la vena antero-cubital a primera hora de la mañana en condiciones de ayuno (mínimo 8 horas) por las enfermeras de cada centro participante.

Los parámetros a analizar fueron los siguientes:

- **Hemograma:** Hb y Hto
- **Análisis bioquímicos clásicos:** HbA1c, Glucosa y triglicéridos (TG)
- **Análisis redox:** Actividad lipoperoxidativa (MDA/TBARS) y actividad antioxidante total (AOX).

Para ello se utilizaron tubos BD Vacutainer<sup>®</sup> para extracción de sangre por vacío (sistema Vac<sup>®</sup>), estériles y de un solo uso (fig. 22):

- **Hematimetría:** Tubo de vidrio con tapón violeta. Vacío de 3ml. Aditivo: 0,072ml de EDTA K<sub>3</sub> al 7,5% (Ref. 367652)
- **Bioquímica clásica:** Tubo de plástico polipropileno (PET) con tapón rojo. Vacío de 8,5ml. Aditivo: gel separador de suero SST<sup>™</sup>II Advance (Ref. 366468).
- **Coagulación:** Tubo de vidrio con tapón azul claro. Vacío de 4,5ml. Aditivo anticoagulante: citrato trisódico tamponado 0,129M (Ref. 367704).

- **HbA1c:** Tubo de plástico con tapón azul marino. Vacío de 2ml. Aditivo: 3,6mg de EDTA K<sub>2</sub> (Ref. 368843).
- **Análisis redox:**
  - Tubo de vidrio con tapón violeta. Vacío de 3ml. Aditivo: 0,072ml de EDTA K<sub>3</sub> al 7,5% (Ref. 367652): para la obtención de plasma tras la retracción del coágulo sanguíneo.
  - Tubo seco no siliconado de vidrio. Vacío de 5ml. Sin aditivos para la obtención del suero tras la coagulación de la muestra (Ref. 367624).



Figura 22. Tubos BD Vacutainer® para la obtención de muestras.

Todos los tubos se etiquetaron correctamente y manipulándolos de forma cuidadosa se procesaron de la siguiente manera:

- Los tubos para determinaciones convencionales fueron procesados de forma inmediata en los laboratorios de análisis clínicos de cada centro participante.
- Los tubos con EDTA y seco que contenían las muestras para las determinaciones de estrés oxidativo se enviaban a la Unidad de Investigación Oftalmológica “Santiago Grisolia” de Valencia en una nevera biológica a 4°C donde se procedía a su procesamiento dentro de las dos horas siguientes a su extracción. En el laboratorio se procedió a centrifugar las muestras a 2000rpm durante 10 minutos para eliminar las partículas insolubles y posteriormente se extrajo el sobrenadante tanto de suero, como de plasma.

## **8.2 PROCESAMIENTO DE TUBOS PARA EL ESTUDIO DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS CLÁSICOS**

### **8.2.1 HEMOGLOBINA GLICOSILADA (HbA1c)**

El examen directo de HbA1c es un ensayo enzimático en el cual muestras enteras de sangre sometidas a lisis sufren una digestión extensa de proteasas mediante la *Bacillus* sp proteasa. Este proceso libera los aminoácidos, incluyendo las valinas glicosiladas de las cadenas beta de la hemoglobina. Las valinas glicosiladas sirven luego de sustrato para la enzima recombinante, valina fructosil oxidasa (FVO), producida en la *E. Coli*. El recombinante FVO específicamente corta el terminal N de las valinas y produce peróxido de hidrógeno. Éste, a su vez, se mide usando una reacción catalizada de peroxidasa de rábano blanco (POD) y una sustancia cromógena adecuada. En este ensayo enzimático directo de HbA1c no se requiere una medida separada para la hemoglobina total (Hb).

La concentración de HbA1c se expresa directamente como %.

### **8.2.1 GLUCEMIA BASAL**

Las determinaciones de la glucosa se realizaron mediante el sistema Multicalibrador SYNCHRON LX<sup>®</sup> (Beckman Coulters's, Fullerton CA, USA). Este sistema determina la concentración de glucosa mediante un método cinético que emplea el electrodo para oxígeno de Beckman Coulter (153). Un volumen preciso de muestra (10µlitros) es inyectado en una cubeta de reacción que contiene solución de glucosa oxidasa. La proporción es una parte de muestra a 76 partes de reactivo. La velocidad pico de consumo de oxígeno es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra (154).

### **8.2.2 TRIGLICÉRIDOS**

Las determinaciones de TG también se realizaron mediante el sistema Multicalibrador SYNCHRON LX<sup>®</sup> (Beckman Coulters's, Fullerton CA, USA). El reactivo Triglicéridos GPO se utilizó para medir la concentración de triglicéridos mediante un método de punto final en un intervalo de tiempo fijo (155). Los triglicéridos en la muestra se

hidrolizan a glicerol y ácidos grasos libres por la lipasa. Una secuencia de tres pasos enzimáticos acoplados que utilizan glicerol cinasa (GK) glicerofosfato oxidasa (IGPO) y peroxidasa de rábano picante (HPO) provoca acoplamiento oxidativo del ácido 3,5-dicloro-2 hidroxibenzeno sulfónico (DHBS) con 4-aminoantipirina para formar un colorante rojo de quinona. El Sistema SYNCHRON LX<sup>®</sup> dispensa automáticamente los volúmenes correctos de muestra y reactivos en una cubeta. La proporción es una parte de muestra a 100 partes de reactivo. El sistema controla el cambio de absorbancia a 520nm. Este cambio en absorbancia es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra y es usado por el Sistema SYNCHRON LX<sup>®</sup> para calcular y expresar la concentración de triglicéridos.

### **8.3 PROCESAMIENTO DE TUBOS PARA EL ESTUDIO DE PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO**

#### **8.3.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPOPEROXIDATIVA (MDS/TBARS)**

La medida del malonildialdehído (MDA) como producto de la peroxidación lipídica, se realiza siguiendo la técnica del ácido tiobarbitúrico (TBA) y sus especies reactivas (TBARS) (156-158).

Los grupos aldehídicos de los TBARS reaccionan con dos moléculas del ácido tiobarbitúrico (TBA) a pH ácido y temperatura elevada (aproximadamente 100°) para formar un complejo de color rosado que se extrae con butanol. La fluorescencia de este complejo se mide en relación a la fluorescencia de muestras patrón de concentraciones conocidas (curva estándar) y posteriormente se extrapola la concentración de la muestra problema.

##### **8.3.1.1 REACTIVOS**

- **MDA 20µM y 2µM:** Se prepararon a 2 concentraciones a partir de solución stock del MDA Sigma T9889 para hacer los estándares.

- **Tampón fosfato salino o buffer fosfato salino** (phosphate buffered saline o PBS): 5 mM de fosfato de potasio, pH 7,4, que contiene cloruro de sodio 0,9% y 0,1% de glucosa. Se trata de una solución isotónica no tóxica para las células.
- **Sulfato sódico (Sodium Dodecil Sulfate o SDS) al 7%** (en polvo): Se diluyeron 7gramos de SDS en 100ml de H<sub>2</sub>O destilada caliente.
- **Ácido clorhídrico (HCl) 0.1N.**
- **Ácido fosfotungstico al 1% (en polvo):** Se diluyó 1gramo de ácido en 100ml de H<sub>2</sub>O destilada
- **Ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0,67% (en polvo):** Se diluyeron 0,67gramos de TBA en 100ml H<sub>2</sub>O destilada caliente.
- N-butanol líquido.

### 8.3.1.2 PROCEDIMIENTO

Primero preparamos en tubos eppendorf los patrones, de concentraciones crecientes de MDA, a partir de MDA stock (1,1,3,3-Tetraetoxipropano, SIGMA) (125, 159).

Protocolo para la elaboración de la curva estándar: Preparación de la curva estándar mediante dilución del MDA estándar. Así obtuvimos patrones de concentración conocida de MDA progresivamente crecientes en base a los siguientes datos.

Concentración MDA (µM)	PBS 0,01M (µl)	Volumen MDA (µl)
0	260	-
2	-	260
4	208	52
6	182	78
10	130	130

Tabla 15: Concentración MDA, tampón (PBS) y volumen MDA

Protocolo para la elaboración de la muestra y curva estándar:

1. Se organizaron, marcaron y enumeraron los tubos.
2. Se cargó 250µl de muestra diluida y estándares en los tubos.
3. Se cargó 125 µl del tampón PBS en todos los tubos
4. Se cargó 100µl de SDS al 7% en todos los tubos.
5. Se cargó 1ml de HCl 0,1N en todos los tubos.

6. Se cargó 150µl de ácido fosfotungstico al 1% en todos los tubos.
7. Se cargó 500µl de TBA al 0,67% en todos los tubos.
8. Se agitaron los tubos y se pusieron a hervir en el baño durante 1 hora a 98°C tapado de la luz con papel de aluminio.
9. Pasada la hora, se atemperó con hielo para parar la reacción durante aproximadamente 10 minutos.
10. Se pasó la solución a tubos de cristal con tapón de plástico
11. Se cargó 1ml de n-butanol.
12. Se centrifugaron los tubos a 2800rpm, 10 min a 25°C.
13. Se recogieron 200µl de sobrenadante de cada tubo que se cargaron en una placa de 96 pocillos de microtiter para fluorescencia (fig. 24A).
14. Medir la fluorescencia a 544nm de excitación y 590nm de emisión.

### 8.3.1.3 MEDICIÓN

Con el fluorímetro y luminómetro de microplacas (Fluoroskan Ascent FL, Termo Electron Corp., Waltham, MA, USA) (fig. 24B) se midieron las muestras con una longitud de onda de excitación de 544nm y emisión 590nm. Se midió la fluorescencia emitida de la muestra procesada frente a la de la curva estándar, que contiene los reactivos pero no la muestra de plasma.

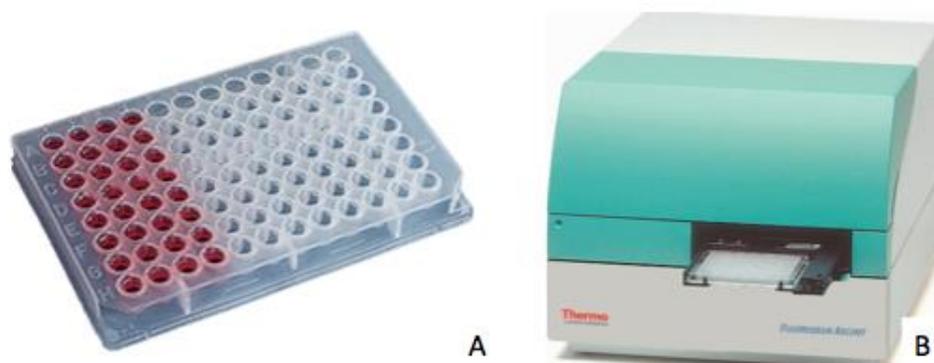


Figura 23. A. placa de 96 pocillos de microtiter para fluorescencia. B Fluorímetro y luminómetro de microplacas.

### 8.3.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (AOX)

El análisis se basa en la capacidad de los antioxidantes de la muestra para inhibir la oxidación de ABTS<sup>®</sup> (2,2azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)) por la metamioglobina. La cantidad de ABTS<sup>®</sup> producido se puede controlar mediante la lectura de la absorbancia a 750nm o 405nm con un espectrofotómetro. Bajo las condiciones de reacción utilizadas, los antioxidantes provocan la supresión de dicha absorbancia a 750nm o 405nm en un grado es proporcional a su concentración (160, 161). La capacidad de los antioxidantes en la muestra para evitar la oxidación del ABTS<sup>®</sup> se compara con la del Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromán-2-ácido carboxílico), un análogo de tocoferol o vitamina E soluble en agua, y se cuantifica en unidades denominadas como equivalentes de Trolox.

#### 8.3.2.1 REACTIVOS

Los reactivos incluidos en el kit de antioxidante total son:

- **Tampón fosfato salino o buffer fosfato salino** (phosphate buffered saline o PBS): 5mM de fosfato de potasio, pH 7,4, que contiene cloruro de sodio 0,9% y 0,1% de glucosa. Se trata de una solución isotónica no tóxica para las células.
- **Cromógeno ABTS<sup>®</sup>**: (2,2 azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato))(polvo liofilizado)
- **Metamioglobina** (polvo liofilizado)
- **Trolox**: Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromán-2-ácido carboxílico (polvo liofilizado)
- **Sustrato**: Peróxido de hidrógeno(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)(Vial al8.82M).
- Placa de 96 pocillos microtiter.
- Espectrofotómetro abs=750nm o 405nm
- Pipetas.
- **HPLC-agua**: El agua grado HPLC es Agua Tridestilada que ha sido filtrada por una membrana de 0.2 micras para evitar que esta pueda contener cualquier partículas que dañen el equipo

### 8.3.2.2 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. **Buffer fosfato salino.** Diluimos 3ml del concentrado en 27ml de HPLC-agua. Se utiliza para reconstituir otros reactivos. Es estable hasta 6 meses a 4°C.
2. **Cromógeno ABTS®:** Se reconstituyó el vial liofilizado con 6ml de HPLC-agua. Es estable 24h a 4°C.
3. **Metamioglobina:** Se reconstituyó el vial liofilizado con 600µl de buffer fosfato salino. Es estable hasta un mes a -20°C.
4. **Trolox:** Se reconstituyó el vial liofilizado 1ml de HPLC-agua. Es estable 24h a 4°C. Con esto prepararemos la curva patrón.
5. **Peróxido de hidrógeno:** Diluimos 10µl de peróxido de hidrogeno al 8,82M en 990µl de HPLC-agua. Posteriormente cogimos 20µl de esta solución y la diluimos con 3,98ml de HPLC-agua. Con esto ya obtenemos la solución de peróxido de hidrogeno al 441µM. Es estable 4horas a temperatura ambiente.

### 8.3.2.3 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Diluimos las muestras a 1:20 o 1:30 con buffer fosfato salino

### 8.3.2.4 PREPARACIÓN DE LOS ESTANDARD

Cogimos 7 tubos de cristal y los marcamos de A-G e hicimos los estandard según la tabla:

<b>Tubo</b>	<b>Trolox (µl)</b>	<b>Buffer fosfato salino (µl)</b>	<b>Conc.final(mM trolox)</b>
A	0	1000	0
B	30	970	0.045
C	60	940	0.090
D	90	910	0.135
E	120	880	0.18
F	150	850	0.225
G	220	780	0.330

Tabla 16: Preparación de los estándares

### 8.3.2.5 PREPARACIÓN DE LA PLACA

1. En los pocillos Standard y de muestra añadimos (fig. 24):
  - a. 10µl de Standard (A-G).
  - b. 10µl de metamioglobina
  - c. 150µl de cromógeno ABTS®
2. Para empezar la reacción añadimos 40µl de peróxido de hidrogeno.
3. Tapamos la placa e incubamos en agitación 5 minutos a temperatura ambiente.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	A	S2	S2	S10	S10	S18	S18	S26	S26	S34	S34
B	B	B	S3	S3	S11	S11	S19	S19	S27	S27	S35	S35
C	C	C	S4	S4	S12	S12	S20	S20	S28	S28	S36	S36
D	D	D	S5	S5	S13	S13	S21	S21	S29	S29	S37	S37
E	E	E	S6	S6	S14	S14	S22	S22	S30	S30	S38	S38
F	F	F	S7	S7	S15	S15	S23	S23	S31	S31	S39	S39
G	G	G	S8	S8	S16	S16	S24	S24	S32	S32	S40	S40
H	S1	S1	S9	S9	S17	S17	S25	S25	S33	S33	S41	S41

Figura 24: Preparación de la placa microtiter. A-G = Pocillos para estándares. S1-S41 = Pocillos para la muestra

### 8.3.2.6 MEDICIÓN

1. Retiramos la tapa y leímos la absorbancia a 750nm. Así calculamos la absorbancia media de cada estándar y muestra.
2. Trazamos la absorbancia promedio de los estándares como una función de la concentración final Trolox (mM) (fig.25).

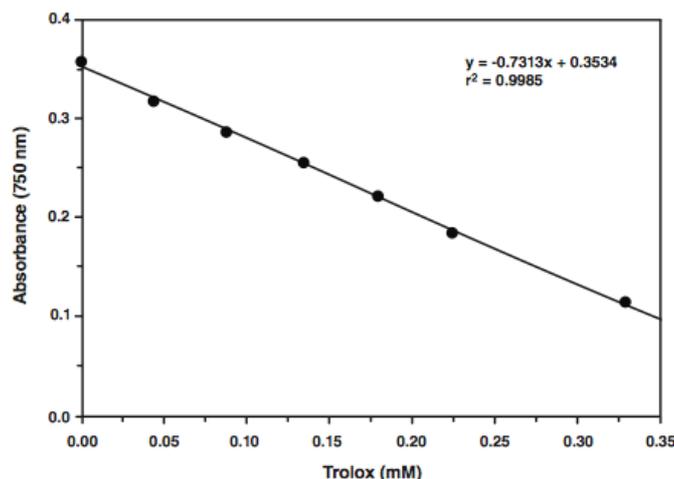


Figura 25: Curva estándar Trolox

- Calculamos la concentración de antioxidante de las muestras usando la ecuación obtenida a partir de la regresión lineal de la curva estándar mediante la sustitución de los valores de absorbancia media para cada muestra en la ecuación.

$$\text{AOX} = (\text{Media de la absorbancia de la muestra (ordenada en el origen)} / \text{pendiente}) \times \text{dilución}$$

## 9. DISEÑO ESTADÍSTICO

---

Tras el sistema de selección, los datos obtenidos de cada paciente fueron consignados en una planilla electrónica Excel 14.3.1 (Microsoft Excel versión 14.3.1) específicamente diseñada. Los datos incluidos fueron los siguientes:

- Datos demográficos: Edad, sexo y raza
- Antecedentes familiares de DM, ECV, HTA.
- Antecedentes personales: HTA y duración de DM2 en caso de padecerla.
- Estilo de vida: Nutrición, actividad física, hábito tabáquico y/o alcohólico
- Datos clínicos sistémicos:
- Datos antropométricos: Peso, talla e IMC.
- Estado de salud del paciente y medicación actual.

- Datos referentes a la exploración oftalmológica: MAVC, PIO, fondo de ojo, edema macular, espesor macular central (CST: central subfield thickness) medido en micras mediante OCT
- Datos bioquímicos:
  - Hemograma: Hb, Hto
  - Parámetros bioquímicos convencionales: HbA1c, Glucosa y TG.
  - Parámetros de estrés oxidativo: MDA/TBARS, AOXT

Todos estos datos se codificaron, introdujeron y analizaron estadísticamente con el programa SPSS versión 20.0 (Inc. Redmon, WA).

### **9.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA**

Las variables cualitativas fueron evaluadas mediante un análisis de frecuencia. Con las variables cuantitativas se realizó un análisis descriptivo, utilizando como medida de tendencia central la media, y como medida de dispersión la desviación típica o estándar expresado de la siguiente forma: media  $\pm$  desviación estándar.

### **9.2 ESTADÍSTICA ANALÍTICA**

Para valorar la distribución normal de las variables cuantitativas se realizó el test de Kolmogorov-Smirnov (KS-1), considerándose normales cuando el p valor era  $> 0,05$ .

Aquellas variables nominales que siguieron una distribución normal fueron analizadas utilizando pruebas paramétricas, concretamente el test t de Student y ANOVA para muestras independientes cuando se estudiaron las mismas variables en grupos diferentes y apareadas cuando se analizó una variable en el mismo grupo en las distintas visitas. Las que no siguieron una distribución normal fueron analizadas con pruebas no paramétricas, U de Mann-Whitney para muestras independientes, Kruskal-Wallis para muestras independientes y test de Wilcoxon para muestras apareadas. Cuando se analizó una variable para más de dos grupos se procedió a realizar el test de Bonferroni para identificar entre que grupos se encontraban dichas diferencias. Las variables categóricas se compararon entre los grupos utilizando el test del Chi-cuadrado. En todos estos casos el valor de p (p-value) se consideró significativo cuando fue  $< 0,05$  y muy significativo cuando fue  $< 0,01$ .

Para analizar la posible correlación entre variables numéricas se utilizó la correlación de Pearson para variables que seguían una distribución normal y la Rho d Spearman para las que no, considerándose el valor de p significativo cuando fue  $< 0,01$ . Cuando esta correlación resultó significativa se procedió a realizar una regresión logística binaria.

Todos los datos se corrigieron en base a la edad y sexo ya que entre GC y DM2 en la visita inicial se observaron diferencias estadísticamente significativas.



## **RESULTADOS**



# 1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS Y SUBGRUPOS

---

En el estudio se incluyeron 200 participantes de ambos sexos (entre 25 y 80) que fueron distribuidos en dos grupos principales: grupo control (GC) (n=75) y grupo con DM2 de larga evolución (GDM2) (n=125). El GDM2 fue a su vez subdividido en dos categorías: DM2 sin RD (GDM2-RD) (n=70), y DM2 con RD (GDM2+RD) (n=55).

## 1.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

### 1.1.1 SEXO

La distribución por sexos fue similar en el GDM2 (49,6% hombres, 50,4% mujeres), pero en el GC hubo más mujeres (34,7% hombres, 65,3% mujeres). Entre ambos grupos se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,039$ ) (tabla 17).

Al subdividir el GDM2 observamos una distribución similar tanto en el GDM2-RD (51,4% hombres, 48,6% mujeres), como en el en el GDM2+RD (47,3% hombres, 52,7% mujeres) sin diferencias significativas ( $p=0,645$ ) (tabla 18).

### 1.1.2 EDAD

La edad media del GC fue de  $47,61\pm 13,93$  años, y de  $63,54\pm 9,54$  años en el GDM2, observándose diferencias estadísticamente significativas ( $p=4,50E-15$ ) (tabla 17).

Al subdividir el grupo de pacientes diabéticos observamos una media de edad de  $62,26\pm 10,06$  en el GDM2-RD y de  $65,13\pm 8,5$  en el GDM2+RD sin diferencias significativas ( $p=0,105$ ) (tabla 18).

Al dividir al grupo GDM2 según la edad, tomando como punto de corte los 60 años, observamos un porcentaje de  $\geq 60$  años del 67,1% en el GDM2-RD y del 76,4% en el GDM2+RD sin observarse diferencias significativas entre ambos grupos ( $p=0,242$ ). Al realizar el análisis de riesgo, observamos que en nuestra muestra la edad no se asocia al desarrollo de RD de forma significativa (1,433, IC95% [0,653-3,143]).

## RESULTADOS

	n	SEXO		EDAD
		Hombre	Mujer	
GC	75	34,70% (26)	65,3% (49)	47,61 ± 13,93
GDM2	125	49,6% (62)	50,4% (63)	63,54 ± 9,54
p-value		0,039		4,50E-15
OR (95% IC)		1,185 (1,027-3,349)	0,539 (0,3-0,98)	1,118 (p=E4,527E-011)

Tabla 17. Características demográficas de los individuos del GC y GDM2 al inicio del estudio. Los resultados de género se expresan en porcentaje y frecuencia. Edad expresada como media±desviación estándar. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2.

	n	SEXO		EDAD
		Hombre	Mujer	
GDM2-RD	70	51,4% (36)	48,6% (34)	62,26 ± 10,06
GDM2+RD	55	47,3% (26)	52,7% (29)	65,13 ± 8,5
p-value		0,645		0,105
OR (95% IC)		1,181 (0,58-2,39)	0,847 (0,42-1,7)	1,037 (p=0,097)

Tabla 18. Características demográficas de los pacientes diabéticos en función de la presencia o ausencia de RD al inicio del estudio. Los resultados de género se expresan en porcentaje y frecuencia. Edad expresada como media±desviación estándar. Resultados significativos en rojo. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

### 1.1.3 RAZA

Un 98% (196) de los participantes fueron de raza caucásica o blanca, siendo este hecho debido al azar. Tan sólo un 2% (4) eran de raza amerindia o hispana, y de éstos, 2 pacientes pertenecían al GC y 2 al GDM2. Entre ambos grupos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,602$ ) (figura 26).

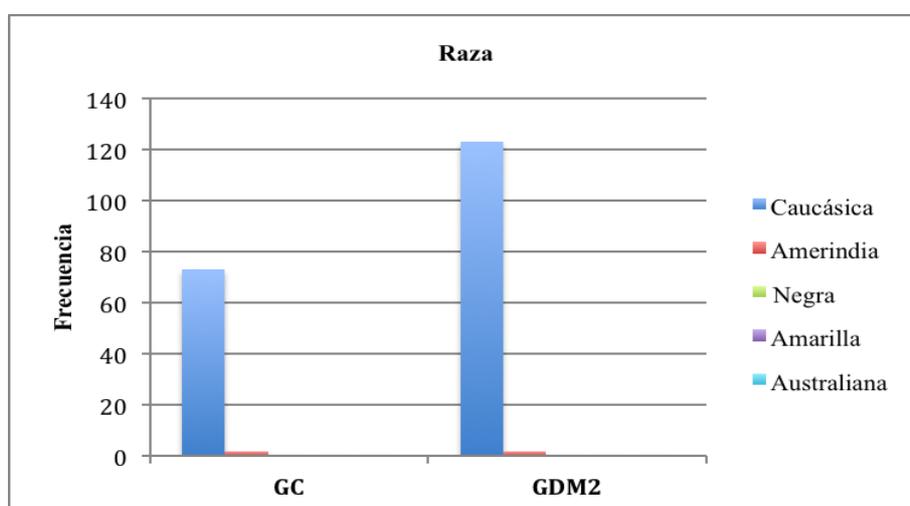


Figura 26. Frecuencia de la variable raza en el GC y GDM2 ( $p=0,602$ ). GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2.

## 1.2 ANTECEDENTES FAMILIARES

El porcentaje de pacientes diabéticos con AF de esta enfermedad fue significativamente mayor que en el GC ( $p=0,009$ ), sin embargo este último grupo presentaba mayor frecuencia de antecedentes familiares de HTA de forma significativa ( $p=0,039$ ) y de ECV ( $p=0,405$ ), no observándose en este último caso significación estadística.

Respecto a la estimación del riesgo, se observó que los pacientes con AF de DM2 tenían 2,179 veces más riesgo de padecer DM2 que los que no tienen AF (IC95% [1,214-3,911]) (tabla 19).

	n	ANTECEDENTES FAMILIARES (AF)		
		DM2	ECV	HTA
GC	75	46,7% (35)	29,3 (22)	53,3% (40)
GDM2	125	65,6% (82)	24% (30)	38,4% (48)
OR (95% IC)		2,179 (1,214-3,911)	0,761 (0,399-1,45)	0,545 (0,306-1)
p-value		0,009	0,405	0,039

Tabla 19. Distribución de la frecuencia de AF al inicio del estudio en GC y GDM2, expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. OR=Odds Ratio

Con la subdivisión en el GDM2, tan sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas en el caso de AF de ECV ( $p=0,028$ ), siendo la frecuencia mayor en GDM2-RD (tabla 20).

	n	ANTECEDENTES FAMILIARES (AF)		
		DM2	ECV	HTA
GDM2- RD	70	67,1% (47)	31,4% (22)	38,6% (27)
GDM2+ RD	55	63,6% (35)	14,5% (8)	38,2% (21)
OR (95% IC)		0,856 (0,408-1,79)	0,371 (0,15-1,1)	0,984 (0,476-2,034)
p-value		0,682	0,028	0,965

Tabla 20. Distribución de la frecuencia de AF al inicio del estudio en GDM2-RD y GDM2+RD, expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. OR=Odds Ratio

### 1.3 ANTECEDENTES PERSONALES (AP)

#### 1.3.1 DURACIÓN DE LA DM2

En el GDM2 se observó una duración media de la enfermedad de  $14,27 \pm 8,2$  años. Con la subdivisión de este grupo se observó una duración significativamente mayor en GD2+RD de forma estadísticamente significativa ( $19,20 \pm 6,8$  años vs  $10,4 \pm 7,12$  años,  $p=1,543E-010$ ) (figura 27).

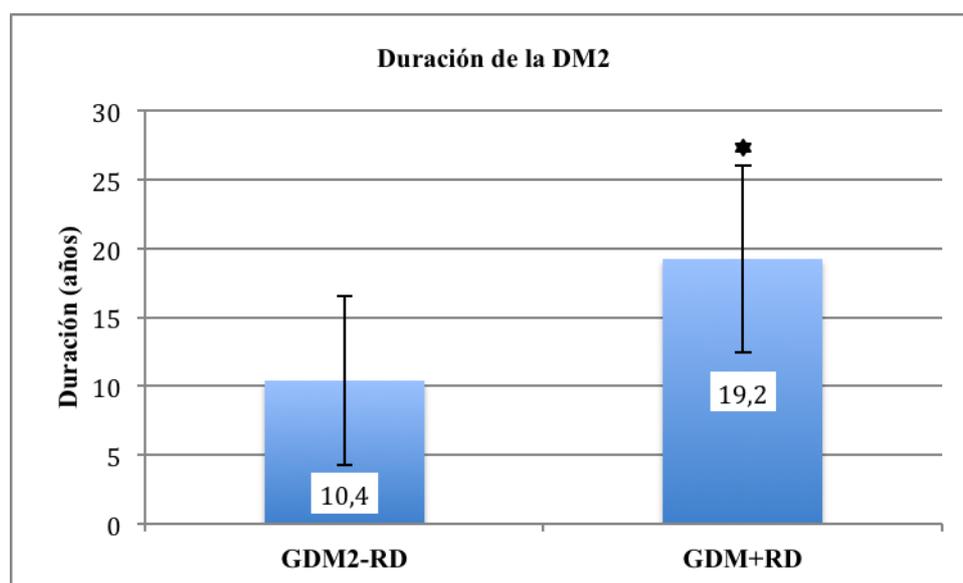


Figura 27. Comparación de la duración en años en paciente del GDM2-RD y GDM2+RD. \* indica nivel de significación < al 0,05. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

Además comprobamos que aquellos diabéticos con mayor duración de la enfermedad tenían 1,18 veces más riesgo de padecer RD de forma estadísticamente significativa ( $p=2,528E-007$ ).

Un tiempo de evolución de DM2 mayor de 5 años fue observado en el 91,4% (64) del GDM2-RD, mientras que aumentó a un 100% en el GDM2+RD de forma significativa ( $p=0,028$ ), observándose que aquellos pacientes con una duración de la enfermedad  $\geq 5$  años tenían 1,094 veces más riesgo de padecer RD (IC95% [1,018-1,175]).

Realizamos este mismo análisis tomando como referencia una evolución de DM2 superior a 10 años observando una frecuencia del 37,1% (26) en el GDM2-RD y de 96,4% (53) en el GDM2+RD ( $p=4,854E-013$ ), confirmándose que aquellos pacientes

con una duración de la enfermedad  $\geq 10$  años tenían 44,85 veces más riesgo de padecer RD (IC95% [10,079-199,532]).

### 1.3.2 AP DE HTA

Respecto al antecedente de HTA, se observó que esta enfermedad era más frecuente en GDM2+RD (76,4%), seguido por GDM2-RD (58,6%) y GC (9,3%) de forma estadísticamente significativa ( $p=5,64E-15$ ) (figura 28).

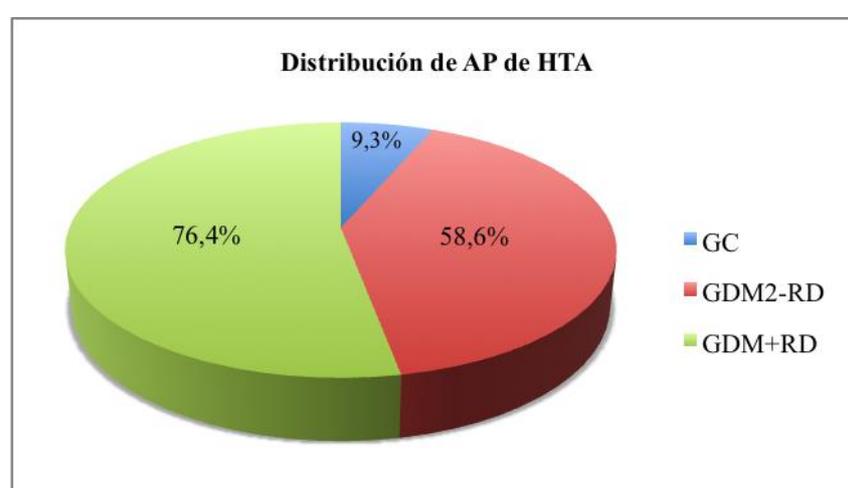


Figura 28. Distribución de la frecuencia de AP de HTA al inicio del estudio en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

Se observó que aquellos pacientes con HTA tenían significativamente 16,683 veces mayor riesgo de padecer DM2 ( $p=1,331E-010$ ) y 2,285 veces más riesgo de padecer RD ( $p=0,039$ ).

## 1.4 ESTILO DE VIDA Y HÁBITOS TÓXICOS

### 1.4.1 EJERCICIO FÍSICO

Respecto a los hábitos de vida se observó que en el GC era significativamente más frecuente la práctica de ejercicio físico (68% vs 37,6%,  $p=3,13E-05$ ) (tabla 21). En el GDM2 la actividad física fue más frecuente en GDM2-RD de forma estadísticamente significativa (45,7% vs 27,3%,  $p=0,035$ ) (tabla 22).

Asímismo se observó que aquellos pacientes sedentarios tenían 3,527 veces más riesgo de padecer DM2 (IC95% [1,93-6,46]) y 2,246 veces más riesgo de padecer RD (IC95% [1,53-4,78]) que los que sí realizaban algún tipo de actividad (tablas 21 y 22).

#### **1.4.2 HÁBITO TABÁQUICO**

En el GDM2 se observó una mayor frecuencia de hábito tabáquico (34,4%) respecto al GC (20%) de forma significativa ( $p=0,03$ ), observándose que su consumo actual suponía 2,098 veces más de riesgo de padecer DM2 de forma significativa (IC95% [1,1-4,12]) (tabla 21). En el subanálisis de pacientes diabéticos ciframos entre el GDM2+RD un hábito tabáquico actual del 50,9%, mientras que se reducía al 21,4% en GDM2-RD, observándose que los pacientes con DM2 fumadores tenían un 3,802 veces más riesgo de desarrollar RD que los no fumadores (IC95% [1,75-8,28]) (tabla 22).

#### **1.4.3 HÁBITO ALCOHÓLICO**

Al analizar la variable alcoholismo, se observó que su consumo actual era más frecuente en el GDM2 respecto al GC, aunque no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,217$ ) (tabla 21). Sí se observaron diferencias al comparar esta variable entre pacientes diabéticos según la ausencia o presencia de RD, siendo el alcoholismo actual más frecuente en GDM2+RD (43,6% vs 10%,  $p=1,63E-005$ ). Además pudimos cifrar en nuestra muestra que aquellos diabéticos que consumían alcohol tenían 6,968 veces más riesgo de padecer RD de forma muy significativa (IC95% [2,707-17,93]) (tabla 22).

#### **1.4.4 DIETA ESPECIAL**

La mayoría de participantes de esta muestra, perteneciesen al GC o GDM2 carecían de algún tipo de trastorno de alimentación y no seguían voluntariamente dietas especiales, modificadas o formuladas (tabla 21). En el GDM2, un 23,2% de pacientes seguía las recomendaciones dietéticas prescritas por sus médicos de atención primaria o endocrinólogos, y dentro de este grupo pudimos observar que la comparación entre pacientes del GDM2-RD y GDM2+RD era significativa en relación al seguimiento de una dieta baja en carbohidratos (30% en GDM2-RD vs 14,5% en GDM2+RD;

$p=0,033$ ), de hecho, el no cumplimiento de la misma supuso 2,518 veces más riesgo de padecer RD (tabla 22).

	n	DIETA ESPECIAL	EJERCICIO FÍSICO	TABAQUISMO	ALCOHOLISMO
GC	75	14,7% (11)	68% (51)	20% (15)	17,3% (13)
GDM2	125	23,2% (29)	37,6% (47)	34,4% (43)	24,8% (31)
OR (95% IC)		0,569 (0,265-1,220)	3,527 (1,93-6,46)	2,098 (1,067-4,122)	1,573 (0,764-3,24)
p-value		0,099	3,13E-05	0,03	0,217

Tabla 21. Estilo de vida y hábitos tóxicos al inicio del estudio en GC y GDM2, expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. OR=Odds Ratio.

	n	DIETA ESPECIAL	EJERCICIO FÍSICO	TABACO	ALCOHOLISMO
GDM2-RD	70	30% (21)	45,7% (32)	21,4% (15)	10% (7)
GDM2+RD	55	14,5% (8)	27,3% (15)	50,9% (28)	43,6% (24)
OR (95% IC)		2,518 (1,016-6,238)	2,246 (1,53-4,78)	3,802 (1,75-8,28)	6,968 (2,707-17,93)
p-value		0,033	0,035	0,001	1,63E-005

Tabla 22. Estilo de vida y hábitos tóxicos al inicio del estudio en pacientes GDM2-RD y GDM2+RD, expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. OR=Odds Ratio.

## 1.5 CUMPLIMIENTO DE LA DIETA MEDITERRÁNEA

El cumplimiento de la dieta mediterránea al analizar los hábitos alimentarios de los participantes en el estudio, demostró valores significativamente mayores en el GC respecto al GDM2 (53,3% vs 32,8%,  $p=0,003$ ). En aquéllos con baja adherencia a la alimentación con nutrientes incluidos en la dieta mediterránea se observó 2,341 veces más riesgo de padecer DM2 que los que tenían una buena adherencia, de forma estadísticamente significativa (IC95% [1,301-4,214]). (tabla 23).

	Baja adherencia (<9)	Alta adherencia (≥9)
GC	46,7% (35)	53,3% (40)
GDM2	67,2% (84)	32,8% (41)
OR (95% IC)	2,341 (1,301-4,214)	0,427 (0,237-0,769)
p-value	0,003	

Tabla 23. Distribución del GC y GDM2, al inicio del estudio, según su nivel de adherencia a la dieta mediterránea expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. OR=Odds Ratio.

## RESULTADOS

En el análisis de subgrupos diabéticos, el 44,3% de los pacientes incluidos en el GDM2-RD manifestaron una buena adherencia en comparación con el 18,2% de los pacientes del GDM2+RD de forma estadísticamente significativa ( $p=0,002$ ). En los pacientes con baja adherencia se observó 3,577 veces más riesgo de padecer RD que los que sí tenían una buena adherencia, de forma estadísticamente significativa (IC95% [1,56-8,22]) (tabla 24).

	Baja adherencia (<9)	Alta adherencia (≥9)
<b>GDM2-RD</b>	55,7% (39)	44,3% (31)
<b>GDM2+RD</b>	81,8% (45)	18,2% (10)
<b>OR (95% IC)</b>	3,577 (1,56-8,22)	0,427 (0,122-0,642)
<b>p-value</b>	0,002	

Tabla 24. Distribución del GDM2-RD y GDM2+RD, al inicio del estudio, según su nivel de adherencia a la dieta mediterránea expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. OR=Odds Ratio.

## 1.6 DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Dentro de los datos antropométricos vamos a analizar la talla, peso e IMC.

El peso cuantificado en kg fue estadísticamente mayor en el GDM2 ( $p=5,64E-08$ ) (tabla 25). Al analizar este grupo en función de la ausencia o presencia de RD, se observó que este parámetro era significativamente mayor en el GDM2-RD ( $p=1,677E-005$ ) y GDM2+RD ( $p=4,61E-06$ ) en comparación al GC, pero no se obtuvo suficiente significación estadística al comparar a los diabéticos entre sí ( $p=1$ ) (tabla 26).

Los valores de IMC resultaron significativamente inferiores en el GC respecto al GDM2 ( $23,76\pm 3,44$  vs.  $28,35\pm 4,3$ ;  $p=8,94E-13$ ) (tabla 25). Se observaron diferencias significativas comparando el IMC del GC respecto a pacientes del GDM2-RD ( $p=7,72E-09$ ) y GDM2+RD ( $p=2,73E-10$ ). No obstante entre pacientes sin y con RD las diferencias no resultaron significativas ( $p=0,968$ ) (tabla 26).

	n	TALLA (m)	PESO (kg)	IMC
GC	75	1,67 ±0,09	67,89 ± 12,82	23,76 ±3,78
GDM2	125	1,65 ±0,08	78,75 ± 13,39	28,35 ±4,3
p-value		0,154026	5,64E-08	8,94E-13

Tabla 25. Resultados de los datos antropométricos en GC y GDM2 expresados como media±desviación estándar. Resultados estadísticamente significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2.

	n	TALLA (m)	PESO (kg)	IMC
GC	75	1,67 ±0,09	67,89 ± 12,82	23,76 ±3,78
GDM2-RD	70	1,66 ±0,08	78,14 ± 12,66	28,03 ±4,01
GDM2+RD	55	1,65 ±0,08	79,52 ± 14,36	28,76 ±4,65
p-value		0,323 <sup>C</sup>	3,66E-07 <sup>A,C</sup>	2,63E-11 <sup>B,C</sup>

Tabla 26. Resultados de los datos antropométricos en GC, GDM2-RD y GDM2+RD, expresados como media±desviación estándar. Resultados estadísticamente significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas comparando el peso del GC respecto a GDM2-RD ( $p=1,677E-005$ ) y GDM2+RD ( $p=4,61E-06$ ). <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas comparando el IMC del GC respecto a GDM2-RD ( $p=7,72E-09$ ) y GDM2+RD ( $p=2,73E-10$ ). <sup>C</sup>: Entre pacientes GDM2-RD y GDM2+RD las diferencias de estas tres variables no resultaron significativas. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

Tal y como se ha explicado en el apartado 7 de Material y Métodos, el valor de IMC se asignó a un estado nutricional específico siguiendo los criterios de la OMS.

En el GC la categoría más frecuente fue la de normopeso (60%, n=45) seguida por la de sobrepeso (32%, n=24).

En el GDM2, la categoría más frecuente fue la de sobrepeso (44%, n=55) y la segunda la de obesidad (34,4%, n=43). En la subdivisión de la categoría de obesidad, lo más frecuente fue la obesidad tipo 1 (27,2%, n=34), seguida de la obesidad tipo 2 (4%, n=5) y obesidad tipo 3 (3,2%, n=4). Un 21,6% (n=27) de pacientes tenían normopeso y ninguno bajo peso.

La subdivisión de pacientes con DM2 (GDM2-RD y GDM2+RD) en estas categorías, así como su significación estadística se muestra en la figura 29.

Tomando como referencia el valor  $\geq 25$  (cifra ya indicativa de sobrepeso):

- Se observaron diferencias significativas entre el GC (38,7%) y GDM2 (79,2%) ( $p=09,065E-009$ ), observándose que aquellos sujetos con  $IMC \geq 25$  tenían 5,979

veces más riesgo de desarrollar DM2 (IC95% [3,169-11,279]).

- No se observaron diferencias significativas entre el GDM2-RD (80%) y GDM2+RD (78,2%) ( $p=0,466$ ) ni se pudo demostrar el riesgo (IC95% [0,367-2,086]).

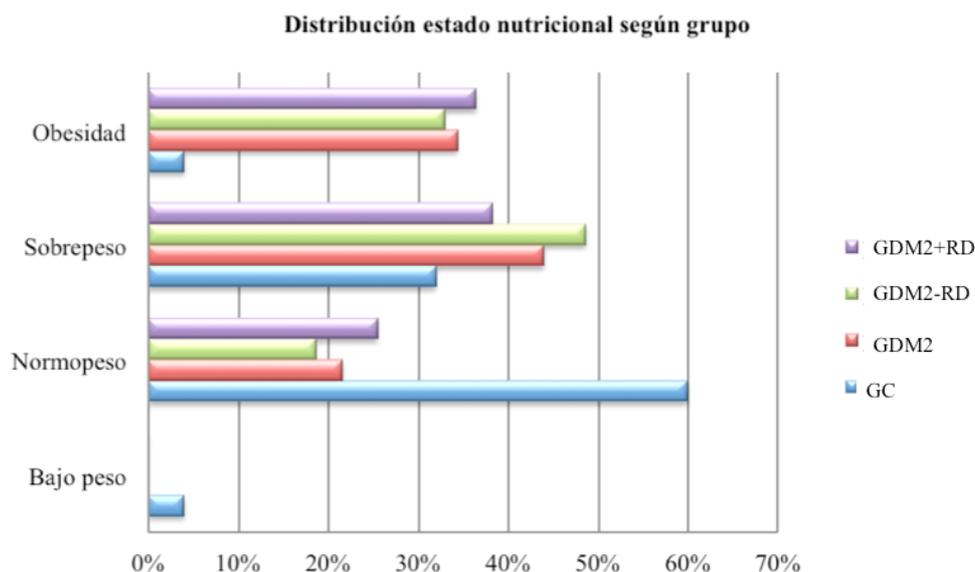


Figura 29. Distribución del estado nutricional entre los diferentes grupos de estudio. Entre GC y GDM2 se observan diferencias significativas ( $p=1,049E-009$ ); también entre GC, GDM2-RD y GDM2+RD ( $p=2,757E-008$ ). Al realizar este análisis en GDM2-RD respecto a GDM2+RD, no se observaron diferencias significativas ( $p=0,463$ ). GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

## 2. RESULTADOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS DE LOS GRUPOS Y SUBGRUPOS AL INICIO DEL ESTUDIO

### 2.1 EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

Como se ha explicado en el apartado 6 de Material y Métodos, a todos los pacientes se les realizó en la visita inicial una exploración oftalmológica estándar completa incluyendo la realización de retinografías y SD-OCT macular.

Los resultados de las variables cuantitativas (MAVC, PIO y CST) se expresan como  $\text{media} \pm \text{desviación estándar}$  de ojo derecho (OD) y ojo izquierdo (OI). Los resultados de las variables cualitativas (presencia o ausencia de EM) se expresa en porcentaje y frecuencia de OD y OI. Todos estos datos quedan reflejados en las tablas 27 y 28.

### 2.1.1 MAVC

En la visita inicial, el GC presentaba de forma muy significativa una mayor MAVC en AO respecto al GDM2 ( $p=7,255E-008$  para OD, y  $p=4,678E-007$  para OI) (tabla 27). Del mismo modo, se observó significativamente mayor MAVC en el GC al compararlos con el GDM2-RD ( $p=0,002$  para OD,  $p=0,041$  para OI) y con el GDM2+RD ( $p=9,936E-009$  para OD y  $p=1,195E-010$  para OI).

Entre los pacientes diabéticos, el GDM2-RD presentó de forma muy significativa mayor MAVC en AO respecto al GDM2+RD ( $p=0,011$  para OD y  $p=2,250E-005$  para OI) (tabla 28).

Los datos comparativos correspondientes a la MAVC media y desviación estándar de cada uno de los grupos, se muestran en la figura 30.

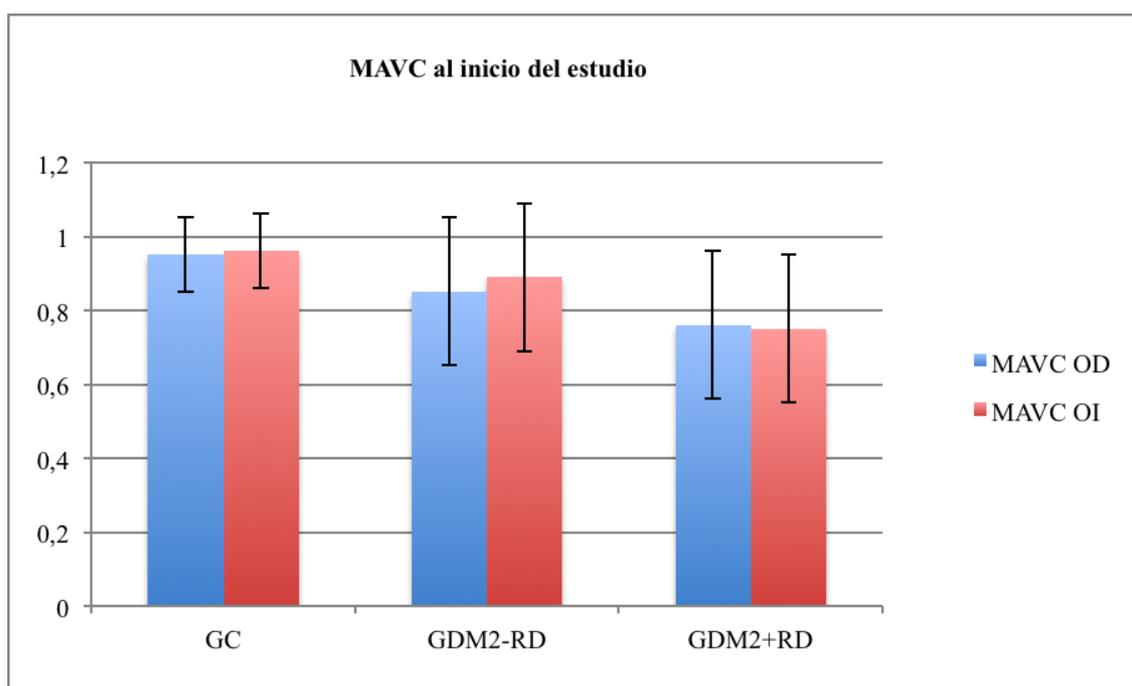


Figura 30. MAVC en la visita inicial en los diferentes grupos del estudio. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

### 2.1.2 PIO

En la visita inicial, la PIO resultó significativamente más baja en el GC en comparación con el grupo GDM2 ( $p=0,04$  para OD, y  $p=0,016$  para OI) (tabla 27). Estas diferencias no resultaron significativas al comparar el GC con el GDM2-RD y GDM2+RD,

## RESULTADOS

exceptuando la PIO de OI que sí resultó muy significativamente menor en el GC respecto a GDM2-RD ( $p=0,006$ ). Entre los pacientes del GDM2-RD y GDM2+RD no se encontraron diferencias (tabla 28).

### 2.1.3 FUNDUSCOPIA

En la exploración funduscópica inicial se observó que todos los pacientes del GC y GDM2-RD presentaban un FO estrictamente normal. En los 55 pacientes del GDM2+RD, el grado más frecuente fue la RD leve, seguido de la RD moderada y finalmente RD severa (63,6% (35), 29,1% (16) y 7,3% (4) respectivamente) (figura 31).

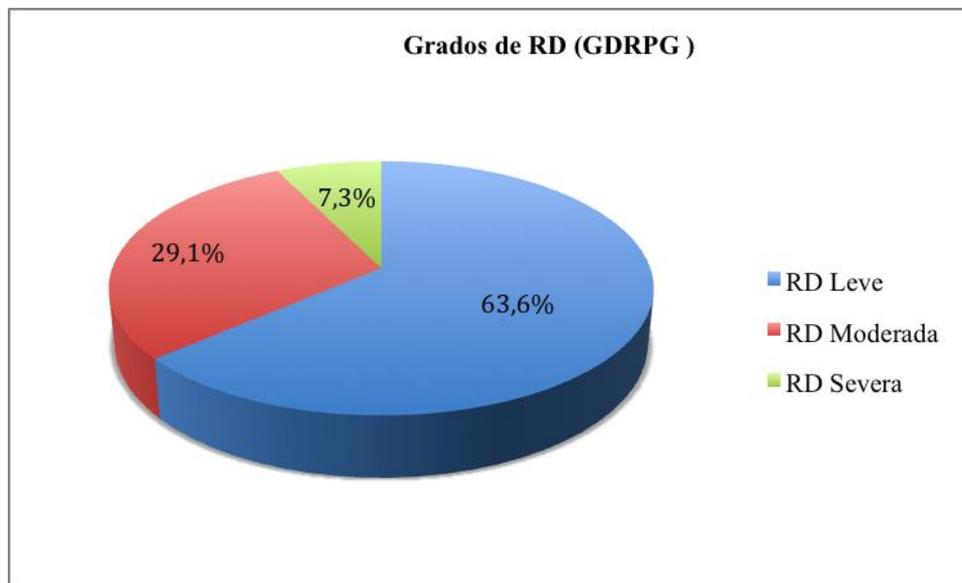


Figura 31. Distribución de los pacientes del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). RD=Retinopatía diabética. GDRPD=*Global Diabetic Retinopathy Project Group*.

### 2.1.4 EDEMA MACULAR

En la visita inicial, un 5,6% de pacientes del GDM2 presentaban EM en su OD, y un 11,2% en su OI de forma significativa ( $p=0,037$  y  $p=0,003$  respectivamente) (tabla 27). El EM fue significativamente más frecuente en el GDM2+RD respecto al GC y GDM2-RD ( $p=7,036E-005$  para OD, y  $p=2,214E-006$  para OI) (tabla 28).

## 2.1.5 CST

En la visita inicial se observó que el CST permanecía dentro de los límites normales en el GC y GDM2, sin resultar las diferencias significativas ( $p=0,698$  para OD, y  $p=0,752$  para OI) (tabla 27). Sí encontramos levemente aumentado el CST en OD en pacientes del GDM2+RD respecto al GDM2-RD ( $p=0,023$ ), y en OI pero sin suficiente significación estadística ( $p=0,187$ ) (tabla 28).

	n	MAVC		PIO (mmHg)		EM		CST ( $\mu\text{m}$ )	
		OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
GC	75	0,95 $\pm$ 0,1	0,96 $\pm$ 0,1	14,4 $\pm$ 2,3	14,6 $\pm$ 2,5	0%	0%	250,2 $\pm$ 24,34	251,65 $\pm$ 22,79
GDM2	125	0,81 $\pm$ 0,3	0,83 $\pm$ 0,2	15,2 $\pm$ 2,8	15,6 $\pm$ 2,9	5,6% (13)	11,2% (14)	253,93 $\pm$ 51,74	257,73 $\pm$ 54,14
p-value		7,255E-008	4,678E-007	0,04	0,016	0,037	0,003	0,698	0,752

Tabla 27 Resultados de la exploración oftalmológica en la visita inicial en el GC y GDM2, expresados como media $\pm$ desviación estándar. El EM se expresa en porcentaje de frecuencia. Resultados estadísticamente significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. EM=Edema macular. CST=*Central subfield thickness*.

	n	MAVC		PIO (mmHg)		EM		CST ( $\mu\text{m}$ )	
		OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
GC	75	0,95 $\pm$ 0,1	0,96 $\pm$ 0,1	14,4 $\pm$ 2,3	14,6 $\pm$ 2,3	0%	0%	250,2 $\pm$ 24,34	251,65 $\pm$ 22,79
GDM2-RD	70	0,85 $\pm$ 0,2	0,89 $\pm$ 0,2	15,4 $\pm$ 2,6	16,0 $\pm$ 2,8	0%	2,9% (2)	244,7 $\pm$ 27,26	250,34 $\pm$ 46,42
GDM2+RD	55	0,76 $\pm$ 0,2	0,75 $\pm$ 0,2	14,9 $\pm$ 3,0	15,0 $\pm$ 2,9	12,7% (7)	21,8% (12)	265,6 $\pm$ 70,37	267,13 $\pm$ 61,79
p-value		1,92E-08 <sup>A,B,C</sup>	5,33E-09 <sup>A,B,C</sup>	0,083	0,007 <sup>A</sup>	7,036E-01	2,214E-01	0,52 <sup>C</sup>	0,191

Tabla 28. Resultados de la exploración oftalmológica en la visita inicial en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD, expresados como media $\pm$ desviación estándar. El EM se expresa en porcentaje de frecuencia. Resultados estadísticamente significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a GDM2-RD. <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a pacientes GDM2+RD. <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas dentro del GDM2 al comparar GDM2-RD con GDM2+RD. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de con DM2 pacientes con RD. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. EM=Edema macular. CST=*Central subfield thickness*.

## 2.2 HEMOGRAMA Y BIOQUÍMICA CONVENCIONAL

Al comienzo del estudio a todos los sujetos del GC y GDM2 que cumplieron los criterios de inclusión se les realizó un hemograma y estudio bioquímico en sangre periférica tal y como se ha explicado en el apartado 8 de material y métodos. Los resultados se muestran en las tablas 29 y 30.

### 2.2.1 HbA1c

Los valores medios de HbA1c en los diferentes grupos de estudio se han representado gráficamente en la figura 32. Los resultados de HbA1c resultaron más elevados en los pacientes del GDM2 respecto al GC de forma muy significativa ( $p=1,14E-28$ ) (tabla 29). Cuando hacemos el análisis en los pacientes diabéticos según la presencia o no de RD observamos que existe un aumento muy significativo de la HbA1c en pacientes del GDM2-RD ( $p=9,536E-14$ ) y GDM2+RD ( $p=3,686E-022$ ) respecto al GC, y que ésta está muy significativamente aumentada en el GDM2+RD respecto a los que tenían una funduscopía normal ( $p=0,002$ ) (tabla 30).

El análisis de riesgo mostró que los pacientes con  $HbA1c > 6,5\%$  tenían 3,083 veces más riesgo de padecer DM2 de forma estadísticamente significativa (IC95% [2,36-4,03]) (tabla 31). Asimismo observamos que los pacientes con  $HbA1c > 6,5\%$  tenían 3,92 veces más riesgo de padecer RD (IC95% [1,6-9,5]) (tabla 32).

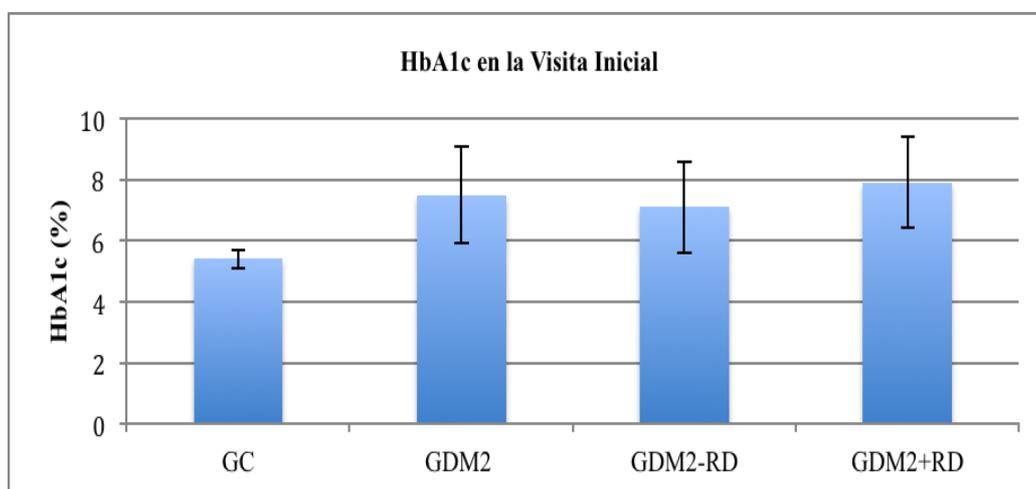


Figura 32. Datos comparativos correspondientes a la HbA1c media de cada uno de los grupos al inicio del estudio. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de con DM2 pacientes con RD.

### 2.2.2 GLUCEMIA

Los niveles de glucosa en plasma fueron más elevados en el GDM2 respecto al GC de forma muy significativa ( $p=3,16E-23$ ) (tabla 29). Aunque observamos este parámetro muy significativamente aumentado en pacientes del GDM2-RD ( $p=7,598E-011$ ) y GDM2+RD ( $p=1,934E-013$ ) cuando lo comparamos con el GC, no se observan diferencias entre GDM2-RD y GDM2+RD ( $p=0,461$ ) (tabla 30).

El análisis de riesgo mostró que los pacientes con glucemia $>106$  tenían 1,843 veces más riesgo de padecer DM2 de forma estadísticamente significativa (IC95% [1,6-2,1]) (tabla 31), pero no se pudo correlacionar este parámetro con la RD (tabla 32).

### 2.2.3 TG

Al comparar sus niveles con el GC, se observó que éstos fueron significativamente mayores en el GDM2 ( $p=2,08E-07$ ) (tabla 29), y al subdividir este último se observó un aumento significativo al compararlo con el GC ( $p=0,000106$  para GDM2-RD,  $p=0,050$  para GDM2+RD). No obstante entre diabéticos no se observaron diferencias significativas ( $p=0,385$ ) (tabla 30).

El análisis de riesgo mostró que los pacientes con TG $>160$  tenían 3,388 veces más riesgo de padecer DM2 de forma estadísticamente significativa (IC95% [1,5-7,8]) (tabla 31), pero tampoco se pudo correlacionar esta cifra con la RD (tabla 32).

	Hb (g/dL)	Hto (%)	HbA1c (%)	Glucemia (mg/dL)	TG (mg/dL)
GC	13,65 ± 1,29	40,82 ± 4,0	5,4 ± 0,3	88,20 ± 11,03	97,47 ± 59,78
GDM2	13,72 ± 1,23	41,26 ± 3,4	7,5 ± 1,6	152,60 ± 62,69	149,64 ± 96,56
p-value	0,552	0,063	1,14E-28	3,16E-23	2,08E-07

Tabla 29. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 en la visita inicial, expresados como media±desviación estándar. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos.

RESULTADOS

	Hb (g/dL)	Hto (%)	HbA1c (%)	Glucemia (mg/dL)	TG (mg/dL)
GC	13,65 ± 1,29	40,82 ± 4,0	5,4 ± 0,3	88,20 ± 11,03	97,47 ± 59,78
GDM2-RD	13,68 ± 1,31	41,26 ± 3,5	7,1 ± 1,55	146,93 ± 62,36	156,86 ± 114,85
GDM2+RD	13,76 ± 1,13	41,26 ± 3,31	7,9 ± 1,52	159,82 ± 62,96	133,63 ± 65,16
p-value	0,878	0,718	1,04E-28 <sup>A,B,C</sup>	2,68E-22 <sup>A,B</sup>	1,16E-06 <sup>A,B</sup>

Tabla 30. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD en la visita inicial, expresados como media±desviación estándar. Resultados significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a GDM2-RD. <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto al GDM2+RD. <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas entre GDM2-RD y GDM2+RD. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos.

	HbA1c (%)		Glucemia (mg/dL)		TG (mg/dL)	
	≤6,5	>6,5	≤106	>106	≤160	>160
GC	100% (75)	0	100% (75)	0	89,3% (67)	10,7% (8)
GDM2	71,2% (89)	28,8% (36)	28,8% (36)	71,2% (89)	71,2% (89)	28,8% (36)
OR (95% IC)		3,083 (2,36-4,03)		1,843 (1,6-2,1)		3,388 (1,5-7,8)
p-value	1,03E-22		2,86E-07		0,003	

Tabla 31. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 en la visita inicial. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos. OR=Odds Ratio.

	HbA1c (%)		Glucemia (mg/dL)		TG (mg/dL)	
	≤6,5	>6,5	≤106	>106	≤160	>160
GDM2-RD	40% (28)	60% (42)	74,3% (52)	25,7% (18)	67,1% (47)	32,9% (23)
GDM2+RD	14,5% (6)	85,5% (47)	67,3% (37)	32,7% (18)	76,4% (42)	23,6% (13)
OR (95% IC)		3,92 (1,6-9,5)		1,4 (0,6-3,1)		1,6 (0,7-3,5)
p-value	2,00E-03		0,390		0,258	

Tabla 32. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en el GDM2-RD y GDM2+RD en la visita inicial. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos. OR=Odds Ratio.

## 2.3 ANÁLISIS REDOX

En la visita inicial, en todos los participantes se realizó la determinación de la actividad lipoperoxidativa (MDA/TBARS) y AOX en plasma según el protocolo descrito en el apartado 8 de Material y Métodos.

### 2.3.1 MDA/TBARS

Cabe destacar que los niveles de MDA/TBARS estaban ligeramente más elevados en el GDM2 respecto al GC de forma significativa ( $p=0,00033$ ) (tabla 33, figura 33). Atendiendo a la presencia o ausencia de RD se observa que el GC tiene niveles significativamente menores con respecto al GDM2+RD ( $p=1,910E-010$ ), sin alcanzar suficiente diferencia estadística con respecto al GDM2-RD ( $p=1$ ). En este análisis inicial, también los niveles de MDA/TBARS fueron más elevados en GDM2+RD comparándolo con GDM2-RD ( $p=3,118E-008$ ) (tabla 34, figura 34).

### 3.3.2 AOX

Los niveles de AOX resultaron significativamente más elevados en el GC respecto al GDM2 ( $p=7,96E-05$ ) (tabla 33, figura 33). Esta elevación también resultó significativa al comparar al GC respecto a GDM2+RD ( $p=5,153E-005$ ), pero no se alcanzó suficiente diferencia estadística cuando lo comparamos con GDM2-RD ( $p=0,157$ ). Los niveles disminuidos de AOX en el GDM2+RD fueron significativos al compararlos con los pacientes GDM2-RD ( $p=0,036$ ) (tabla 34, figura 34).

	n	MDA/TBARS ( $\mu\text{mol/L}$ )	AOX ( $\mu\text{mol/L}$ )
GC	75	2,1987 $\pm$ 0,78	3,1142 $\pm$ 1,54
GDM2	125	2,9285 $\pm$ 1,48	2,3379 $\pm$ 1,48
p-value		0,00033	7,96E-05

Tabla 33. Comparación al inicio del estudio de la actividad lipoperoxidativa (MDA/TBARS) y actividad antioxidante total (AOXT) en los grupos principales en la visita inicial. Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar, resaltándose en rojo aquellos resultados significativos. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

RESULTADOS

	n	MDA/TBARS ( $\mu\text{mol/L}$ )	AOX ( $\mu\text{mol/L}$ )
GC	75	2,1987 $\pm$ 0,78	3,1142 $\pm$ 1,54
GDM2-RD	70	2,3744 $\pm$ 1,39	2,6352 $\pm$ 1,52
GDM2+RD	55	3,6338 $\pm$ 1,29	1,9597 $\pm$ 1,32
p-value		5,38E-10 <sup>B,C</sup>	5,91E-06 <sup>B,C</sup>

Tabla 34. Comparación al inicio del estudio de la actividad lipoperoxidativa (MDA/TBARS) y actividad antioxidante total (AOX) en GC, GDM2-RD y GDM2+RD. Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a pacientes GDM2-RD. <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a GDM2+RD. <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas dentro del grupo con DM2 al comparar GDM2-RD respecto a GDM2+RD. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

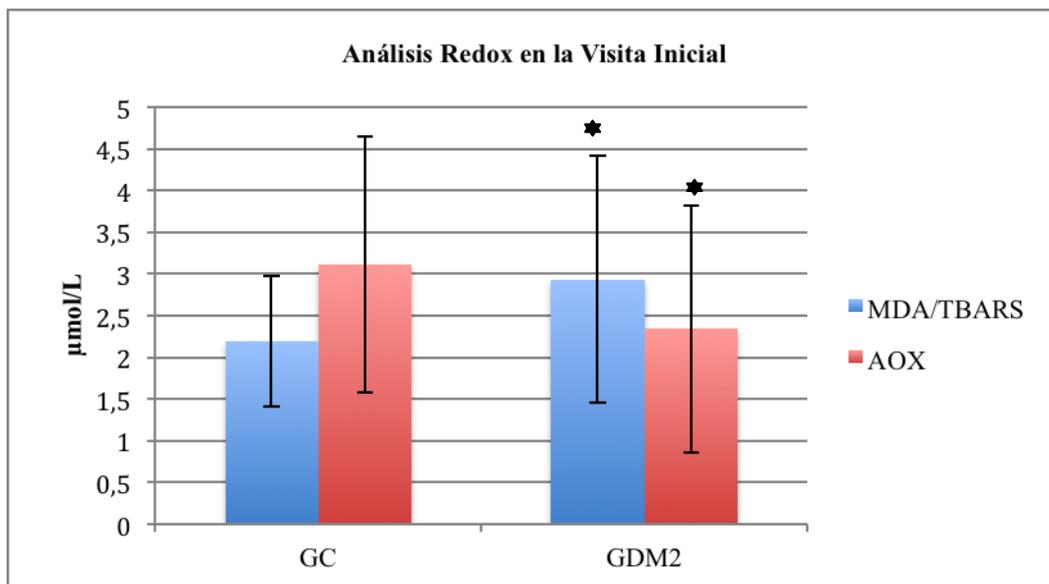


Figura 33. Resultados del análisis Redox en plasma humano del GC y GDM2 en la visita inicial. \* indica nivel de significación  $< 0,05$ . GC=Grupo control. GDM2= Grupo de pacientes con DM2. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

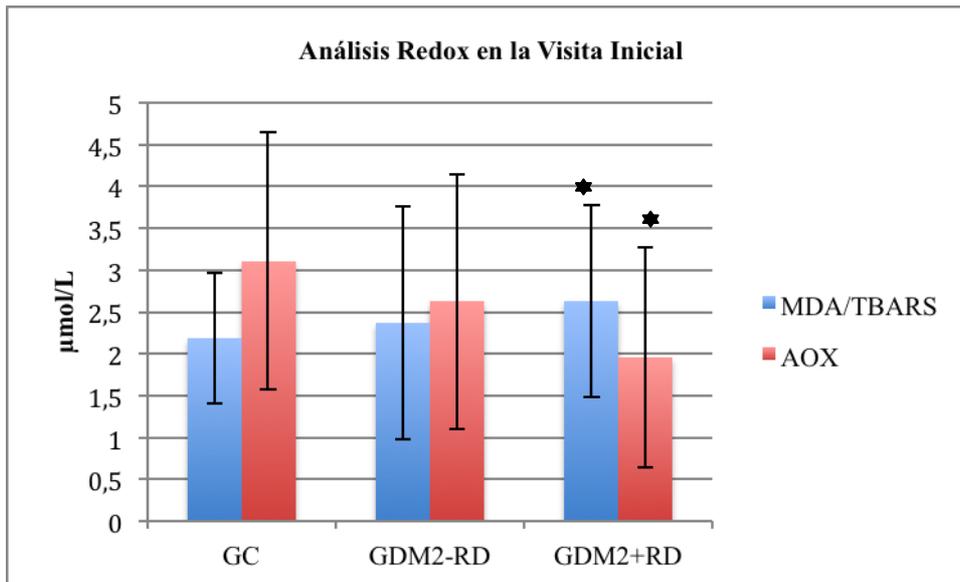


Figura 34. Resultados del análisis Redox en plasma humano del GC, GDM2-RD y GDM2+RD en la visita inicial. \* indica nivel de significación < 0,05. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. MDA/TBARS= Actividad liperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

En esta visita inicial también se observó que existía una correlación negativa entre los niveles de MDA/TBARS y AOX (-0,256, p=0,00026) (figura 35).

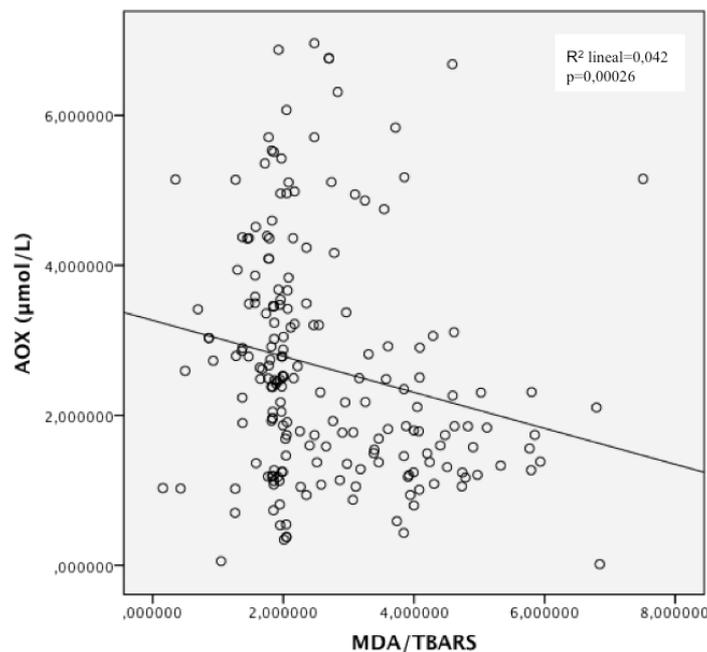


Figura 35. Regresión logística en la que se observa como al aumentar el MDA/TBARS disminuye el AOX en la visita inicial. MDA/TBARS= Actividad liperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

### 3. RESULTADOS DE LOS GRUPOS Y SUBGRUPOS AL FINAL DEL ESTUDIO

Todos los individuos incluidos completaron el estudio, por lo que al final del mismo continuaban habiendo 75 sujetos en el GC y 125 pacientes en el GDM2 (70 de ellos pertenecientes al GDM2-RD y 55 al GDM2+RD).

#### 3.1 EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

##### 3.1.1 MAVC

En la visita final, la MAVC continuó siendo significativamente mayor en el GC respecto al GDM2 ( $p=2,78E-09$  para OD;  $p=1,27E-06$  para OI) (tabla 36). También se observó significativamente mayor MAVC en el GC al compararlo con GDM2-RD ( $p=0,001$  para OD,  $p=0,036$  para OI) y GDM2+RD ( $p=3,270E-012$  para OD y  $p=5,960E-0101$  para OI).

Entre los pacientes diabéticos, el GDM2-RD presentó de forma muy significativa mayor MAVC en AO respecto al GDM2+RD ( $p=0,000122$  para OD y  $p=8,795E-001$  para OI) (tabla 37).

Los datos comparativos correspondientes a la MAVC media y desviación estándar de cada uno de los grupos, se muestran en la figura 36.

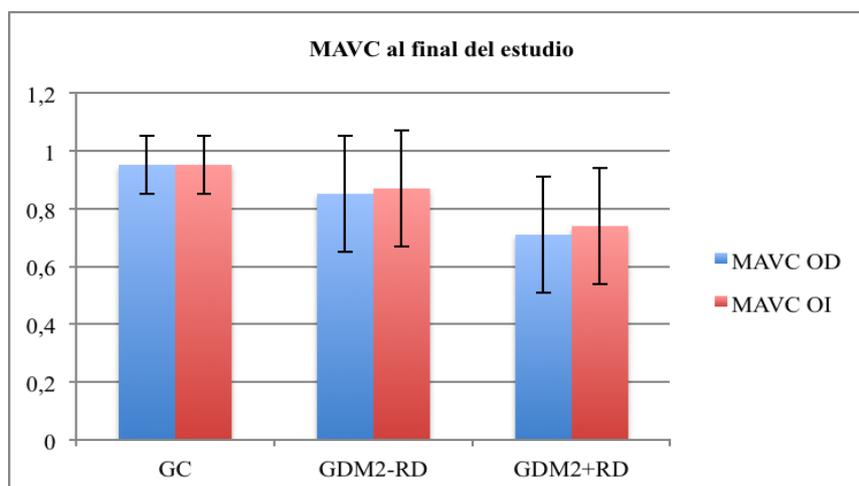


Figura 36. MAVC en la visita final en los diferentes grupos del estudio. MAVC= Mejor agudeza visual corregida. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

### 3.1.2 PIO

En la visita final, la PIO resultó significativamente más baja en el GC en comparación con el GDM2 ( $p=0,005$  para OD, y  $p=3,49E-05$  para OI) (tabla 36). En OD estas diferencias no resultaron significativas al comparar la PIO del GC respecto a los pacientes sin y con RD, excepto la PIO del OD respecto al GDM2-RD que sí resultó significativamente más baja ( $p=0,010$ ). En el OI el GC presentaba una PIO significativamente más baja que los pacientes del GDM2-RD ( $p=0,000292$ ) y GDM2+RD (0,043). Entre los pacientes diabéticos (GDM2-RD v.s GDM2+RD) no se observaron diferencias estadísticamente significativas (tabla 37).

### 3.1.3 FUNDUSCOPIA

En la exploración funduscópica final se observó que de los 70 pacientes del GDM2-RD, un 14,3% desarrollaron RD leve, y un 4,3% RD moderada. De los 55 pacientes del GDM2+RD, en la visita final se observó RD leve en un 40%, RD moderada en un 40%, RD severa en un 12,7% y RDP en un 7,3% (tabla 35) (figura 37 y 38).

	RD Leve	RD Moderada	RD Severa	RDP
<b>GDM2-RD</b>	14,3% (10)	4,3% (3)	0	0
<b>GDM2+RD</b>	40% (22)	40% (22)	12,7% (7)	7,3% (4)

Tabla 35. Distribución en la visita final del GDM2-RD y GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). RD=Retinopatía diabética. RDP=Retinopatía diabética proliferativa. GDM2-RD=Pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Pacientes con DM2 con RD. GDRPD=*Global Diabetic Retinopathy Project Group*.

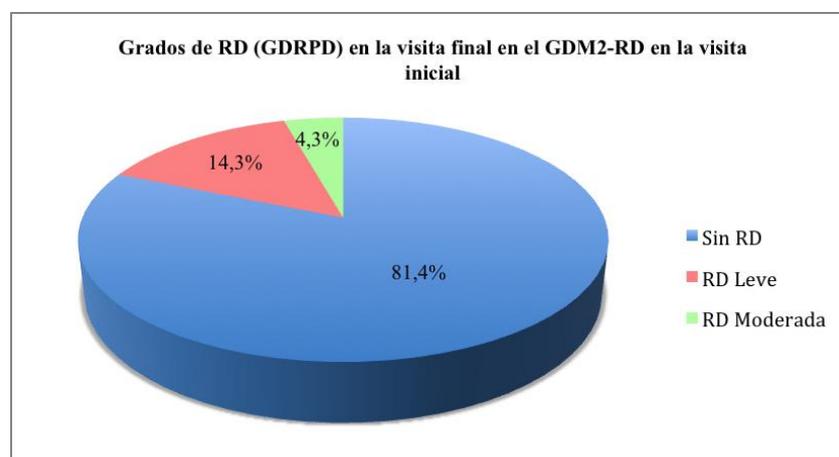


Figura 37. Distribución en la visita final del GDM2-RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). RD=Retinopatía diabética. GDRPD=*Global Diabetic Retinopathy Project Group*.

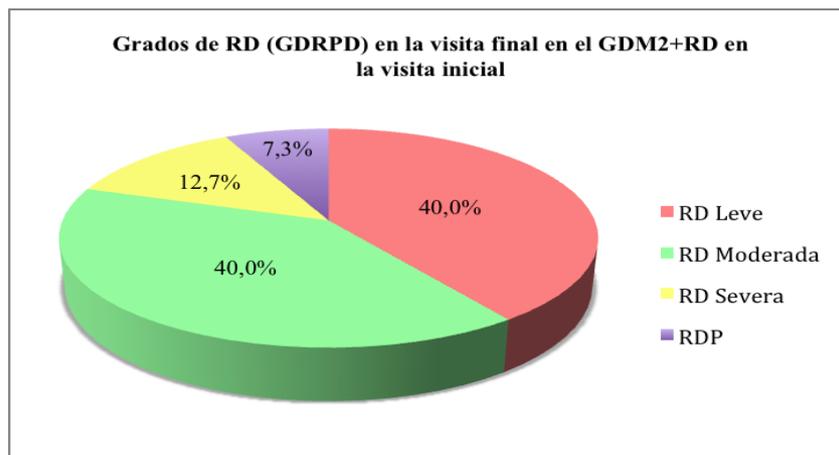


Figura 38. Distribución en la visita final del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). RD=Retinopatía diabética. GDRPD=Global Diabetic Retinopathy Project Group.

### 3.1.4 EDEMA MACULAR

En la visita final, en el GDM2, un 7,2% presentaban EM en su OD, y un 11,2% en su OI con diferencias estadísticamente significativas respecto al GC (p=0,017 y p=0,003 respectivamente) (tabla 36). Este hallazgo fue significativamente más frecuente en el GDM2+RD respecto a GDM2-RD (p=4,00E-06 para OD, p=2,21E-06 para OI) (tabla 37).

### 3.1.5 CST

En la visita final el CST continuó dentro de los límites normales en el GC y GDM2 (tabla 36). En esta determinación sí encontramos suficiente significación estadística al comparar GDM2-RD con GDM2+RD (p=0,0033 para OD, p=0,002 para OI) (tabla 37).

	MAVC		PIO (mmHg)		EM		CST (µm)	
	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
GC	0,95 ± 0,1	0,95 ± 0,1	14,6 ± 2,6	14,7 ± 2,5	0%	0%	248,97 ± 23,50	250,75 ± 21,71
GDM2	0,77 ± 0,2	0,79 ± 0,2	15,6 ± 2,5	16,1 ± 2,5	7,2% (9)	11,2% (14)	257,60 ± 38,3	263,66 ± 64,51
p-value	2,78E-09	1,27E-06	0,005	3,49E-05	0,017	0,003	0,08	0,095

Tabla 36. Resultados de la exploración oftalmológica al final del estudio, en el GC y GDM2, expresados como media±desviación estándar. Resultados de la presencia de EM expresados en porcentaje de frecuencia. Resultados estadísticamente significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. EM=Edema macular. CST=Central subfield thickness.

	MAVC		PIO (mmHg)		EM		CST ( $\mu\text{m}$ )	
	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
GC	0,95 $\pm$ 0,1	0,95 $\pm$ 0,1	14,6 $\pm$ 2,6	14,7 $\pm$ 2,5	0%	0%	248,97 $\pm$ 23,50	250,75 $\pm$ 21,71
GDM2-RD	0,85 $\pm$ 0,2	0,87 $\pm$ 0,2	15,8 $\pm$ 2,4	16,3 $\pm$ 2,4	0%	2,9% (2)	251,16 $\pm$ 23,51	253,19 $\pm$ 51,73
GDM2+RD	0,68 $\pm$ 0,2	0,69 $\pm$ 0,3	15,3 $\pm$ 2,6	15,8 $\pm$ 2,5	16,4% (9)	21,8% (12)	265,8 $\pm$ 50,32	277 $\pm$ 76,24
p-value	3,72E-10 <sup>A,B,C</sup>	1,41E-08 <sup>A,B,C</sup>	0,01 <sup>A</sup>	6,94E-05 <sup>A,B</sup>	4,00E-06	2,21E-06	0,01 <sup>A,C</sup>	0,01 <sup>A,C</sup>

Tabla 37. Resultados de la exploración oftalmológica al final del estudio, en el GC y DM2 subdivididos según ausencia o presencia de RD, expresados como media $\pm$ desviación estándar. Resultados de la presencia de EM expresados en porcentaje de frecuencia. Resultados estadísticamente significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a pacientes del GDM2-RD. <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a pacientes del GDM2+RD. <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas dentro del GDM2 al comparar GDM2-RD con GDM2+RD. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de con DM2 pacientes con RD. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. EM=Edema macular. CST=*Central subfield thickness*.

## 3.2 HEMOGRAMA Y BIOQUÍMICA CONVENCIONAL

En la visita final (a los 18 meses del inicio estudio) a todos los participantes pertenecientes al GC y GDM2 se les repitió el hemograma y estudio bioquímico convencional. Los resultados se muestran en las tablas 38 y 39.

### 3.2.1 HbA1c

Los valores medios de HbA1c en los diferentes grupos de estudio se han representado gráficamente en la figura 39. Los resultados de HbA1c resultaron más elevados en los pacientes del GDM2 respecto al GC de forma muy significativa ( $p=7,22\text{E}-21$ ) (tabla 38). Cuando hacemos el análisis en los pacientes diabéticos según la presencia o no de RD observamos que existe un aumento muy significativo de la HbA1c en el GDM2-RD y GDM2+RD respecto al GC ( $p=5,33\text{E}-09$ ), y que estas diferencias se observan entre el GC y GDM2-RD ( $p=2,826\text{E}-011$ ), entre el GC y GDM2+RD ( $p=5,511\text{E}-02$ ) y entre GDM2-RD respecto a GDM2+RD ( $p=0,001$ ) (tabla 39).

El análisis de riesgo mostró que los pacientes con  $\text{HbA1c} > 6,5\%$  tenían 19,19 veces más riesgo de padecer DM2 de forma estadísticamente significativa (IC95% [8,1-45,5]) (tabla 40). Asimismo, observamos en nuestro estudio que los pacientes con  $\text{HbA1c} > 6,5\%$  tenían 2,285 veces más riesgo de padecer RD (IC95% [1,1-5]) (tabla 41).

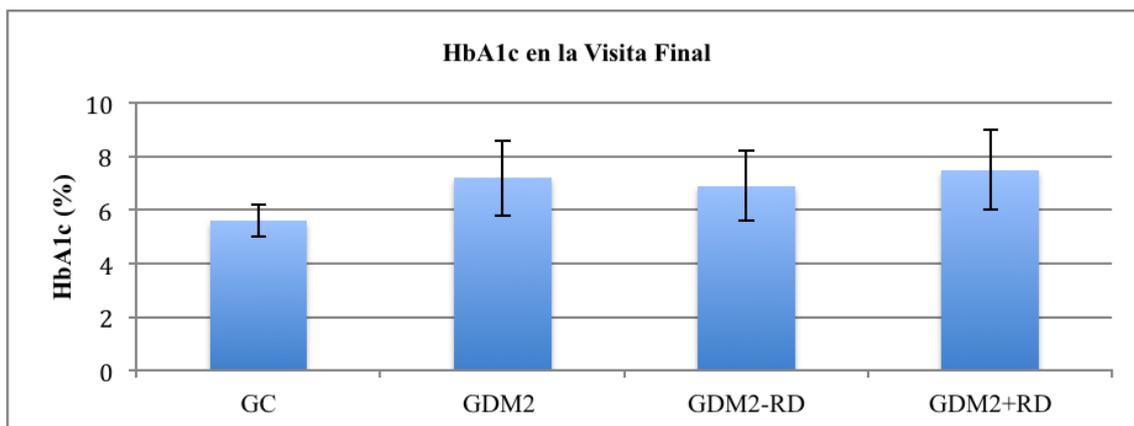


Figura 39. Datos comparativos correspondientes a la HbA1c media de cada uno de los grupos al final del estudio. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. HbA1c=Hemoglobina glicosilada.

### 3.2.2 GLUCEMIA

Los niveles de glucosa en plasma fueron más elevados en el GDM2 respecto al GC de forma muy significativa ( $p=4,27E-10$ ) (tabla 38). Aunque observamos este parámetro muy significativamente aumentado en pacientes del GDM2-RD ( $p=6,209E-006$ ) y GDM2+RD ( $p=2,036E-006$ ) cuando lo comparamos con el GC, no se observan diferencias entre los diabéticos GDM2-RD y GDM2+RD ( $p=1$ ) (tabla 39).

El análisis de riesgo mostró que los pacientes con glucemia  $>106$  tenían 7,797 veces más riesgo de padecer DM2 de forma estadísticamente significativa (IC95% [4,1-14,9]) (tabla 40).

### 3.2.3 TG

Al comparar sus niveles con el GC, se observó que éstos fueron significativamente mayores en pacientes del GDM2 ( $p=0,003$ ) (tabla 38). Los pacientes del GDM2-RD presentaron cifras mayores de TG al compararlos con el GC ( $p=0,022$ ). No obstante no se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar GC con GDM2+RD ( $p=0,473$ ) ni al comparar a los pacientes diabéticos entre sí según la ausencia o presencia de RD ( $p=0,812$ ) (tabla 39).

En la visita final continuaba observándose que los pacientes con TG  $>160$  tenían 2,12 veces más riesgo de padecer DM2 de forma estadísticamente significativa (IC95% [1,1-4,2]) (tabla 40).

	Hb (g/dL)	Hto (%)	HbA1c (%)	Glucemia (mg/dL)	TG (mg/dL)
GC	13,82 ± 1,23	41,6 ± 3,5	5,6 ± 0,6	102,01 ± 33,35	114,71 ± 34,55
GDM2	13,60 ± 1,46	40,65 ± 5,4	7,2 ± 1,4	150,21 ± 66,15	142,59 ± 80,94
p-value	0,276	0,176	7,22E-21	4,27E-10	0,003

Tabla 38. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 al final del estudio, expresados como media±desviación estándar. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos.

	Hb (g/dL)	Hto (%)	HbA1c (%)	Glucemia (mg/dL)	TG (mg/dL)
GC	13,82 ± 1,23	41,6 ± 3,5	5,6 ± 0,6	102,01 ± 33,35	114,71 ± 34,55
GDM2-RD	13,62 ± 1,48	41,23 ± 4,04	6,9 ± 1,3	147,77 ± 59,59	149,31 ± 90,96
GDM2+RD	13,57 ± 1,46	39,91 ± 6,71	7,5 ± 1,5	153,31 ± 74,13	134,04 ± 65,87
p-value	0,521	0,125	5,33E-09 <sup>A,B,C</sup>	2,64E-22 <sup>A,B</sup>	1,12E-06 <sup>A</sup>

Tabla 39. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC, GDM2-RD y GDM2+RD al final del estudio, expresados como media±desviación estándar. Resultados significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a GDM2-RD. <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a GDM2+RD. <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas entre GDM2-RD y GDM2+RD. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos.

	HbA1c (%)		Glucemia (g/dL)		TG (mg/dL)	
	≤6,5	>6,5	≤106	>106	≤160	>160
GC	90,7% (68)	9,3% (7)	72% (54)	28% (21)	81,3% (61)	18,7% (14)
GDM2	33,6% (42)	66,4% (83)	24,8% (31)	75,2% (94)	67,2% (84)	32,8% (41)
OR (95% IC)		19,19 (8,1-45,5)		7,797 (4,1-14,9)		2,12 (1,1-4,2)
p-value	4,05E-15		6,27E-11		0,030	

Tabla 40. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en el GC y GDM2 al final del estudio. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos. OR=Odds Ratio.

	HbA1c (%)		Glucemia (mg/dL)		TG (mg/dL)	
	≤6,5	>6,5	≤106	>106	≤160	>160
GDM2-RD	41,4% (29)	58,6% (41)	22,9% (16)	77,1% (54)	60% (42)	40% (28)
GDM2+RD	23,6% (13)	76,4% (42)	27,3% (15)	72,7% (40)	76,4% (42)	23,6% (13)
OR (95% IC)		2,285 (1,1-5)		0,79 (0,35-1,8)		0,464 (0,2-1,1)
p-value	0,037		0,570		0,053	

Tabla 41. Frecuencia de los parámetros bioquímicos clásicos en los grupos GDM2-RD y GDM2+RD al final del estudio. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos. OR=Odds Ratio.

### 3.3 ANÁLISIS REDOX

#### 3.3.1 MDA/TBARS

En nuestros resultados cabe destacar que en la visita final, el MDA/TBARS resultó significativamente más elevado en el GDM2 ( $p=0,001$ ) (tabla 42, figura 40). Atendiendo a la presencia o ausencia de retinopatía se observa que el GC tiene niveles significativamente menores con respecto al GDM2+RD ( $p=5,152E-013$ ), sin alcanzar suficiente diferencia estadística con respecto al GDM2-RD ( $p=0,516$ ). Estos niveles elevados en el GDM2+RD también fueron significativos al compararlos con el GDM2-RD ( $p=1,576E-009$ ) (tabla 43, figura 41).

#### 3.3.2 AOX

Los niveles de AOX resultaron significativamente más elevados en el GC ( $p=1,93E-05$ ) respecto al GDM2 (tabla 42, figura 40). Atendiendo a la presencia o ausencia de retinopatía se observa que esta elevación resulta significativa al comparar el GC respecto al GDM2+RD ( $p=8,633E-007$ ), sin alcanzarse suficiente diferencia estadísticamente significativa al compararlos con el GDM2-RD ( $p=0,106$ ). Estos niveles disminuidos de AOX en el GDM2+RD también fueron significativos al compararlos con el GDM2-RD ( $p=0,004$ ) (tabla 43, figura 41).

	n	MDA/TBARS ( $\mu\text{mol/L}$ )	AOX ( $\mu\text{mol/L}$ )
GC	75	2,1652 $\pm$ 0,66	3,3428 $\pm$ 1,29
GDM2	125	3,0472 $\pm$ 1,56	2,5294 $\pm$ 1,39
p-value		0,001	1,93E-05

Tabla 42. Resultados del análisis Redox en el GC y GDM2 al final del estudio, expresados como media $\pm$ desviación estándar. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total

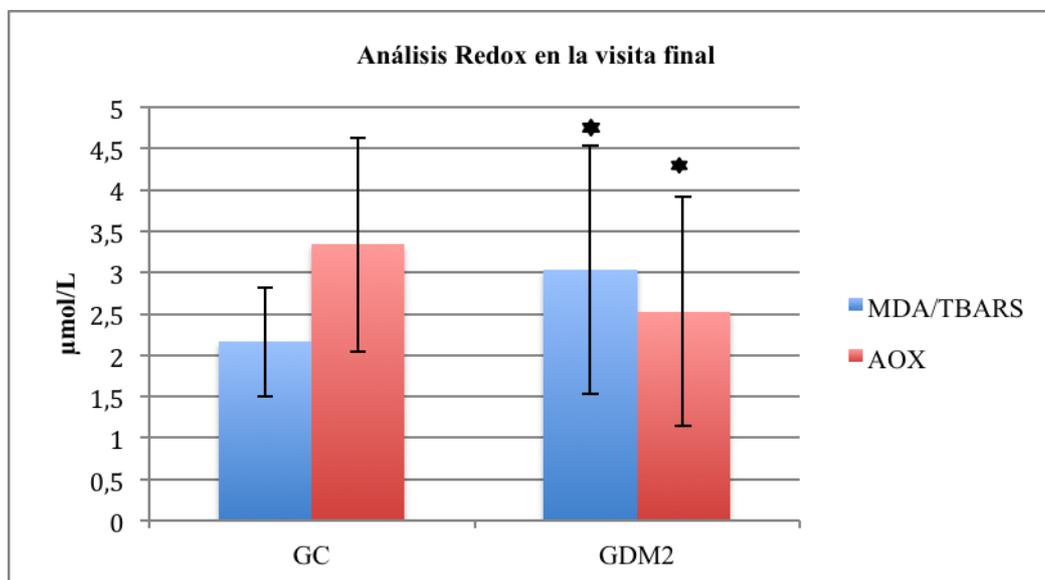


Figura 40. Resultados del análisis Redox en plasma humano del GC y GDM2 en la visita final.\* indica nivel de significación < 0,05. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total

	n	MDA/TBARS (μmol/L)	AOX (μmol/L)
GC	75	2,1652±0,66	3,3428±1,29
GDM2-RD	70	2,4345±0,97	2,8748±1,31
GDM2+RD	55	3,8271±1,81	2,0897±1,39
p-value		4,49E-06 <sup>B,C</sup>	3,89E-07 <sup>B,C</sup>

Tabla 43. Resultados del análisis Redox en el GC y GDM2 sin y con RD al final del estudio, expresados como media±desviación estándar. Resultados significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a GDM2-RD. <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas en el GC respecto a GDM2+RD. <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas dentro del grupo con DM2 al comparar GDM2-RD respecto a GDM2+RD. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

## RESULTADOS

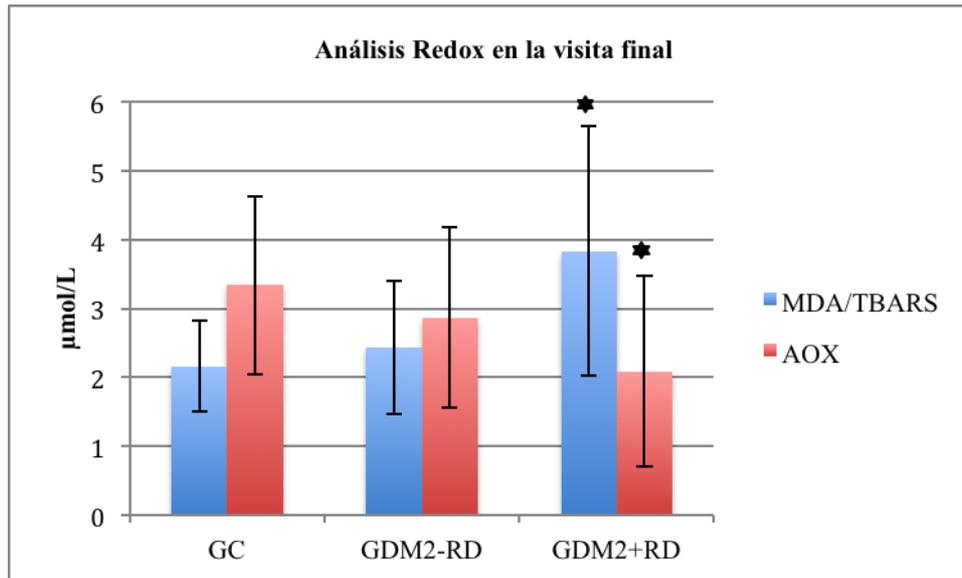


Figura 41. Resultados del análisis Redox en plasma humano del GC, GDM2-RD y GDM2+RD en la visita final. \* indica nivel de significación < 0,05. GC=Grupo control. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. MDA/TBARS= Actividad liperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

También a los 18 meses se observó que existía una correlación negativa entre los niveles de MDA/TBARS y AOX (-0,546,  $p=5,836E-017$ ) (figura 42).

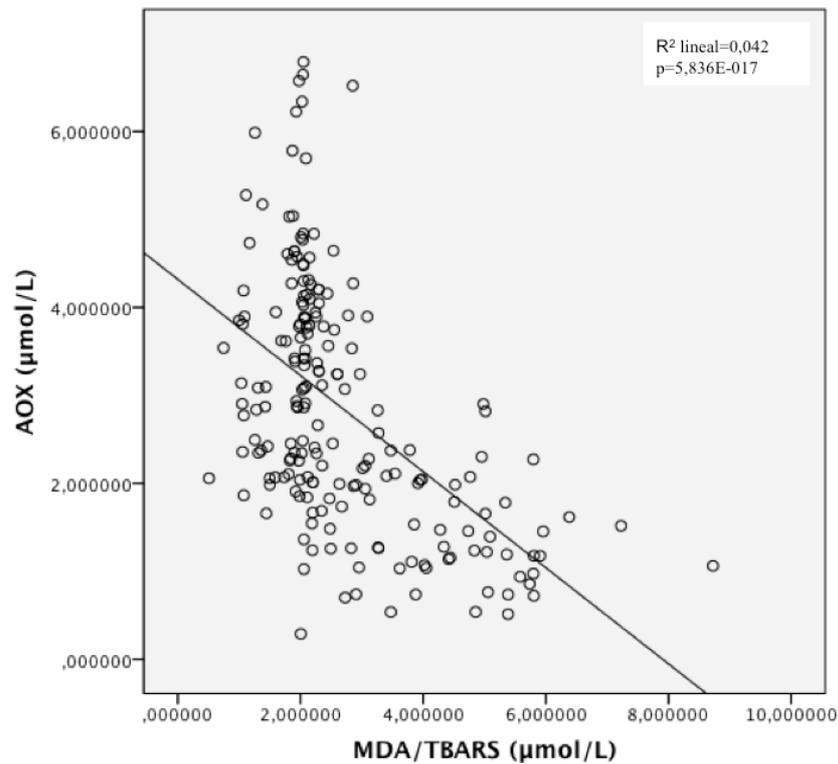


Figura 42. Regresión logística en la que se observa como al aumentar el MDA/TBARS disminuye el AOX al final del estudio. MDA/TBARS= Actividad liperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

## 4. COMPARACIÓN DE RESULTADOS ENTRE EL INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO

### 4.1 RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA ENTRE INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO

Los datos recogidos en la exploración oftalmológica tanto en la visita inicial como en la final (realizada a los 18 meses), y su nivel de significación estadística se muestran en las tablas 44 y 45.

		GC	GDM2
MAVC OD	Visita Inicial	0,95 ± 0,1	0,81 ± 0,3
	Visita Final	0,95 ± 0,1	0,77 ± 0,2
	p-value	0,104	0,002
MAVC OI	Visita Inicial	0,96 ± 0,1	0,83 ± 0,2
	Visita Final	0,95 ± 0,1	0,79 ± 0,2
	p-value	0,688	0,004
PIO OD (mmHg)	Visita Inicial	14,4 ± 2,3	15,2 ± 2,8
	Visita Final	14,6 ± 2,6	15,6 ± 2,5
	p-value	0,520	0,099
PIO OI (mmHg)	Visita Inicial	14,4 ± 2,3	15,6 ± 2,9
	Visita Final	14,7 ± 2,5	16,1 ± 2,5
	p-value	0,757	0,048
CST OD (µm)	Visita Inicial	250,2 ± 24,34	253,93 ± 51,74
	Visita Final	248,97 ± 23,50	257,6 ± 38,25
	p-value	0,806	0,000517
CST OI (µm)	Visita Inicial	251,65 ± 22,79	257,73 ± 54,14
	Visita Final	250,75 ± 21,71	263,66 ± 64,51
	p-value	0,965	0,004
EM OD	Visita Inicial	0%	5,6% (13)
	Visita Final	0%	7,2% (9)
EM OI	Visita Inicial	0%	11,2% (14)
	Visita Final	0%	11,2% (14)

Tabla 44. Comparación de los resultados visuales en la visita inicial y final en pacientes del GC y GDM2 expresados como media ± desviación estándar. Resultados de la presencia de EM expresados en porcentaje de frecuencia. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. OD=Ojo derecho. OI=Ojo izquierdo. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. CST=Central subfield thickness. EM=Edema macular.

RESULTADOS

		<b>GDM2-RD</b>	<b>GDM2+RD</b>
<b>MAVC OD</b>	<b>Visita Inicial</b>	0,85 ± 0,2	0,76 ± 0,2
	<b>Visita Final</b>	0,85 ± 0,2	0,68 ± 0,2
	<b>p-value</b>	0,510	<b>0,001</b>
<b>MAVC OI</b>	<b>Visita Inicial</b>	0,89 ± 0,2	0,75 ± 0,2
	<b>Visita Final</b>	0,87 ± 0,2	0,69 ± 0,2
	<b>p-value</b>	0,182	<b>0,01</b>
<b>PIO OD (mmHg)</b>	<b>Visita Inicial</b>	15,4± 2,6	14,9± 3,02
	<b>Visita Final</b>	15,9± 2,4	15,32± 2,6
	<b>p-value</b>	0,186	0,328
<b>PIO OI (mmHg)</b>	<b>Visita Inicial</b>	16,0 ± 2,8	15,0 ± 2,97
	<b>Visita Final</b>	16,3 ± 2,4	15,8 ± 2,5
	<b>p-value</b>	0,406	<b>0,033</b>
<b>CST OD (µm)</b>	<b>Visita Inicial</b>	244,77 ± 27,26	265,58 ± 70,37
	<b>Visita Final</b>	251,16 ± 23,51	265,8 ± 50,32
	<b>p-value</b>	<b>0,003</b>	<b>0,017</b>
<b>CST OI (µm)</b>	<b>Visita Inicial</b>	250,34 ± 46,42	267,13 ± 61,79
	<b>Visita Final</b>	253,19 ± 51,73	277 ± 76,24
	<b>p-value</b>	0,075	<b>0,017</b>
<b>EM OD</b>	<b>Visita Inicial</b>	0%	12,7% (7)
	<b>Visita Final</b>	0%	16,4% (9)
<b>EM OI</b>	<b>Visita Inicial</b>	2,9% (2)	21,8% (12)
	<b>Visita Final</b>	2,9% (2)	21,8% (12)

Tabla 45. Comparación de los resultados visuales en la visita inicial y final en pacientes diabéticos sin y con RD, expresados como media ± desviación estándar. Resultados de la presencia de EM expresados en porcentaje de frecuencia. Resultados significativos en rojo. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. OD=Ojo derecho. OI=Ojo izquierdo.

MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. CST=*Central subfield thickness*.

EM=Edema macular.

## 4.2 RESULTADOS COMPARATIVOS DEL ANÁLISIS DE SANGRE ENTRE EL INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO

Los datos correspondientes a la analítica clásica y análisis Redox tanto en la visita inicial como en la final, y su nivel de significación estadística se muestran en las tablas 46 y 47.

		GC	GDM2
Hb (g/dL)	Visita Inicial	13,65 ± 1,29	13,72 ± 1,23
	Visita Final	13,82 ± 1,23	13,60 ± 1,46
	p-value	0,318	0,110
Hto (%)	Visita Inicial	40,82 ± 4,0	41,26 ± 3,4
	Visita Final	41,6 ± 3,5	40,65 ± 5,4
	p-value	0,102	0,086
HbA1c (%)	Visita Inicial	5,4 ± 0,3	7,5 ± 1,6
	Visita Final	5,6 ± 0,6	7,2 ± 1,4
	p-value	0,036	0,021
Glucemia (mg/dL)	Visita Inicial	88,20 ± 11,03	152,60 ± 62,69
	Visita Final	102,01 ± 33,35	150,21 ± 66,15
	p-value	0,001	0,316
TG (mg/dL)	Visita Inicial	97,47 ± 59,78	149,64 ± 96,56
	Visita Final	114,71 ± 34,55	142,59 ± 80,94
	p-value	0,008	0,946
MDA/TBARS (µmol/L)	Visita Inicial	2,1987±0,782	2,9285±1,48
	Visita Final	2,1652±0,66	3,0472±1,56
	p-value	0,696	0,32
AOX (µmol/L)	Visita Inicial	3,1142±1,54	2,3379±1,48
	Visita Final	3,3427±1,29	2,5294±1,39
	p-value	0,384	0,181

Tabla 46. Comparación de los resultados analíticos en la visita inicial y final en el GC y GDM2, expresados como media ± desviación estándar. Resultados significativos en rojo. GC=Grupo control. GDM2=Grupo de pacientes con DM2. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

RESULTADOS

		<b>GDM2-RD</b>	<b>GDM2+RD</b>
<b>Hb (g/dL)</b>	<b>Visita Inicial</b>	13,68 ± 1,31	13,76 ± 1,13
	<b>Visita Final</b>	13,62 ± 1,48	13,57 ± 1,46
	<b>p-value</b>	0,453	0,131
<b>Hto (%)</b>	<b>Visita Inicial</b>	41,26 ± 3,5	41,26 ± 3,31
	<b>Visita Final</b>	41,23 ± 4,04	39,91 ± 6,71
	<b>p-value</b>	0,495	0,063
<b>HbA1c (%)</b>	<b>Visita Inicial</b>	7,1 ± 1,55	7,9 ± 1,52
	<b>Visita Final</b>	6,9 ± 1,3	7,5 ± 1,5
	<b>p-value</b>	0,354	<b>0,021</b>
<b>Glucemia (mg/dL)</b>	<b>Visita Inicial</b>	146,93 ± 62,36	159,82 ± 62,96
	<b>Visita Final</b>	147,77 ± 59,59	153,31 ± 74,13
	<b>p-value</b>	0,852	0,223
<b>TG (mg/dL)</b>	<b>Visita Inicial</b>	156,86 ± 114,85	133,63 ± 65,16
	<b>Visita Final</b>	149,31 ± 90,96	134,04 ± 65,87
	<b>p-value</b>	0,712	0,760
<b>MDA/TBARS (µmol/L)</b>	<b>Visita Inicial</b>	2,3744±1,39	3,6338±1,29
	<b>Visita Final</b>	2,6352±1,52	3,8271±1,81
	<b>p-value</b>	0,484	0,426
<b>AOX (µmol/L)</b>	<b>Visita Inicial</b>	2,4345±0,98	1,9597±1,32
	<b>Visita Final</b>	2,8748±1,31	2,0897±1,39
	<b>p-value</b>	0,112	0,789

Tabla 47. Comparación de los resultados analíticos en la visita inicial y final en pacientes diabéticos sin y con RD, expresados como media ± desviación estándar. Resultados significativos en rojo. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

### 4.3 RESULTADOS COMPARATIVOS ENTRE EL INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO EN RELACIÓN AL GRADO DE RD (GDRPG)

#### 4.3.1 AL INICIO DEL ESTUDIO

Los datos recogidos al inicio del estudio y analizados en función del grado de RD en el GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) se muestran en las siguientes tablas y figuras.

	n	ANTECEDENTES FAMILIARES (AF)		
		DM2	ECV	HTA
<b>RD Leve</b>	<b>35</b>	60% (21)	8,6% (3)	42,9% (15)
<b>RD Moderada</b>	<b>16</b>	68,8% (11)	25% (4)	31,3% (5)
<b>RD Severa</b>	<b>4</b>	75% (3)	25% (1)	25% (1)
<b>p-value</b>		0,739	0,251	0,624

Tabla 48. Distribución de la frecuencia de AF al inicio del estudio en el GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG), expresados en porcentaje y frecuencia. RD=Retinopatía diabética. DM2=Diabetes Mellitus tipo 2. ECV=Enfermedad cerebro vascular. HTA=Hipertensión arterial.

	n	DURACIÓN DM2 (años)
<b>RD Leve</b>	<b>35</b>	19,16 ± 7,3
<b>RD Moderada</b>	<b>16</b>	19,38 ± 5,9
<b>RD Severa</b>	<b>4</b>	21,5 ± 7
<b>p-value</b>		0,764

Tabla 49. Duración de la enfermedad expresada en media±desviación estándar en pacientes DM2 según el grado de retinopatía. RD=Retinopatía diabética. DM2=Diabetes Mellitus tipo 2.

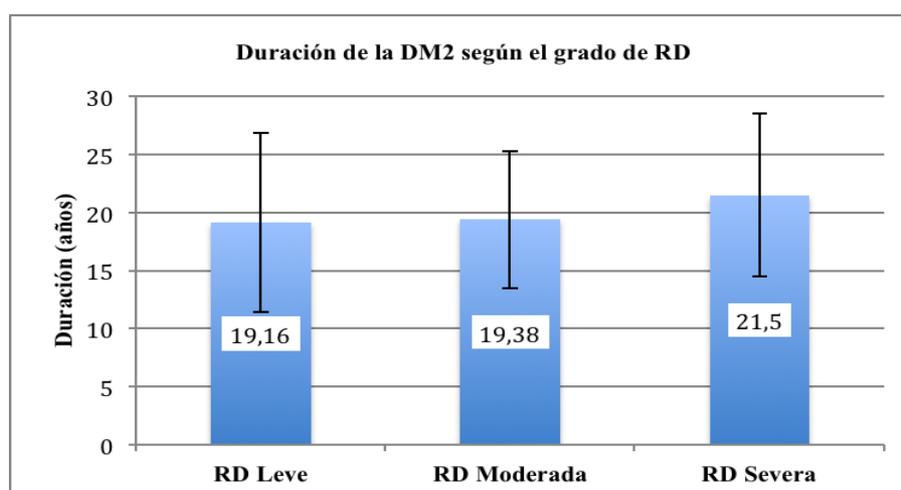


Figura 43. Comparación de la duración en años en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). DM2=Diabetes Mellitus tipo 2. RD=Retinopatía diabética.

## RESULTADOS

	n	DIETA ESPECIAL	EJERCICIO FÍSICO	TABAQUISMO	ALCOHOLISMO
<b>RD Leve</b>	<b>35</b>	17,1% (6)	34,3% (12)	40% (14)	31,4% (11)
<b>RD Moderada</b>	<b>16</b>	12,5% (2)	18,8% (3)	62,5% (10)	62,5% (10)
<b>RD Severa</b>	<b>4</b>	0	50% (2)	100% (4)	75% (3)
<b>p-value</b>		0,63	0,372	<b>0,041</b>	<b>0,049</b>

Tabla 50. Estilo de vida y hábitos tóxicos al inicio del estudio en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. RD=Retinopatía diabética.

	Baja adherencia (<9)	Alta adherencia (≥9)
<b>RD Leve</b>	77,1% (27)	22,9% (8)
<b>RD Moderada</b>	87,5% (14)	12,5% (2)
<b>RD Severa</b>	100% (4)	0
<b>p-value</b>	0,417	

Tabla 51. Distribución del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG), al inicio del estudio, según su nivel de adherencia a la dieta mediterránea expresados en porcentaje y frecuencia. Resultados significativos en rojo. RD=Retinopatía diabética.

	n	TALLA (m)	PESO (kg)	IMC
<b>RD Leve</b>	<b>35</b>	1,64 ±0,09	79,96,89 ± 13,67	29,23 ±4,5
<b>RD Moderada</b>	<b>16</b>	1,66 ±0,09	80 ± 16,81	28,37 ±5,15
<b>RD severa</b>	<b>4</b>	1,67 ±0,03	73,75 ± 11,44	26,25 ±3,86
<b>p-value</b>		0,645	0,714	0,450

Tabla 52. Resultados de los datos antropométricos en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial, expresados como media ± desviación estándar. RD=Retinopatía diabética. IMC=Índice de masa corporal.

	MAVC		PIO (mmHg)		EM		CST (µm)	
	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
<b>RD Leve</b>	0,82 ± 0,2	0,83 ± 0,2	15,0 ± 3,1	14,9 ± 2,9	8,6% (3)	11,4% (4)	252,4 ± 60,98	253,94 ± 51,88
<b>RD Moderada</b>	0,72 ± 0,2	0,67 ± 0,2	14,8 ± 3,4	14,9 ± 3,3	12,5% (2)	43,8% (7)	287,06 ± 67,2	254,66 ± 53,51
<b>RD Severa</b>	0,41 ± 0,4	0,33 ± 0,2	15,0 ± 1,4	16,0 ± 3,4	50% (2)	50% (2)	302,75 ± 99,03	271,85 ± 73,46
<b>p-value</b>	0,086	<b>0,003<sup>A,B</sup></b>	0,973	0,788	0,06	0,054	<b>0,048</b>	0,315

Tabla 53. Resultados de la exploración oftalmológica en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial, expresados como media ± desviación estándar. Resultados de la presencia de EM expresados en porcentaje de frecuencia. Resultados significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas entre pacientes con RD leve y severa (p=0,0002). <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas entre pacientes con RD moderada y severa (p=0,022).

RD=Retinopatía diabética. OD=Ojo derecho. OI=Ojo izquierdo. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. EM=Edema macular. CST=Central subfield thickness.

	Hb (g/dL)	Hto (%)	HbA1c (%)	Glucemia (mg/dL)	TG (mg/dL)
<b>RD Leve</b>	13,85 ± 1,12	41,61 ± 3,3	7,6 ± 1,5	161,74 ± 56,77	135,66 ± 66,74
<b>RD Moderada</b>	13,8 ± 1,2	41,32 ± 3,36	8,3 ± 1,5	165,75 ± 77,76	131,31 ± 61,24
<b>RD Severa</b>	12,85 ± 0,6	38,00 ± 0,53	8,1 ± 0,9	119,25 ± 46,5	125,25 ± 83,74
<b>p-value</b>	0,167	0,073	0,075	0,483	0,937

Tabla 54. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial, expresados como media ± desviación estándar. RD=Retinopatía diabética. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos.

	MDA/TBARS (µmol/L)	AOX (µmol/L)
<b>RD Leve</b>	3,3988±1,49	2,2954±1,52
<b>RD Moderada</b>	4,0772±0,63	1,3785±0,53
<b>RD Severa</b>	3,9155±1,08	1,3468±0,40
<b>p-value</b>	0,110	0,029 <sup>A</sup>

Tabla 55. Resultados del análisis Redox en paciente del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) en la visita inicial, expresados como media ± desviación estándar. Resultados significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas en el grupo con RD leve y moderada (p=0,04). RD=Retinopatía diabética. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

Los resultados en los que se observaron diferencias estadísticamente significativas fueron los siguientes:

- Respecto a los **hábitos tóxicos** se observó que en pacientes con RD moderada y severa existía una mayor frecuencia de consumo de tabaco (p=0,041) y alcohol (p=0,049) en el momento de la anamnesis inicial (tabla 50).
- **MAVC en OI:** Se observaron diferencias significativas entre los tres grupos (p=0,003), concretamente entre la RD leve al compararla con la RD severa (p=0,0002), y entre la RD moderada con respecto a la severa (p=0,022) (tabla 53).
- **CST OD:** Se observaron diferencias significativas (p=0,04), pero no se pudieron establecer estas diferencias entre los 3 grupos (tabla 53).
- **Nivel de AOX:** Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de AOX y los diferentes grados de RD (p=0,029). Las diferencias resultaron significativas entre los pacientes con RD leve y moderada (p=0,045),

## RESULTADOS

sin observarse diferencias al comparar a los pacientes con RD leve respecto a RD severa, y RD moderada con respecto a RD severa (tabla 55).

### 4.3.2 AL FINAL DEL ESTUDIO

En la exploración funduscópica al final del estudio se observó que de los 70 pacientes del GDM2-RD 13 de ellos desarrollaron RD (14,3% RD leve, y 4,3% RD moderada) (figura 37, tabla 56). De los 55 pacientes del GDM2+RD, en la visita final se observó RD leve en un 40%, RD moderada en un 40%, RD severa en un 12,7% y RDP en un 7,3% (figura 38, tabla 57); en este grupo se observó que el 60% de pacientes no progresó en su retinopatía, un 23,6% progresaron hacia RD moderada, un 9,1% hacia RD severa y un 7,3% hacia RDP.

	Sin RD	RD Leve	RD Moderada	RD Severa
<b>Visita Inicial</b>	100% (70)	0	0	0
<b>Visita Final</b>	81,4% (57)	14,3% (10)	4,3% (3)	0

Tabla 56. Distribución en la visita final del GDM2-RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). RD=Retinopatía diabética.

	RD Leve	RD Moderada	RD Severa	RDP
<b>Visita Inicial</b>	63,6% (35)	29,1% (16)	7,3% (4)	0
<b>Visita Final</b>	40% (22)	40% (22)	12,7% (7)	7,3% (4)

Tabla 57. Distribución en la visita final del GDM2+RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG). RD=Retinopatía diabética.

	No progresión	Hacia RD Leve	Hacia RD Moderada	Hacia RD Severa	Hacia RDP
<b>GDM2-RD</b>	81,4% (57)	14,3% (10)	4,3% (3)	0	0
<b>GDM2+RD</b>	60% (33)	0	23,6% (13)	9,1% (5)	7,3% (4)
<b>Total</b>	45% (90)	5% (10)	8% (16)	2,5% (5)	2% (4)

Tabla 58. Distribución de progresión del GDM2-RD y GDM2+RD en la visita final. RD=Retinopatía diabética. GDM2-RD=Grupo de pacientes con DM2 sin RD. GDM2+RD=Grupo de pacientes con DM2 con RD.

Los datos de la exploración oftalmológica y analítica en función de la progresión en el grado de RD según la clasificación clínica internacional de RD (GDRPG) al final del estudio, se muestran en las siguientes tablas y figuras.

	n	MAVC		PIO (mmHg)		EM		CST (µm)	
		OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
No progresión	90	0,81 ± 0,2	0,83 ± 0,2	15,7 ± 2,5	16,1 ± 2,4	4,4% (4)	10% (9)	252,8 ± 29,6	256,5 ± 56,3
A RD Leve	10	0,9 ± 0,1	0,88 ± 0,1	14,9 ± 2,8	15,1 ± 3,1	0	0	250,2 ± 17,9	241,6 ± 15,9
A RD Moderada	16	0,71 ± 0,2	0,76 ± 0,2	15,8 ± 2,5	16,4 ± 2,8	12,5% (2)	6,2% (1)	254,2 ± 30,9	262,94 ± 46,5
A RD Severa	5	0,54 ± 0,2	0,44 ± 0,2	15,2 ± 3,7	15,4 ± 2,7	0	40% (2)	268 ± 31,5	318,4 ± 93,4
A RDP	4	0,3 ± 0,2	0,29 ± 0,2	15,7 ± 2,2	17 ± 1,8	75% (3)	50% (2)	385 ± 68,4	414,8 ± 127,1
p-value		0,00158 A,B,C,D,F	0,00193 A,B,C,D,E,F	0,977	0,466	4,098E-006	0,017	0,001 <sup>G,H,I,J</sup>	0,002 <sup>G,H,I</sup>

Tabla 59. Resultados de la exploración oftalmológica en los pacientes del GDM2 que progresaron en su grado de RD en la visita final, expresados como media ± desviación estándar. Resultados de la presencia de EM expresados en porcentaje de frecuencia. Resultados significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes sin progresión respecto a los que progresaron a RD severa (p=0,023 OD, p=0,001 OI). <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes sin progresión respecto a los que progresaron a RDP (p=5,408E-006 OD, p=7,185E-006 OI). <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD leve respecto a RD severa (p=0,007 OD, p=0,001 OI). <sup>D</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD leve respecto a RDP (p=3,655E-005 OD, p=2,629E-005 OI). <sup>E</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD moderada respecto a RD severa (p=0,0029 OI). <sup>F</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD moderada respecto a RDP (p=0,002 OD, p=0,001 OI). <sup>G</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes sin progresión respecto a los que progresaron a RDP (p=9,210E-013 OD, p=4,043E-006 OI). <sup>H</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD leve respecto a RDP (p=1,856E-010 OD, p=1,479E-005 OI). <sup>I</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD moderada respecto a RDP (p=6,555E-011 OD, p=6,939E-005 OI). <sup>J</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD severa respecto a RDP (p=9,639E-007 OD). RD=Retinopatía diabética. OD=Ojo derecho. OI=Ojo izquierdo. MAVC=Mejor agudeza visual corregida. PIO=Presión intraocular. EM=Edema macular. CST=Central subfield thickness.

## RESULTADOS

	n	Hb (g/dL)	Hto (%)	HbA1c (%)	Glucemia (mg/dL)	TG (mg/dL)
No progresión	90	13,52 ± 1,38	40,37 ± 5,6	7,1 ± 1,4	147,10 ± 70,28	140,62 ± 84,72
A RD Leve	10	13,97 ± 1,42	42,51 ± 4,3	7,4 ± 0,8	163,8 ± 56,5	156,4 ± 60,31
A RD Moderada	16	14,34 ± 1,7	42,5 ± 5,0	7,8 ± 1,2	158,7 ± 63,8	148,5 ± 85,45
A RD Severa	5	12,66 ± 1,4	37,92 ± 3,3	8,1 ± 1,2	145,8 ± 39,5	112,4 ± 40,28
A RDP	4	12,8 ± 1,6	37,97 ± 3,9	8,5 ± 1,1	157,75 ± 31,28	166,5 ± 70,88
p-value		0,078	0,226	0,022	0,269	0,294

Tabla 60. Resultados de los parámetros bioquímicos clásicos en los pacientes del GDM2 que progresaron en su grado de RD en la visita final, expresados como media ± desviación estándar. RD=Retinopatía diabética. RDP=Retinopatía diabética proliferativa. Hb=Hemoglobina. Hto=Hematocrito. HbA1c=Hemoglobina glicosilada. TG=Triglicéridos.

	n	MDA/TBARS (µmol/L)	AOX (µmol/L)
No progresión	90	2,6369±1,23	2,7752±1,39
A RD Leve	10	2,3709±0,45	2,8108±1,66
A RD Moderada	16	4,6185±1,77	1,5997±0,67
A RD Severa	5	4,8623±2,32	1,5577±1,16
A RDP	4	5,4161±0,35	1,2277±0,42
p-value		0,02 <sup>A,B,C,D,E,F</sup>	0,015 <sup>A</sup>

Tabla 61. Resultados del análisis Redox en los pacientes del GDM2 que progresaron en su grado de RD en la visita final, expresados como media ± desviación estándar. Resultados significativos en rojo. <sup>A</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes sin progresión respecto a los que progresaron a RD moderada (p=1,451E-006 para MDA/TBARS, p=0,0014 para AOX). <sup>B</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes sin progresión respecto a los que progresaron a RD severa (p=0,003 para MDA/TBARS). <sup>C</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes sin progresión respecto a los que progresaron a RDP (p=0,001 para MDA/TBARS). <sup>D</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD leve respecto a RD moderada (p=0,004 para MDA/TBARS). <sup>E</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD leve respecto a RD severa (p=0,007 para MDA/TBARS). <sup>F</sup>: Se observaron diferencias significativas al comparar pacientes que progresaron a RD leve respecto a RDP (p=0,001 para MDA/TBARS). RD=Retinopatía diabética. RDP=Retinopatía diabética proliferativa. MDA/TBARS= Actividad lipoperoxidativa. AOX= Actividad antioxidante total.

Los resultados en los que se observaron diferencias estadísticamente significativas fueron los siguientes:

- **MAVC en OD:** Se observaron diferencias significativas entre los cinco grupos (p=0,00158), concretamente al comparar a aquellos que no tuvieron progresión respecto a los que progresaron a RD severa (p=0,023) y RDP (p=5,408E-006); entre los que progresaron a RD leve al compararlos con los que avanzaron hacia una RD severa (p=0,007) y RDP (p=3,655E-005) y los que progresaron a RD moderada con respecto a los que avanzaron hacia RDP (p=0,002) (tabla 59).

- **MAVC en OI:** Se observaron diferencias significativas entre los cinco grupos ( $p=0,00193$ ), específicamente al comparar a aquellos que no tuvieron progresión respecto a los que progresaron a RD severa ( $p=0,001$ ) y RDP ( $p=7,185E-006$ ); entre los que progresaron a RD leve al compararlos con los que avanzaron hacia una RD severa ( $p=0,001$ ) y RDP ( $p=2,629E-005$ ) y los que progresaron a RD moderada con respecto a los que avanzaron hacia RD severa ( $p=0,0029$ ) y RDP ( $p=0,001$ ) (tabla 59).
- **CST OD:** Se observaron diferencias significativas entre los cinco grupos ( $p=0,001$ ), concretamente al comparar aquellos que progresaron hacia formas proliferantes (RDP) respecto al resto ( $p=9,210E-013$  sin progresión,  $p=1,856E-010$  RD leve,  $p=6,555E-011$  RD moderada,  $p=9,639E-007$  RD severa) (tabla 59).
- **CST OI:** Se observaron diferencias significativas entre los cinco grupos ( $p=0,002$ ), concretamente entre los que avanzaron hacia una RDP respecto al resto de grupos excepto los que progresaron a RD severa ( $p=4,043E-006$  sin progresión,  $p=1,479E-005$  RD leve,  $p=6,939E-005$  RD moderada) (tabla 59).
- **EM AO:** Se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al desarrollo de EM ( $p=4,098E-006$  para OD,  $p=0,0017$  para OI) (tabla 59)
- **HbA1c:** Se observaron diferencias significativas entre los cinco grupos ( $p=0,022$ ) (tabla 60), aumentando sus valores conforme avanza el grado de RD.
- **MDA/TBARS:** Se observaron diferencias significativas entre los cinco grupos ( $p=0,02$ ), concretamente entre los que no progresaron al compararlos con los que avanzaron hacia RD moderada ( $p=1,451E-006$ ), RD severa ( $p=0,003$ ) y RDP ( $p=0,001$ ); y entre los que progresaron a una RD leve al compararlos con los que avanzaron hacia RD moderada ( $p=0,004$ ), RD severa ( $p=0,007$ ) y RDP ( $0,001$ ) (tabla 61).
- **AOX:** Se observaron diferencias significativas entre los cinco grupos ( $p=0,015$ ), aunque sólo resultaron significativas al comparar el grupo de pacientes que no progresó con respecto a los que avanzaron hacia RD moderada ( $p=0,00014$ ) (tabla 61).



## **DISCUSIÓN**



## **1. SOBRE EL DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO**

---

### **1.1 DIABETES MELLITUS Y RETINOPATÍA DIABÉTICA**

La DM se ha convertido en la enfermedad metabólica más frecuente hasta el punto de considerarse como la epidemia del siglo XXI. Aproximadamente 347 millones de personas fueron diagnosticadas de DM en 2011 en todo el mundo (162), y para el año 2030 se prevé un aumento hasta 440 millones en personas de entre 20 a 79 años (prevalencia del 7,7%) (163). De hecho, la OMS estima que la DM2 puede convertirse en la séptima causa de muerte en el año 2030 (164). Su complicación microvascular más frecuente, la RD, se ha convertido en una de las principales causas de discapacidad visual y ceguera en pacientes en edad laboral de países industrializados, suponiendo un impacto social, médico y económico sustancial. Es por ello que existe un interés creciente en el estudio fisiopatológico de esta enfermedad ocular ya que en la actualidad, todavía existen muchos aspectos etiopatogénicos que desconocemos y que podrían influir en el desarrollo o curso de la misma. Aunque alejados del éxito en el control de la RD, existen cada vez más publicaciones en lo que respecta a la búsqueda de factores de riesgo personales y elementos a nivel molecular que nos ayuden a entenderla y evitarla.

### **1.2 DISEÑO Y SUJETOS DEL ESTUDIO**

El presente trabajo de tesis doctoral surge de un estudio multicéntrico para evaluar los efectos de la suplementación oral con antioxidantes y ácidos grasos en la RD en un seguimiento a tres años y que está siendo llevado a cabo por el grupo de estudio Valencia sobre retinopatía diabética (EVRD) cuya investigadora principal es la doctora María Dolores Pinazo Durán y en el que colaboran diez centros de la Comunidad Valenciana.

Concretamente este estudio se planteó con un diseño longitudinal prospectivo, de casos y controles, siendo los primeros pacientes con DM2 de una población mediterránea y de larga evolución (mínimo 5 años). Se realizó un seguimiento a lo largo de 18 meses (entre 2012-2014) con el objetivo de determinar las posibilidades de predecir el riesgo de presentación o progresión de RD en base a la integración de diversos factores de riesgo exógenos y endógenos en estos pacientes.

## DISCUSIÓN

Participaron 200 sujetos que fueron seleccionados durante el último semestre de 2012 con estrictos y específicos criterios de inclusión y exclusión (apartado 2 de Material y Métodos).

Se efectuaron dos visitas espaciadas 18 meses, y entre las mismas se mantuvo contacto telefónico con los participantes para registrar cualquier cambio de dirección o teléfono, asegurar la adherencia al estudio y valorar la existencia de posibles modificaciones en la situación basal que pudieran causar la exclusión de los mismos. En cada una de las visitas se realizaron entrevistas y encuestas para la recogida de datos, una exploración oftalmológica completa y análisis de sangre.

Los parámetros que se han tenido en cuenta para valorar el riesgo de incidencia o progresión de RD han sido: edad, sexo, AF, AP de HTA y tiempo de evolución de la DM2, tipo de nutrición, ejercicio físico, hábito tabáquico y/o alcohólico, grado de adherencia a la dieta Mediterránea, IMC, hiperglucemia e hipertrigliceridemia y parámetros de estrés oxidativo (MDA/TBARS y AOX). El motivo por el cual se han decidido estudiar estos factores es porque hemos considerado que la práctica clínica diaria debe simplificar al máximo los criterios de evaluación, con el fin de precisar los hechos más importantes, alcanzar el diagnóstico y aplicar precozmente el tratamiento más adecuado.

Todos los datos fueron introducidos en una planilla electrónica Excel 14.3.1 para Windows específicamente diseñada para este trabajo y posteriormente éstos se transfirieron al paquete estadístico SPSS (versión 20.0) para su análisis.

Al final del estudio el número de sujetos fue de 200, 88 varones y 112 mujeres. La edad media fue de  $57,55 \pm 13,52$  años (rango 25-80 años). En función de la presencia o ausencia de DM2, los sujetos se asignaron al GC (n=75) o al GDM2 (n=125). No se consideró que las características de sexo y edad fueran proporcionales, ya que los individuos fueron incluidos de forma consecutiva en el tiempo y en el espacio, pero este hecho se ha tenido en cuenta en el análisis estadístico para evitar posibles sesgos. Si observamos el número de participantes al inicio y final, el porcentaje de permanencia fue del 100%, lo que podemos explicar por la motivación que se intentó transmitir a los participantes para continuar dentro de la investigación, que no se realizaron pruebas invasivas (tan sólo dos análisis de sangre, que ellos mismos reconocían como beneficioso para su control) y porque el periodo de duración del estudio fue de 18 meses.

La exploración oftalmológica realizada fue completa y adecuada a los datos que se requerían en esta investigación (MAVC, PIO, funduscopia y CST). Cabe destacar que las pruebas eran rápidas, no invasivas y algunas de ellas como la retinografía del fondo de ojo y la SD-OCT macular de gran utilidad por la información valiosa que nos brindan. A partir de la exploración funduscópica inicial, los pacientes del GDM2 fueron asignados al GDM2-RD (n=70) o GDM2+RD (n=55) según la ausencia o presencia de RD, y para afinar aún más los resultados finales, los pacientes del GDM2+RD fueron subdivididos según el grado de RD propuesto por el grupo GDRPG (148). A los 18 meses se valoró la progresión tanto en el GDM2-RD como en el GDM2+RD.

Acerca de los métodos utilizados para determinar los parámetros bioquímicos, las técnicas para medir los parámetros clásicos (Hb, Hto, glucosa, HbA1c y TG) no presentaron ninguna particularidad, pues se ajustan a las normas de la clínica diaria. Sin embargo los ensayos utilizados en el presente estudio para determinar las actividades oxidante y antioxidante en la sangre periférica son técnicas especiales que no se realizan rutinariamente en los laboratorios hospitalarios. Para determinar los parámetros de estrés oxidativo en la sangre humana fue necesario poner a punto unas normas de obtención y manipulación muy estrictas en condiciones estándar, así como la congelación inmediata y conservación de las mismas a  $-85^{\circ}\text{C}$  hasta su transporte en condiciones idóneas y almacenaje en el laboratorio de bioquímica y biología molecular de la Unidad de Investigaciones Oftalmológicas “Santiago Grisolia” de Valencia, donde se llevaron a cabo todos los ensayos previstos. El procedimiento que empleamos es el más comúnmente utilizado para cuantificar el grado de lipoperoxidación en los tejidos y fluidos humanos, la determinación del MDA y de los productos que reaccionan del ácido barbitúrico, cuyo resultado es el aducto cromogénico llamado TBARS. Con la técnica enzimático-colorimétrica, ampliamente validada por otros autores en investigaciones similares (125, 159, 165-168), utilizada para las determinaciones del presente trabajo, hemos podido alcanzar resultados concluyentes, sin haber existido problemas con la técnica.

## **2. SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS**

---

El objetivo principal de esta investigación es la de determinar posibles factores de riesgo exógenos y endógenos para predecir el riesgo de presentación o progresión de la RD en pacientes con diabetes tipo 2 de larga duración. Por ello se han analizado diversos parámetros, cuyos resultados y su posible relación con la presencia y curso de RD, se comentan a continuación.

### **2.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD Y ESTILO DE VIDA.**

Los participantes en el estudio presentaron una distribución por géneros heterogénea (44% hombres y 56% mujeres). Al asignar a los sujetos a los distintos grupos según la presencia o ausencia de enfermedad, la distribución en el GDM2 fue homogénea con porcentajes de hombres y mujeres similares (49,6% y 50,4% respectivamente). En el GC predominaban las mujeres, que eran aproximadamente el doble que hombres. Estas características demográficas se tuvieron en cuenta durante el procesamiento estadístico para evitar sesgos. El sexo es un factor cuyo papel en la progresión de DM2 permanece todavía en controversia, con evidencias tanto a favor (169) como en contra de su posible implicación (170). En nuestra muestra observamos que en el sexo masculino existe mayor riesgo de desarrollo de DM2, pero no encontramos asociación significativa respecto a este parámetro y la prevalencia de RD, lo que sí ha sido reportado en otros estudios epidemiológicos como el de Zhang *et al.* (43) sobre prevalencia de RD en EEUU, en el que se observó que ésta fue ligeramente más frecuente entre los hombres (31,6%) que en las mujeres (25,7%) de forma estadísticamente significativa ( $p=0,04$ ). Sin embargo, estudios como el WESDR observa que las mujeres con DM2 que no recibían insulina tenían, en lo que a la ceguera se refiere, peor pronóstico que los varones (5,8% frente a 3,6%), al igual que las tratadas con insulina en comparación con los varones (5,4% frente a 2,3%) (171).

La edad media de los pacientes con DM2 fue de  $63,54 \pm 9,54$  años (rango 31-80 años) (tabla 17) y coincide con los datos aportados por la mayoría de publicaciones sobre la incidencia y prevalencia de la DM (42, 172, 173). En nuestra muestra se observa una asociación entre la edad y el riesgo de padecer DM2 como se confirma en numerosos

estudios que mostraron un mayor incremento de riesgo pasados los 60 años (173-175), por lo que cabe esperar que si la expectativa de vida continúa aumentando, también lo hará la incidencia de DM2 en los próximos años. Coincidiendo con algunas investigaciones no pudimos demostrar con nuestros datos la asociación de este importante parámetro con la RD (176), aunque en la actualidad sabemos que múltiples estudios con muestras considerables y buen diseño han podido afirmar que la incidencia de ceguera por RD en DM2 aumenta con la edad (177, 178) y sobretodo que existe mayor riesgo de su desarrollo cuando la DM2 se diagnostica por encima de los 30 años (179, 180).

Las diferencias étnicas respecto a la prevalencia y asociación con la presencia de RD (181-183) y sus grados (182, 184) han sido previamente informadas como mayores en las personas no caucásicas en comparación con las caucásicas. Recientemente se ha reportado la prevalencia global de la RD en un 55,8% en afro-americanos o negros, 46,7% en caucásicos y 20,9% en asiáticos (185). Wong *et al.* (186) en su estudio realizado sobre una población multiétnica de EEUU detectan prevalencias de RD algo diferentes (36,7% en afro-americanos o negros, 37,4% en hispanos, 24,8% en blancos y 25,7% en asiáticos). Simmons *et al.* (187) en Sudáfrica observan una mayor prevalencia de RD moderada o severa en poblaciones del Pacífico respecto a los europeos, mientras que Zhang *et al.* (43) observa en EEUU que las personas negras no hispanas tuvieron una mayor prevalencia de RD que las personas blancas no hispanas, 38,8% frente al 26,4% ( $p=0,01$ ). Como era de esperar, en este estudio realizado sobre una población Mediterránea, casi el 100% de participantes era de raza caucásica (figura 26) por lo que fue un factor tenido en cuenta.

El factor predisposición genética de la DM2 está ampliamente estudiado (188), y así lo podemos ver en nuestra muestra de pacientes diabéticos, en los cuales más de la mitad tenían AF de esta enfermedad (tabla 19). Lo que no pudimos demostrar en este estudio fue si los AF de DM2 suponían un factor de riesgo para padecer RD, y sobre los AF de RD no reclutamos información, hecho que deberíamos haber tenido en cuenta ya que existen estudios al respecto. Así, un subgrupo del DCCT muestra que los familiares diabéticos de pacientes incluidos en su estudio tenían mayor riesgo de RD si sus padres también tenían la enfermedad, y esto ocurría en los cuatro grupos de asignación inicial (189).

## DISCUSIÓN

En referencia a los AP que pueden influir en la presentación y/o progresión de la RD, destaca de forma muy importante la duración de la DM2, que en nuestra muestra de pacientes del GDM2 fue de 14 años, y si tenemos en cuenta al GDM2+RD esta cifra aumentó de forma notable a 19 años. Una duración mayor de 5 años elevaba en 1,2 el riesgo de padecer RD, y se multiplicaba por 40 cuando era mayor a 10 años. Estos resultados coinciden con la amplia evidencia que relaciona la RD con el tiempo de evolución de DM, lo que demuestran numerosos e importantes estudios realizados tanto a nivel mundial (41, 55, 57, 190, 191) como nacional (tabla 9) (49-54), aunque la prevalencia no alcanza nunca el 100%.

Afinando sobre los grados de RD en el GDM2+RD observamos que los pacientes con RD severa eran los que contaban con una mayor duración de DM2, pero estos resultados no resultaron estadísticamente significativos.

También observamos que la HTA era más frecuente en el GDM2+RD con respecto al GDM2-RD (figura 28), resultados que coinciden con otros reportados ampliamente en la literatura (66, 191-194), y por los que es aceptado que la HTA es uno de los principales factores de riesgo vascular para el desarrollo de microangiopatía. En este trabajo hemos podido observar que el riesgo de padecer RD es el doble en aquellos sujetos hipertensos. Además la relación entre DM2 e HTA en nuestra muestra es muy sostenible.

La HTA por sí sola es capaz de producir la retinopatía hipertensiva caracterizada por exudados maculares, macro y microaneurismas, hemorragias en llama y manchas algodinosas. La prevalencia de la retinopatía hipertensiva en pacientes no diabéticos en la quinta década o más se estima entre un 11% y 12,5% (195, 196). No obstante, múltiples estudios epidemiológicos con diferentes diseños también evidencian que los pacientes con HTA son más propensos a desarrollar RD, desarrollar niveles más graves de RD (197-199), y tener una progresión más rápida en comparación con los pacientes diabéticos sin HTA (200, 201). Como se ha comentado en el apartado 3.2.5 de la introducción, hasta el momento el estudio más importante realizado para la evaluación de dicha asociación es el UKPDS (66), en el que se concluyó que un estricto control de la PA, con niveles <150/85, reduce de forma considerable el riesgo y gravedad de RD, así como de otras complicaciones. También cabe destacar que los pacientes diabéticos con HTA concomitante tienen 3 veces más probabilidades de desarrollar EMD (202). Aunque con todas estas referencias parece que exista una asociación entre la HTA y la

RD, ésta no se ha podido demostrar en todos los estudios clínicos, aunque quizás esto haya sido un problema relacionado con limitaciones e imprecisiones potenciales inherentes a estudios transversales, incluyendo el sesgo de la inscripción, la supervivencia selectiva, y el supuesto de que la exposición del paciente a la PA elevada era constante (203-205).

Cada vez más se analizan los parámetros relacionados con el estilo de vida en el desarrollo o progresión de la RD (206). La muestra empleada en este estudio presenta unas características interesantes, sobre todo en relación a la nutrición y realización de ejercicio físico, hasta el punto que los pacientes del GDM2 tenían mayor incidencia de RD según se alejaban de un buen cumplimiento de la dieta baja en carbohidratos y de la realización de alguna actividad física reglada.

Los efectos del ejercicio y el esfuerzo físico en pacientes con RD siguen siendo un motivo de preocupación. La inactividad física y el comportamiento sedentario han sido identificados como factores de riesgo modificables de la DM2; su asociación ha sido ampliamente establecida y las estimaciones sugieren que dicha inactividad es causa del 27% de todos los casos de enfermedad (164). El ejercicio, sobre todo aeróbico, puede tener un efecto positivo en la reducción del riesgo de complicaciones de la DM2 ya que mejora o mantiene la función cardiovascular, aumenta los niveles de HDL, ayuda a controlar el peso, aumenta la sensibilidad a la insulina, y optimiza de los niveles de glucosa en sangre. Sin embargo, poco se sabe de las asociaciones entre la actividad física, la conducta sedentaria y la RD, de hecho sólo existen 5 estudios dedicados a la investigación de esta asociación, y todos ellos realizados en pacientes DM1 (83, 207-210). Varios estudios han sugerido un papel protector para la actividad física en la RD. Otros trabajos han demostrado que incluso en grados avanzados de RD y sobretodo en la RDP, un esfuerzo físico intenso puede tener efectos potencialmente perjudiciales sobre la visión y la RD como el desarrollo o agravamiento de complicaciones oculares como la hemorragia vítrea y disminución en la concentración de oxígeno retiniano ya de por sí comprometida (206, 211, 212). Otros concluyen que el tiempo dedicado a ver la televisión se asocia de forma independiente con signos vasculares retinianos anormales. Limitaciones de los estudios existentes, tales como la ausencia de medidas objetivas de la actividad física, la falta de definiciones concretas del comportamiento sedentario, la inclusión de sólo aquellos con DM1 y la falta de datos longitudinales, hacen que sea difícil sacar conclusiones firmes acerca de la fuerza de esta asociación.

## DISCUSIÓN

En referencia a los hábitos tóxicos, se observó que los pacientes que fumaban y/o bebían de forma habitual también presentaban mayor riesgo para el desarrollo o progresión de la microangiopatía diabética como se puede ver en la tabla 22.

Respecto al hábito tabáquico existen controversias a la hora de establecer si existe relación o no con el desarrollo de RD. Algunos autores como Paetkau ME (101), Walker JM (102) y Cundiff DK. *et al* (213) sí encuentran asociación entre el tabaco y el grado de afectación retiniana, congruente con los resultados de nuestra muestra; otros como Moss SE (103), Klein R (104) y Aiello (206) presentan conclusiones contradictorias. De hecho, el gran estudio epidemiológico UKPDS observa que existe menor incidencia en el desarrollo (OR=0,63 [IC95%=0,48-0,82]) y progresión (OR=0,5 [IC95%=0,36-0,71]) de RD en aquellos diabéticos fumadores (66). Es por esta polémica existente en torno a un hábito tóxico tan importante como el tabaco por lo que deberían llevarse a cabo futuras investigaciones para esclarecer este aspecto.

Aunque es bien conocido que del consumo excesivo de alcohol tiene consecuencias sociales, mentales y médicas perjudiciales, su papel como factor de riesgo para el desarrollo de diferentes patologías oculares necesita mayor evidencia científica. Existen estudios que demuestran que entre las personas con DM, 1-2 bebidas alcohólicas al día se asocian con un menor riesgo de enfermedad CV. La literatura reportada sobre el consumo de alcohol y su asociación con la RD sin embargo es limitada, y sus resultados también son contradictorios. Múltiples investigaciones no encuentran asociación entre el consumo moderado de alcohol y RD (77, 214). El único estudio poblacional prospectivo que ha proporcionado pruebas de buena calidad respecto la asociación longitudinal del consumo de alcohol con la incidencia de RD fue el WESDR (215), que concluye que no existe asociación entre este factor y la incidencia o progresión de la RD tanto en personas con DM de inicio precoz como tardío. Sí que encontramos un estudio clínico prospectivo de 5 años que encontró que las personas con DM que consumen una media de 31 gramos de alcohol al día tenían un riesgo significativamente mayor de desarrollar RD, en comparación con los que consumían alcohol de forma moderada, sin embargo, la HTA y la hiperglucemia, no fueron controlados y pudieron sesgar los resultados (97). Al igual que este último estudio, en nuestra muestra sí observamos que el consumo de alcohol supone 7 veces más riesgo de desarrollar RD (tabla 22), no obstante, otros factores de riesgo conocidos también pudieron sesgar este resultado.

Son interesante los datos aportados en este estudio respecto al cumplimiento de la dieta mediterránea. Este término fue acuñado por primera vez por Ancel Keys en el año 1960, cuando observó que algunos aspectos en los hábitos alimenticios adoptados por la población que reside cerca del Mar Mediterráneo se relacionaban con una reducción en la incidencia de enfermedades crónicas y mayor esperanza de vida en comparación con otras regiones del mundo (216). Ésta incluye una dieta rica en frutas, verduras, pan, cereales, aceite de oliva como principal fuente de grasa, de bajas a moderadas cantidades de pescado, carne de ave de corral, alcohol, principalmente vino tinto, y escasa cantidad de carne roja.

La evaluación de la adherencia a la dieta mediterránea no es una tarea sencilla. Se han desarrollado muchos índices para describir el grado de cumplimiento, como el de Panagiotakos *et al.* que evalúa la ingesta mensual de comida mediterránea con un rango de puntuación de 0 a 55 (217). Para nuestro estudio, hemos optado por utilizar el diseño de Trichopoulos *et al.* (152) explicado en el apartado 5 de Material y Métodos. Del cuestionario validado de 14 preguntas, se clasificaron los resultados según alta adherencia a la dieta ( $\geq 9$ ) o baja adherencia ( $< 9$ ). La media aproximada de los resultados del GC como sujetos sanos, aportó una cifra alrededor de 10, tal como indican las descripciones del grupo de prevención con dieta mediterránea (PREDIMED) que en la Universidad de Valencia lidera la profesora Dolores Corella.

La dieta mediterránea se considera el *gold estándar* de la nutrición saludable y tal y como se ha demostrado en numerosos trabajos longitudinales, ayuda a la prevención y control de factores de riesgo CV (218-226), reduciendo eventos CV (225) y condiciones relacionadas tales como la HTA (227), el síndrome metabólico (228), y lo que consideramos más importante en nuestra investigación, la incidencia de DM2 (229-232). Esto se explica debido a que la interacción y combinación de los nutrientes esenciales aportados por esta dieta, junto con el ejercicio físico, han demostrado ser beneficiosos para la prevención y el pronóstico de esta enfermedad y sus complicaciones al favorecer la disminución de peso corporal, la HbA1c, el LDL-Col, estrés oxidativo y mejorar los niveles de HDL-Col (229). Coincidiendo con estos resultados, en nuestra muestra hemos podido verificar que los participantes que cumplían con las características alimentarias de esta dieta tenían menos riesgo de padecer DM2 y también, en el caso de sufrir esta enfermedad, menor riesgo de RD.

## DISCUSIÓN

Hasta el momento, la mayoría de los estudios han llevado a cabo análisis sobre la relación de los distintos alimentos o grupos de alimentos y nutrientes en complicaciones de la DM, en lugar de centrarse en los patrones alimentarios, que es el enfoque más realista para poner a prueba el papel general la dieta en las enfermedades relacionadas con la nutrición. Los únicos estudio epidemiológicos que han evaluado la adherencia a un patrón dietético han sido el de Lin J. *et al*, que evaluó la relación de la dieta occidental típica (basada en carne roja, alimentos refinados, azucarados y con altos contenidos en grasa) con el riesgo de nefropatía diabética (233); y el del grupo PREDIMED que hasta la actualidad es la única investigación que ha explorado los efectos de la dieta mediterránea respecto a la RD (234). En ésta última se incluyeron 3946 participantes entre 55 y 80 años con DM2 sin complicaciones microvasculares de base, y se aleatorizaron en tres grupos en base a la nutrición: 1382 para una dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen extra (DietMed+AOVE), 1252 para una dieta mediterránea suplementada con nueces (DietMed+nueces) y 1312 controles con dieta baja en grasa. El seguimiento a 5,9 años mostró 86 casos de RD de reciente aparición (26 en DietMed+AOVE; 24 en DietMed+nueces y 36 en el grupo control). Comparado con el grupo control se observó que el grupo DietMed+AOVE tenía una reducción significativa de riesgo de desarrollar RD de un 43% (OR [IC95%]: 0,57 [0,34-0,96]), mientras que en el grupo DietMed+nueces fue del 36% sin alcanzar suficiente significación estadística (OR [IC95%]: 0,65 [0,38-1,09]), por lo que se pudo concluir que la dieta mediterránea enriquecida con AOVE podría proteger frente al desarrollo de esta complicación visual en individuos afectados de DM2, resultado interesante ya que podríamos considerarla como una herramienta preventiva y terapéutica adicional en nuestros pacientes retinópatas.

Y en relación a los hábitos de vida, surgen los resultados antropométricos obtenidos en nuestros 200 sujetos, cuya distribución en función del peso e IMC ha demostrado que cuanto mayores son sus cifras, existe mayor riesgo de desarrollar DM2, aunque no se pudieron demostrar las diferencias entre pacientes sin y con RD cuyos parámetros de peso e IMC medios fueron similares. Estos resultados concuerdan con un amplio estudio realizado por el grupo WESDR que tampoco pudo demostrar la relación entre obesidad y complicaciones microangiopáticas de la DM (235), y con el de Jerneld *et al*. (236) llevado a cabo en 1985 en el de que curiosamente se halló una correlación significativa ( $p < 0,05$ ) entre un IMC alto y una prevalencia baja de RD en pacientes

tratados con hipoglucemiantes orales, especialmente en las mujeres. En oposición a estas conclusiones, cabe citar algunas aportaciones actuales que sí encuentran fuerza de asociación entre valores elevados de IMC e incidencia y progresión de RD:

- Kastelan S. *et al* (237): Concluyen que el IMC en correlación con los niveles de colesterol, HbA1c e HTA parece estar asociado con la progresión de RD en la DM2 y puede servir como un factor predictivo para el desarrollo de esta importante causa de pérdida visual.
- Dirani *et al* (238) observa que personas con DM2 con un mayor IMC y mayor circunferencia del cuello son más propensos a desarrollar y progresar a formas más graves de RD
- Rooney D. *et al* publican este año otro estudio realizado en la población asiática (239) que igualmente concluye que existe una relación directa entre el valor de IMC y el riesgo RD.

## 2.2 RESULTADOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS

### 2.2.1 EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

La MAVC se registró en todos los grupos al inicio y final del estudio. Se realizó por separado en cada ojo resultando similar en OD y OI. Al inicio del estudio, y como era de esperar, fue superior en el GC respecto al GDM2, y dentro de este último, considerablemente inferior en aquellos pacientes del GDM2+RD como se refleja en la figura 30. Como observamos en la tabla 53, al subdividir a estos pacientes según el grados de RD, observamos una relación directa entre el grado de RD con el empeoramiento de MAVC, de hecho si comparamos los grados de RD leve y RD severa vemos como la MAVC en esta última se reduce a más de la mitad en AO.

Estos resultados no sufrieron variaciones significativas en el GC cuando los analizamos al final del estudio, pero sí observamos que existe una disminución importante en el GDM2 y concretamente en el GDM2+RD donde disminuyó casi en 0,1 punto en OD y 0,05 en OI. Dentro de este mismo grupo al igual que ocurrió al inicio del estudio podemos observar diferencias considerables, disminuyendo la MAVC conforme aumentaba la severidad de RD.

En definitiva, en AO pudimos observar que existía una relación inversamente proporcional entre la MAVC y el grado de RD, siendo ésta considerablemente peor en

## DISCUSIÓN

casos de RD severa y en los que acabaron progresando a RDP.

También en lo que respecta a la PIO, pudimos observar que el GC presentaba niveles de PIO inferiores aunque estos resultados no resultaron significativos. La importancia de este parámetro para la enfermedad glaucomatosa, no parece tener relación con la RD.

En este examen oftalmológico, especial relevancia tiene la funduscopía, a la que se prestó especial atención ya que en base a los signos observados se realizó la subdivisión de los pacientes del GDM2 en función de la presencia o ausencia de RD, y en caso del GDM2+RD se distribuyó a los pacientes en función de la RD según la clasificación clínica internacional del grupo GDRPG (tabla 11) (240). Al inicio del estudio la RD leve fue el estadio más frecuente, mientras que al final observamos como en el GDM2+RD se igualan las proporciones de RD leve y moderada e incluso se añade un nuevo grado, la RDP (criterio de exclusión en la fase de reclutamiento de participantes al estudio). También cabe destacar que a los 18 meses de seguimiento, en el grupo DM2-RD un 14,3% debutó con RD leve y un 4,3% con RD moderada.

Gracias a los importantes avances técnicos la exploración oftalmológica cada vez es más objetiva y precisa. En 1991 la OCT, una nueva modalidad de imagen basada en el principio de interferometría de baja coherencia, fue introducida en la práctica clínica oftalmológica (241). La SD-OCT se ha convertido en una prueba complementaria indispensable para el estudio de la mácula y la interfase vítreo-retiniana en la RD. Permite realizar de forma rápida y no invasiva un examen morfológico y morfométrico retiniano, y desde su utilización cada vez existe más literatura sobre la información que puede proporcionar sobre RD, y especialmente sobre EMD (242-251).

El EMD es una de las principales causas de pérdida de AV en esta patología, por lo que su diagnóstico temprano es esencial, y con esta nueva herramienta, de gran facilidad. No sólo es útil en su detección sino también en la monitorización terapéutica, ya que con ella podemos valorar objetivamente la eficacia de los tratamientos empleados.

A todos los participantes de este estudio se realizó una SD-OCT macular al inicio y final del estudio. De esta prueba se analizó la presencia o ausencia de EMD (parámetro morfológico) y el CST (parámetro morfométrico).

De los datos obtenidos cabe resaltar que al inicio del estudio el porcentaje de pacientes del GDM2 con EM no sobrepasó el 25%, perteneciendo la mayoría de sujetos al GMD2+RD. Sólo 2 pacientes del GDM2-RD presentaban EM en OI al inicio del

estudio que permaneció invariable en la visita final, destacando que ninguno de ellos desarrolló a los 18 meses EM aunque existiera un porcentaje de incidencia de RD leve y moderada.

Del GDM2+RD el EM fue más frecuente en los estadios avanzados de RD, siendo el estadio con mayor porcentaje de EM la RD severa en la visita inicial, y la RDP en la visita final.

Respecto al parámetro morfométrico, el CST medido en micras en la visita basal no mostró diferencias notables entre el GC y GDM2, ni al comparar GDM2-RD con GDM2+RD. Sí que cabe destacar que al final del estudio, dichas diferencias sí resultaron considerablemente superiores en el GDM2+RD al compararlos con el GDM2-RD, es más, se observó un aumento significativo entre ambas visitas espaciadas 18 meses en el OD del GDM2-RD y en AO del GDM2+RD. Si desglosamos estos resultados en función del grado de RD observamos que en la visita basal existe una relación directa entre el grado de severidad de la RD y el aumento de CST sólo en OD, y en AO en la visita final siendo muy remarcable el aumento de espesor macular en la RDP.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Alkuraya *et al.* en el que se observa que existe una correlación significativa entre el EMD clínicamente significativo, CST y la severidad de la RD (246), observando además una correlación inversa entre la MAVC y el CST tal y como habían demostrado estudios anteriores (252-254).

## **2.2.2 HEMOGRAMA Y BIOQUÍMICA CONVENCIONAL**

Los datos obtenidos a partir del hemograma y análisis de parámetros bioquímicos clásicos de los participantes al inicio del estudio, coinciden con el perfil de los pacientes con DM2 y se comentan a continuación.

Respecto al análisis de Hb, la media al inicio y final del estudio en nuestra muestra se mantuvo dentro de los límites normales y no se observó anemia en ninguno de los grupos de estudio. Tampoco ninguno de los participantes recibía tratamiento para esta condición ya que la suplementación con vitaminas, minerales o hierro constituía uno de los criterios de exclusión. El análisis de este parámetro nos resultó interesante ya que la anemia es un hallazgo frecuente en los pacientes diabéticos debido a la alta incidencia de nefropatía crónica, y se ha demostrado que esta situación aumenta la mortalidad, el

## DISCUSIÓN

riesgo de enfermedad CV y las complicaciones microvasculares como la RD y en especial del EMD (78, 98, 99, 255, 256). Ya en 1985, Shorb SR. describe tres casos de pacientes diabéticos que al desarrollar anemia ferropénica progresaron rápidamente hacia una RDP que requirió PAN y CVR en dos casos (257). La anemia exacerba la isquemia, componente crucial para el aumento de VEGF y progresión hacia formas de RDP (258-260). Recientemente, investigadores de la India informaron de que niveles bajos de Hb suponen factor de riesgo para la RD ( $p=0,001$ ) (261), al igual que muestra el estudio de Sepúlveda FJ. *et al* (262). Por tanto, aunque en nuestra muestra no hubieran a penas pacientes diabéticos con bajos niveles de Hb, creemos que es muy importante vigilar este parámetro sobre todo en lo que respecta al pronóstico de progresión en el grado de RD, y destacar su íntimo vínculo con los niveles aumentados de VEGF y NV por la necesidad de proponer futuros ensayos clínicos en los que el tratamiento con anti-VEGF tenga en cuenta variables como los niveles séricos de EPO, Hb y Hto para favorecer un mejor manejo de la enfermedad.

La glucemia y HbA1c fueron significativamente menores en el GC que en el GDM2, y dentro de éste menor en el GDM2-RD tanto al inicio como final del estudio. La ADA apoya como cifra óptima de HbA1c valores inferiores al 7% y afirma que un buen control glucémico en los pacientes con DM2 no sólo conlleva una reducción en la presentación de RD sino también una disminución del riesgo de aproximadamente un 25% en la incidencia de otras complicaciones microvasculares (263). Es más, la reducción de una unidad en los valores de HbA1c conlleva una reducción del 35% en el riesgo de estas complicaciones (57, 59). Esto concuerda con los resultados de nuestro estudio en los que observamos una clara relación entre el aumento notable de la HbA1c y la presencia de RD, de manera que niveles mayores a 6,5%, aumentaban 4 veces el riesgo de desarrollar esta frecuente microangiopatía (figura 32 y 39). Aunque en nuestra muestra no pudimos relacionar el aumento de HbA1c con el grado de RD al inicio (tabla 54), sí observamos que a los 18 meses existían diferencias entre los pacientes que progresan en su grado de RD mostrándose una relación directa entre el valor de HbA1c y la severidad de la misma (tabla 60). Este dato no supone una novedad, y sabemos que si en la RD el control sistémico es indiscutible (60) en el EMD esto resulta aún más evidente, de hecho, en la práctica clínica, este parámetro debe tenerse en cuenta antes de la realización de cualquier tratamiento, y un mal control metabólico con niveles elevados justifican posponer cualquier intervención terapéutica hasta que éste mejore,

siendo deseables cifras de HbA1c < 7,5% (56). Cabe destacar que en nuestra muestra observamos un aumento significativo de HbA1c y glucemia en el GC ( $p=0,036$  para la HbA1c y  $p=0,001$  para la glucemia) y una disminución de HbA1c en el GDM2, principalmente en el GDM2+RD ( $p=0,021$ ). Esto podría deberse a que al inicio se explicó a los pacientes cuales eran los beneficios de participar en este estudio, y por ello se les insistió en la importancia del control metabólico haciendo especial énfasis en los niveles glucémicos y de HbA1c.

Sabemos que los pacientes con dislipidemia combinada, pero no hipercolesterolemia familiar, tienen una mayor incidencia de anormalidades retinianas. Esto sugiere que los niveles elevados de TG pueden estar implicados en el desarrollo de lesiones retinovasculares que ocurren en la RD (264). Existen numerosos estudios que apoyan una relación entre los lípidos séricos y la RD y que incluso demuestran que el tratamiento con fenofibrato aumenta los niveles séricos de HDL-Col y disminuye los valores de TG consiguiendo relacionar este hecho a una disminución del riesgo de progresión tanto de RD como de EMD (67, 80). Al analizar los TG en nuestra muestra en la visita inicial y final observamos niveles notablemente más elevados en el GDM2 respecto al GC (tablas 29 y 38), y que niveles superiores a 160mg/dL aumentaban 3 veces el riesgo de sufrir DM2 (tabla 31 y 40). No obstante no se observaron diferencias entre GDM2-RD respecto a GDM2+RD y tampoco pudimos demostrar su nivel de riesgo en relación a este hallazgo funduscópico (tablas 30, 32, 39 y 41). También cabe destacar, que los niveles de TG aumentaron moderadamente en el GC ( $p=0,008$ ), mientras que en los pacientes del GDM2 observamos un leve descenso en GDM2-RD, con ligero aumento en el GDM2+RD, aunque estas diferencias no alcanzaron suficiente significación estadística ( $p=0,712$  para GDM2-RD,  $p=0,760$  para GDM2+RD).

Por tanto, por los datos obtenidos de nuestro estudio podemos sugerir que en los pacientes con DM2 el riesgo de desarrollar RD está en relación directa con las cifras de glucemia y HbA1c aunque no parecen correlacionarse con las cifras de TG.

### **2.2.3 ANÁLISIS REDOX**

El desequilibrio entre la formación de RL, EROx y la disminución de las defensas antioxidantes es el origen del estrés oxidativo y a partir de él del ataque a células y tejidos y la aparición de la enfermedad.

## DISCUSIÓN

Este mecanismo patogénico se ha relacionado con el envejecimiento y con el desarrollo de múltiples enfermedades, como la aterosclerosis, de etiología isquémica, inflamaciones crónicas, alteraciones neurodegenerativas como el Parkinson y Alzheimer y varios tipos de cáncer (121, 265-272). A nivel ocular, sabemos que el estrés oxidativo ha sido relacionado con diversas patologías, sobre todo con la DMAE, el glaucoma, el desarrollo de cataratas, la retinitis pigmentosa, algunas neuropatías ópticas tóxicas y uveítis (168, 273-285). Esto cobra sentido si tenemos en cuenta que la retina presenta una elevada demanda de O<sub>2</sub> ya que las células retinianas tienen una actividad metabólica muy importante y además están expuestas a niveles elevados de luz azul, que junto al O<sub>2</sub> potencia la producción de RL y EROx, dañinos para células y tejidos.

En el ámbito que nos ocupa, existen diversos estudios que relacionan el aumento de las fuerzas pro-oxidantes y la disminución de los mecanismos de defensa antioxidante con la DM2 (286-291) y también con el riesgo o no de padecer RD (107, 292-298).

Probablemente el proceso inducido por RL más investigado es la peroxidación lipídica, cuya concentración plasmática de metabolitos relacionados (MDA y TBARS) fue determinada en nuestro estudio. En este proceso, los ácidos grasos insaturados reaccionan (en cadena) con el O<sub>2</sub> molecular y se forman hidroperóxidos, los cuales son degradados a una variedad de productos, como dienos conjugados, alcanos, aldehídos e isoprostanos, entre otros, los cuales pueden ser cuantificados por diferentes métodos, siendo el más utilizado la cuantificación de MTA/TBARS. La técnica utilizada para ello ha sido la reacción con el ácido tiobarbitúrico y los productos que reaccionan con él (TBARS), mediante extracción con butanol y medida por fluorimetría. Durante mucho tiempo, los resultados obtenidos han estado sometidos a debate. El hecho de que el TBA reaccione con otros productos diferentes de los derivados de la actividad oxidativa, como el ácido siálico, y que al determinarlo puede originar resultados dudosos, ha quedado relegada debido al gran arraigo de la técnica entre los investigadores y la cantidad de publicaciones que han validado los resultados en los últimos veinte años (125).

La determinación del AOX mediante el kit comercial del Antioxidante Total se ajustó a los protocolos descritos en el apartado 8.3.2 de Material y Métodos y a nuestra práctica y experiencia personal con otros estudios (125, 299-303). En los últimos años varias investigaciones han asumido que esta prueba es óptima para determinar la AOX en las muestras biológicas (304).

En nuestra muestra de participantes se pudo observar tanto al inicio como al final del estudio que los niveles de MDA/TBARS estaban significativamente aumentados en el GDM2, y de éstos más aun en el GDM2+RD. De forma inversa la medida de la AOX estaba notablemente disminuida en el GDM2 y en GDM2+RD. Aunque algunos autores defienden que no existen niveles disminuidos de AOX en diabéticos (305-307) otros coinciden con los resultados obtenidos por nuestro grupo (308, 309).

En la visita basal, respecto a los niveles de MDA/TBARS según el grado de RD no se observaron diferencias significativas, aunque éstas sí se objetivaron en los niveles de AOX, notablemente inferiores conforme avanzamos en severidad ( $p=0,03$ ). En la visita final ambos parámetros sí resultaron estadísticamente significativos, observándose mayores niveles de MDA/TBARS y menores de AOX a mayor severidad y de forma muy destacable en la RDP. Estos resultados confirman los estudios previos del grupo investigador al que pertenecemos, en relación al estrés oxidativo en la RD. Probablemente el proceso inducido por RL más investigado es la peroxidación lipídica, como en nuestro trabajo. En éste, los ácidos grasos insaturados reaccionan (en cadena) con el  $O_2$  molecular y se forman hidroperóxidos, los cuales son degradados a una variedad de productos como, dienos conjugados, alcanos, aldehídos e isoprostanos, entre otros, los cuales pueden ser cuantificados por diferentes métodos siendo el más utilizado la cuantificación de MDA/TBARS como hemos explicado anteriormente.

Sin lugar a dudas, lo primero que debemos garantizar para disminuir el estrés oxidativo que se asocia con la DM es un óptimo control metabólico, que en general, tendrá como efecto una disminución de los EROx y una repercusión positiva sobre la salud en general. Mucho se ha hablado de la utilidad de la terapia antioxidante para prevenir o disminuir los efectos de la hiperglucemia crónica y del estrés oxidativo sobre los tejidos y órganos, de hecho se ha incluso demostrado que la suplementación con antioxidantes a dosis moderadas disminuye en un 31 % el riesgo de padecer cánceres y en un 37 % el riesgo de fallecimiento en los hombres que los habían consumido (310).

El primer estudio clínico que demostró una conexión posible entre la ingesta de antioxidantes y una enfermedad ocular, la DMAE, se publicó en 1988 por Goldberg *et al.* (311) y demostraba que los pacientes que consumían diariamente y de forma constante frutas y vegetales, que eran fuentes de beta caroteno (precursor de la vitamina A), tenían una protección significativa frente al curso de la DMAE con respecto a aquéllos que consumían menores cantidades de estos nutrientes. Desde ese momento se

ha considerado seriamente la base nutricional de diversas patologías, entre ellas la RD.

Con el fin de prevenir o limitar la progresión de la RD, se han utilizado algunos micronutrientes como la vitamina C, vitamina E, y magnesio cuyos beneficios se explican por su capacidad de interferir con los mecanismos fisiopatológicos de estrés oxidativo. Se ha demostrado que las vitaminas C y E son capaces de inhibir la producción de VEGF en modelos animales (312, 313) y la sobreexpresión de la molécula ICAM-1, que incrementa la adhesión de monocitos a las células endoteliales vasculares, estimulada por los AGEs (314). Además se ha observado que la vitamina C es capaz de disminuir la activación de la PKC, restaurar la producción de NO y mejorar la dilatación vascular (315). Por otra parte, el magnesio actúa como un antagonista fisiológico del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) cuyo aumento de concentración intracelular en forma de  $\text{Ca}^{2+}$  libre altera las acciones de la insulina sobre la captación de glucosa empeorando la hiperglucemia (316).

También se ha demostrado que la administración de ácido  $\alpha$ -lipoico a ratas diabéticas inhibe parámetros de estrés oxidativo en nervios, riñones, nervios y retina (317), la activación inducida por la DM de la proteína H-Ras, el aumento de VEGF, la leucostasis (318, 319) y la apoptosis de células capilares retinianas (320). Su administración en pacientes diabéticos mostró una mejora ostensible de la neuropatía diabética y una elevación de las defensas antioxidantes (321), efecto este último que también se ha constatado con el uso de ácidos grasos omega-3 (322).

Los ácidos grasos omega-3 son AGPI que se encuentran en alta proporción en determinados alimentos, principalmente aquéllos de origen marino incluidos en la dieta Mediterránea. El primer trabajo en lo que respecta al estudio de AGPI en la RD se publicó en 1980, en el cual se compararon dos grupos de pacientes diabéticos con mal control glucémico seguidos durante 6 años; uno de ellos llevó a cabo una dieta basada en grasas saturadas y el otro en AGPI, particularmente rica en ácido linolénico, observándose en éste último una menor incidencia y progresión de microangiopatía retiniana (323). Tomando como referencia este trabajo, Howard-Williams, J *et al.* (324) realizaron un estudio en 149 pacientes diabéticos observando que aquéllos que siguieron una dieta basada en AGPI tuvieron menor frecuencia de RD, y aunque sus resultados no alcanzaron suficiente significación estadística parecía que se había encontrado un nuevo complemento nutricional que también interfería en la fisiopatogenia de esta temible complicación.

Actualmente sabemos que los AGPI de cadena larga omega-3 y principalmente, el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), una vez ingeridos se incorporan a los fosfolípidos de las membranas celulares desempeñando un papel importante en la integridad estructural y funcional de la retina (325). Desde éstas pueden ser liberados por enzimas lipooxigenasas y COXs, originando productos con potentes propiedades citoprotectoras y especialmente anti-inflamatorias vía la generación de agentes como las resolvinas, o a través del bloqueo de sustancias pro-inflamatorias como IL-6 y TNF, supresión de la expresión de ICAM-1 y *vascular cell adhesion molecule* (VCAM) (326, 327), y neutralización de factores angiogénicos (328, 329), cuyos niveles se hayan aumentados en plasma y humor vítreo en la RD. Por tanto, alteraciones en los niveles y metabolismo de los AGPI pueden desencadenar el inicio y progresión de la RD (330), y ante ello, dietas ricas en EPA y DHA deberían disminuir este riesgo.

Todas estas evidencias sugieren que los factores de nutrición pueden jugar un papel importante en esta patología, aunque los resultados de ensayos clínicos que han intentado relacionar estos micronutrientes a la RD son limitados y contradictorios (331).

En base a nuestros resultados, parece tener sentido la utilización de suplementos antioxidantes, de hecho el estudio del que se deriva este proyecto de tesis doctoral tiene como objetivo evaluar los efectos de la suplementación oral con una formulación concreta de micronutrientes (Nutrof Omega<sup>®</sup>) sobre la progresión de la RD. Este complemento alimenticio contiene concretamente DHA, glutatión, hidroxitirosol (polifenol de la oliva), vitaminas C, E, y del grupo B, oligoelementos esenciales (zinc, manganeso, selenio y cobre) y sustancias como la luteína y zeaxantina presentes en el pigmento macular de la retina. No obstante y aunque existen múltiples aportaciones en la literatura científica publicadas que van en esta dirección (332), hasta ahora poco acerca de este tema puede considerarse evidencia científica definitiva. Pero sí que está comprobado que no existe mejor terapia antioxidante que el establecimiento y seguimiento de un estilo de vida saludable, el cual incluye una dieta sana, la cual debe irremisiblemente contener carbohidratos complejos, proteínas de alto valor biológico, grasas beneficiosas y vino, que contiene diversas sustancias antioxidantes como, compuestos flavonoides y fenólicos.

Pensamos que estos resultados tienen especial importancia ya que podríamos incorporar el análisis de los niveles de MDA/TBARS y AOX a los protocolos de seguimiento y

monitorización de los diabéticos como resulta normal con la glucemia o HbA1c, y en base a ellos podríamos valorar las ventajas de aconsejar hábitos de vida e incluso suplementar a los pacientes con antioxidantes para equilibrar la balanza hacia el detrimento de los factores pro-oxidantes.

### **3. APLICABILIDAD BIOMÉDICA**

---

En España, la DM2 afecta al 4% de la población, lo que nos da una cifra en términos absolutos de 1.600.000 diabéticos aproximadamente (incluyendo los diagnosticados y no diagnosticados). Dado que la RD afecta al 15, 70 y 90% de los pacientes con 10, 15 y 30 años de evolución de DM2 respectivamente (41), nos podemos hacer una idea de su importante repercusión en la población general. En términos de ceguera legal, se manejan cifras entre el 0,5% y 2,4% afectándose principalmente aquellas personas en edad laboral (46), por lo que no podemos obviar este importante problema médico y social.

Todavía en la actualidad no existe un tratamiento plenamente satisfactorio para la RD y EMD y en muchos casos avanzados la terapia láser, anti-VEGF y la cirugía no ayudan a la recuperación visual funcional aceptable, por lo que la situación ideal es la de evitar el desarrollo de esta importante complicación microangiopática controlando y actuando sobre los factores de riesgo endógenos y exógenos.

A falta de su validación sugerimos esta posible calculadora de riesgo de desarrollo de RD en pacientes con DM2 como método de orientativo para los profesionales de la salud y pacientes. Su realización en la práctica clínica diaria puede ser útil para el facultativo sanitario ya que dependiendo del riesgo de desarrollo de RD podemos establecer la frecuencia óptima de seguimiento. Para los pacientes puede ser de utilidad para que adquieran mayor conciencia de enfermedad y sepan en que aspectos deben tener cuidados más exigentes.

CALCULADORA DE RIESGO DE DESARROLLO DE RD		
<b>TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA DM2</b>	> 5 años=1 Punto >10 años=2 Puntos	
<b>AP DE HTA</b>	Si=1 Punto	
<b>DIETA BAJA EN CARBOHIDRATOS</b>	No= 1 Punto	
<b>REALIZACIÓN DE EJERCICIO FÍSICO MODERADO</b>	No= 1 Punto	
<b>TABAQUISMO ACTUAL</b>	Si= 1 Punto	
<b>ALCOHOLISMO ACTUAL</b>	>2 vasos de vino al día= 1 Punto	
<b>ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA</b>	<9=1 Punto	
<b>HbA1c (%)</b>	>6,5%=1 Punto	
<b>MDA/TBARS (µmol/L)</b>	>2,5=1 Punto	
<b>AOX (µmol/L)</b>	<2=1 Punto	

Figura 39. Sugerencia de calculadora de riesgo de desarrollo de RD en pacientes con DM2

Proponemos que una puntuación mayor a 5 se asociaría a un riesgo moderado de RD, y una puntuación mayor de 10 a un riesgo elevado que requeriría un seguimiento más frecuente de estos pacientes y la necesidad de remitirlos a talleres educativos para tomar conciencia de la enfermedad y controlar personalmente aquellos factores modificables que no requieran una intervención médica, como son la nutrición, el ejercicio físico, el abandono de hábitos tóxicos perjudiciales y el control de peso.

Para realizar una calculadora de riesgo de progresión debemos continuar ampliando este estudio debido a que la muestra de pacientes del GDM2+RD no tuvo un tamaño suficiente para encontrar resultados significativos exceptuando los elevados niveles de la ya conocida HbA1c y los parámetros de estrés oxidativos en los que debemos continuar investigando.

#### **4. COMENTARIOS SOBRE EL TRABAJO EXPUESTO, CONSIDERACIONES FINALES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN SOBRE RD**

---

El conocimiento científico actual de la etiología, patogenia y epidemiología de la DM aún está incompleto, y por tanto no existe tratamiento definitivo para las manifestaciones vítreo-retinianas de la enfermedad (333).

La hipótesis determinista que pretendía explicar la DM en base al genotipo, obvió durante muchos años la influencia de los datos demográficos, antropométricos, sociales,

## DISCUSIÓN

económicos y del estilo de vida (334). Actualmente sabemos que el riesgo genético es necesario, pero no suficiente para desarrollar la DM, y tampoco la RD (2). La epidemiología de la diabetes es una materia relativamente reciente, ya que la primera reunión sobre el tema se realizó en 1978, y fue la base para crear en USA el conocido *National Diabetes Data Group* que en 1979 estandarizó los criterios de clasificación para DM1 y DM2 (3).

Cada vez más las investigaciones se centran en los factores de riesgo relacionados con el individuo, sus antecedentes personales y familiares y su relación con el medio ambiente (335).

En la década de los 60 del siglo pasado, la RD se había oficializado como la principal causa de ceguera y discapacidad visual en todo el mundo, y la isquemia retiniana el primer objetivo a tratar. En nuestro país, la llegada del LASER de argón a la práctica oftalmológica y la utilización de la fotocoagulación para tratar la RDP en 1959, fue ganando adeptos, no sin estar envuelto en una fuerte polémica. Pocos estudios sobre la fotocoagulación permitían por aquel entonces incorporar cualquiera de los principios básicos de los ensayos clínicos controlados, ya que éstos se realizaban con muestras de pacientes relativamente bajas. No hubo evidencias suficientes del valor real del procedimiento, hasta que en 1971 se lleva a cabo en USA un ensayo clínico intervencionista aleatorizado y controlado, en más de 1.700 pacientes reclutados en 15 centros, el Diabetes Retinopathy Study (DRS), del National Eye Institute (*NEI: ClinicalTrials.gov Identifier:NCT00000160*) para determinar si la fotocoagulación ayudaba a prevenir la pérdida visual grave en el curso de la RDP, y analizar si existían diferencias en eficacia y seguridad entre la fotocoagulación con LASER argón vs LASER xenón. Diferentes tipos de láser han sido utilizados desde entonces en el tratamiento de la RD y EMD, como el de argón, kriptón, el dye-LASER (o de colorante), el diodo y el de estado sólido, con longitudes de onda que oscilan entre los 488 y los 810 nanómetros. Bien es cierto que la fotocoagulación con láser ha demostrado ser útil en el tratamiento de la RD y EMD, gracias a los primeros resultados del ETDRS, que demostraron el valor de la fotocoagulación con láser (focal o en rejilla), en pacientes con RD y/o EMCS, reduciendo el riesgo de pérdida visual moderada en un 50%. Los diversos estudios consecutivos y las normas de utilización incluidas en las guías de práctica clínica han sido fundamentales para preservar la visión de los diabéticos (56, 336, 337).

Como hemos dicho, la isquemia retiniana sigue siendo el principal “objetivo” a tratar. No obstante, esto no hubiera sido posible sin la ayuda del examen mediante AGF, o verde de indocianina (AVI), para identificar lesiones tratables y áreas de fuga, y para determinar la etiología dominante de la RD y/o EMD. Pero, la estrella de la exploración oftalmológica para las patologías del segmento posterior ha sido y aún lo es, la OCT. Con este instrumento hemos convertido la visión oftalmoscópica del fondo de ojo en una visión tomográfica que permite apreciar cortes transversales minuciosos de las capas de la retina y coroides con una precisión que cada vez más alcanza la excelencia. Estamos por primera vez viendo la retina “in vivo” como una muestra histológica similar a la que en su día la mostraron los padres de la anatomía e histología de los siglos XIX y XX, como Langerhans, Von Kölliker, Purkinje, Henle, Bowmann, Duve, del Rio Hortega, Ramón y Cajal, Golgi, Ruska, Palade y Achúcarro, entre otros. La OCT ayuda a localizar, cuantificar objetivamente y documentar las áreas de adelgazamiento o engrosamiento retiniano (251).

Sin embargo, el gran descubrimiento para el tratamiento de las enfermedades retinianas ha sido el promotor de angiogénesis y NV, el VEGF. Aunque la función del VEGF como factor trófico y proliferativo del endotelio vascular era bien conocido por la comunidad científica, sólo recientemente, y gracias a la utilización terapéutica de fármacos anti-VEGF, se le han reconocido funciones reguladoras de la HTA y lesión glomerular, entre otras. La terapia anti-VEGF se usa comúnmente en el tratamiento de tumores sólidos. La *Federal Drug Administration* (FDA) estadounidense y la *European Medicines Agency* (EMA) aprobaron para uso clínico una serie de fármacos anti-VEGF entre los que se incluyen pequeñas moléculas inhibidoras de tirosina quinasa (TKI) como axitinib, lapatinib, pazopanib, sunitinib, y sorafenib (que actúan frente a los tres receptores de VEGF) y de anticuerpos monoclonales como el bevacizumab (anti-VEGF-A), ranibizumab o pegaptanib sódico, estos últimos indicados para el tratamiento de retinopatías. Por ello, en un momento en el que el desarrollo farmacéutico está completamente dirigido a la investigación anti-angiogénica, cualquier otro tipo de opción terapéutica innovadora debe ser bienvenida. De hecho se han producido muchos ensayos clínicos en los últimos años que concluirán próximamente y que depararán nuevas expectativas para los pacientes con RD con o sin EMD. Aunque muchos de ellos han sido dirigidos al tratamiento de la DMAE, nuestra experiencia se inclina a que algunos se aplicarán, más pronto o más tarde, también al tratamiento de la NV corio-

retiniana en el curso de la RD y EMD, como ha ocurrido con el actual ranibizumab (Lucentis<sup>®</sup>, Genentech, South San Francisco, California, USA).

Dadas las limitaciones y efectos secundarios de los tratamientos actuales para la RD, los investigadores están dirigiendo sus esfuerzos a entender los mecanismos moleculares que contribuyen a las manifestaciones vitreoretinianas de la DM, sobre todo hacia los cambios microvasculares. El objetivo es desarrollar una estrategia farmacológica más efectiva, con otras vías de administración menos invasivas, y con administraciones menos frecuentes, frente a las opciones actuales. Por eso queremos destacar los siguientes fármacos, algunos de los cuales se introducirán próximamente en la práctica oftalmológica:

- **FOVISTA** (*Ophthotech Co; study start date: May 2014; estimated primary completion date: July 2016*), es un aptámero pegilado para administración intravítrea que actúa como antifactor de crecimiento derivado de plaquetas (anti-PDGF).
- **KH-902** (*Chengdu Kanghong Biotech Co.,Ltd. China + Univ. of Wisconsin, Madison USA; study start date: Sept 2011, estimated study completion date: March 2014*), *human recombinant VEGF receptor-Fc fusion protein*. Aprobado para uso en China para administración intravítrea como **CONBERCEPT<sup>®</sup>** para DMAE en Diciembre de 2014.
- **X-82** (*Xcovery Vision, LLC + Tyrogenex; study start date: Feb 2015; estimated completion date: Nov 2016*), es un inhibidor en administración oral de los receptores de VEGF y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).
- **ESCUALAMINA** (*Ohr Pharmaceutical Inc.; study start date: Nov 2012; estimated completion date: Dec 2014*), es el lactato de escualamina, aminosterol inhibidor en administración tópica de la angiogénesis inducida por VEGF, PDGF o bFGF.
- **PAN-90806** (*PanOptica Inc; study start date: Feb 2014, estimated completion date: Dec 2015*), es un anti-VEGF para administración tópica. Se está ensayando también para la RD.
- **RO5490249** (*Hoffmann-La Roche; study start date: Sept/2014, estimated completion Date: Oct/2018*). Lampalizumab, es un inhibidor de la vía alternativa del complemento.

No obstante, como hemos comentado anteriormente, también se están estudiando en la actualidad otros agentes farmacológicos, principalmente los corticosteroides y agentes que están implicados en las vías bioquímicas implicadas en la DM, (activación de vías de polirol, DAG, la PKC, activación de la vía de estimulación celular estrés oxidativo, y cambios en la estructura y función de macromoléculas a través de la formación de AGEs) (338, 339).

Además, y teniendo en cuenta la participación de los procesos inflamatorios crónicos de leve entidad en la patogénesis de la RD, la atención se centra de forma singular en **agentes farmacológicos con efecto anti-inflamatorio**. La inhibición activa y específica de vías inflamatorias podría ser una opción de tratamiento atractiva para RD en el futuro. Se han ensayado dispositivos de liberación lenta de introducción intravítrea, y otras vías de administración de los fármacos específicos, tanto a nivel epiescleral como las lentes de contacto que liberan los fármacos desde la superficie ocular. Ya conocemos los efectos de la inyección intravítrea de corticoides, y por eso no lo vamos a incluir en estas consideraciones finales. Sin embargo, los anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo de fármacos incluyendo la aspirina y el salicilato que ejercen actividad anti-inflamatoria mediante la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) mediada por la formación de eicosanoides. El Estudio ETDRS y el *Dipyridamole Aspirin Microangiopathy of Diabetes Study* abordó el tratamiento precoz con Aspirina® en el tratamiento de la RD. Demostraron que aunque el tratamiento de los pacientes con RD avanzada con dosis baja de aspirina no tenía beneficio, se minimizaba el desarrollo de microaneurismas en pacientes con estadio precoz de RD cuando son tratados con una dosis de aspirina 900 mg/día (340). Un ensayo clínico de inhibidores específicos de la COX-2 ha resultado desalentador dado que los inhibidores de la COX-2 sistémicos aumentan la incidencia de ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares (341). Sin embargo, en los estudios preclínicos se demostró la administración tópica de la COX-2 inhibidor para reducir los signos de RD similar a su aplicación sistemática sin efectos secundarios, y por lo tanto sería interesante dar una nueva oportunidad e investigar sus beneficios terapéuticos en ensayos clínicos futuros.

Muy diversos estudios observacionales e intervencionistas sobre **el estrés oxidativo y los suplementos micronutricionales** han sido desarrollados en los últimos años, y muchos de ellos con resultados contradictorios. El conocimiento de las vías de señalización mediadas por EROx ha llevado a considerar una nueva etapa en la investigación de estrés oxidativo para la RD. Como un mediador clave en la

inflamación, el estrés oxidativo sirve como un importante objetivo para futuras terapias anti-inflamatorias. De hecho, en ratas diabéticas, los suplementos de antioxidantes con vitaminas C y E atenúan el desarrollo de capilares acelulares y disminuyen el número de pericitos “fantasmas”.

Además de los *Age-Related Eye Disease Study-Results* (AREDS) (342, 343), los diez estudios poblacionales más relevantes sobre la influencia de la nutrición y la suplementación antioxidante y con AGPI omega 3 en la RD son:

1. El **Eye Disease Case-Control Study Group (EDCC)** (344).
2. El **Alpha Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group (ATBC)** (345, 346).
3. El **Beaver Dam Eye Study** (347).
4. El estudio francés sobre las **Pathologies Oculaires Liées à l'Age (POLA)** (348).
5. El estudio coordinado por Mares-Perlman denominado **National Health and Nutrition Examination Survey (NAHNES)** (349).
6. El **Veterans LAST study (Lutein Antioxidant Supplementation Trial)** (304)
7. El **Rotterdam Study** (350).
8. El **Age-related Eye Disease study (CAREDS): Ancillary study of the Women's Health Initiative** (351).
9. **US Twins study** liderado por Seddon (352).
10. El australiano **Blue Mountains Study** (353)

Además se ha visto en modelos experimentales que bloqueando la actividad de la NOX inducida por la hiperglucemia, se evitan fugas vasculares y la NV patológica. Estos estudios también revelan que el **tratamiento con estatinas** bloquea eficazmente la regulación positiva de la actividad NOX en RD, lo que sugiere que el beneficio del tratamiento con estatinas es al menos en parte debido a su actividad en el bloqueo de NOX (354).

Los ensayos aleatorizados independientes, FIELD (79) y ACCORD (172) demostraron que el tratamiento oral con fenofibrato retrasaba la progresión de la RD en adultos con DM2.

El fenofibrato es un potente inhibidor del VEGF vía VEGFR2 y además inhibidor de PEDF. Como PPAR $\alpha$  agonista de los TG y del HDL-Col que modula NF- $\kappa$ B, NOS, AMP-kinasa y la vía de señalización Wnt. En un ensayo clínico (*Univ. of Padova. start date: Jan 2012, estimated completion date: June 2015*), la hipótesis es que el fenofibrato puede elevar los niveles circulantes de PEDF comparado con el placebo.

Es muy interesante también el SRA. Esta vía podría ser un objetivo prometedor para el tratamiento de la RD, ya que está implicado tanto en la DM como en la lesión retiniana inducida por la HTA, habiendo demostrado que también se interrelaciona con otras vías, como el estrés oxidativo y los AGEs. **El bloqueo específico del SRA** con el bloqueador de la angiotensina-1 (AT1R) (losartán, candesartán) y el IECA (enalapril) se ha demostrado eficaz para prevenir el estrés oxidativo, la inflamación y el daño vascular en modelos animales diabéticos, así como la reducción del riesgo y la progresión de la RD (355). No obstante se necesitan ensayos adicionales para evaluar completamente el efecto beneficioso del bloqueo del SRA antes de trasladar los resultados a la clínica.

Además de los bloqueadores de inflamación general, se han realizado estudios para determinar si la **inhibición de moléculas inflamatorias específicas**, citoquinas y quimioquinas, puede ser útil en el tratamiento de la RD. Implicadas en muchas reacciones inflamatorias están las citoquinas como la IL-6 y el TNF $\alpha$ . Ambas podrían ser objetivos interesantes para investigación en RD. De hecho, el etanercept (Enbrel<sup>®</sup>) es una proteína de fusión recombinante que tiene propiedades anti-TNF y está aprobado por la FDA para el tratamiento de la psoriasis. Una serie pequeña de pacientes con EMD refractario fueron tratados con etanercept intravítreo, pero no se apreció mejoría significativa de la MAVC (356). También el infliximab (Remicade<sup>®</sup>) es otro antagonista TNF aprobado por la FDA para tratar la enfermedad de Crohn. Estudios del tratamiento sistémico de Infliximab para el EMD han llevado a un ensayo clínico en el que se utiliza la inyección intravítrea como vía de administración (357).

Pese a todo ello, en este momento, la prevención primaria con el control exhaustivo de la glucemia, de la PA y la terapia frente a la dislipemia, modificando las pautas de vida a nivel nutricional, ejercicio activo y ausencia de hábitos tóxicos, junto al tratamiento médico quirúrgico y el láser, siguen siendo las opciones más realistas para el tratamiento de la RD (358).

Entre las nuevas estrategias terapéuticas debe introducirse como prioritaria cualquier investigación que conduzca a lograr una **reducción en la periodicidad de las inyecciones intravítreas y a la garantía del cumplimiento de las visitas, de la**

**medicación prescrita y de las recomendaciones de auto-evaluación y auto-cuidado por parte de los pacientes (359).**

La **tele-oftalmología** es un tema que en su día revolucionó la identificación precoz y la instauración de los tratamientos en los diabéticos con y sin RD. Mediante estos sistemas se han llevado a cabo campañas de detección precoz de la RD a lo largo de toda España. Con los nuevos avances en **tecnología informática y la ingeniería de telecomunicaciones** se nos presentan unas nuevas posibilidades en este campo, como poder enviar a los pacientes mensajes mediante telefonía móvil para recordarles sus visitas, los horarios de medicación o las situaciones relevantes para el enfermo diabético (360, 361). Y también mediante telefonía móvil (smarphones) se incluyen diversos tests para autoevaluación de la agudeza visual (AV) y del fondo de ojo. Básicamente Peek es una herramienta que se acopla a la cámara de un smartphone y ofrece imágenes de alta calidad del fondo de ojo (361, 362). El dispositivo combina un oftalmoscopio tradicional con una cámara en un teléfono móvil, ofreciendo una forma portátil y económica de realizar exámenes oculares. Además también se están desarrollando dispositivos para informar de los cambios retinianos y de la AV.

No debemos olvidar la nueva era de **cirugía mínimamente invasiva para vítreo-retina** y los dispositivos quirúrgicos para mejorar las maniobras, así como los nuevos diseños para las aplicaciones del LASER (363).

Finalmente, los nuevos descubrimientos en genética, farmacogenética y epigenética, y las disciplinas OMICAS (metabolómica, proteómica, transcriptómica) permitirán diseñar **test genéticos para diagnóstico precoz** y monitorización del paciente glaucomatoso y de la terapia más adecuada. Mención especial merece el tema de la **terapia génica**. A pesar de los avances en este campo en muchas enfermedades, aún no existe una alternativa eficiente para la DM ni tampoco para la RD, aunque existen genes ligados a las distintas vías patogénicas implicadas en el proceso, como el estrés oxidativo, acumulación de los polioles, aumento de la glicación no enzimática en las células retinianas y la liberación de factores de crecimiento por las células endoteliales (364-366). En primer lugar hay que considerar que la DM es una enfermedad poligénica y que estos genes ejercen distintas influencias sobre los pacientes que la padecen, y además lo ejercen de forma diferente según las razas, edades, y la intervención de causas endógenas o exógenas. También las respuestas de los vectores virales, y el lugar específico de transfección que debía de ser a nivel ocular y no sistémico en el caso del diabético con RD. Hay que añadir la falta de una expresión

estable a largo plazo y también ausencia del control de la expresión génica. Por lo tanto, se necesitan dispositivos diferentes, abordajes distintos y maniobras fundamentalmente laboriosas y tentativamente peligrosas en el caso de la RD (367, 368).

Por otra parte, **la neuroprotección** y los mecanismos neuroprotectores endógenos y exógenos requieren un abordaje especial. La prevención de la lesión y muerte de las células retinianas y vasculares, que se enfocan sobre otros factores diferentes a la angiogénesis podrían derivar en futuros tratamientos (368). Otros posibles tratamientos neuroprotectores están en etapas menos avanzadas de desarrollo, analizando nuevas vías de señalización y nuevos factores de crecimiento que permitan bloquear el daño vascular y retiniano, tanto en etapas precoces como en RD avanzada. Y en este sentido se sabe que diversos factores interdependientes contribuyen bien de forma individual o colectiva al establecimiento del daño primario que es seguido por una lesión progresiva, que en ocasiones es incoercible. Debemos reconocer que algunos de los diabéticos pueden tener más de un factor que contribuya a la lesión retiniana, y en este caso cada factor debe ser eficazmente tratado, aumentando la supervivencia celular y preservando la visión. Los mecanismos implicados en los fenómenos de supervivencia y muerte celular incluyen la privación de factores de crecimiento neurotróficos, presencia de estrés oxidativo, y diversas acciones citotóxicas a nivel vascular. Así un grupo de la Universidad Complutense de Madrid ensaya dispositivos de liberación de factores de crecimiento y sustancias neurotróficas que protejan las células de la lesión infringida por la hiperglucemia, empleando sistemas de nanopartículas (369-372). Alternativamente, las drogas dirigidas a varios mecanismos simultáneamente pueden ser más eficientes, y por lo tanto son necesarias para comprender los procesos antiinflamatorios endógenos en RD.

Y ya con el desarrollo de los sistemas de obtención, mantenimiento y **transplante de las células madre**, cuando sean una realidad traslacional, los estudios actuales basados en la sustitución tanto de las células lesionadas por células sanas, como de los vasos sanguíneos dañados (373-375) junto con las estrategias en oftalmología regenerativa, proveerán alternativas terapéuticas al paciente diabético, en un futuro no muy lejano.

Con estas reflexiones damos por concluido este trabajo de Tesis Doctoral y siendo honestos, en este momento pensamos que nuestro trabajo no ha terminado. Llevamos varios años preparando, realizando, organizando y finalmente escribiendo este documento. Con un futuro profesional incierto en estos momentos, sería muy importante poder continuar con la investigación pre-clínica y clínica de la RD, si las

ayudas institucionales finalmente pueden llegar a este área tan dañada por la situación económica y la desidia de algunos sectores, como es la investigación biomédica. La búsqueda de factores de riesgo y de biomarcadores para monitorizar al paciente diabético en la consulta oftalmológica es un tema apasionante. Posiblemente nos podamos apoyar en los resultados actuales y en la experiencia que hemos adquirido para mejorar el diseño de nuevos trabajos y lograr resultados de excelencia en un futuro no muy lejano.

## **5. COMENTARIOS PERSONALES**

---

Actualmente, en las consultas de oftalmología destacan entre las patologías más frecuentes las cataratas, la DMAE y la RD. Estas dos últimas suponen una importante carga asistencial debido al seguimiento estricto que requieren. Durante los 4 años que llevo ejerciendo la especialidad de oftalmología, he podido observar como la mayor parte de pacientes con DM2 no tienen plena conciencia sobre su enfermedad. A pesar de estar en seguimiento con controles exhaustivos por sus médicos de atención primaria o endocrinólogos, se puede comprobar una carencia de conocimiento y educación en lo que respecta a la DM. Así, por ejemplo, cuando les solicitaba información tan básica para un profesional sanitario y tan importante para el control evolutivo de su enfermedad como es el valor de la HbA1c, la mayoría me contestaban: “El azúcar lo llevo bien, todas las mañanas me sale sobre 100-110”. Cuando les respondía que esa no era la información que les estaba solicitando, sorprendía el gran desconocimiento general sobre el parámetro de HbA1c. Es más, cuando les explicaba de qué se trataba, no parecían darle más importancia que la glucemia digital a pesar de mi insistencia.

De la misma forma, llamaba la atención el hecho de que cuando les preguntabas sobre sus hábitos dietéticos y sobre la realización de ejercicio físico, un gran porcentaje estaban satisfechos con sus costumbres y pensaban que llevaban una vida saludable, y a pesar de que objetivamente no se podía comprobar la veracidad de los datos, las características antropométricas no coincidían con la información aportada por el paciente. Desde mi punto de vista, merecía la pena invertir un poco de tiempo en cada uno de ellos para intentar hacerles ver que la DM2 es una enfermedad indolente pero crónica y progresiva que va causando complicaciones de importante repercusión para

nuestra salud. Insistía en que las acciones terapéuticas llevadas a cabo no serían exitosas sin un buen control metabólico, y decirles que se podían quedar ciegos no parecía importarle a muchos cuando los veías en la sala de espera o en la cafetería del hospital almorzando bocadillos con alto contenido en hidratos de carbono y grasa, e incluso bollería industrial.

Desde mi punto de vista existe una falta de educación poblacional sobre la RD, y deberían insistirse en campañas de educación sobre esta enfermedad desde la infancia, ya que además, cada vez podemos ver como en nuestra sociedad la obesidad ya no es sólo un problema en la población adulta, sino cada vez más en la población infantil, y como hemos argumentado a lo largo de este estudio, la obesidad es un factor etiopatogénico y de riesgo de DM y RD. Merecido reconocimiento hay que darle a los “talleres de DM” que se están ofertando en los centros de atención primaria a los diabéticos, tanto a los que están al límite de padecer esta enfermedad como a los recién diagnosticados y “veteranos”. En ellos se explican hábitos de vida saludables y cuales son las terribles consecuencias de un mal control metabólico como la ceguera, la nefropatía, el pie diabético, entre otras.

Por todo ello me interesé mucho por el tema de la RD y la necesidad de investigar y continuar aportando información para prevenir la incidencia y el curso de esta patología.



## **CONCLUSIONES**



1. En nuestro estudio destacan como principales factores de riesgo para el desarrollo o progresión de la retinopatía diabética los siguientes: el tiempo de evolución de la diabetes, la hipertensión arterial, la inactividad física, los hábitos tabáquico y alcohólico, el escaso cumplimiento de la dieta Mediterránea, y el aumento de hemoglobina glicosilada y parámetros relacionados el estrés oxidativo.
2. En la población diabética estudiada el riesgo de retinopatía aumenta en 1,1 veces en aquellos que padecen diabetes por más de 5 años, pero cuando la duración es mayor de 10 años el riesgo se multiplica por 40.
3. Cuanto mayor es el cumplimiento de una nutrición basada en la dieta Mediterránea, menor es el riesgo de padecer la retinopatía o de que tenga lugar la progresión de la misma.
4. Observamos que a mayor severidad en el grado de retinopatía diabética, peor es la agudeza visual y mayor es la frecuencia de edema macular diabético con el consecuente aumento del espesor macular central. La exploración mediante tomografía de coherencia óptica es fundamental para prevenir la ceguera diabética.
5. El control deficiente de la hiperglucemia, cuantificado mediante la hemoglobina glicosilada, se refleja en el examen oftalmológico de los pacientes diabéticos, observándose que valores superiores a 6,5% aumentan 4 veces el riesgo de retinopatía diabética. En nuestra muestra se objetivó un empeoramiento en el grado de retinopatía cuanto mayor eran los valores de este parámetro.
6. El estrés oxidativo, determinado por el aumento de los marcadores hemáticos pro-oxidantes y la disminución de las defensas antioxidantes, está relacionado en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con el desarrollo y progresión de la retinopatía. La concentración sanguínea de malonildialdehído y la actividad antioxidante total se erigen como potenciales biomarcadores del riesgo de retinopatía y podrían incorporarse a la práctica clínica para pautar, en base a ellos posibles cambios alimentarios o suplementos micronutricionales.
7. El análisis integral de los datos demográficos, características del estilo de vida, examen oftalmológico y hematología de la población de diabéticos tipo 2 nos ha

## CONCLUSIONES

aportado una serie de cifras y datos circunstanciales que nos han permitido diseñar una calculadora de riesgo para la retinopatía, que consideramos útil para los oftalmólogos y aplicable en medicina de atención primaria, para ayudar a identificar a los diabéticos que precisen optimizar las medidas preventivas y terapéuticas para prevenir la pérdida de la visión.

## **BIBLIOGRAFÍA**



**REFERENCIAS**

1. Roman SH, Harris MI. Management of diabetes mellitus from a public health perspective. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 1997;26(3):443-74.
2. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care*. 1997;20(7):1183-97.
3. National-Diabetes-Data-Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes*. 1979;28(12):1039-57.
4. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2014;37 Suppl 1:S81-90.
5. The Diabetes Control Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *The New England journal of medicine*. 1993;329(14):977-86.
6. Murinson BB. Stiff-person syndrome. *The neurologist*. 2004;10(3):131-7.
7. Levy LM, Dalakas MC, Floeter MK. The stiff-person syndrome: an autoimmune disorder affecting neurotransmission of gamma-aminobutyric acid. *Annals of internal medicine*. 1999;131(7):522-30.
8. Manto M, Honnorat J, Hampe CS, Guerra-Narbona R, Lopez-Ramos JC, Delgado-Garcia JM, et al. Disease-specific monoclonal antibodies targeting glutamate decarboxylase impair GABAergic neurotransmission and affect motor learning and behavioral functions. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2015;9:78.
9. Barrett JC, Clayton DG, Concannon P, Akolkar B, Cooper JD, Erlich HA, et al. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat Genet*. 2009;41(6):703-7.
10. Bodansky HJ, Staines A, Stephenson C, Haigh D, Cartwright R. Evidence for an environmental effect in the aetiology of insulin dependent diabetes in a transmigratory population. *British medical journal*. 1992;304(6833):1020-2.
11. Davis JA. Insulin dependent diabetes mellitus in twins. Differences between monozygotic and dizygotic twins may need to be taken into account. *British medical journal*. 1996;312(7026):313-4.

## BIBLIOGRAFÍA

12. Kyvik KO, Green A, Beck-Nielsen H. Concordance rates of insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danisg twins. *British medical journal*. 1995;311(7010):913-7.
13. Banatvala JE, Bryant J, Schernthaner G, Borkenstein M, Schober E, Brown D, et al. Coxsackie B, mumps, rubella, and cytomegalovirus specific IgM responses in patients with juvenile-onset insulin-dependent diabetes mellitus in Britain, Austria, and Australia. *Lancet*. 1985;1(8443):1409-12.
14. Coppieters KT, Boettler T, von Herrath M. Virus infections in type 1 diabetes. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012;2(1):a007682.
15. Sacks DB, McDonald JM. The pathogenesis of type II diabetes mellitus. A polygenic disease. *American journal of clinical pathology*. 1996;105(2):149-56.
16. DIAMOND Project Group. Incidence and trends of childhood type 1 diabetes worldwide 1990-1999. *Diabet Med*. 2006;23(8):857-66.
17. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G, Eurodiab Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet*. 2009;373(9680):2027-33.
18. SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics*. 2006;118(4):1510-8.
19. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G, Group ES. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet*. 2009;373(9680):2027-33.
20. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas. Sixth Edition ed2013*.
21. Ministerio de sanidad servicios sociales e igualdad. *Estrategia en diabetes del Sistema Nacional de Salud. Actualización. Centro de publicaciones*. 2012.
22. *Encuesta Europea de Salud en España 2009 (EES09)*.
23. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiu E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia*. 2012;55(1):88-93.
24. Baena-Diez JM, Felix FJ, Grau M, Cabrera de Leon A, Sanz H, Leal M, et al. Risk factor treatment and control in relation to coronary disease risk in the Spanish population of the DARIOS Study. *Revista espanola de cardiologia*. 2011;64(9):766-73.

25. Goday A, Delgado E, Díaz-Cardorniga F, De-Pablos P, Vázquez J, Soto E. Epidemiología de la diabetes tipo 2 en España. *Endocrinol Nutr.* 2002;49:113-26.
26. Vazquez JA, Gaztambide S, Soto-Pedre E. 10-year prospective study on the incidence and risk factors for type 2 diabetes mellitus. *Medicina clinica.* 2000;115(14):534-9.
27. Mata-Cases M, Fernandez-Bertolin E, Cos-Claramunt X, Garcia-Duran M, Mateu-Gelabert T, Pareja-Rossell C, et al. Incidence of type 2 diabetes and its diagnosis process in the decade 1991-2000 in a primary health care centre. *Gaceta sanitaria / SESPAS.* 2006;20(2):124-31.
28. Valdes S, Botas P, Delgado E, Alvarez F, Cadorniga FD. Population-based incidence of type 2 diabetes in northern Spain: the Asturias Study. *Diabetes care.* 2007;30(9):2258-63.
29. Soriguer F, Rojo-Martinez G, Almaraz MC, Esteva I, Ruiz de Adana MS, Morcillo S, et al. Incidence of type 2 diabetes in southern Spain (Pizarra Study). *European journal of clinical investigation.* 2008;38(2):126-33.
30. Martin Martinez MA, Carmona Alferes R, Prado Galbarro FJ, Sarria Santamera A. Incidence and prevalence of diabetes in an adult population of Madrid (Spain): a study using computerized medical records in primary care. *Gaceta sanitaria / SESPAS.* 2013;27(3):284-5.
31. Costa B, Hernández J, Basora T, Piñol J. Incidencia de diabetes mellitus en la población española de mayor riesgo. *Medicina clinica.* 2001;116(12).
32. World Health Organization. *Global Health Risks: Mortality and burden of disease attributable to selected major risks, 2009.* 2009.
33. Eckel RH, Kahn R, Robertson RM, Rizza RA. Preventing cardiovascular disease and diabetes: a call to action from the American Diabetes Association and the American Heart Association. *Diabetes care.* 2006;29(7):1697-9.
34. Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia.* 2001;44 Suppl 2:S14-21.
35. Esmatjes E, Vidal J. Heart pathology of extracardiac origin. XI. Cardiac repercussions of diabetes mellitus. *Revista española de cardiología.* 1998;51(8):661-70.
36. Gaede P, Lund-Andersen H, Parving HH, Pedersen O. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *The New England journal of medicine.* 2008;358(6):580-91.

## BIBLIOGRAFÍA

37. Klein R, Klein BE, Moss SE. Relation of glycemic control to diabetic microvascular complications in diabetes mellitus. *Annals of internal medicine*. 1996;124(1 Pt 2):90-6.
38. Levine LM, Brar VS, Goldstein MH, Kahana A, Katowitz WR, Law SK, et al. Section 2. Fundamentals and principles of ophthalmology 2014.
39. Kur J, Newman EA, Chan-Ling T. Cellular and physiological mechanisms underlying blood flow regulation in the retina and choroid in health and disease. *Progress in retinal and eye research*. 2012;31(5):377-406.
40. Yamagishi S, Kobayashi K, Yamamoto H. Vascular pericytes not only regulate growth, but also preserve prostacyclin-producing ability and protect against lipid peroxide-induced injury of co-cultured endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 1993;190(2):418-25.
41. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Archives of ophthalmology*. 1984;102(4):527-32.
42. Ruta L, Magliano D, Lemesurier R, Taylor H, Zimmet P, Shaw J. Prevalence of diabetic retinopathy in Type 2 diabetes in developing and developed countries. *Diabet Med*. 2013;30:387-98.
43. Zhang X, Saaddine JB, Chou CF, Cotch MF, Cheng YJ, Geiss LS, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005-2008. *JAMA*. 2010;304(6):649-56.
44. National Center for Health Statistics. National Health and Nutrition Examination Survey questionnaire (or examination protocol, or laboratory protocol) 2010.
45. Portal Web de la organización Mundial de la Salud [Internet]. 2014.
46. The Global Economic Cost of Visual Impairment [Internet]. 2010.
47. Vila L, Viguera J, Aleman R. Diabetic retinopathy and blindness in Spain: epidemiology and prevention. *Endocrinología y nutrición : organo de la Sociedad Espanola de Endocrinología y Nutricion*. 2008;55(10):459-75.
48. Organización Nacional de Ciegos (ONCE). Datos visuales y sociodemográficos de los afiliados a la ONCE; 2014. [Disponible en: <http://www.once.es/new/afiliacion/Estadisticas/index.html%5D>].

49. Fernández-Vigo J, Sanchez Macho J, Diaz Rey A, Barros J, Tome M, Bueno J. The prevalence of diabetic retinopathy in northwest Spain. An epidemiological study of diabetic retinopathy in Galicia. I. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1993;71(1):22-6.
50. Chacón-Iglesias J. Ceguera y sus causas en la población diabética. Estudio epidemiológico.: Universidad de Extremadura.; 1993.
51. Hernández-Mira G. Prevalencia de ceguera y baja visión en una población de alto riesgo: Universidad de Extremadura; 1995.
52. Goldaracena M, Escudero J, Arrondo A, Villarrubia A, Aramendia B, Iturralde R. Prevalencia de retinopatía diabética en una población diabética registrada en atención primaria. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 1998;73:263-8.
53. Vizcaíno F, Romero E, Santos E, Macarro A, Fernández-Vigo J. Estudio comparativo sobre prevalencia de ceguera entre una población diabética y una población control. *Av Diabetol*. 2000;16:241-7.
54. Romero-Aroca P, Fernandez-Alart J, Baget-Bernaldiz M, Mendez-Marin I, M. S-S. Epidemiología de la retinopatía diabética en pacientes tipo 2. Cambios observados en una población entre los años 1993 y 2005, tras los nuevos criterios diagnósticos y un mayor control de los pacientes. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 2007;82:209-18.
55. Jerneld B, Algvare P. Relationship of duration and onset of diabetes to prevalence of diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*. 1986;102(4):431-7.
56. Pareja-Ríos A, Serrano-García M, Marrero-Saavedra M, Abraldes-López V, Reyes-Rodríguez M, Cabrera-López F. Manejo de las complicaciones oculares de la diabetes. Retinopatía Diabética y Edema macular. "Guías de la práctica clínica de la SERV" 2012.
57. Klein R. The epidemiology of diabetic retinopathy: findings from the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *International ophthalmology clinics*. 1987;27(4):230-8.
58. Fullerton B, Jeitler K, Seitz M, Horvath K, Berghold A, Siebenhofer A. Intensive glucose control versus conventional glucose control for type 1 diabetes mellitus. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2014;2:CD009122.
59. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1995;44(8):968-83.

60. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. Glycosylated hemoglobin predicts the incidence and progression of diabetic retinopathy. *JAMA*. 1988;260(19):2864-71.
61. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *British medical journal*. 2000;321(7258):405-12.
62. Klein BE, Moss SE, Klein R. Is menarche associated with diabetic retinopathy? *Diabetes care*. 1990;13(10):1034-8.
63. Pescosolido N, Campagna O, Barbato A. Diabetic retinopathy and pregnancy. *International ophthalmology*. 2014;34(4):989-97.
64. Diabetes Control Complications Trial Research Group. Effect of pregnancy on microvascular complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes care*. 2000;23(8):1084-91.
65. Klein BE, Moss SE, Klein R. Effect of pregnancy on progression of diabetic retinopathy. *Diabetes care*. 1990;13(1):34-40.
66. UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *British medical journal*. 1998;317(7160):703-13.
67. Accord Study Group, Accord Eye Study Group, Chew EY, Ambrosius WT, Davis MD, Danis RP, et al. Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes. *The New England journal of medicine*. 2010;363(3):233-44.
68. Chase HP, Garg SK, Harris S, Hoops S, Jackson WE, Holmes DL. Angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment for young normotensive diabetic subjects: a two-year trial. *Annals of ophthalmology*. 1993;25(8):284-9.
69. Chaturvedi N, Sjolie AK, Stephenson JM, Abrahamian H, Keipes M, Castellarin A, et al. Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normotensive people with type 1 diabetes. The EUCLID Study Group. EURODIAB Controlled Trial of Lisinopril in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Lancet*. 1998;351(9095):28-31.
70. Sjolie AK, Klein R, Porta M, Orchard T, Fuller J, Parving HH, et al. Effect of candesartan on progression and regression of retinopathy in type 2 diabetes (DIRECT-Protect 2): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2008;372(9647):1385-93.
71. Chaturvedi N, Porta M, Klein R, Orchard T, Fuller J, Parving HH, et al. Effect of candesartan on prevention (DIRECT-Prevent 1) and progression (DIRECT-Protect 1)

of retinopathy in type 1 diabetes: randomised, placebo-controlled trials. *Lancet*. 2008;372(9647):1394-402.

72. UK Prospective Diabetes Study Group. Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 39. *British medical journal*. 1998;317(7160):713-20.

73. Klein BE, Moss SE, Klein R, Surawicz TS. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. XIII. Relationship of serum cholesterol to retinopathy and hard exudate. *Ophthalmology*. 1991;98(8):1261-5.

74. Chew EY, Klein ML, Ferris FL, 3rd, Remaley NA, Murphy RP, Chantry K, et al. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) Report 22. *Archives of ophthalmology*. 1996;114(9):1079-84.

75. Miljanovic B, Glynn RJ, Nathan DM, Manson JE, Schaumberg DA. A prospective study of serum lipids and risk of diabetic macular edema in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004;53(11):2883-92.

76. Idiculla J, Nithyanandam S, Joseph M, Mohan VA, Vasu U, Sadiq M. Serum lipids and diabetic retinopathy: A cross-sectional study. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2012;16(Suppl 2):S492-4.

77. Kostraba JN, Klein R, Dorman JS, Becker DJ, Drash AL, Maser RE, et al. The epidemiology of diabetes complications study. IV. Correlates of diabetic background and proliferative retinopathy. *American journal of epidemiology*. 1991;133(4):381-91.

78. Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE, Barton F, Aiello LM, Chew EY, et al. Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report #18. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1998;39(2):233-52.

79. Keech AC, Mitchell P, Summanen PA, O'Day J, Davis TM, Moffitt MS, et al. Effect of fenofibrate on the need for laser treatment for diabetic retinopathy (FIELD study): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;370(9600):1687-97.

80. Wright AD, Dodson PM. Medical management of diabetic retinopathy: fenofibrate and ACCORD Eye studies. *Eye*. 2011;25(7):843-9.

81. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Clustering of long-term complications in families with diabetes in the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1997;46(11):1829-39.

## BIBLIOGRAFÍA

82. Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2009;58(9):2137-47.
83. Cruickshanks KJ, Vadheim CM, Moss SE, Roth MP, Riley WJ, Maclaren NK, et al. Genetic marker associations with proliferative retinopathy in persons diagnosed with diabetes before 30 yr of age. *Diabetes*. 1992;41(7):879-85.
84. Benson WE, Brown GC, Tasman W, McNamara JA, Vander JF. Extracapsular cataract extraction with placement of a posterior chamber lens in patients with diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1993;100(5):730-8.
85. Pollack A, Dotan S, Oliver M. Progression of diabetic retinopathy after cataract extraction. *The British journal of ophthalmology*. 1991;75(9):547-51.
86. Jaffe GJ, Burton TC, Kuhn E, Prescott A, Hartz A. Progression of nonproliferative diabetic retinopathy and visual outcome after extracapsular cataract extraction and intraocular lens implantation. *American journal of ophthalmology*. 1992;114(4):448-56.
87. Haddad NM, Sun JK, Abujaber S, Schlossman DK, Silva PS. Cataract surgery and its complications in diabetic patients. *Seminars in ophthalmology*. 2014;29(5-6):329-37.
88. Gupta A, Gupta V. Diabetic maculopathy and cataract surgery. *Ophthalmology clinics of North America*. 2001;14(4):625-37.
89. Parness R, Kleinman G, Katz H, Hauser D, Bukelman A, Leiba H, et al. Diabetic retinopathy following cataract surgery. *Harefuah*. 2005;144(11):763-7, 824, 3.
90. Dowler J, Hykin PG. Cataract surgery in diabetes. *Current opinion in ophthalmology*. 2001;12(3):175-8.
91. Squirrell D, Bhola R, Bush J, Winder S, Talbot JF. A prospective, case controlled study of the natural history of diabetic retinopathy and maculopathy after uncomplicated phacoemulsification cataract surgery in patients with type 2 diabetes. *The British journal of ophthalmology*. 2002;86(5):565-71.
92. Wagner T, Knafllic D, Rauber M, Mester U. Influence of cataract surgery on the diabetic eye: a prospective study. *German journal of ophthalmology*. 1996;5(2):79-83.
93. Lara-Smalling A, Cakiner-Egilmez T. Diabetes and cataract surgery: preoperative risk factors and positive nursing interventions. *Insight*. 2014;39(2):18-20.
94. Samanta A, Kumar P, Machhua S, Rao GN, Pal A. Incidence of cystoid macular oedema in diabetic patients after phacoemulsification and free radical link to its pathogenesis. *The British journal of ophthalmology*. 2014;98(9):1266-72.

95. Cheung N, Wong TY. Obesity and eye diseases. *Survey of ophthalmology*. 2007;52(2):180-95.
96. Wang S, Wang JJ, Wong TY. Alcohol and eye diseases. *Survey of ophthalmology*. 2008;53(5):512-25.
97. Young RJ, McCulloch DK, Prescott RJ, Clarke BF. Alcohol: another risk factor for diabetic retinopathy? *British Medical Journal (Clin Res Ed)*. 1984;288(6423):1035-7.
98. Conway BN, Miller RG, Klein R, Orchard TJ. Prediction of proliferative diabetic retinopathy with hemoglobin level. *Archives of ophthalmology*. 2009;127(11):1494-9.
99. Gholamhossein Y, Behrouz H, Asghar Z. Diabetic Retinopathy Risk Factors: Plasma Erythropoietin as a Risk Factor for Proliferative Diabetic Retinopathy. *Korean J Ophthalmol*. 2014;28(5):373-8.
100. Yang JK, Liu W, Shi J, Li YB. An association between subclinical hypothyroidism and sight-threatening diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*. 2010;33(5):1018-20.
101. Paetkau ME, Boyd TA, Winship B, Grace M. Cigarette smoking and diabetic retinopathy. *Diabetes*. 1977;26(1):46-9.
102. Walker JM, Cove DH, Beevers DG, Dodson PM, Leatherdale BA, Fletcher RF, et al. Cigarette smoking, blood pressure and the control of blood glucose in the development of diabetic retinopathy. *Diabetes research*. 1985;2(4):183-6.
103. Moss SE, Klein R, Klein BE. Cigarette smoking and ten-year progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1996;103(9):1438-42.
104. Klein R, Klein BE, Davis MD. Is cigarette smoking associated with diabetic retinopathy? *American journal of epidemiology*. 1983;118(2):228-38.
105. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*. 2010;376(9735):124-36.
106. Clapés S, Torres O, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes E. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2001;20(2):93-8.
107. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, Cerulli A, Feraco A, Cedrone C, et al. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *Molecular vision*. 2011;17:1298-304.

## BIBLIOGRAFÍA

108. Kowluru RA, Chan PS. Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Experimental diabetes research*. 2007;2007:43603.
109. Stadler K. Oxidative stress in diabetes. *Advances in experimental medicine and biology*. 2012;771:272-87.
110. Zephy D, Ahmad J. Type 2 diabetes mellitus: Role of melatonin and oxidative stress. *Diabetes & metabolic syndrome*. 2014.
111. Bonnefont-Rousselot D, Beaudoux JL, Therond P, Peynet J, Legrand A, Delattre J. Diabetes mellitus, oxidative stress and advanced glycation endproducts. *Annales pharmaceutiques francaises*. 2004;62(3):147-57.
112. Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2002;5(5):561-8.
113. Sheikh-Ali M, Chehade JM, Mooradian AD. The antioxidant paradox in diabetes mellitus. *American journal of therapeutics*. 2011;18(3):266-78.
114. Al-Dallen SM, Chávez-Rodríguez T, Martínez-Sánchez G, Ferreira-Bega e, León-Fernández OS. El Equilibrio Redox en la Diabetes y sus Complicaciones. *Acta Farm Bonaerense*. 2004;23(2):231-42.
115. Kumari S, Panda S, Mangaraj M, Mandal MK, Mahapatra PC. Plasma MDA and antioxidant vitamins in diabetic retinopathy. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*. 2008;23(2):158-62.
116. Doly M, Droy-Lefaix MT, Braquet P. Oxidative stress in diabetic retina. *Exs*. 1992;62:299-307.
117. Bazan NG. Survival signaling in retinal pigment epithelial cells in response to oxidative stress: significance in retinal degenerations. *Advances in experimental medicine and biology*. 2006;572:531-40.
118. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*. 1993;49(3):481-93.
119. Céspedes Cabrera T, Sánchez Serrano D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol*. 2000;14(1):55-60.
120. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization journal*. 2012;5(1):9-19.
121. Pinazo-Duran MD, Gallego-Pinazo R, Garcia-Medina JJ, Zanon-Moreno V, Nucci C, Dolz-Marco R, et al. Oxidative stress and its downstream signaling in aging eyes. *Clinical interventions in aging*. 2014;9:637-52.

122. Carocho M, Ferreira IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2013;51:15-25.
123. Thiele R, Wagner D, Gassel M, Winnefeld K, Pleissner J, Pfeifer R. Selenium substitution in acute myocardial infarct. *Medizinische Klinik*. 1997;92 Suppl 3:26-8.
124. Therond P. Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA). *Annales pharmaceutiques francaises*. 2006;64(6):383-9.
125. Verdejo C, Marco P, Renau-Piqueras J, Pinazo-Duran MD. Lipid peroxidation in proliferative vitreoretinopathies. *Eye*. 1999;13 ( Pt 2):183-8.
126. Gupta MM, Chari S. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with diabetic retinopathy. *Indian journal of physiology and pharmacology*. 2005;49(2):187-92.
127. Kelly FJ, Mudway IS. Protein oxidation at the air-lung interface. *Amino acids*. 2003;25(3-4):375-96.
128. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free radical biology & medicine*. 1989;6(6):593-7.
129. Martin-Gallan P, Carrascosa A, Gussinye M, Dominguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free radical biology & medicine*. 2003;34(12):1563-74.
130. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813-20.
131. Barnett PA, Gonzalez RG, Chylack LT, Jr., Cheng HM. The effect of oxidation on sorbitol pathway kinetics. *Diabetes*. 1986;35(4):426-32.
132. Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, et al. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97(22):12222-6.
133. Chen YQ, Su M, Walia RR, Hao Q, Covington JW, Vaughan DE. Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in

vascular smooth muscle cells. *The Journal of biological chemistry*. 1998;273(14):8225-31.

134. Kuboki K, Jiang ZY, Takahara N, Ha SW, Igarashi M, Yamauchi T, et al. Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo : a specific vascular action of insulin. *Circulation*. 2000;101(6):676-81.

135. Williams B, Gallacher B, Patel H, Orme C. Glucose-induced protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. *Diabetes*. 1997;46(9):1497-503.

136. Ganz MB, Seftel A. Glucose-induced changes in protein kinase C and nitric oxide are prevented by vitamin E. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2000;278(1):E146-52.

137. Yung S, Chau MK, Zhang Q, Zhang CZ, Chan TM. Sulodexide decreases albuminuria and regulates matrix protein accumulation in C57BL/6 mice with streptozotocin-induced type I diabetic nephropathy. *PloS one*. 2013;8(1):e54501.

138. Ha H, Yu MR, Choi YJ, Kitamura M, Lee HB. Role of high glucose-induced nuclear factor-kappaB activation in monocyte chemoattractant protein-1 expression by mesangial cells. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2002;13(4):894-902.

139. Triana M. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc*. 2001;2(2):131-41.

140. Arden GB, Sivaprasad S. Hypoxia and oxidative stress in the causation of diabetic retinopathy. *Current diabetes reviews*. 2011;7(5):291-304.

141. Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGE) and soluble receptor for AGE (sRAGE) in vascular complications in diabetes. *Nihon rinsho Japanese journal of clinical medicine*. 2012;70 Suppl 5:243-7.

142. Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *The Journal of clinical investigation*. 1995;96(3):1395-403.

143. Kaiser N, Sasson S, Feener EP, Boukobza-Vardi N, Higashi S, Moller DE, et al. Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Diabetes*. 1993;42(1):80-9.
144. Trumpower BL. The protonmotive Q cycle. Energy transduction by coupling of proton translocation to electron transfer by the cytochrome bc1 complex. *The Journal of biological chemistry*. 1990;265(20):11409-12.
145. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000;404(6779):787-90.
146. Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, Freeman WM, Gardner TW, Jefferson LS, et al. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes*. 2006;55(9):2401-11.
147. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs--an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. *Ophthalmology*. 1991;98(5 Suppl):786-806.
148. Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 2003;110(9):1677-82.
149. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*. 2004;27(5):1047-53.
150. Al-Shabrawey M, Zhang W, McDonald D. Diabetic retinopathy: mechanism, diagnosis, prevention, and treatment. *BioMed research international*. 2015;2015:854593.
151. Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy - ocular complications of diabetes mellitus. *World journal of diabetes*. 2015;6(3):489-99.
152. Trichopoulos A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *The New England journal of medicine*. 2003;348(26):2599-608.
153. Kadish AH, Hall DA. A new method for the continuous monitoring of blood glucose by measurement of dissolved oxygen. *Clinical chemistry*. 1965;11(9):869-75.
154. Morrison B. Use of the Beckman glucose analyzer for low and high glucose values. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1972;42(1):192.

## BIBLIOGRAFÍA

155. Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clinical chemistry*. 1973;19(5):476-82.
156. Jentsch AM, Bachmann H, Furst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free radical biology & medicine*. 1996;20(2):251-6.
157. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical medicine*. 1976;15(2):212-6.
158. Grotto D, Santa Maria LD, Boeira S, Valentini J, Charao MF, Moro AM, et al. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2007;43(2):619-24.
159. Melo P, Rodrigues LG, Pinazo-Duran MD, Tavares MA. Methamphetamine and lipid peroxidation in the rat retina. *Birth defects research Part A, Clinical and molecular teratology*. 2005;73(6):455-60.
160. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ. A new method for measuring antioxidant activity. *Biochemical Society transactions*. 1993;21(2):95S.
161. Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in enzymology*. 1994;234:279-93.
162. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS medicine*. 2006;3(11):e442.
163. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*. 2010;87(1):4-14.
164. World Health Organization. *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2010*. Geneva, Switzerland: 2011.
165. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*. 1978;52:302-10.
166. Suematsu T, Matsumura T, Sato N, Miyamoto T, Ooka T, Kamada T, et al. Lipid peroxidation in alcoholic liver disease in humans. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 1981;5(3):427-30.
167. Pinazo Duran MD, Vivar-Llopis B, Sanz-Solana P, Marin J, Alonso L, Llorca-Cardenosa A, et al. Mecanismos celulares y moleculares de la retinopatía diabética. Revisión por el grupo de estudio Valencia sobre retinopatía diabética. *Annals d'oftalmologia: òrgan de les Societats d'Oftalmologia de Catalunya, Valencia i Balears*, . 2013;21(4).

168. Zanon-Moreno V, Marco-Ventura P, Lleo-Perez A, Pons-Vazquez S, Garcia-Medina JJ, Vinuesa-Silva I, et al. Oxidative stress in primary open-angle glaucoma. *Journal of glaucoma*. 2008;17(4):263-8.
169. Njolstad I, Arnesen E, Lund-Larsen PG. Sex differences in risk factors for clinical diabetes mellitus in a general population: a 12-year follow-up of the Finnmark Study. *American journal of epidemiology*. 1998;147(1):49-58.
170. Edelstein SL, Knowler WC, Bain RP, Andres R, Barrett-Connor EL, Dowse GK, et al. Predictors of progression from impaired glucose tolerance to NIDDM: an analysis of six prospective studies. *Diabetes*. 1997;46(4):701-10.
171. Moss SE, Klein R, Klein BE. Ocular factors in the incidence and progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1994;101(1):77-83.
172. Chew EY, Davis MD, Danis RP, Lovato JF, Perdue LH, Greven C, et al. The effects of medical management on the progression of diabetic retinopathy in persons with type 2 diabetes: the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) Eye Study. *Ophthalmology*. 2014;121(12):2443-51.
173. Morley JE. Diabetes and aging: epidemiologic overview. *Clinics in geriatric medicine*. 2008;24(3):395-405, v.
174. Warram JH, Sigal RJ, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS. Natural history of impaired glucose tolerance: follow-up at Joslin Clinic. *Diabet Med*. 1996;13(9 Suppl 6):S40-5.
175. Davis TM, Stratton IM, Fox CJ, Holman RR, Turner RC. U.K. Prospective Diabetes Study 22. Effect of age at diagnosis on diabetic tissue damage during the first 6 years of NIDDM. *Diabetes care*. 1997;20(9):1435-41.
176. Segal P, Treister G, Yalon M, Sandak R, Berezin M, Modan M. The prevalence of diabetic retinopathy: effect of sex, age, duration of disease and mode of therapy. *Diabetes care*. 1983;6(2):149-51.
177. Moss SE, Klein R, Klein BE. The incidence of vision loss in a diabetic population. *Ophthalmology*. 1988;95(10):1340-8.
178. Moss SE, Klein R, Klein BE. The 14-year incidence of visual loss in a diabetic population. *Ophthalmology*. 1998;105(6):998-1003.
179. Henricsson M, Nilsson A, Groop L, Heijl A, Janzon L. Prevalence of diabetic retinopathy in relation to age at onset of the diabetes, treatment, duration and glycemic control. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. 1996;74(6):523-7.

## BIBLIOGRAFÍA

180. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. X. Four-year incidence and progression of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 years or more. *Archives of ophthalmology*. 1989;107(2):244-9.
181. West KM, Ahuja MM, Bennett PH, Grab B, Grabauskas V, Mateo-de-Acosta O, et al. Interrelationships of microangiopathy, plasma glucose and other risk factors in 3583 diabetic patients: a multinational study. *Diabetologia*. 1982;22(6):412-20.
182. Stolk RP, van Schooneveld MJ, Cruickshank JK, Hughes AD, Stanton A, Lu J, et al. Retinal vascular lesions in patients of Caucasian and Asian origin with type 2 diabetes: baseline results from the ADVANCE Retinal Measurements (AdRem) study. *Diabetes care*. 2008;31(4):708-13.
183. Raymond NT, Varadhan L, Reynold DR, Bush K, Sankaranarayanan S, Bellary S, et al. Higher prevalence of retinopathy in diabetic patients of South Asian ethnicity compared with white Europeans in the community: a cross-sectional study. *Diabetes care*. 2009;32(3):410-5.
184. Ross SA, McKenna A, Mozejko S, Fick GH. Diabetic retinopathy in native and nonnative Canadians. *Experimental diabetes research*. 2007;2007:762-71.
185. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010. *Diabetes care*. 2010;33 Suppl 1:S11-61.
186. Wong TY, Klein R, Islam FM, Cotch MF, Folsom AR, Klein BE, et al. Diabetic retinopathy in a multi-ethnic cohort in the United States. *American journal of ophthalmology*. 2006;141(3):446-55.
187. Simmons D, Clover G, Hope C. Ethnic differences in diabetic retinopathy. *Diabet Med*. 2007;24(10):1093-8.
188. Cho H, Sobrin L. Genetics of diabetic retinopathy. *Current diabetes reports*. 2014;14(8):515.
189. Clustering of long-term complications in families with diabetes in the diabetes control and complications trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Diabetes*. 1997;46(11):1829-39.
190. Lee PP, Feldman ZW, Ostermann J, Brown DS, Sloan FA. Longitudinal prevalence of major eye diseases. *Archives of ophthalmology*. 2003;121(9):1303-10.
191. Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ, Turner RC, Holman RR, Manley SE, et al. UKPDS 50: risk factors for incidence and progression of retinopathy in Type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia*. 2001;44(2):156-63.

192. Klein BE, Klein R, Moss SE, Palta M. A cohort study of the relationship of diabetic retinopathy to blood pressure. *Archives of ophthalmology*. 1995;113(5):601-6.
193. Saif A, Karawya S, Abdelhamid A. Blood pressure is a risk factor for progression of diabetic retinopathy in normotensive patients with type 2 diabetes: correlation with carotid intima-media thickness. *Endocrine regulations*. 2014;48(4):189-94.
194. Do DV, Wang X, Vedula SS, Marrone M, Sleilati G, Hawkins BS, et al. Blood pressure control for diabetic retinopathy. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2015;1:CD006127.
195. Yu T, Mitchell P, Berry G, Li W, Wang JJ. Retinopathy in older persons without diabetes and its relationship to hypertension. *Archives of ophthalmology*. 1998;116(1):83-9.
196. Klein R, Klein BE, Moss SE. The relation of systemic hypertension to changes in the retinal vasculature: the Beaver Dam Eye Study. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. 1997;95:329-48; discussion 48-50.
197. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *Ophthalmology*. 1998;105(10):1801-15.
198. Zander E, Heinke P, Herfurth S, Reindel J, Ostermann FE, Kerner W. Relations between diabetic retinopathy and cardiovascular neuropathy--a cross-sectional study in IDDM and NIDDM patients. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 1997;105(6):319-26.
199. Diabetes Drafting Group. Prevalence of small vessel and large vessel disease in diabetic patients from 14 centres. The World Health Organisation Multinational Study of Vascular Disease in Diabetics *Diabetologia*. 1985;28 Suppl:615-40.
200. Agardh CD, Agardh E, Torffvit O. The association between retinopathy, nephropathy, cardiovascular disease and long-term metabolic control in type 1 diabetes mellitus: a 5 year follow-up study of 442 adult patients in routine care. *Diabetes research and clinical practice*. 1997;35(2-3):113-21.
201. Marshall G, Garg SK, Jackson WE, Holmes DL, Chase HP. Factors influencing the onset and progression of diabetic retinopathy in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus. *Ophthalmology*. 1993;100(8):1133-9.

## BIBLIOGRAFÍA

202. Lopes de Faria JM, Jalkh AE, Trempe CL, McMeel JW. Diabetic macular edema: risk factors and concomitants. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. 1999;77(2):170-5.
203. Dornan T, Mann JI, Turner R. Factors protective against retinopathy in insulin-dependent diabetics free of retinopathy for 30 years. *British Medical Journal (Clin Res Ed)*. 1982;285(6348):1073-7.
204. Taylor RH, Jones HS, Dodson PM, Hamilton AP, Kritzing EE. Diabetic eye disease: a natural history study. *Eye*. 1997;11 ( Pt 4):547-53.
205. Guillausseau PJ, Massin P, Charles MA, Allaguy H, Guvenli Z, Virally M, et al. Glycaemic control and development of retinopathy in type 2 diabetes mellitus: a longitudinal study. *Diabet Med*. 1998;15(2):151-5.
206. Aiello LP, Cahill MT, Wong JS. Systemic considerations in the management of diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*. 2001;132(5):760-76.
207. Dirani M, Crowston JG, van Wijngaarden P. Physical inactivity as a risk factor for diabetic retinopathy? A review. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2014;42(6):574-81.
208. Waden J, Forsblom C, Thorn LM, Saraheimo M, Rosengard-Barlund M, Heikkila O, et al. Physical activity and diabetes complications in patients with type 1 diabetes: the Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study. *Diabetes care*. 2008;31(2):230-2.
209. LaPorte RE, Dorman JS, Tajima N, Cruickshanks KJ, Orchard TJ, Cavender DE, et al. Pittsburgh Insulin-Dependent Diabetes Mellitus Morbidity and Mortality Study: physical activity and diabetic complications. *Pediatrics*. 1986;78(6):1027-33.
210. Kriska AM, LaPorte RE, Patrick SL, Kuller LH, Orchard TJ. The association of physical activity and diabetic complications in individuals with insulin-dependent diabetes mellitus: the Epidemiology of Diabetes Complications Study-VII. *Journal of clinical epidemiology*. 1991;44(11):1207-14.
211. Rasmidatta S, Khunsuk-Mengrai K, Warunyuwong C. Risk factors of diabetic retinopathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*. 1998;81(3):169-74.
212. Kassoff A, Catalano RA, Mehu M. Vitreous hemorrhage and the Valsalva maneuver in proliferative diabetic retinopathy. *Retina*. 1988;8(3):174-6.

213. Cundiff DK, Nigg CR. Diet and diabetic retinopathy: insights from the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *MedGenMed : Medscape general medicine*. 2005;7(1):3.
214. Moss SE, Klein R, Klein BE. Alcohol consumption and the prevalence of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1992;99(6):926-32.
215. Moss SE, Klein R, Klein BE. The association of alcohol consumption with the incidence and progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1994;101(12):1962-8.
216. Keys A. Mediterranean diet and public health: personal reflections. *The American journal of clinical nutrition*. 1995;61(6 Suppl):1321S-3S.
217. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Stefanadis C. The epidemiology of Type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the ATTICA study. *Diabet Med*. 2005;22(11):1581-8.
218. Keys A. Wine, garlic, and CHD in seven countries. *Lancet*. 1980;1(8160):145-6.
219. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *American journal of epidemiology*. 1986;124(6):903-15.
220. Helsing E, Trichopoulou A. The Mediterranean diet and food culture: a symposium. *Eur J Clin Nutr*. 1989;43(2):1-92.
221. Kafatos A, Kouroumalis I, Vlachonikolis I, Theodorou C, Labadarios D. Coronary-heart-disease risk-factor status of the Cretan urban population in the 1980s. *The American journal of clinical nutrition*. 1991;54(3):591-8.
222. Sleiman D, Al-Badri MR, Azar ST. Effect of mediterranean diet in diabetes control and cardiovascular risk modification: a systematic review. *Frontiers in public health*. 2015;3:69.
223. Garcia-Lopez M, Martinez-Gonzalez MA, Basterra-Gortari FJ, Barrio-Lopez MT, Gea A, Beunza JJ. Adherence to the Mediterranean dietary pattern and heart rate in the SUN project. *European journal of preventive cardiology*. 2014;21(4):521-7.
224. Rees K, Hartley L, Flowers N, Clarke A, Hooper L, Thorogood M, et al. 'Mediterranean' dietary pattern for the primary prevention of cardiovascular disease. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2013;8:CD009825.
225. Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, Covas MI, Corella D, Aros F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *The New England journal of medicine*. 2013;368(14):1279-90.

## BIBLIOGRAFÍA

226. Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, Salas-Salvado J, Ruiz-Gutiérrez V, Covas MI, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Annals of internal medicine*. 2006;145(1):1-11.
227. Toledo E, Hu FB, Estruch R, Buil-Cosiales P, Corella D, Salas-Salvado J, et al. Effect of the Mediterranean diet on blood pressure in the PREDIMED trial: results from a randomized controlled trial. *BMC medicine*. 2013;11:207.
228. Babio N, Toledo E, Estruch R, Ros E, Martínez-González MA, Castaner O, et al. Mediterranean diets and metabolic syndrome status in the PREDIMED randomized trial. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association médicale canadienne*. 2014;186(17):E649-57.
229. Khemayanto H, Shi B. Role of Mediterranean diet in prevention and management of type 2 diabetes. *Chinese medical journal*. 2014;127(20):3651-6.
230. Martínez-González MA, de la Fuente-Arrillaga C, Nunez-Cordoba JM, Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Vazquez Z, et al. Adherence to Mediterranean diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study. *British medical journal*. 2008;336(7657):1348-51.
231. Basterra-Gortari FJ, Martínez-González MA. Mediterranean diet in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2008;51(10):1933-4; author reply 5.
232. Salas-Salvado J, Bullo M, Estruch R, Ros E, Covas MI, Ibarrola-Jurado N, et al. Prevention of diabetes with Mediterranean diets: a subgroup analysis of a randomized trial. *Annals of internal medicine*. 2014;160(1):1-10.
233. Lin J, Fung TT, Hu FB, Curhan GC. Association of dietary patterns with albuminuria and kidney function decline in older white women: a subgroup analysis from the Nurses' Health Study. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2011;57(2):245-54.
234. Díaz-López A, Babio N, Martínez-González MA, Corella D, Amor AJ, Fito M, et al. Mediterranean Diet, Retinopathy, Nephropathy, and Microvascular Diabetes Complications: A Post Hoc Analysis of a Randomized Trial. *Diabetes care*. 2015.
235. Klein R, Klein BE, Moss SE. Is obesity related to microvascular and macrovascular complications in diabetes? The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Archives of internal medicine*. 1997;157(6):650-6.
236. Jerneld B, Algvare P. Prevalence of retinopathy in diabetes treated with oral antihyperglycaemic agents. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1985;63(5):535-40.

237. Kastelan S, Tomic M, Gverovic Antunica A, Ljubic S, Salopek Rabatic J, Karabatic M. Body mass index: a risk factor for retinopathy in type 2 diabetic patients. *Mediators of inflammation*. 2013;2013:436329.
238. Dirani M, Xie J, Fenwick E, Benarous R, Rees G, Wong TY, et al. Are obesity and anthropometry risk factors for diabetic retinopathy? The diabetes management project. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2011;52(7):4416-21.
239. Rooney D, Lye WK, Tan G, Lamoureux EL, Ikram MK, Cheng CY, et al. Body mass index and retinopathy in Asian populations with diabetes mellitus. *Acta diabetologica*. 2015;52(1):73-80.
240. Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 2003;110(9):1677-82.
241. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991;254(5035):1178-81.
242. Keane PA, Sadda SR. Optical coherence tomography in the diagnosis and management of diabetic retinopathy. *International ophthalmology clinics*. 2009;49(2):61-74.
243. Iwasaki T, Miura M, Matsushima C, Yamanari M, Makita S, Yasuno Y. Three-dimensional optical coherence tomography of proliferative diabetic retinopathy. *The British journal of ophthalmology*. 2008;92(5):713.
244. Bressler NM, Edwards AR, Antoszyk AN, Beck RW, Browning DJ, Ciardella AP, et al. Retinal thickness on Stratus optical coherence tomography in people with diabetes and minimal or no diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*. 2008;145(5):894-901.
245. Lang GE. Optical coherence tomography findings in diabetic retinopathy. *Developments in ophthalmology*. 2007;39:31-47.
246. Alkuraya H, Kangave D, Abu El-Asrar AM. The correlation between optical coherence tomographic features and severity of retinopathy, macular thickness and visual acuity in diabetic macular edema. *International ophthalmology*. 2005;26(3):93-9.
247. Goebel W, Franke R. Retinal thickness in diabetic retinopathy: comparison of optical coherence tomography, the retinal thickness analyzer, and fundus photography. *Retina*. 2006;26(1):49-57.
248. Sugimoto M, Sasoh M, Ido M, Wakitani Y, Takahashi C, Uji Y. Detection of early diabetic change with optical coherence tomography in type 2 diabetes mellitus

patients without retinopathy. *Ophthalmologica Journal international d'ophtalmologie International journal of ophthalmology Zeitschrift fur Augenheilkunde*. 2005;219(6):379-85.

249. Hussain A, Hussain N, Nutheti R. Comparison of mean macular thickness using optical coherence tomography and visual acuity in diabetic retinopathy. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2005;33(3):240-5.

250. Goebel W, Kretzchmar-Gross T. Retinal thickness in diabetic retinopathy: a study using optical coherence tomography (OCT). *Retina*. 2002;22(6):759-67.

251. Soliman W, Sander B, Hasler P, Larsen M. Correlation between intraretinal changes in diabetic macular edema seen in fluorescein angiography and optical coherent tomography. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. 2008;86:34-9.

252. Sanchez-Tocino H, Alvarez-Vidal A, Maldonado MJ, Moreno-Montanes J, Garcia-Layana A. Retinal thickness study with optical coherence tomography in patients with diabetes. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2002;43(5):1588-94.

253. Otani T, Kishi S, Maruyama Y. Patterns of diabetic macular edema with optical coherence tomography. *American journal of ophthalmology*. 1999;127(6):688-93.

254. Hee MR, Puliafito CA, Duker JS, Reichel E, Coker JG, Wilkins JR, et al. Topography of diabetic macular edema with optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 1998;105(2):360-70.

255. Thomas M, Tsalamandris C, MacIsaac R, Jerums C. Anemia in diabetes: an emerging complication of microvascular disease. *Current diabetes reviews*. 2005;1(1):107-26.

256. Singh DK, Winocour P, Farrington K. Erythropoietic stress and anemia in diabetes mellitus. *Nature reviews Endocrinology*. 2009;5(4):204-10.

257. Shorb SR. Anemia and diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*. 1985;100(3):434-6.

258. DeNiro M, Al-Mohanna FA. Erythropoietin and anemia: biological markers that cannot be ignored in diabetic retinopathy. *Medical hypotheses*. 2012;78(4):555-6.

259. Thomas MC. Anemia in diabetes: marker or mediator of microvascular disease? *Nature clinical practice Nephrology*. 2007;3(1):20-30.

260. Dunst J, Becker A, Lautenschlager C, Markau S, Becker H, Fischer K, et al. Anemia and elevated systemic levels of vascular endothelial growth factor (VEGF).

- Strahlentherapie und Onkologie : Organ der Deutschen Röntgengesellschaft [et al]. 2002;178(8):436-41.
261. Ajoy-Mohan VK, Nithyanandam S, Idiculla J. Microalbuminuria and low hemoglobin as risk factors for the occurrence and increasing severity of diabetic retinopathy. *Indian journal of ophthalmology*. 2011;59(3):207-10.
262. Sepulveda FJ, Perez P, Medinilla MG, Aboytes CA. Anemia as a factor related to the progression of proliferative diabetic retinopathy after photocoagulation. *Journal of diabetes and its complications*. 2012;26(5):454-7.
263. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes care*. 2002;25(2):275-8.
264. Dodson PM, Galton DJ, Winder AF. Retinal vascular abnormalities in the hyperlipidaemias. *Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom*. 1981;101(1):17-21.
265. Vendemiale G, Grattagliano I, Altomare E. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. *International journal of clinical & laboratory research*. 1999;29(2):49-55.
266. Sayre LM, Zagorski MG, Surewicz WK, Krafft GA, Perry G. Mechanisms of neurotoxicity associated with amyloid beta deposition and the role of free radicals in the pathogenesis of Alzheimer's disease: a critical appraisal. *Chemical research in toxicology*. 1997;10(5):518-26.
267. Stratta P, Canavese C, Dogliani M, Mazzucco G, Monga G, Vercellone A. The role of free radicals in the progression of renal disease. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1991;17(5 Suppl 1):33-7.
268. Youdim MB, Lavie L, Riederer P. Oxygen free radicals and neurodegeneration in Parkinson's disease: a role for nitric oxide. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1994;738:64-8.
269. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in enzymology*. 1990;186:1-85.
270. Evans PH, Klinowski J, Yano E, Urano N. Alzheimer's disease: a pathogenic role for aluminosilicate-induced phagocytic free radicals. *Free radical research communications*. 1989;6(5):317-21.

## BIBLIOGRAFÍA

271. Florence TM. The role of free radicals in disease. *Australian and New Zealand journal of ophthalmology*. 1995;23(1):3-7.
272. Connolly J, Siderowf A, Clark CM, Mu D, Pratico D. F2 isoprostane levels in plasma and urine do not support increased lipid peroxidation in cognitively impaired Parkinson disease patients. *Cognitive and behavioral neurology : official journal of the Society for Behavioral and Cognitive Neurology*. 2008;21(2):83-6.
273. Gerschman R, Nadig PW, Snell AC, Jr., Nye SW. Effect of high oxygen concentrations on eyes of newborn mice. *The American journal of physiology*. 1954;179(1):115-8.
274. Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1995;9(12):1173-82.
275. Ottonello S, Foroni C, Carta A, Petrucco S, Maraini G. Oxidative stress and age-related cataract. *Ophthalmologica Journal international d'ophtalmologie International journal of ophthalmology Zeitschrift fur Augenheilkunde*. 2000;214(1):78-85.
276. Izzotti A, Bagnis A, Sacca SC. The role of oxidative stress in glaucoma. *Mutation research*. 2006;612(2):105-14.
277. Erb C, Heinke M. Oxidative stress in primary open-angle glaucoma. *Frontiers in bioscience*. 2011;3:1524-33.
278. Yildirim O, Ates NA, Ercan B, Muslu N, Unlu A, Tamer L, et al. Role of oxidative stress enzymes in open-angle glaucoma. *Eye*. 2005;19(5):580-3.
279. Ugurlu N, Asik MD, Yulek F, Neselioglu S, Cagil N. Oxidative stress and anti-oxidative defence in patients with age-related macular degeneration. *Current eye research*. 2013;38(4):497-502.
280. Bonne C, Muller A. Role of oxidative stress in age-related macular degeneration. *Journal francais d'ophtalmologie*. 2000;23(8):835-40.
281. Beatty S, Koh H, Phil M, Henson D, Boulton M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Survey of ophthalmology*. 2000;45(2):115-34.
282. Saraswathy S, Rao NA. Photoreceptor mitochondrial oxidative stress in experimental autoimmune uveitis. *Ophthalmic research*. 2008;40(3-4):160-4.
283. Pinazo-Duran M, Azorin I, Montoliu C, Guerri C, Renau-Piqueras J. Free radicals are involved in the alcoholic optic neuropathy. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22(A84).

284. Campochiaro PA, Strauss RW, Lu L, Hafiz G, Wolfson Y, Shah SM, et al. Is There Excess Oxidative Stress and Damage in Eyes of Patients with Retinitis Pigmentosa? *Antioxidants & redox signaling*. 2015.
285. Tuson M, Garanto A, Gonzalez-Duarte R, Marfany G. Overexpression of CERKL, a gene responsible for retinitis pigmentosa in humans, protects cells from apoptosis induced by oxidative stress. *Molecular vision*. 2009;15:168-80.
286. Haldar SR, Chakrabarty A, Chowdhury S, Haldar A, Sengupta S, Bhattacharyya M. Oxidative stress-related genes in type 2 diabetes: association analysis and their clinical impact. *Biochemical genetics*. 2015;53(4-6):93-119.
287. Azeem E, Gillani SW, Siddiqui A, Mian RI, Poh V, Sulaiman SA, et al. Oxidative Stress Correlates (OSC) in Diabetes Mellitus Patients. *Current diabetes reviews*. 2015.
288. Shinde SN, Dhadke VN, Suryakar AN. Evaluation of Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus and Follow-up Along with Vitamin E Supplementation. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*. 2011;26(1):74-7.
289. Whiting PH, Kalansooriya A, Holbrook I, Haddad F, Jennings PE. The relationship between chronic glycaemic control and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *British journal of biomedical science*. 2008;65(2):71-4.
290. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2011;49(11):1773-82.
291. Opara EC. Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *The journal of the Royal Society for the Promotion of Health*. 2002;122(1):28-34.
292. Kundu D, Mandal T, Nandi M, Osta M, Bandyopadhyay U, Ray D. Oxidative stress in diabetic patients with retinopathy. *Annals of African medicine*. 2014;13(1):41-6.
293. Bertelsen M, Anggard EE, Carrier MJ. Oxidative stress impairs insulin internalization in endothelial cells in vitro. *Diabetologia*. 2001;44(5):605-13.
294. Kowluru RA, Kanwar M. Oxidative stress and the development of diabetic retinopathy: contributory role of matrix metalloproteinase-2. *Free radical biology & medicine*. 2009;46(12):1677-85.
295. Zhou T, Zhou KK, Lee K, Gao G, Lyons TJ, Kowluru R, et al. The role of lipid peroxidation products and oxidative stress in activation of the canonical wingless-type

MMTV integration site (WNT) pathway in a rat model of diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2011;54(2):459-68.

296. Al-Shabrawey M, Smith S. Prediction of diabetic retinopathy: role of oxidative stress and relevance of apoptotic biomarkers. *The EPMA journal*. 2010;1(1):56-72.

297. Caldwell RB, Bartoli M, Behzadian MA, El-Remessy AE, Al-Shabrawey M, Platt DH, et al. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: role of oxidative stress. *Current drug targets*. 2005;6(4):511-24.

298. Gurler B, Vural H, Yilmaz N, Oguz H, Satici A, Aksoy N. The role of oxidative stress in diabetic retinopathy. *Eye*. 2000;14 Pt 5:730-5.

299. Pinazo-Duran M, Iborra F, Guerri C, Renau-Piqueras J. Estudio comparativo de los mecanismos de producción de radicales libres en el globo ocular: peroxidación lipídica via citocromo P450. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 1995;68:111-6.

300. Pinazo-Duran M, Verdejo C, Montoliu C, Guerri C. Formación de radicales libres en el globo ocular durante la intoxicación alcohólica crónica. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 1999;74(251-260).

301. Verdejo C, Marco P, Pinazo-Duran M, Portoles M, Gonzalez-Tomas J. Peroxidación lipídica en la vitreoretinopatía proliferante y en las retinopatías vasculares. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 1997;72:393-400.

302. Verdejo C, Marco P, Pinazo-Duran M. Análisis cuantitativo del ADN en el vítreo y consideraciones sobre el daño oxidativo en las vitreo-retinopatías. *St Ophtham*. 1998;17:273-84.

303. Verdejo C, Marco P, Renau-Piqueras J, Gonzalez-Tomas J, Pinazo-Duran M. Formación de radicales libres y actividad antioxidante en la retinopatía diabética proliferativa. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 1999;74:243-50.

304. Richer S, Stiles W, Statkute L, Pulido J, Frankowski J, Rudy D, et al. Double-masked, placebo-controlled, randomized trial of lutein and antioxidant supplementation in the intervention of atrophic age-related macular degeneration: the Veterans LAST study (Lutein Antioxidant Supplementation Trial). *Optometry*. 2004;75(4):216-30.

305. Peuchant E, Delmas-Beauvieux MC, Couchouron A, Dubourg L, Thomas MJ, Perromat A, et al. Short-term insulin therapy and normoglycemia. Effects on erythrocyte lipid peroxidation in NIDDM patients. *Diabetes care*. 1997;20(2):202-7.

306. Akkus I, Kalak S, Vural H, Caglayan O, Menekse E, Can G, et al. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and

- leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1996;244(2):221-7.
307. Walter RM, Jr., Uriu-Hare JY, Olin KL, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW, et al. Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 1991;14(11):1050-6.
308. Hartnett ME, Stratton RD, Browne RW, Rosner BA, Lanham RJ, Armstrong D. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes care*. 2000;23(2):234-40.
309. Rema M, Mohan V, Bhaskar A, Shanmugasundaram KR. Does oxidant stress play a role in diabetic retinopathy? *Indian journal of ophthalmology*. 1995;43(1):17-21.
310. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, et al. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Archives of internal medicine*. 2004;164(21):2335-42.
311. Goldberg J, Flowerdew G, Smith E, Brody JA, Tso MO. Factors associated with age-related macular degeneration. An analysis of data from the first National Health and Nutrition Examination Survey. *American journal of epidemiology*. 1988;128(4):700-10.
312. Hsu CC, Yin MC, Tian R. Ascorbic acid and uric acid suppress glucose-induced fibronectin and vascular endothelial growth factor production in human endothelial cells. *Journal of diabetes and its complications*. 2005;19(2):96-100.
313. Rodriguez JA, Nespereira B, Perez-Illzarbe M, Eguinoa E, Paramo JA. Vitamins C and E prevent endothelial VEGF and VEGFR-2 overexpression induced by porcine hypercholesterolemic LDL. *Cardiovascular research*. 2005;65(3):665-73.
314. Mamputu JC, Renier G. Advanced glycation end-products increase monocyte adhesion to retinal endothelial cells through vascular endothelial growth factor-induced ICAM-1 expression: inhibitory effect of antioxidants. *Journal of leukocyte biology*. 2004;75(6):1062-9.
315. Yakubu MA, Sofola OA, Igbo I, Oyekan AO. Link between free radicals and protein kinase C in glucose-induced alteration of vascular dilation. *Life sciences*. 2004;75(24):2921-32.
316. Draznin B. Cytosolic calcium and insulin resistance. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1993;21(6 Suppl 3):32-8.

317. Obrosova IG, Minchenko AG, Marinescu V, Fathallah L, Kennedy A, Stockert CM, et al. Antioxidants attenuate early up regulation of retinal vascular endothelial growth factor in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*. 2001;44(9):1102-10.
318. Kowluru RA, Kowluru A, Chakrabarti S, Khan Z. Potential contributory role of H-Ras, a small G-protein, in the development of retinopathy in diabetic rats. *Diabetes*. 2004;53(3):775-83.
319. Abiko T, Abiko A, Clermont AC, Shoelson B, Horio N, Takahashi J, et al. Characterization of retinal leukostasis and hemodynamics in insulin resistance and diabetes: role of oxidants and protein kinase-C activation. *Diabetes*. 2003;52(3):829-37.
320. Kowluru RA, Odenbach S. Effect of long-term administration of alpha-lipoic acid on retinal capillary cell death and the development of retinopathy in diabetic rats. *Diabetes*. 2004;53(12):3233-8.
321. Al-Zamil M. The use of dipyridamole (curantyl) in combination with alpha-lipoic acid in the treatment of diabetic neuropathy with retinopathy. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni SS Korsakova / Ministerstvo zdravookhraneniia i meditsinskoj promyshlennosti Rossiiskoi Federatsii, Vserossiiskoe obshchestvo nevrologov [i] Vserossiiskoe obshchestvo psikiat*. 2008;108(7):23-6.
322. Mayurasakorn K, Williams JJ, Ten VS, Deckelbaum RJ. Docosahexaenoic acid: brain accretion and roles in neuroprotection after brain hypoxia and ischemia. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2011;14(2):158-67.
323. Houtsmuller AJ, Zahn KJ, Henkes HE. Unsaturated fats and progression of diabetic retinopathy. *Documenta ophthalmologica Advances in ophthalmology*. 1980;48(2):363-71.
324. Howard-Williams J, Patel P, Jelfs R, Carter RD, Awdry P, Bron A, et al. Polyunsaturated fatty acids and diabetic retinopathy. *The British journal of ophthalmology*. 1985;69(1):15-8.
325. SanGiovanni JP, Chew EY. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Progress in retinal and eye research*. 2005;24(1):87-138.
326. Mohan IK, Das UN. Oxidant stress, anti-oxidants and essential fatty acids in systemic lupus erythematosus. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. 1997;56(3):193-8.

327. Meng H, Shen Y, Shen J, Zhou F, Shen S, Das UN. Effect of n-3 and n-6 unsaturated fatty acids on prostate cancer (PC-3) and prostate epithelial (RWPE-1) cells in vitro. *Lipids in health and disease*. 2013;12:160.
328. Zhuang W, Wang G, Li L, Lin G, Deng Z. Omega-3 polyunsaturated fatty acids reduce vascular endothelial growth factor production and suppress endothelial wound repair. *Journal of cardiovascular translational research*. 2013;6(2):287-93.
329. Calviello G, Di Nicuolo F, Gragnoli S, Piccioni E, Serini S, Maggiano N, et al. n-3 PUFAs reduce VEGF expression in human colon cancer cells modulating the COX-2/PGE2 induced ERK-1 and -2 and HIF-1alpha induction pathway. *Carcinogenesis*. 2004;25(12):2303-10.
330. Shen J, Bi YL, Das UN. Potential role of polyunsaturated fatty acids in diabetic retinopathy. *Archives of medical science : AMS*. 2014;10(6):1167-74.
331. Lee CT, Gayton EL, Beulens JW, Flanagan DW, Adler AI. Micronutrients and diabetic retinopathy a systematic review. *Ophthalmology*. 2010;117(1):71-8.
332. Miranda M, Muriach M, Johnsen S, Bosch-Morell F, Araiz J, Roma J, et al. Estrés oxidativo en un modelo de retinopatía diabética experimental: tratamiento con antioxidantes. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 2004;79(6).
333. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes care*. 1998;21(9):1414-31.
334. Stern MP, Knapp JA, Hazuda HP, Haffner SM, Patterson JK, Mitchell BD. Genetic and environmental determinants of type II diabetes in Mexican Americans. Is there a "descending limb" to the modernization/diabetes relationship? *Diabetes care*. 1991;14(7):649-54.
335. Kowluru RA, Santos JM, Mishra M. Epigenetic modifications and diabetic retinopathy. *BioMed research international*. 2013;2013:635284.
336. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. *Ophthalmology*. 1991;98(5 Suppl):766-85.
337. Akduman L, Olk RJ. Laser photocoagulation of diabetic macular edema. *Ophthalmic surgery and lasers*. 1997;28(5):387-408.
338. Kaštelan S, Tomić M, Mrazovac V. Pharmacotherapy for diabetic retinopathy—it is not just a dream. *Diabetologia Croatica*. 2008;37:57-66.
339. Boscia F. Current approaches to the management of diabetic retinopathy and diabetic macular oedema. *Drugs*. 2010;70(16):2171-200.

## BIBLIOGRAFÍA

340. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Effects of aspirin treatment on diabetic retinopathy. ETDRS report number 8. *Ophthalmology*. 1991;98(5 Suppl):757-65.
341. Kern TS, Miller CM, Du Y, Zheng L, Mohr S, Ball SL, et al. Topical administration of nepafenac inhibits diabetes-induced retinal microvascular disease and underlying abnormalities of retinal metabolism and physiology. *Diabetes*. 2007;56(2):373-9.
342. Writing Group for the AREDS2 Research Group, Bonds D, Harrington M, Worrall B, Bertoni A, Eaton C, et al. Effects of long-chain  $\omega$ -3 fatty acids and lutein + zeaxanthin supplements on cardiovascular outcomes. *JAMA Internal Medicine*. 2014;328.
343. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Archives of ophthalmology*. 2001;119(10):1417-36.
344. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, Hiller R, Blair N, Burton TC, et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA*. 1994;272(18):1413-20.
345. The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *The New England journal of medicine*. 1994;330(15):1029-35.
346. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *The New England journal of medicine*. 1996;334(18):1150-5.
347. Van-den-Langenberg G, Mares-Perlman J, Klein R. Associations between antioxidant and zinc intake and the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study. *American journal of epidemiology*. 1998;148:204-14.
348. POLA Study Group. Pathologies Oculaires Liées à l'Age. Age-related macular degeneration and antioxidant status in the POLA study. *Arch Ophthalmol*. 1999 Oct;117(10):1384-90.
349. Mares-Perlman J, Fisher A, Klein R, Palta M, Block G, Millen A, et al. Lutein and zeaxanthin in the diet and serum and their relation to age-related maculopathy in the third national health and nutrition examination survey. *American journal of epidemiology*. 2001;153(5):424-32.

350. Van Leeuwen R, Boekhoorn S, Vingerling JR, Witteman JC, Klaver CC, Hofman A, et al. Dietary intake of antioxidants and risk of age-related macular degeneration. *JAMA*. 2005;294(24):3101-7.
351. CAREDS Research Study Group, Moeller S, Parekh N, Tinker L, et al. Associations between intermediate age-related macular degeneration and lutein and zeaxanthin in the Carotenoids in Age-related Eye Disease study (CAREDS): ancillary study of the Women's Health Initiative. *Archives of ophthalmology*. 2006;124:1151-62.
352. Seddon JM, George S, Rosner B. Cigarette smoking, fish consumption, omega-3 fatty acid intake, and associations with age-related macular degeneration: the US Twin Study of Age-Related Macular Degeneration. *Archives of ophthalmology*. 2006;124(7):995-1001.
353. Tan JS, Wang JJ, Flood V, Rochtchina E, Smith W, Mitchell P. Dietary antioxidants and the long-term incidence of age-related macular degeneration: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 2008;115(2):334-41.
354. Al-Shabrawey M, Bartoli M, El-Remessy AB, Ma G, Matragoon S, Lemtalsi T, et al. Role of NADPH oxidase and Stat3 in statin-mediated protection against diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2008;49(7):3231-8.
355. Mauer M, Zinman B, Gardiner R, Suissa S, Sinaiko A, Strand T, et al. Renal and retinal effects of enalapril and losartan in type 1 diabetes. *The New England journal of medicine*. 2009;361(1):40-51.
356. Tsilimbaris MK, Panagiotoglou TD, Charisis SK, Anastasakis A, Krikonis TS, Christodoulakis E. The use of intravitreal etanercept in diabetic macular oedema. *Seminars in ophthalmology*. 2007;22(2):75-9.
357. Sfikakis PP, Markomichelakis N, Theodossiadis GP, Grigoropoulos V, Katsilambros N, Theodossiadis PG. Regression of sight-threatening macular edema in type 2 diabetes following treatment with the anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody infliximab. *Diabetes care*. 2005;28(2):445-7.
358. Roig-Revert M, Albert-Fort M, Santander-Trentini F, Alonso L, Marin-Montiel J, Vivar-Llopis B, et al. Reducing the Risk of Developing Diabetic Retinopathy by an Intensive Intervention on Nutrition and Lifestyle. *SIRCOVA-OFTARED-RIG Joined Congress Abstracts*. Valencia (Spain), November 7-8, 2014: Abstracts. *Ophthalmic Res* 2014;52. p. 175-97.
359. Farandos NM, Yetisen AK, Monteiro MJ, Lowe CR, Yun SH. Contact lens sensors in ocular diagnostics. *Advanced healthcare materials*. 2015;4(6):792-810.

360. Roy R, Lobo A, Pal BP, Oliveira CM, Raman R, Sharma T. Automated diabetic retinopathy imaging in Indian eyes: a pilot study. *Indian journal of ophthalmology*. 2014;62(12):1121-4.
361. Boucher MC, Desroches G, Garcia-Salinas R, Kherani A, Maberley D, Olivier S, et al. Teleophthalmology screening for diabetic retinopathy through mobile imaging units within Canada. *Canadian journal of ophthalmology Journal canadien d'ophtalmologie*. 2008;43(6):658-68.
362. Murthy KR, Murthy PR, Kapur A, Owens DR. Mobile diabetes eye care: experience in developing countries. *Diabetes research and clinical practice*. 2012;97(3):343-9.
363. Romero-Aroca P, Reyes-Torres J, Baget-Bernaldiz M, Blasco-Sune C. Laser treatment for diabetic macular edema in the 21st century. *Current diabetes reviews*. 2014;10(2):100-12.
364. Marco-Ramirez C, Gallego-Pinazo R, Zanon-Moreno V, Garcia-Medina J, Galbis-Estrada C, Ramirez A. p53 Gene Protects the Retina by Regulating Endogenous Oxidative Stress. . SIRCOVA-OFTARED Congress Abstracts, Valencia, June 6-8, 2013. *Ophthalmic Res* 2013;502013. p. 27-53.
365. Ting JH, Martin DK. Basic and clinical aspects of gene therapy for retinopathy induced by diabetes. *Current gene therapy*. 2006;6(2):193-214.
366. Shoaie-Nia K, Vivar-Llopis B, Galbis-Estrada B, Marco-Ramirez C, Pinazo-Duran M, Zanon-Moreno V. Identification og genes Involved in Type 2 Diabetes Mellitus in a Mediterranean Population. SIRCOVA-OFTARED-RIG Joined Congress Abstracts. Valencia (Spain), November 7-8, 2014: Abstracts. *Ophthalmic Res* 2014;52. p. 175-97.
367. Zanon-Moreno V, Marco-Ramirez C, Lopez-Galvez M, Galarreta DJ, Gallego-Pinazo R, Pinazo-Duran M. Type 2 Diabetes Mellitus Exhibits a Tear-Specific Expression Pattern of miRNAs. SIRCOVA-OFTARED-RIG Joined Congress Abstracts. Valencia (Spain), November 7-8, 2014: Abstracts. *Ophthalmic Res* 2014;52. p. 175-97.
368. Pinazo-Duran M, Garcia-Medina J, Galarreta DJ, Marco-Ramirez C, Galbis-Estrada C, Gallego-Pinazo R, et al. Micro RNAs in Tears Correlates with Pivotal Risk Factors for Diabetic Retinopathy. SIRCOVA-OFTARED-RIG Joined Congress Abstracts. Valencia (Spain), November 7-8, 2014: Abstracts. *Ophthalmic Res* 2014;52. p. 175-97.

369. Herrero-Vanrell R, Bravo-Osuna I, Andres-Guerrero V, Vicario-de-la-Torre M, Molina-Martinez IT. The potential of using biodegradable microspheres in retinal diseases and other intraocular pathologies. *Progress in retinal and eye research*. 2014;42:27-43.
370. Checa-Casalengua P, Jiang C, Bravo-Osuna I, Tucker BA, Molina-Martinez IT, Young MJ, et al. Preservation of biological activity of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) after microencapsulation and sterilization by gamma irradiation. *International journal of pharmaceutics*. 2012;436(1-2):545-54.
371. Herrero-Vanrell R, Refojo MF. Biodegradable microspheres for vitreoretinal drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. 2001;52(1):5-16.
372. Herrero-Vanrell R, Vicario-de-la-Torre V, Andrés-Guerrero D, Barbosa-Alfaro IT, Molina-Martínez I, Bravo-Osuna. Nano and microtechnologies for ophthalmic administration, an overview. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2013;23:75-82.
373. Semba RD, Huang H, Luttj GA, Van Eyk JE, Hart GW. The role of O-GlcNAc signaling in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Proteomics Clinical applications*. 2014;8(3-4):218-31.
374. Lois N, McCarter RV, O'Neill C, Medina RJ, Stitt AW. Endothelial progenitor cells in diabetic retinopathy. *Frontiers in endocrinology*. 2014;5:44.
375. Ezquer F, Ezquer M, Arango-Rodriguez M, Conget P. Could donor multipotent mesenchymal stromal cells prevent or delay the onset of diabetic retinopathy? *Acta ophthalmologica*. 2014;92(2):e86-95.



**ANEXOS**



# ANEXO 1

## DOCUMENTO DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DOCTOR PESET

GENERALITAT VALENCIANA  
CONSELLERIA DE SANITAT



AGÈNCIA VALENCIANA DE SALUT  
Departament de Salut València - Doctor Peset

A/A.: Dra. M<sup>a</sup> Dolores Pinazo.  
Unidad Inv. Oftalmológica

Dña. Pilar Codoñer Franch, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Dr. Peset.

### CERTIFICA:

Que este comité en su reunión celebrada el día 31 de octubre de 2012 ha evaluado y ha aprobado el estudio titulado: Estudio multicéntrico para evaluar los efectos de la suplementación oral con antioxidantes y ácidos grasos esenciales en la retinopatía diabética.

**Proyecto de investigación**  
**Código Ceic: 33/12**

Valencia 5 de noviembre de 2012

Fdo.: Pilar Codoñer Franch  
Secretaria CEIC Hospital Universitario Dr. Peset

## ANEXO 2

---

### DOCUMENTO DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL DE SAGUNTO



Comisión de Investigación  
Departamento de Salud de Sagunto  
Av. Ramon i Cajal, s/n  
46520 PORT DE SAGUNT (Valencia)

#### Informe de la Comisión de Investigación (Proyectos de Investigación)

Don **Francisco Javier Abad Gimeno** C.E., Secretario de la Comisión de Investigación del Departamento de Salud de Sagunto,

#### CERTIFICA

Que esta Comisión ha evaluado en su sesión de fecha 27 de febrero de 2013, el proyecto de investigación titulado:

*“Estudio multicéntrico para evaluar los efectos de la suplementación oral con antioxidantes y ácidos grasos en la retinopatía diabética”.*

Con **número de registro PI-2013\_01** y se ajusta a las normativas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y es viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, descritos en la solicitud, así como la Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado.

En consecuencia esta Comisión acuerda emitir **informe favorable** de dicho Proyecto de Investigación que será realizado en el Hospital de Sagunto por la Dra. M<sup>a</sup> José Roig Revert del Servicio de Oftalmología como Investigador principal.

Y para que así conste, firma el presente en Sagunto, a 27 de febrero de 2013

Firmado: Don **Francisco Javier Abad Gimeno**



## ANEXO 3

---

### DOCUMENTO DE LA AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS



DEPARTAMENTO  
DE MEDICAMENTOS  
DE USO HUMANO

A todos los efectos, se le notifica la propuesta de resolución del procedimiento de clasificación de estudio clínico o epidemiológico, y se le comunica que dispone de un plazo de quince días para presentar alegaciones y cuantos documentos estime necesarios o los que a su derecho convenga.

Madrid, a **19 de febrero de 2013**

La Jefe de División de Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia

María Dolores Montero Corominas

---

<sup>1</sup> Son de aplicación al presente procedimiento la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común; la Ley 12/2000, de 29 de diciembre, de medidas fiscales, administrativas y de orden social; la Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios; el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos; el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios" y se aprueba su estatuto; el Real Decreto 1344/2007, de 11 de octubre, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano y la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.

<sup>2</sup> De acuerdo con la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre

## ANEXO 4

---

### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

#### ESTUDIO MULTICÉNTRICO PARA EVALUAR LOS EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON ANTIOXIDANTES Y ÁCIDOS GRASOS EN LA RETINOPATÍA DIABÉTICA.

RESPONSABLE: *Dra. MARIA DOLORES PINAZO DURÁN*  
*Teléfono 961622497*

CENTRO: *Hospital Universitario Dr. Peset.*

### INTRODUCCIÓN

Ustedes saben que la **DIABETES** tiene una repercusión directa sobre los ojos y la visión y que dichas consecuencias pueden llegar a ser graves e irreversibles. Por eso intentamos avanzar en el conocimiento de las alteraciones retinianas de la diabetes para proteger a los pacientes de la pérdida de visión. También saben que en nuestro país ha aumentado en los últimos años el consumo de vitaminas, minerales, ácidos grasos y alimentos suplementados (leche, huevos, yogourth, jamón york, etc) que al parecer favorecen la salud visual.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre los nuevos estudios sobre las complicaciones oculares de la diabetes que se realizan en este hospital.

Deseamos que ustedes reciban la mayor información sobre nuestra actividad clínica e investigadora, y que si le interesa participe con nosotros de forma voluntaria.

Todos nuestros estudios han sido aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica y por el Comité de Investigación del Hospital Universitario Dr. Peset.

Para poder acceder a toda la información, le rogamos lea con atención este documento y además nos ponemos a su disposición para aclarar las dudas que le puedan surgir. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno sobre este tema.

### PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o incluso comenzar y más tarde cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico, ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento. Le aseguramos que este estudio no le supondrá ninguna molestia, dolor, o más visitas médicas que las que le realizamos en oftalmología para controlar su estado.

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

Se realizará un estudio en pacientes diagnosticados de diabetes y acudan a oftalmología para valorar el estado de su enfermedad ocular. También, se seleccionaran pacientes sanos que accedan a participar y que se clasificaran como grupo control.

Nos proponemos saber si los comprimidos que contienen vitaminas, minerales y ácidos grasos administrados diariamente por vía oral en etapas muy tempranas de la diabetes ocular (retinopatía) podrían detener su progresión o incluso favorecer la visión de los pacientes.

Este estudio nos aportaría información básica que podremos aplicar a nuevos estudios cuyo fin será la mejora de la asistencia a los pacientes mediante la aplicación de datos diagnósticos y pronósticos en la clínica.

La exploración oftalmológica es la habitual en estos casos, sin realizar ninguna prueba que le pueda causar molestias, ni peligros para su salud o integridad. Queremos saber si los comprimidos con vitaminas antioxidantes y ácidos grasos que usted tome son absorbidos por su organismo y circulan por su sangre. Para ello le haremos un análisis que precisará extraer una pequeña cantidad de sangre (similar a cualquier análisis que usted se hace). La extracción de sangre se realizará por las enfermeras de las consultas de oftalmología de los centros participantes en el estudio. La muestra de su sangre se utilizará solo y exclusivamente para determinar los datos que se han programado en este estudio y para absolutamente nada más, y cuando los tengamos se pondrán a su disposición para informarle de los resultados.

## **BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

Debe usted saber que existen muchas posibilidades de que su participación en este estudio le resulte beneficiosa. Por el especial interés en su caso concreto es por lo que le hemos pre-seleccionado, ya que podremos conocer los mecanismos de esta enfermedad en usted y así poder seguir mejor su proceso y posiblemente acceder a nuevos tratamientos. Repetimos que este estudio no supone ningún riesgo para el paciente puesto que la exploración oftalmológica y la extracción de sangre son actos que se realizan en la rutina diaria y no comportan ningún problema para los pacientes. La cantidad de muestra que se extraerá es la suficiente para llevar a cabo las pruebas de laboratorio, y no afectará al estado de salud del paciente.

## **CONFIDENCIALIDAD**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio o colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal. Solo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, no de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la

confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio o colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité Ético de Investigación Clínica y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

**OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE QUE DEBE USTED CONOCER**

Cualquier nueva información que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio le será comunicada por su médico lo antes posible. Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis. También debe saber que puede ser excluido del estudio si los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la medicación en estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio

Al firmar la hoja de consentimiento, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

En Valencia, de                      de 2012

**Nombre y firma paciente:**

**Nombre y firma médico**

## ANEXO 5

<b>ENCUESTA VALIDADA DE ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRANEA EN OFTALMOLOGÍA</b>	
INICIALES PACIENTE	
DIABETES: DM1; DM2; CONTROL	
DURACIÓN DE LA ENFERMEDAD	
MEDICACIÓN QUE TOMA:	
FECHA REALIZACION ENCUESTA	
1	¿USA ACEITE DE OLIVA COMO PRINCIPAL GRASA PARA COCINAR?
2	¿CUANTO ACEITE USA A DIARIO EN TODAS LAS COMIDAS? (Calcule que 1 cucharada sopera = 10 g)
3	¿CUANTAS RACIONES O PIEZAS DE VERDURAS Y HORTALIZAS DIARIAS? Calcule que 1 Ración = 200 g Y la Guarnición = 100 g (media ración)
4	¿CUANTAS RACIONES O PIEZAS DE FRUTAS O VASOS (O BOTELLA/LATA DEZUMO NATURAL DE FRUTAS TOMA A DIARIO?
5	¿CUANTAS RACIONES DE CARNE ROJA, SALCHICHAS, HAMBURGUESAS O EMBUTIDO TOMA A DIARIO? Calcule que 1 Ración = 100-150 g
6	¿CUANTAS PORCIONES DE MANTEQUILLA, MARGARINA O NATA TOMA AL DIA? Calcule que 1 Porción = 12 g.
7	¿CUANTAS RACIONES DE REFRESCOS O BEBIDAS AZUCARADAS O CARBONATADAS AL DIA?
8	¿BEBE VINO? ¿CUANTO A LA SEMANA? 1 vaso grande: 250 ml
9	¿TOMA LEGUMBRES? ¿CUANTAS RACIONES A LA SEMANA? 1 ración ( o 1 plato) = 150 g
10	¿COME PESCADO Y MARISCO? ¿CUANTAS RACIONES A LA SEMANA? Para pescados: 1 ración (o 1 plato o 1 pieza) = 100- 150 g Para mariscos: 1 ración (o 4-5 piezas) = 200 g
11	¿TOMA PASTELES O REPOSTERIA COMERCIAL? ¿CUANTAS VECES A LA SEMANA?
12	TOMA FRUTOS SECOS ¿CUANTAS VECES A LA SEMANA? 1 ración = 30 g
13	CONSUME CARNE DE PAVO, POLLO O CONEJO ¿CUANTAS VECES A LA SEMANA? 1 ración (o pieza) = 150 g
14	¿CUANTAS VECES A LA SEMANA CONSUME PLATOS COCINADOS A FUEGO LENTO, CON VEGETALES, ARROZ, O PASTA QUE INCLUYAN UN SOFRITO DE TOMATE, CEBOLLA, AJO O PUERRO CON ACEITE DE OLIVA?