



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN FISIOLÓGÍA

TESIS DOCTORAL

**Análisis de la efectividad terapéutica con
antioxidantes contra la retinopatía diabética:
Ensayo clínico con pterostilbeno**

Presentada por:

RAQUEL BURGGRAAF SÁNCHEZ DE LAS MATAS

Dirigida por:

Dr. Ángel Luis Ortega Valero

Dra. María Carmen Desco Esteban

Dr. Jorge Mataix Boronat

Enero 2024

D. **ÁNGEL LUIS ORTEGA VALERO**, Profesor titular del Departamento de Fisiología de la Universitat de València, Dña. **MARÍA CARMEN DESCO ESTEBAN**, Médico Facultativo en Oftalmología en la Fundación Oftalmología Médica y D. **JORGE MATAIX BORONAT**, Médico Facultativo en Oftalmología en la Fundación Oftalmología Médica,

CERTIFICAN:

Que la presente memoria, titulada “**Análisis de la efectividad terapéutica con antioxidantes contra la retinopatía diabética: Ensayo clínico con pteroestilbena**”, corresponde al trabajo realizado bajo su dirección por Dña. **RAQUEL BURGGRAAF SÁNCHEZ DE LAS MATAS** para su presentación como Tesis Doctoral en el Programa de Doctorado en Fisiología de la Universitat de València.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firman el presente certificado en Valencia, a 10 de enero de 2024.

Fdo: Ángel Luis Ortega Valero

Fdo: María Carmen Desco Esteban

Fdo: Jorge Mataix Boronat

AGRADECIMIENTOS

En el largo camino recorrido para desarrollar esta tesis, muchas son las personas que han estado presentes, directa o indirectamente: médicos, profesores, pacientes y otros sanitarios; familiares, amigos o compañeros. Mi gratitud es para todos y cada uno de ellos.

En primer lugar, doy gracias a los padres y directores de esta tesis. A la Dra. M^a Carmen Desco, por abrirme las puertas a participar en este proyecto. Más allá de lo admirable profesionalmente, sus palabras amables y su sonrisa me han animado hasta el final. Muchas gracias al Dr. Ángel Ortega, por confiar y transmitirme el valor de la investigación. Regresar a las bases fisiológicas ayuda a escapar del automatismo que a veces acompaña al acto asistencial en el ejercicio de la Medicina. Muchas gracias al Dr. Jorge Mataix por su trabajo y por aportar siempre su punto de humor. No puedo dejar de mencionar como parte del proyecto a personas de la Fundación Oftalmología Médica: Marisa, por su excelente trato, su gran labor organizativa y por acogerme en su espacio de trabajo. Gracias a Gisela y al equipo de enfermería del centro. También agradezco a Isabel Torres y a Candela Oblaré de la Universidad de Valencia su trabajo en el proyecto.

Muchas gracias a todos los miembros del Servicio de Oftalmología de Sagunto, donde empecé mi carrera profesional y donde, hoy, de vuelta, sigo encontrando día a día motivación por aprender. En especial a Laura Such, mi apoyo incondicional del periodo MIR; sin duda a Julián Zarco, por su impulso en el mundo de la Retina, a Leonor Pérez y Antonio Estrela como mentores, a todos los adjuntos y sobre todo a los residentes que me acompañaron y que sacan adelante tanto.

A aquellos que sin ser del servicio han formado parte de mi etapa formativa, y que, más que compañeros, puedo considerar amigos: Prudencia, Enrique, Rodrigo, Lourdes, Cristina, Mar y aunque no oftalmóloga Marta Alcaraz; sin vosotros no habría sido lo mismo.

A los de siempre, especialmente a Paloma y Blanca, que me han visto crecer, por entenderme en cada situación y seguir escuchándome. A todos mis amigos de la Facultad de Salamanca por una etapa mágica y por continuar presentes.

Muy especialmente doy gracias a las personas que siempre llevo conmigo allá donde vaya. A mis padres, porque sin ellos estas palabras simplemente no *serían*. Por haberme dado la mejor de las vidas. Conociendo mi necesidad de independencia, habéis sabido orientarme en cada etapa dejándome hacer. Sois para mí un ejemplo y un orgullo. Gracias a mi hermana Helena, porque contigo puedo hablar sin hablar. Te admiro por tu templanza, tu superación y tu gran corazón. Haces cosas extraordinarias. A mi tía Esther, porque a pesar de tus dificultades, de nadie mejor que de ti se aprende que *querer es poder*. A la abuela Leo, a Oma y a los que ya no están.

Y, por último, a Xavi, que has vivido en primera persona gran parte del desarrollo de esta tesis, sin tus palabras el día a día no sería tan sencillo, gracias por entenderme, relativizar cada problema, hacerme reír cada día y por acogirme en tu familia. Porque formamos un gran equipo.

A todos vosotros, gracias por cada palabra de ánimo que me habéis dado para llegar hasta aquí.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS	1
ÍNDICE DE TABLAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS	1
I. INTRODUCCIÓN	1
1. DIABETES MELLITUS.....	1
1.1. DEFINICIÓN	1
1.2. EPIDEMIOLOGÍA.....	1
1.3. IMPACTO SOCIOECONÓMICO	1
1.4. FISIOPATOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN	2
1.4.1. Diabetes Mellitus tipo 1.....	2
1.4.2. Diabetes Mellitus tipo 2.....	3
1.4.3. Otros tipos de diabetes.....	6
1.5. COMPLICACIONES	7
1.5.1. Disfunción vascular	7
1.5.2. Disfunción endotelial.....	7
1.5.3. Disfunciones a nivel macrovascular	10
1.5.4. Disfunciones a nivel microvascular.....	11
2. RETINOPATÍA DIABÉTICA	11
2.1. EPIDEMIOLOGÍA	11
2.1.1. A nivel global	11
2.1.2. Secuelas visuales	12
2.1.3. España	13
2.2. FACTORES DE RIESGO	14
2.3. FISIOPATOLOGÍA	15
2.4. CLASIFICACIÓN.....	17

2.5. DIAGNÓSTICO.....	23
2.5.1. Sistemas de imagen	23
2.5.2. Indicaciones de cribado	26
2.6. MANEJO 28	
2.6.1. Primera visita.....	28
2.6.2. Consejo educacional.....	28
2.6.3. Controles de los factores de riesgo: objetivos	29
2.6.4. Estadificación del grado de retinopatía	30
2.6.5. Seguimiento.....	31
2.6.6. Estrategias de tratamiento vigentes	32
3. ANTIOXIDANTES Y RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	36
3.1. OXIDACIÓN Y RETINA.....	36
3.1.1. Especies reactivas de oxígeno y peroxidación lipídica.....	36
3.1.2. Síntesis de GSH.....	38
3.1.3. Vulnerabilidad de la retina a la oxidación	39
3.1.4. Agentes antioxidantes protectores de la retina	40
3.2. POLIFENOLES.....	41
3.2.1. Estilbenos	42
3.2.2. Uso de Pteroestilbeno en diabetes y retinopatía diabética.....	43
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	47
III. MATERIAL Y MÉTODOS	49
1. ANTIOXIDANTES ORALES EN RETINOPATÍA DIABÉTICA:	
EVIDENCIA PREVIA.....	49
1.1. REVISIÓN SISTEMÁTICA	50
1.1.1. Criterios de inclusión.....	50
1.1.2. Criterios de exclusión	50

2. ENSAYO CLÍNICO.....	52
2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	52
2.1.1. Criterios de inclusión.....	52
2.1.2. Criterios de exclusión	53
2.2. PROTOCOLO DE VISITAS	53
2.3. TAMAÑO MUESTRAL	55
2.4. VARIABLES CLÍNICAS DETERMINADAS.....	55
2.4.1. Índice de masa corporal.....	55
2.4.2. Presión arterial.....	55
2.4.3. Mejor agudeza visual corregida.....	56
2.4.4. Grosor macular central	57
2.4.5. Estadío de RD según la clasificación ETDRS.....	57
2.4.6. Variaciones en la tortuosidad vascular	57
2.5. VARIABLES ANALÍTICAS.....	58
2.5.1. Bioquímica básica	58
2.5.2. Estado oxidativo	58
2.5.3. Agentes	59
2.5.4. Muestras plasmáticas.....	59
2.5.5. Muestras de orina	60
2.5.6. Espectrometría de masas	60
2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	61
IV. RESULTADOS	64
1. REVISIÓN SISTEMÁTICA.....	63
1.1. RESULTADOS DE VARIABLES CLÍNICAS	72
1.2. RESULTADOS DE VARIABLES FUNCIONALES	72
1.3. RESULTADOS DE VARIABLES BIOQUÍMICAS	73
1.4. PERFIL DE SEGURIDAD.....	73

2. ENSAYO CLÍNICO CON PTEROESTILBENO	74
2.1. ANÁLISIS BASAL. ESTUDIO DESCRIPTIVO	74
2.1.1. Características demográficas	74
2.1.2. Valores basales de los factores de riesgo.....	75
2.1.3. Características clínicas basales en la exploración oftalmológica ...	78
2.1.4 Estado oxidativo basal.....	81
2.2. HOMOGENEIDAD ENTRE GRUPOS	84
2.3. EFECTO SOBRE LOS FACTORES DE RIESGO.....	85
2.4. EFECTO SOBRE VARIABLES CLÍNICAS	91
2.5. EFECTO SOBRE EL ESTADO OXIDATIVO	94
V. DISCUSIÓN	98
VI. CONCLUSIONES.....	111
VII. BIBLIOGRAFÍA	113
VIII. ANEXOS	135
ANEXO I. Dictamen favorable del Comité Ético de Investigación.....	
.....	137
ANEXO II. Hoja de información al paciente y Consentimiento Informado	
.....	139

ABREVIATURAS

ADA: *American Diabetes Association*

ADH: Ácido docosahexaenoico

ADR: Ácido adrénico

AGEs: Productos finales de glicación avanzada

AGF: Angiografía fluoresceínica

AKT: Proteína kinasa

ALT: Alanina aminotransferasa

ARA: Ácido araquidónico

ARE: Elementos de respuesta antioxidante

AST: Aspartato aminotransferasa

AV: Agudeza visual

CAT: Capacidad antioxidante total

COX: Ciclooxygenasa

CT: Colesterol total

DM: Diabetes Mellitus

DM1: Diabetes Mellitus tipo 1

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

EMD: Edema macular diabético

EMCS: Edema macular clínicamente significativo

EMNCS: Edema macular no clínicamente significativo

EPR: Epitelio pigmentario de la retina

ETDRS: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*

GMC: Grosor macular central

GMPC: Guanosin monofosfato cíclico

GPA: Glucemia plasmática en ayunas

GSH: Glutati6n (forma reducida)

GSSG: Glutati3n disulfuro (forma oxidada)
HbA1c: Hemoglobina glicosilada
HLA: Ant3geno leucocitario humano
HTA: Hipertensi3n arterial
ICAM-1: Mol3cula de adhesi3n intercelular-1
ICAs: Anticuerpos contra c3lulas del islote pancre3tico
ICDSS: *International Clinical Disease Severity Scale*
IDF: *International Diabetes Federation*
IL-1: Interleucina 1
IL-6: Interleucina 6
IMC: 3ndice de masa corporal
IRMA: Anomal3as de la microvasculatura intraretiniana
LDL: Lipoprote3nas de baja densidad
MAVC: Mejor agudeza visual corregida
MDA: Malondialdeh3do
MMHG: Mil3metros de mercurio
MODY: *Maturity Onset Diabetes of the Young*
NOS: Sintasa del 3xido n3trico
NOX: Oxidasas dependientes de NADH
NRF2: Factor nuclear derivado de eritroide 2
NF-κB: Factor de transcripci3n nuclear κ B
NV: Neovascularizaci3n
OCT: Tomograf3a de coherencia 3ptica
OCT-A: Angiograf3a por tomograf3a de coherencia 3ptica
P-AKT: Prote3na Akt fosforilada
PPARs: Receptores activados por proliferadores peroxisomales
PCR: Prote3na C reactiva
PI3K: Fofatidilinositol-3-kinasa
PKC: Prote3na kinasa C

POL Peróxidos lipídicos

PTER: Pteroestilbeno

RD: Retinopatía diabética

RDNP: Retinopatía diabética no proliferativa

RDP: Retinopatía diabética proliferativa

ROS: Acrónimo en inglés “Reactive oxygen species”

SAH: s-Adenosilhomocisteína

SAM: s-Adenosilmetionina

SOD: Superóxido dismutasa

SRI: Sustratos del receptor de insulina

TEDDY: acrónimo en inglés para *The Environmental Determinants of Diabetes in the Young*

TG: Triglicéridos

TNF- α : factor de necrosis tumoral α

VCAM-1: Molécula de adhesión vascular 1

VEGF: En inglés “vascular endothelial growth factor”

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

U.A.: Unidades arbitrarias

UKPDS: *United Kingdom Prospective Diabetes Study*

4-HNE: 4-Hidroxinonenal

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interacción entre las vías metabólicas implicadas en el daño producido por la hiperglucemia.	9
Figura 2. Protección endógena frente al estrés oxidativo. Liberación de NRF2.	9
Figura 3. Proceso de formación de la placa de ateroma.	10
Figura 4. Esquema anatómico de la retina y localización de la fóvea	11
Figura 5. Cambio en prevalencia de RD por edad del empeoramiento visual entre 1990 y 2020.	12
Figura 6. Signos clínicos de RD derivados de la alteración vascular endotelial.	16
Figura 7. Retinografía convencional de cribado que muestra 45° de la retina.	24
Figura 8. Retinografía de campo ultraamplio que muestra 220° retinianos.	24
Figura 9. Imagen de tomografía de coherencia óptica.	25
Figura 10. Imágenes de angiografía por OCT de individuo sano.	25
Figura 11. Manejo en la primera visita oftalmológica de un paciente diabético	28
Figura 12. Tratamiento con láser.	32
Figura 13. Tratamiento intravítreo con fármacos anti-VEGF.	333
Figura 14. Representación de inyección intravítrea de implante de dexametasona (Ozurdex®).	33
Figura 15. Consumo de oxígeno vía transferencia de electrones.	36
Figura 16. Reacciones de las enzimas antioxidantes SOD, catalasa, peroxidasa y GSH peroxidasa.	36
Figura 17. Proceso de peroxidación lipídica.	38
Figura 18. Vía de la transulfuración y síntesis de GSH.	39
Figura 19. Esquema anatómico de la retina.	40
Figura 20. Estructura molecular de resveratrol, pterostilbeno y piceatanol.	43
Figura 21. Diagrama de flujo seguido para la búsqueda bibliográfica en la revisión sistemática.	51
Figura 22. PteroPure® (Life Extension).	52
Figura 23. Optotipo ETDRS.	56
Figura 24. Imágenes obtenidas con el programa ImageJ para el análisis del índice de tortuosidad vascular.	57
Figura 25. Representación gráfica de los parámetros utilizados para el cálculo del ITV.	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prevalencia cruda de RD, RDP y EMD en la población diabética española.	13
Tabla 2. Clasificación de RD según el estudio ETDRS de 1991 para ojo individual.....	17
Tabla 3. Clasificación del EMCS según el estudio ETDRS.	19
Tabla 4. Clasificación ICDSS del grado de RD consensuada por el GDRPG en 2002.	20
Tabla 5. Clasificación del EMD según la ICDSS.....	22
Tabla 6. Resumen de estrategias según el grado de RD	30
Tabla 7. Resultados de estudios que han analizado el uso de PTER en modelos animales e <i>in vitro</i> de DM. ..	45
Tabla 8. Detalle de actividades realizadas en cada visita.	54
Tabla 9. Revisión sistemática. Variables clínicas, funcionales y bioquímicas.....	63
Tabla 10. Resultados de la revisión sistemática del uso de antioxidantes orales en RD.	64-71
Tabla 11. Rango de edad por grupos	74
Tabla 12. Resultados de los test de homogeneidad entre grupos.....	84
Tabla 13. Variación de los analitos de la vía de la transulfuración (T0-T1 y T1-T2).	95

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Características demográficas basales.	74
Gráfico 2. Control glucémico y uso de insulina basal por grupo.	75
Gráfico 3. Distribución de cifra media de PAS y PAD por grupo al inicio del estudio.	76
Gráfico 4. Porcentaje de uso de hipotensores sistémicos por grupo.....	76
Gráfico 5. Análisis basal del perfil lipídico en los grupos de estudio.	77
Gráfico 6. Análisis basal del peso en los pacientes sujetos a estudio.	78
Gráfico 7. MAVC definida por nº de letras del optotipo ETDRS por grupo al inicio del estudio	79
Gráfico 8. Distribución del GMC basal por grupos.....	79
Gráfico 9. Distribución del estadio ETDRS basal por grupos.....	80
Gráfico 10. Distribución de ITV basal por grupo.....	80
Gráfico 11. Cociente GSH/GSSG por grupos al inicio del estudio.	81
Gráfico 12. Niveles basales de los analíticos de la vía de síntesis de GSH por grupo.	81-82
Gráfico 13. Cifras basales de los productos de peroxidación lipídica por grupos.	83
Gráfico 14. Evolución de cifras medias de HbA1c (%) a lo largo del estudio.	85
Gráfico 15. Evolución de las cifras de PAS por grupos a lo largo del estudio.....	86
Gráfico 16. Gráfico de efectos relativos de la PAS a lo largo del seguimiento según grupo.	87
Gráfico 17. Evolución de cifras de PAD por grupos a lo largo del tiempo.	87
Gráfico 18. Gráfico de efectos relativos para la PAD de ambos grupos a lo largo del tiempo	88
Gráfico 19. Recuento de pacientes con cifras de TA > 150/85 mmHg.	88
Gráfico 20. Evolución del perfil lipídico.....	89
Gráfico 21. Porcentaje de categoría de peso para cada grupo a lo largo del seguimiento.	90
Gráfico 22. Evolución de las cifras de MAVC a lo largo del estudio por grupo.....	91
Gráfico 23. Evolución de las cifras de GMC a lo largo del estudio.	92
Gráfico 24. Evolución del estadio de RD a lo largo del seguimiento.....	92
Gráfico 25. Cambio medio del ITV.....	93
Gráfico 26. Evolución de la fracción GSH/GSSG a lo largo del estudio	94
Gráfico 27. Análisis del estado de oxidación del tripéptido GSH.....	94
Gráfico 28. Media por grupos de la variación de las cifras de peróxidos lipídicos.....	96

I. INTRODUCCIÓN

1. DIABETES MELLITUS

1.1. DEFINICIÓN

La **diabetes mellitus** (DM) comprende un conjunto heterogéneo de desórdenes metabólicos, cuya consecuencia común es la hiperglucemia crónica. Los niveles aumentados de glucosa en sangre pueden derivarse de un déficit de insulina, de un descenso en la utilización de la glucosa o de un aumento en su producción. Su origen es multifactorial, con influencia de factores genéticos y ambientales, y produce disfunción endotelial con cambios micro y macrovasculares causantes de complicaciones en diferentes órganos, suponiendo una causa importante de morbi-mortalidad a nivel global (1–3).

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

La Federación Internacional de la Diabetes (acrónimo en inglés IDF) ha publicado una prevalencia global de DM en 2021 del 10,5% (536,6 millones de personas), entre adultos de 20 a 79 años de edad. Se espera que esta cifra aumente hasta un 12,2% (783,2 millones de personas) en 2045. Entre sus datos, sitúa a España como el 4º país europeo en número de diabéticos, con 5,1 millones de sujetos en 2021, y en el 2º puesto en términos de prevalencia ajustada por edad (10,3%) (3).

En cuanto a incidencia, el estudio multicéntrico llevado a cabo por Magliano *et al.* y publicado en *The Lancet* en 2021, ha determinado que, mientras que la DM se incrementó desde los años 90 hasta mediados de los 2000, el porcentaje de casos nuevos se estabilizó o presentó una ligera disminución desde 2006 a 2014, y que la cifra está disminuyendo actualmente en un 1,1 a un 10,8% anual (24). Esta tendencia a la estabilización e incluso reducción se ha atribuido a la introducción en 2009 de la prueba de hemoglobina glicosilada (HbA1c) como método diagnóstico (25). No obstante, se ha de tener en cuenta, que el estudio no recogió datos de países de renta baja que presentan las prevalencias más elevadas de DM.

1.3. IMPACTO SOCIOECONÓMICO

Por un lado, la IDF ha estimado unos gastos derivados directamente de la DM a nivel mundial de 966 billones de dólares americanos en el año 2021, colocando a Europa como la 2ª región con mayor coste medio por persona, que se situaría en 3086 dólares anuales por individuo (3). Sin embargo, para ser conscientes del impacto socioeconómico de la enfermedad, se deberían incluir los gastos indirectos de la enfermedad, ya que, según los datos, se estima que 6,7 millones de adultos entre 20 y 79 años fallecieron en el año 2021 a causa de diabetes o a raíz de alguna de sus complicaciones. De ellos, 2.184 millones eran personas menores de 60 años (3).

Dado que la DM afecta a población en edad productiva, existe un impacto socioeconómico derivado de la mortalidad prematura, el absentismo y presentismo laboral, así como del abandono forzado de la actividad laboral. En el año 2017 el grupo de Bommer *et al.* publicó en *The Lancet* un estudio de coste-enfermedad a nivel mundial, estimando que los gastos indirectos anuales por DM supondrían hasta un 40% de sus costes globales anuales. Los costes, definidos por pérdida de producción, se calcularon multiplicando el número de muertes prematuras por el número de años no vividos de cada individuo fallecido hasta los 65 (4).

1.4. FISIOPATOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN

Existe un amplio espectro de entidades englobadas en el término DM. A continuación, se considera el mecanismo fisiopatológico causante de la hiperglucemia como criterio para la clasificación del tipo de DM.

1.4.1. DIABETES MELLITUS TIPO 1

La DM de tipo 1 (DM1) se produce por una destrucción inmunitaria de las células β pancreáticas, lo que deriva en un déficit de insulina. La hipótesis más aceptada sobre su etiopatogenia se basa en la existencia de una predisposición genética, sobre la cual actuaría un estímulo de carácter infeccioso o ambiental, que finalmente desencadena la activación de una respuesta inmunitaria dirigida contra las células β . La hiperglucemia no se hace evidente hasta que se ha destruido en torno a un 70-80% de dichas células (2).

1.4.1.1. Factores genéticos e inmunidad

Se han determinado más de 60 loci predisponentes a padecer DM1 (5). Se estima que la base genética constituye un 50% del riesgo de desarrollar DM1, de los cuales aproximadamente un 30% se atribuye a la presencia de un determinado genotipo del antígeno humano leucocitario (HLA) codificado en el cromosoma 6. En concreto, se ha establecido una fuerte asociación con polimorfismos en los genes HLA de clase II DRB1, DQA1 y DQB1, y de manera muy significativa con los haplotipos HLA DR3-DQ2 y/o DR4-DQ8 (5,6). Cambios en los haplotipos HLA de clase I A y B, se han asociado más débilmente con la aparición de DM1, aunque se piensa que pueden ejercer un papel en la edad de inicio de la DM1 (5).

La existencia de polimorfismos génicos se traduce en la producción de autoanticuerpos contra células del islote pancreático (ICAs, acrónimo en inglés para *Islet Cell Antibodies*) y posterior inicio de la respuesta inmunitaria contra las células β . Al unirse a sus moléculas diana, inician un proceso conocido como insulitis, que consiste en la infiltración por linfocitos, con posterior destrucción y atrofia de los islotes. El proceso de destrucción es llevado a cabo por linfocitos T, ya que los autoanticuerpos no reaccionan directamente contra la superficie de las células insulares (2,6).

Entre las moléculas del islote que constituyen un objetivo del proceso autoinmunitario se encuentran la insulina, la enzima ácido glutámico descarboxilasa, la enzima que sintetiza el ácido γ -aminobutírico, el transportador de zinc de las células β e insulinoma (IA-2/ICA-512) (2).

Por otra parte, se han encontrado polimorfismos en genes no relacionados con los genes codificantes para HLA y que influyen en el desarrollo de DM1, entre ellos el gen promotor de la insulina, el gen que codifica la proteína linfocito tirosina fosfatasa que funciona como inhibidor de la activación de las células T, el gen que codifica el antígeno 4 del linfocito T citotóxico, y el gen que codifica la subunidad α del receptor de la interleucina 2 (6,7).

1.4.1.2. Factores ambientales

El estudio TEDDY (acrónimo en inglés para *The Environmental Determinants of Diabetes in the Young*) iniciado en 2004 investiga de manera prospectiva qué variables influyen en el desarrollo de DM1 en la infancia, a partir del análisis de aparición de autoanticuerpos y posterior desarrollo de la enfermedad (8). En 2017 publicaron los resultados de su análisis sobre introducción de fórmulas de lactancia, estableciendo que el riesgo de autoinmunidad contra los islotes no se incrementaría en relación al contenido de proteínas de leche de vaca, sino que se produce en relación al uso de fórmulas que contienen estas proteínas hidrolizadas frente a las que no (9). La exposición a probióticos se propuso como factor protector, así como la suficiencia de Vitamina D y niveles elevados de ácidos grasos derivados del pescado (10).

En 2018 el grupo confirmó una asociación ya aceptada entre infecciones por enterovirus y el desarrollo de autoinmunidad contra las células β , a partir del análisis de coprocultivos. Por otra parte, se ha postulado el papel protector de la lactancia materna, que influye en el desarrollo de la microbiota intestinal del lactante. El grupo observó que la producción de ácidos grasos de cadena corta, proceso en el que participan vías de fermentación bacteriana, está disminuida en individuos con autoinmunidad dirigida contra los islotes (10).

1.4.2. DIABETES MELLITUS TIPO 2

La DM de tipo 2 (DM2) se define por la presencia de hiperglucemia crónica secundaria a un déficit en la secreción de insulina por las células β , en un entorno de resistencia a la acción de la hormona. De la misma manera que la DM1, existe evidencia de una predisposición genética, que en el seno de un ambiente marcado por factores como el aumento del índice de masa corporal (IMC), ejercicio limitado y dietas hipercalóricas resulta en la aparición clínica de la enfermedad. La resistencia a la insulina en los tejidos diana se intenta compensar con un aumento de la secreción de la hormona, que inicialmente normaliza la glucemia plasmática. Pero el déficit de su acción en los tejidos periféricos aumenta la producción endógena de glucosa en ayunas, y limita su absorción en los tejidos diana en los períodos posprandiales (2).

1.4.2.1. Disfunción de células β

La correcta función de las células β se ve comprometida por la confluencia de diversos estímulos, marcados por el estrés metabólico, oxidativo y la inflamación. El exceso de glucosa y de ácidos grasos saturados en un contexto de sobrepeso y sobrenutrición, genera un incremento de actividad en el retículo endoplasmático para aumentar la producción de insulina. El acúmulo del precursor proinsulina y del polipéptido cosecretado amilina, incorrectamente plegados en el retículo endoplasmático favorece (11,12):

- Producción de especies reactivas del oxígeno (ROS, del inglés *reactive oxygen species*).
- Creación de un ambiente inflamatorio con exceso de interleucina-1 β y posterior reclutamiento de macrófagos.
- Inicio de la respuesta fisiológica celular para sobreponerse al estrés. Esta respuesta disminuye el influjo de proteínas al retículo endoplasmático y sobrerregula la expresión génica para codificar chaperonas, antioxidantes y proteínas que participan en la degradación de otros precursores proteicos (13). No obstante, la activación de esta vía conlleva por otra parte la inhibición de la bomba $\text{Ca}^{+2}/\text{ATPasa}$ del retículo endoplasmático, partícipe en la movilización intracelular del calcio, interfiriendo negativamente en la correcta secreción de insulina.

En condiciones sostenidas de estrés en el retículo endoplasmático, estrés oxidativo e inflamación, los mecanismos compensatorios de la célula son insuficientes, y la activación de señales proapoptóticas inicia un proceso progresivo de pérdida de masa de células β (11).

1.4.2.2. Resistencia a insulina

El concepto se refiere a una menor sensibilidad y respuesta sistémica a los niveles elevados de glucosa, así como menor respuesta local a la insulina en los órganos diana. La resistencia a la insulina está mediada principalmente por defectos que comprometen la vía de señalización a nivel del receptor de insulina y de la familia de proteínas sustrato del receptor de insulina (SRI), alterando el inicio intracelular de la cascada de fosforilación/desfosforilación (14). En condiciones normales, las proteínas SRI activadas fosforilan la subunidad p85 de la fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K), activando su subunidad catalítica p110. PI3K es responsable del paso del fosfatidil inositol-3,4-difosfato a fosfatidil-inositol-3,4,5-trifosfato, que lleva a la activación de la proteína kinasa AKT (15). Esta vía de señalización PI3K/AKT constituye un punto clave en el inicio de las acciones intracelulares de la insulina (16).

Los defectos en la activación de la vía PI3K/AKT en el tejido adiposo suponen, por una parte, la limitación de captación de glucosa y su utilización en la vía de la lipogénesis y, por otra, un aumento de la lipólisis por ausencia de señal inhibitoria. Este hecho es de suma importancia en la fisiopatología de la DM2, puesto que se produce un aumento de los ácidos

grasos circulantes, induciendo lipotoxicidad y contribuyendo a la resistencia a la insulina en el resto de tejidos diana (15,17).

La alteración en la DM2 puede derivarse de mutaciones en el receptor de insulina, en las proteínas SRI o de fallos en la transducción de la señal. La inflamación asociada a la obesidad contribuye a activar vías que producen la hiperfosforilación de los residuos de serina/treonina de las proteínas SRI. De esta manera, se impide su activación en los residuos tirosina por el receptor de insulina, y no se produce la activación de PI3K (14,18).

1.4.2.3. Factores genéticos

Gracias a los estudios de asociación de genoma completo se han identificado más de 100 loci implicados en el desarrollo de DM2, la mayoría relacionados con la secreción de insulina. Entre muchas otras, se han determinado mutaciones implicadas en la expresión del transportador de glucosa, en los sitios de fosforilación o en las proteínas SRI (2). No obstante, la mayoría de estos loci están asociados con polimorfismos de un único nucleótido, de manera que la suma del riesgo aislado de cada uno de ellos no puede explicar más allá de un 20% de la herencia de la enfermedad. Los resultados obtenidos en este tipo de estudios en diferentes grupos étnicos han revelado que variantes frecuentes en algunos de estos loci se comparten entre antecesores comunes. Se aboga por la teoría de un modelo poligénico común en el que un gran número de estas variantes con escaso efecto de manera aislada podrían suponer de manera conjunta un 75% de la heredabilidad de la DM2 (11,19).

1.4.2.4. Factores ambientales

En un metaanálisis publicado en 2018, se revisaron los factores de riesgo no genéticos relacionados con el desarrollo de la DM2, incluyendo historial médico, factores psicosociales, estilo de vida, dieta, factores relacionados con la obesidad y biomarcadores sanguíneos (20).

De acuerdo con sus resultados, el factor de riesgo más significativo relacionado con el desarrollo de DM2 es el IMC elevado. Un mayor IMC, mayor perímetro abdominal e índices cadera-altura o cadera-cintura elevados, reflejan un mayor contenido adiposo abdominal y con ello una mayor liberación de ácidos grasos libres al plasma. En el mencionado metaanálisis se determinó un riesgo relativo de 6,88 veces más riesgo de padecer DM2 frente a no obesos (20).

Un estilo de vida sedentario con baja actividad física supone una menor contracción de las fibras musculares, con menor captación de glucosa local, y por otra parte se relaciona con un aumento de IMC. El sedentarismo es más frecuente entre grupos poblacionales con un estatus social bajo, más expuestos al desarrollo de DM2 (21).

Las dietas hipercalóricas, en concreto el consumo de carnes procesadas, carne roja y refrescos azucarados se han relacionado con riesgo de desarrollo de DM2 al suponer un exceso de glucosa y ácidos grasos libres en plasma. Por otra parte, el consumo de alimentos ricos en

grano integral, con alto contenido en fibra, retrasa el vaciado gástrico y con ello la absorción sistémica de glucosa, suponiendo un factor protector contra el desarrollo de DM2 (11). Entre los biomarcadores sanguíneos, el metaanálisis determinó como factor de riesgo una mayor concentración de las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa y γ -glutamyl transferasa, siendo la primera más específica para reflejar la esteatosis hepática no alcohólica. Asimismo, fueron significativos como factor de riesgo una mayor concentración de proteína C reactiva (PCR) y ácido úrico, ambos marcadores de inflamación. En contraposición, una mayor concentración de vitamina D y adiponectina se consideraron factores protectores (20).

1.4.3. OTROS TIPOS DE DIABETES

1.4.3.1. Variantes monogénicas

El grupo engloba trastornos tempranos marcados por disfunción de células β con origen en mutaciones concretas, en su mayoría de herencia autosómico dominante. Según su inicio clínico podemos distinguir dos grupos: la DM tipo MODY (del inglés *Maturity Onset Diabetes of the Young*) con inicio generalmente antes de los 25 años de edad, y la DM neonatal, con inicio antes de los 6 meses. Su prevalencia se ha estimado en torno a un 1-4% del total de DM (1,22).

1.4.3.2. Diabetes gestacional

En el estatus hipermetabólico asociado al embarazo, se genera un ambiente de resistencia a la insulina que las células β son incapaces de compensar. La DM gestacional (DMG) se ha definido como presencia de cualquier grado de intolerancia a la glucosa, detectado por primera vez durante el embarazo. La Asociación Americana de Diabetes (ADA) advierte de la imprecisión de esta definición, puesto que el aumento de la prevalencia de obesidad y el hecho de no analizar en la práctica clínica a mujeres en edad reproductiva puede infraestimar casos de DM preexistente (1).

1.4.3.3. Diabetes *mellitus* secundaria

Este grupo engloba entidades primarias que pueden manifestar de forma secundaria hiperglucemia, como afectación local del páncreas exocrino (pancreatitis, neoplasias...), endocrinopatías sistémicas, infecciones, toxicidad por fármacos, síndromes genéticos que asocian DM con frecuencia o síndrome del hombre rígido que presenta anticuerpos anti-receptor de insulina (2).

1.5. COMPLICACIONES

1.5.1. DISFUNCIÓN VASCULAR

Las células endoteliales constituyen la monocapa interna semipermeable que reviste arterias, venas, capilares y vasos linfáticos, jugando un papel esencial en la regulación del tono vascular. Este control está mediado por factores relajantes derivados del endotelio como el óxido nítrico (NO), prostaciclina y factores hiperpolarizantes derivados del endotelio (23–25).

- El NO es un radical libre sintetizado a partir del aminoácido L-arginina por las NO sintasas (NOS), reacción que depende de la presencia de cofactores como la tetrahidrobiopterina. El NO se libera en respuesta a fuerzas de cizallamiento producidas por el propio flujo sanguíneo y difunde rápidamente a las células del músculo liso vascular, donde activa la guanilato ciclasa, incrementando el guanosin monofosfato cíclico (GMPc). Este aumento del GMPc produce la relajación de las fibras y, en consecuencia, vasodilatación.
- La prostaciclina es sintetizada por la ciclooxigenasa (COX) a partir de ácido araquidónico (ARA). Se libera en respuesta al estrés vascular, así como al neurotransmisor acetilcolina, y actúa incrementando el AMPc en el músculo liso y las plaquetas. Facilita la liberación de NO por las células endoteliales e inhibe, actuando conjuntamente con el NO, la actividad plaquetaria.
- Los factores hiperpolarizantes derivados del endotelio son un conjunto de moléculas que pueden producir la hiperpolarización de las células del músculo liso en un proceso mediado por depleción del potasio (K^+) intracelular. Entre ellas se encuentran el propio K^+ , el citocromo P450, la lipooxigenasa, ciertos ROS como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o el AMPc.

1.5.2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA DIABETES

En las células endoteliales la glucosa penetra por difusión. En condiciones de hiperglucemia, tiene lugar un aumento de la glucosa captada, incrementando la actividad de las vías implicadas en el desarrollo de las complicaciones de la DM (23,25–28):

- Vía de los polioles: la aldosa reductasa, enzima limitante de esta vía, incrementa la transformación de glucosa en sorbitol y de sorbitol a fructosa al aumentar la concentración del sustrato (figura 1). Este proceso se acompaña de consumo de energía en forma de ATP y de la oxidación de NADPH a $NADP^+$, lo cual compromete la síntesis de NO; de citocromo P450 y la actividad antioxidante de la glutatión (GSH) reductasa; y, por último, estimula la reducción de NAD^+ a NADH, alterando el ratio $NADH/NAD^+$ intracelular (25).
- Activación de la proteína kinasa C (PKC): el exceso de glucosa promueve la síntesis de diacilglicerol, que lleva a la activación de la PKC. Paralelamente al aumento de NADH

resultado de la vía de los polioles, se produce la activación de oxidasas dependientes de NADH (NOX), dando lugar a la producción de anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$). El $O_2^{\cdot -}$ actúa propiamente como vasoconstrictor, pero además secuestra el NO para formar peroxinitrito ($ONOO^-$), reduciendo su biodisponibilidad y promoviendo la disfunción endotelial (figura 1) (23,29).

- Productos finales de glicación avanzada (AGE): en condiciones de hiperglucemia aumenta la cantidad de metilglioxal, producto de la glucólisis. Es un componente altamente reactivo, que participa en el proceso de unión no enzimática de glucosa a aminoácidos, lípidos y ácidos nucleicos, para la formación de los denominados AGE. En condiciones fisiológicas, el metilglioxal es detoxificado por el sistema de glioxalasa. Se ha demostrado que la inactivación de la glioxalasa I en presencia de $ONOO^-$ induce el acúmulo de metilglioxal y favorece la producción de ROS a nivel del retículo endoplasmático. Por otra parte, los AGE, al unirse a sus receptores (RAGE), activan el factor de transcripción nuclear κB (NF- κB), que induce la expresión de genes que codifican moléculas como la endotelina-1, la E-selectina, el factor tisular, la molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1), la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), las interleucinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6), el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y más RAGE (figura 1). Estas moléculas favorecen el inicio de un estado proinflamatorio y procoagulante (25,30).
- Vía de la hexosamina: la mayor disponibilidad de sustrato aumenta la transformación de fructosa-6-fosfato en glucosamina-6-fosfato. La glucosamina-6-fosfato pasa a uridin-5-difosfato-N-acetilglucosamina, que se utiliza como precursor de componentes glicosados: glicosaminoglicanos, proteoglicanos, glicoproteínas y glicolípidos, gracias a la acción de la enzima N-O-Acetil-glucosamina transferasa (figura 1). Al igual que la vía de los polioles, esta actividad se acompaña de una depleción de NADPH y por tanto de un defecto en la actividad de la GSH reductasa (27).
- Estrés oxidativo: como se observa en la figura 1, las diferentes vías metabólicas contribuyen a la formación de ROS e interfieren en la actividad reguladora del NO. En condiciones fisiológicas, el exceso de radicales libres es neutralizado por el sistema antioxidante endógeno, respuesta promovida por el factor nuclear derivado de eritroide 2 (NRF2) (28). El NRF2 se localiza, en condiciones fisiológicas, inhibido en el citoplasma, formando un complejo con las proteínas Keap1 y Cullina3. Como se representa en la figura 2, el estrés oxidativo produce modificaciones conformacionales de este complejo, que liberan el NRF2 para su traslocación al núcleo celular, donde se une a elementos de respuesta antioxidante (ARE) para dar lugar a la expresión de los genes que codifican, entre otras, las enzimas NADPH deshidrogenasa, superóxido dismutasa (SOD), catalasa, GSH peroxidasa, GSH

Introducción

reductasa y GSH S-transferasa (28). Este sistema es capaz de neutralizar inicialmente el exceso de ROS. Sin embargo, en condiciones de hiperglucemia crónica, se ha demostrado en modelos animales una disminución en los niveles de NRF2, una expresión aumentada de la proteína inhibitoria Keap1 con una disminución en la traslocación nuclear del factor (31–33), suponiendo una menor capacidad para contrarrestar el daño oxidativo (34,35).

La disregulación vascular, la inflamación y el ambiente procoagulante constituyen el inicio de las complicaciones macro y microvasculares características de la DM, responsables de la morbi-mortalidad asociada a la enfermedad (25).

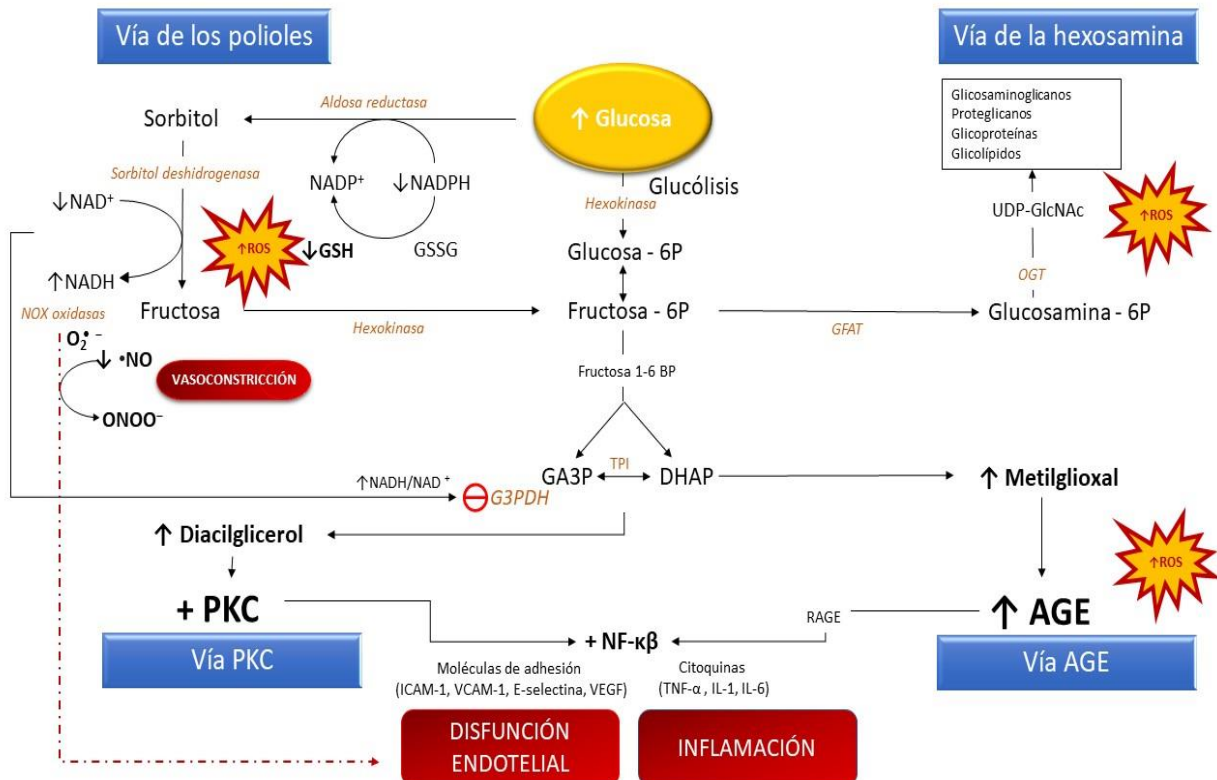


Figura 1. Interacción entre las vías metabólicas implicadas en el daño producido por la hiperglucemia (creación propia).

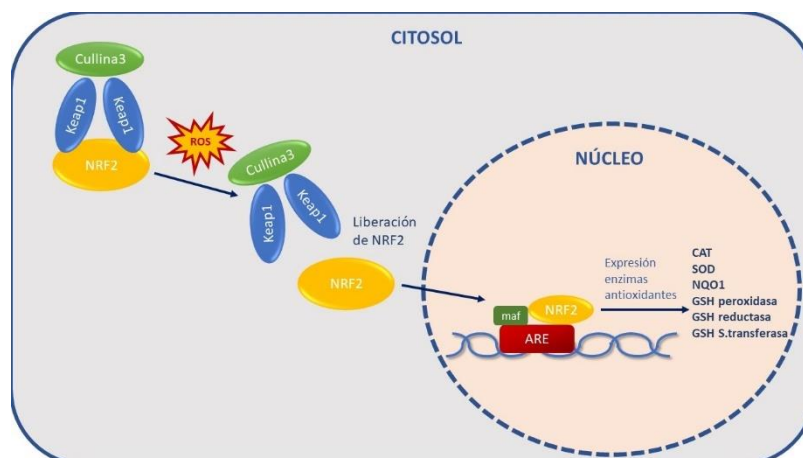


Figura 2. Protección endógena frente al estrés oxidativo. Liberación de NRF2 (creación propia).

1.5.3.DISFUNCIONES A NIVEL MACROVASCULAR

Las complicaciones a nivel macrovascular en la DM se derivan del proceso de aterosclerosis, que supone la pérdida de elasticidad vascular con menor vasodilatación, reducción de la luz de los vasos favoreciendo isquemia y, por otra parte, fenómenos tromboembólicos por inestabilidad y rotura de las placas de ateroma (36).

El fenómeno aterogénico es consecuencia del ambiente proinflamatorio derivado de la disfunción endotelial, junto con una alteración del metabolismo lipídico, en el que tiene lugar la captación y modificación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) circulantes (36).

Como se observa en la figura 3, las moléculas de LDL son secuestradas por proteoglicanos de la matriz a nivel subendotelial, donde sufren un proceso de oxidación. Estas partículas son altamente inflamatorias y estimulan, paralelamente a la disfunción endotelial, la expresión de moléculas de adhesión vascular, factores de crecimiento (VEGF, factor de crecimiento de fibroblastos y factor de crecimiento derivado de plaquetas), citocinas inflamatorias (IL-1, TNF- α) y quimiocinas como la proteína quimioatrayente de monocitos 1. En este contexto, tiene lugar la adhesión de monocitos circulantes, su internalización al espacio subendotelial y diferenciación a macrófagos. Las moléculas LDL son fagocitadas por los macrófagos, generando células espumosas, que almacenan los depósitos lipídicos (11). Células del músculo liso de la capa media proliferan en respuesta a factores de crecimiento y migran a la capa interna, donde son capaces de sintetizar y liberar componentes de matriz extracelular, iniciando la formación de la placa de ateroma. Más adelante, si se producen fisuras o ulceraciones en la placa, se liberan moléculas procoagulantes como el factor tisular y el factor de Von Willebrand, que median la adhesión de plaquetas y formación de trombos, pudiendo dar lugar a infarto de miocardio, ictus o isquemia focal (25,37).

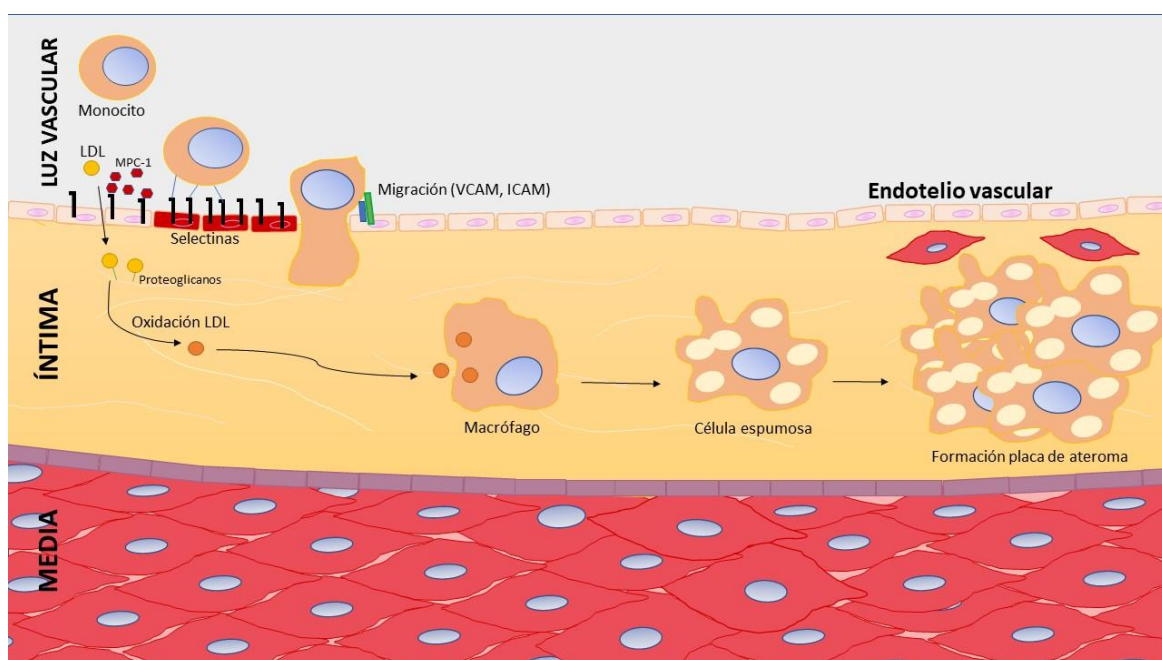


Figura 3. Proceso de formación de la placa de ateroma (creación propia).

1.5.4. DISFUNCIONES A NIVEL MICROVASCULAR

La microvasculatura presenta una estructura anatómica consistente en una monocapa endotelial con uniones estrechas entre células, pericitos y una membrana basal. En la retina, nervios periféricos y cerebro forma parte de la barrera hemato-retiniana, barrera hematoneural y hematoencefálica. Son tejidos con escaso almacenamiento energético, que precisan de un alto aporte de oxígeno y glucosa para ejercer su metabolismo oxidativo. La disfunción endotelial consecuencia de la hiperglucemia (25) deriva en alteraciones estructurales de la microvasculatura que producen hiperpermeabilidad vascular, pérdida de pericitos, disfunción y pérdida de podocitos en el riñón, e inducción de inflamación y angiogénesis (38).

2. RETINOPATÍA DIABÉTICA

2.1. EPIDEMIOLOGÍA

2.1.1. A NIVEL GLOBAL

Según el último informe del Grupo de Expertos en Pérdida de Visión (acrónimo en inglés VLEG) publicado en *The Lancet* en 2021, la retinopatía diabética (RD) ocupa el quinto lugar en el ranking de causas de empeoramiento visual y ceguera a nivel global. EL VLEG define la ceguera como agudeza visual (AV) inferior a 3/60 (0,05) o menos de 10° de campo visual alrededor del punto de fijación central, y el empeoramiento visual moderado-severo como una AV inferior a 6/18 (0,3) hasta un límite inferior de 3/60 (0.05) (39).

La AV depende de varios factores: la transparencia de medios a nivel ocular (córnea, humor acuoso, cristalino, humor vítreo), una adecuada corrección óptica en caso de defecto refractivo y de la integridad de las vías nerviosas que transducen las señales luminosas al córtex occipital. Los fotorreceptores retinianos captan los estímulos luminosos, y la AV a este nivel depende del buen estado anatómico y funcional de la fovea (figura 4), parte central de la mácula retiniana, donde se concentra la mayor densidad de fotorreceptores (40). Es en la mácula donde se produce una de las complicaciones de la RD, el edema macular diabético (EMD), principal responsable de pérdida visual en los pacientes con DM.

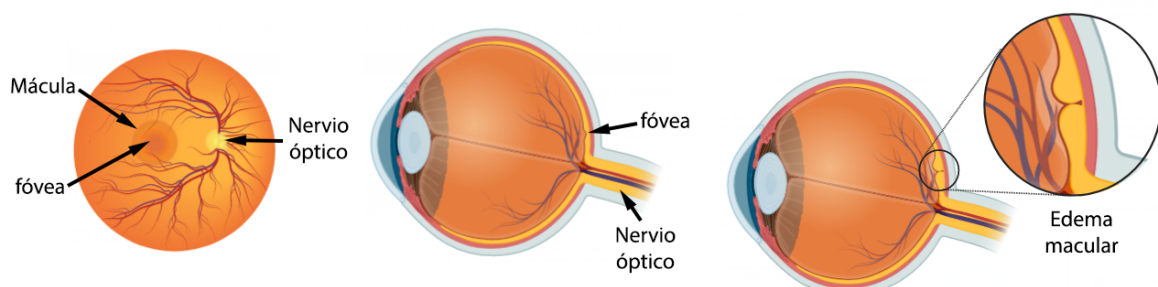


Figura 4. Esquema anatómico de la retina y localización de la fovea, centro de la mácula retiniana, así como, representación del edema macular (creación propia).

Un hecho alarmante es que, a pesar de que la prevalencia de ceguera y pérdida de visión ha disminuido a nivel mundial, la RD ha sido la única enfermedad ocular que ha aumentado en términos de prevalencia cruda para todas las edades entre 1990-2020. Además, la ceguera por diabetes ha incrementado en un 10,5% y el empeoramiento visual moderado-severo en un 3,3% (41).

Existen diferencias considerables entre poblaciones mundiales, siendo el África subsahariana, el área del Sudeste Asiático y Oceanía las mayores contribuyentes a las cifras de pérdida de visión moderada-severa (42), como se muestra en la figura 5:

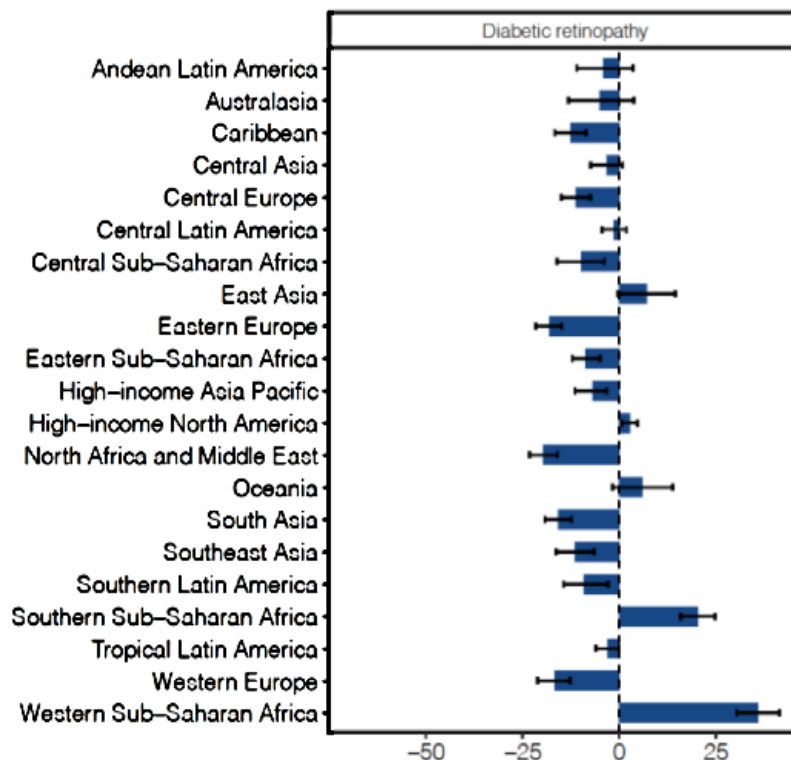


Figura 5. Cambio en prevalencia estandarizada por edad del empeoramiento visual moderado-severo entre 1990 y 2020 en relación a la RD, siendo el África subsahariana, Oceanía y el Este asiático las mayores contribuyentes a la prevalencia global (43).

Respecto a la incidencia, si tomamos como referencia el estudio inglés UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*) (43), que siguió a una población de 1919 sujetos con DM2 durante 6 años, el 22% de los pacientes desarrolló RD, y de los individuos que ya presentaban la complicación al inicio, el 29% progresó 2 estadios o más según la clasificación ETDRS, desarrollada a partir del estudio *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* en 1991, que se detallará en el apartado 2.4 (44).

2.1.2. SECUELAS VISUALES

En el estudio publicado en 2010 por Yau *et al.*, la prevalencia global de RD de cualquier tipo entre diabéticos se estimó en un 34,6%, siendo 6,96% para RD proliferativa (RDP), 6,8% para EMD, y 10,2% para visión tratable por RD. Estas cifras significaban, en resumen, que

aproximadamente un 30% de pacientes diabéticos tendrían algún grado de RD, y que un 10% necesitaba tratamiento oftalmológico activo (45).

Una década después, en un metanálisis publicado en 2021 por Ling Teo *et al.*, las cifras son ligeramente más optimistas, reportando porcentajes del 22,27% para RD de cualquier tipo, 6,17% para visión tratable por RD, y 4,07% para EMD (46).

2.1.3. ESPAÑA

En el año 2008, Vila *et al* publicaron una revisión epidemiológica que comprendía estudios realizados en España entre 1978 y 2005, reportando una prevalencia de RD de alrededor del 40% entre la población diabética, un porcentaje de entre 4 al 6% de RDP, y de entre 1.4 a 7,9% de EMD (47).

En un metanálisis europeo publicado por Li *et al.* en 2019, que recogía 35 estudios epidemiológicos, 14 de ellos realizados en España, se estableció una prevalencia del 25,7% de RD para todos los tipos de diabetes, siendo este porcentaje más alto para DM1 (54,4%) en comparación con la DM2 (25%). En este estudio, se reportó una prevalencia de RDP del 2.2% y de EMD del 3.7% (48).

En la tabla 1, se muestran porcentajes de RD de cualquier tipo, RDP y EMD referidos por varios estudios epidemiológicos más recientes, realizados en los últimos 10 años en España, con muestras de pacientes procedentes de los sistemas de cribado del Sistema Nacional de Salud.

Tabla 1. Prevalencia cruda de RD, RDP y EMD en la población diabética española.

Estudio	Año	Región	n	Prevalencia RD	Prevalencia RDP	Prevalencia EMD
Martínez Rubio <i>et al.</i> (49)	2012	Comunidad Valenciana	2435	17,90%	2,29%	4,82%
Alonso Morán <i>et al.</i> (50)	2014	País Vasco	149015	7,2%	—	—
Romero Aroca <i>et al.</i> (51)	2014	Cataluña	6125	8,99%	0,13%	2,49%
Rodríguez Poncelas <i>et al.</i> (52)	2015	Cataluña	108723	12,3%	0,36%	0,18%
Rodríguez Villa <i>et al.</i> (53)	2016	Asturias	394	12,1%	—	—
Castillo Otí <i>et al.</i> (54)	2019	Cantabria	442	8,56%	1,84%	2,30%

Las cifras de la última década, más bajas que las publicadas por Vila *et al.* en 2008, estarían en concordia con los resultados publicados por el metanálisis europeo de 2019 y se podrían relacionar con la mejora en los sistemas de cribado y tratamiento de la diabetes. No obstante, los resultados se obtienen de sistemas de *screening*, por tanto, la clasificación del grado de retinopatía o la presencia de EMD tendrían que analizarse con precaución, dado que existe variabilidad en el personal evaluador de las imágenes de cribado, y también en cuanto a que el EMD puede no ser detectado con precisión sin una tomografía de coherencia óptica (OCT).

En términos de incidencia, el estudio español publicado por el grupo de Romero-Aroca *et al.* en 2017, que siguió durante 9 años a 366 sujetos con DM1 y 15030 con DM2, estableció unos porcentajes de incidencia anual de RD de $15,16 \pm 2,19\%$ en DM1 y de $8,37 \pm 2,19\%$ en DM2. Si analizamos el compromiso visual, la incidencia anual reportada de RD con afectación visual tratable fue de $5,77 \pm 1,21\%$ en DM1, y del $2,64 \pm 0,15\%$ en DM2. Más equiparables entre grupos fueron las cifras de incidencia anual de EMD, cuyos porcentajes fueron de $2,68 \pm 0,38\%$ al año en DM1 y de $2,19 \pm 0,18\%$ en DM2 (55).

El aumento de la esperanza de vida y con ello de la estimación futura de pacientes diabéticos, requieren reforzar los programas de cribado y estrategias de manejo existentes, así como de impulsar programas de investigación dirigidos hacia nuevas dianas moleculares que puedan facilitar un tratamiento preventivo antes de que la enfermedad aparezca.

2.2. FACTORES DE RIESGO

El estudio prospectivo UKPDS analizó los factores de riesgo asociados a la incidencia y progresión de la RD (43):

- HbA1c: Se determinó una fuerte asociación, estableciendo un riesgo de incidencia de 1,4 para individuos con cifras entre 6,2-7,4% de HbA1c y de 2,5 para sujetos con cifras $\geq 7,5\%$. En aquellos pacientes que presentaban RD al inicio, el riesgo de progresión fue de 4,1 para sujetos con cifras entre 6,2-7,4% y de 8,1 para aquellos con HbA1c $\geq 7,5\%$.
- Hipertensión arterial (HTA): se encontró una asociación estadísticamente significativa respecto a la incidencia de RD, pero no para la progresión, con un riesgo relativo de aparición de RD de 1,5 en sujetos con cifras entre 125-139 mmHg, y de 2,8 en pacientes con cifras ≥ 140 mmHg.
- Consumo de tabaco: en este estudio, el tabaco se asoció a una incidencia y progresión reducida.
- Edad y sexo: Las mujeres presentaron un riesgo relativo de progresión menor respecto a varones. No se determinó la edad como factor de riesgo de incidencia, pero sí se comprobó

una mayor progresión de la RD en sujetos de mayor edad, con un riesgo relativo de 1,6 en individuos entre 50-57 años y de 2,1 para mayores de 58.

En el estudio de incidencia de Romero-Aroca *et al.* comentado anteriormente, además de establecer las cifras de HbA1c e HTA como factores de riesgo, se encontró una asociación significativa con los niveles de LDL y la cifra de filtración glomerular estimada. La duración de la DM también fue significativa, y mayor en individuos con DM1, atribuida al debut más temprano de la enfermedad, e inicio con mayores cifras de HbA1c en esta muestra respecto al grupo de DM2 (55).

2.3. FISIOPATOLOGÍA

La RD debe considerarse como una entidad multifactorial. Su desarrollo es consecuencia directa de los niveles prolongados de hiperglucemia, aunque está influenciada por los factores de riesgo mencionados previamente (45,56–58). Desde una perspectiva metabólica, el ambiente de estrés oxidativo exacerbado se ha considerado como factor crucial en el desarrollo de la RD, interactuando como nexo común entre el resto de las vías metabólicas activadas por la hiperglucemia: vía de los polioles, la producción de AGEs, la activación PKC y de la vía de la hexosamina. Como se ha introducido en el apartado 1.5.2, estas vías contribuyen conjuntamente a aumentar la producción de ROS (59–61). Aunque estas moléculas se producen continuamente para la función celular normal, son neutralizadas a través de los sistemas antioxidantes fisiológicos. No obstante, esta neutralización se encuentra alterada en condiciones de hiperglucemia, y la acumulación de ROS induce alteraciones a nivel molecular que afectan notablemente la funcionalidad celular. Se ha demostrado que factores de riesgo como la HTA aumentan el estrés oxidativo inducido propiamente por la hiperglucemia, contribuyendo a la exacerbación del daño molecular (62).

El impacto del estrés oxidativo en la diabetes no es temporal, por ejemplo la disfunción mitocondrial asociada a dicho estrés implica la exacerbación prolongada de la producción de ROS (63,64). La glicación de proteínas de la cadena respiratoria y la lesión del ADN mitocondrial producen secuelas a largo plazo (65). De esta manera se explica que en tenga lugar la aparición de complicaciones diabéticas incluso tras haber logrado un control glucémico adecuado. Este fenómeno se ha denominado memoria metabólica (66).

Las alteraciones metabólicas producidas por la hiperglucemia y un aumento de las ROS dan lugar a disfunción celular y apoptosis secuencial y, con ello, los fenómenos que producen los signos clínicos observados en la RD (67):

- **Inflamación:** Se han reportado niveles más altos de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α) en muestras vítreas de humanos (68,69), correlacionándose con la gravedad de la RD (70). Bajo este estímulo proinflamatorio, las células endoteliales aumentan la

expresión de moléculas de adhesión vascular e intracelular (ICAM-1 y VCAM-1) y E-selectina, permitiendo la adhesión de leucocitos a las paredes celulares endoteliales, con desarrollo de leucostasis, factor determinante para el daño microvascular (71,72). Se ha demostrado un aumento de los niveles de ICAM-1 y VCAM-1 en muestras de sangre diabética (73), y la inhibición de ICAM-1 en cultivos de células endoteliales de retina de humanos diabéticos ha sido capaz de reducir la apoptosis celular. El uso del antioxidante berberina consiguió disminuir los niveles de ICAM-1 en dichos cultivos y fue capaz de reducir la pérdida celular (74). Además de la disfunción endotelial, la activación de la microglía parece ser un evento precoz en la RD y puede exacerbar la secreción de mediadores inflamatorios (75,76).

- Neurodegeneración: Los fenómenos de apoptosis celular parecen afectar de manera más precoz a las células neuronales que a las vasculares. Estudios mediante electroretinograma (ERG) han demostrado la presencia de daño neuronal existente precediendo a los cambios microvasculares clínicos de RD. El análisis de las capas retinianas mediante OCT ha demostrado un adelgazamiento de la capa de células ganglionares en humanos diabéticos (77–79). Con respecto al papel del estrés oxidativo en la neurodegeneración, un estudio que evaluó mediante ERG a ratones con diabetes inducida, antes y después de la administración de antioxidantes, verificó el papel protector de la luteína tanto en la función visual como en los cambios histológicos neuronales (78).
- Microvasculopatía: Las paredes de los capilares de la retina presentan una capa externa de pericitos, una membrana basal y una capa interna de células endoteliales. En condiciones de hiperglucemia, se produce la pérdida de pericitos (80), permitiendo dilataciones microvasculares focales, dando lugar al primer signo oftalmoscópico visible de RD: los microaneurismas. El engrosamiento de la membrana basal por la deposición de desechos y la disfunción de las células endoteliales, conducen a la alteración de barrera hematorretiniana externa, produciendo un aumento de la permeabilidad vascular, con formación de exudados y hemorragias (81). Los signos descritos están representados en la figura 6 (82).

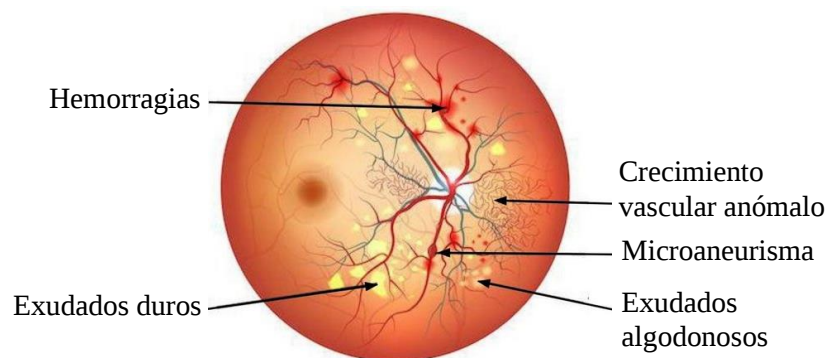


Figura 6. Signos clínicos de RD derivados de la alteración vascular endotelial. Figura modificada a partir de Bygari R.et al (82).

La leucostasis derivada de una respuesta inflamatoria está involucrada en el deterioro de las células endoteliales y da lugar a oclusiones microvasculares (72). La hipoxia posterior promueve la activación del factor de transcripción inducible por hipoxia 1 (HIF-1), que estimula la secreción del VEGF, y por lo tanto, la formación de neovascularización (NV) (83).

2.4. CLASIFICACIÓN

El estudio ETDRS estableció en 1991 una primera clasificación consensuada de la RD, basándose en los diferentes hallazgos clínicos encontrados en la exploración fundoscópica (44). Se llevó a cabo entre 1980 y 1985, reclutando a 3711 pacientes con RDNP en ambos ojos. Se establecieron 2 grupos de análisis, en uno se realizaba fotocoagulación temprana, y en el otro se difería la fotocoagulación, llevando a cabo un seguimiento estrecho, y realizando tratamiento con láser en caso de aparición de RDP. Cada uno de los ojos de cada paciente fue asignado al azar a cada uno de los grupos de estudio. El seguimiento en los pacientes del grupo no tratado permitió observar la evolución clínica de la RD, estableciendo la escala de severidad (84). Esta clasificación se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de RD según el estudio ETDRS de 1991 para ojo individual.

Nivel	Severidad	Definición	Retinografía
10	Retinopatía ausente	Sin signos de RD	
20	RDNP muy leve	Sólo microaneurismas (flecha roja)	
30	RDNP leve	Exudados duros, exudados algodonosos, y/o hemorragias retinianas leve	
43	RDNP moderada	43A Hemorragias retinianas moderadas en 4 cuadrantes (flechas rojas) o severas en 1 cuadrante 43B IRMA (<i>intraretinal microvascular abnormality</i>) leves en 2 ó 3 cuadrantes	

47	RDNP moderada	47A Ambas características del nivel 43 47B IRMA en 4 cuadrantes 47C Hemorragias retinianas severas en 2 ó 3 cuadrantes 47D Arrosariamiento venoso en 1 cuadrante	
53	RDNP severa	53A ≥ 2 características del nivel 47 53B Hemorragias severas en 4 cuadrante 53C IRMA moderados-severos en al menos 1 cuadrante 53D Arrosariamiento venoso en al menos 2 cuadrantes 53E ≥ 2 características de los niveles 53 A-D	
61	RDP leve	Neovasos < 0.5 área de disco en 1 o más cuadrantes (flecha roja)	
65	RDP moderada	65A Neovasos > 0.5 área de disco en 1 o más cuadrantes 65B Neovasos del disco óptico	
71,75	RDP de alto riesgo	Neovasos de disco o en otra parte con hemorragia vítrea o hemorragia preretiniiana o hemorragia vítrea o preretiniiana cubriendo ≥ 1 área de disco	
81,85	PDR avanzada	Fondo cubierto parcialmente por hemovítreo y neovasos no clasificables o desprendimiento de retina con afectación macular	

Por otra parte, también se definió el término EMD clínicamente significativo (EMCS), como aquél que afectaba al centro de la mácula y lo clasificó en 3 grados según los hallazgos en la exploración fundoscópica, tal como se muestra en la tabla 3 (44).

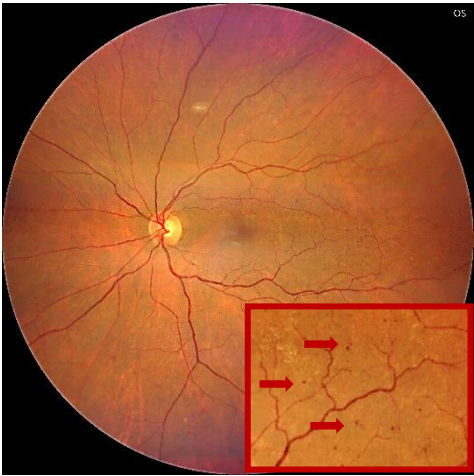
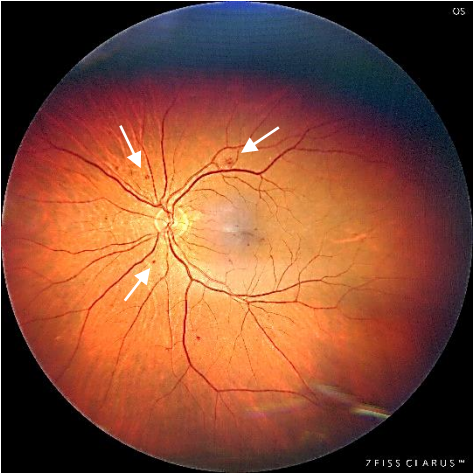
Tabla 3. Clasificación del EMCS según el estudio ETDRS.

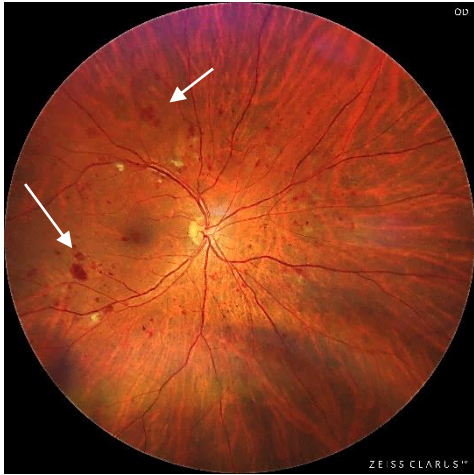
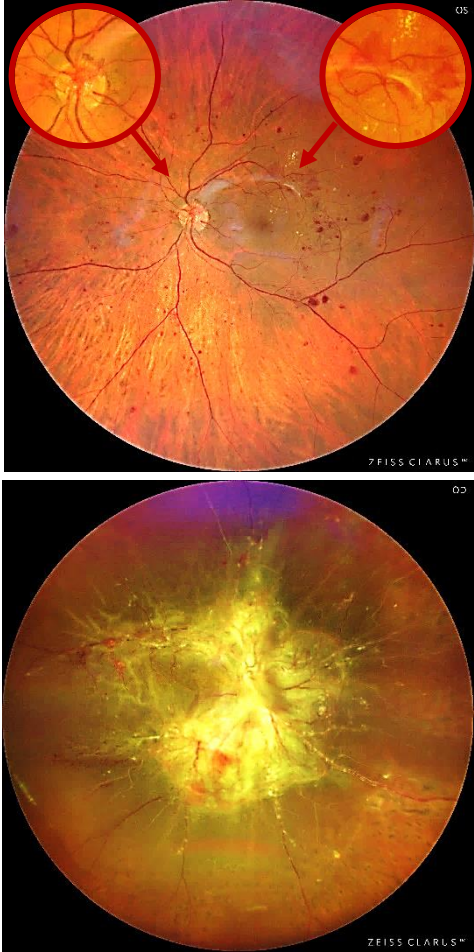
Nivel EMCS	Hallazgos fundoscópicos
<i>Grado 1</i>	Engrosamiento a menos de 500 μ m del centro de la mácula
<i>Grado 2</i>	Exudados duros con engrosamiento de retina adyacente, a menos de 500 μ m del centro de la mácula
<i>Grado 3</i>	Área de engrosamiento retiniano de ≥ 1 área de disco, que se encuentre a menos de 1 diámetro de disco del centro de la mácula

La escala que propuso el ETDRS (tabla2) es muy precisa, y es ampliamente utilizada en el campo de la investigación, ya que es más minuciosa en cuanto a los detalles observados en la exploración fundoscópica. No obstante, presenta cierta complejidad en cuanto a su aplicación en la práctica clínica diaria. Es por ello que una década después, el grupo GDRPG (acrónimo en inglés para *Global Diabetic Retinopathy Project Group*), propuso en 2002 la denominada *International Clinical Disease Severity Scale* (ICDSS) (85), para simplificar el manejo de la RD en la práctica rutinaria, reduciendo la clasificación a 5 estadios, tal como se muestra en la tabla 4. Es interesante mencionar esta escala, porque desde su puesta en marcha en 2002 es la clasificación predominante en el ámbito clínico, y en base a sus estadios disponemos de datos más actualizados sobre el riesgo de progresión hacia RDP desde estadios tempranos de RD.

En el año 2017, el grupo “UK DR EMR USERS”, acrónimo para “Usuarios de los Registros Médicos electrónicos de Retinopatía Diabética en el Reino Unido”, publicó los resultados de un estudio de cohortes multicéntrico, que analizó el riesgo a 5 años de evolucionar a RDP dependiendo del estado basal de RD en el momento del diagnóstico, en base a la ICDSS. Se analizaron datos de las visitas oftalmológicas iniciales y sucesivas de 50254 pacientes diabéticos, entre 2007 y 2014. Este estudio estableció unos porcentajes de riesgo de desarrollar RDP del 2.2% para ausencia de RD al inicio, 13% para RDNP leve basal, 27,2% en el caso de RDNP moderada y 45,5% si el estadio inicial es RDNP severa (86). Se han añadido estos datos a la tabla 4.

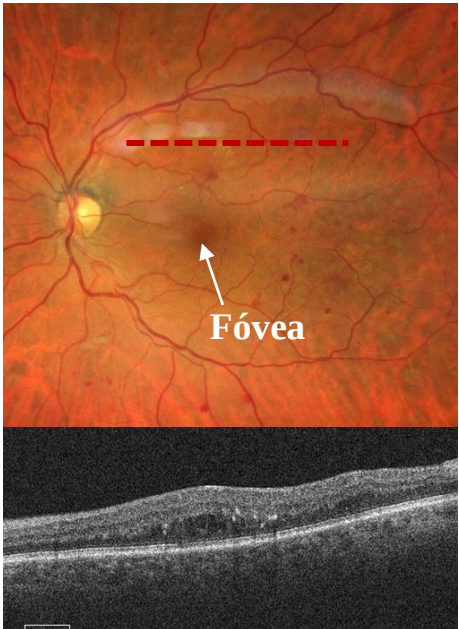
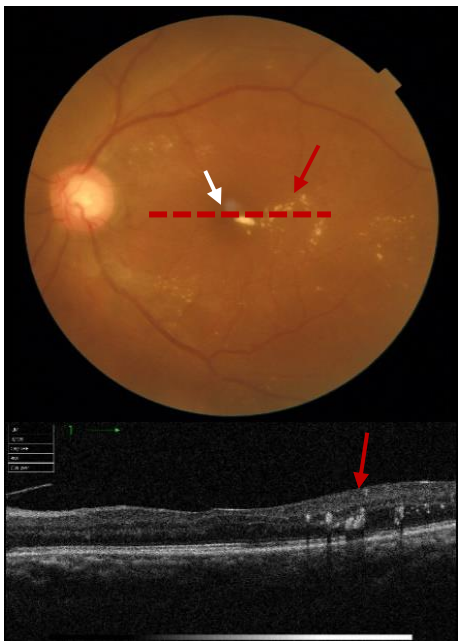
Tabla 4. Clasificación ICDSS del grado de RD consensuada por el GDRPG en 2002.

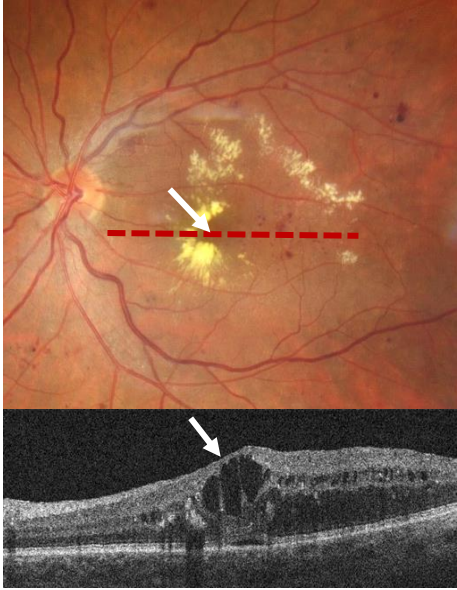
Nivel	Signos oftalmoscópicos	Retinografía	Riesgo progresión a RDP en 5 años UK 2017 (86)
No RD aparente	Ausencia de signos clínicos		2,2%
RDNP			
Leve	Sólo microaneurismas (flechas rojas)		13%
Moderada	Microaneurismas + hemorragias puntiformes (flechas blancas), exudados duros o algodinosos		27,2%

Severa	Hemorragias intraretinianas > 20/cuadrante (flechas blancas) Arrosamiento venoso ≥ 2 cuadrantes IRMA ≥ 1 cuadrante No signos RDP		45,5%
RDP			
	NV (en las imágenes ampliadas superiores) hemovítreo, hemorragia preretiniana o desprendimiento de retina traccional. En las imágenes se puede observar RDP moderada (arriba) y RDP avanzada con desprendimiento de retina (abajo).		

El GDRPG clasificó asimismo el EMD, considerado como engrosamiento retiniano o presencia de exudados duros en el polo posterior, de manera independiente a la RD de fondo, dado que es un hallazgo que podía estar presente en cualquier estadio de la enfermedad (86). Los diferentes niveles se muestran en la tabla

Tabla 5. Clasificación del EMD según la ICDSS.

Nivel	Hallazgos oftalmoscópicos	Retinografía y OCT macular
EMD	Engrosamiento retiniano o exudados duros en el polo posterior	
Leve	Distantes del centro de la mácula La línea roja discontinua se corresponde con la imagen inferior, un corte macular de tomografía de coherencia óptica (OCT) superior a la fovea.	
Moderado	Próximos al centro macular sin afectación foveal La línea roja discontinua representa el corte de la OCT macular que se ve en la parte inferior. La flecha blanca indica la fovea. Las flechas rojas tanto en la retinografía como en la imagen de OCT inferior indican un área con exudados duros y edema.	

Severo	Compromiso foveal (La línea roja discontinua representa el corte de la OCT macular que se ve en la parte inferior. Las flechas blancas indican la fóvea)	
--------	--	--

2.5. DIAGNÓSTICO

El aumento exponencial de la DM a nivel mundial ha forzado el desarrollo de herramientas diagnósticas que puedan detectar la aparición de RD de manera rápida y efectiva. Tradicionalmente, la mayoría de los programas de cribado de RD se han basado en fotografías del fondo de ojo, con cámaras midriáticas o no midriáticas. Actualmente, la tecnología ha dado un salto cuantitativo y cualitativo significativo, con una importante mejora en términos de accesibilidad y precisión diagnóstica. La toma de imágenes fundoscópicas mediante la utilización de *smartphones*, OCT y técnicas de campo ultra amplio, en conjunto con *softwares* revolucionarios de inteligencia artificial, ha abierto las puertas a una nueva era en el diagnóstico temprano y seguimiento de pacientes con RD.

2.5.1. SISTEMAS DE IMAGEN

- Retinografía (figura 7): Los sistemas digitales actuales de fotografía fundoscópica son una alternativa fiable a las fotografías de 7 campos tradicionales utilizadas en el marco de los estudios ETDRS (87). Los retinógrafos actuales presentan resoluciones en el rango de 20 megapíxeles, por encima de la resolución mínima de 2-3 megapíxeles necesaria para distinguir un microaneurisma aislado (88). Varios ensayos han demostrado que las cámaras midriáticas presentan mayor sensibilidad y especificidad para la detección de RD comparados con los retinógrafos no midriáticos (88). Sin embargo, debido a consideraciones prácticas y logísticas, la mayoría de los programas de cribado utilizan retinógrafos no midriáticos. Programas más modernos utilizan una única fotografía de 45° o incluso dos ó tres fotografías multi-campo (89).



Figura 7. Retinografía convencional de cribado que muestra 45° de la retina.

- Imagen de campo ultra amplio (figura 8): Se trata de otra modalidad para realizar cribado de RD, especialmente apropiado para detectar lesiones isquémicas periféricas y RDP (90). Las imágenes de campo ultra amplio alcanzan el 80% de la superficie retiniana y detectan la RD con un 99% de sensibilidad y 97% de especificidad (91).

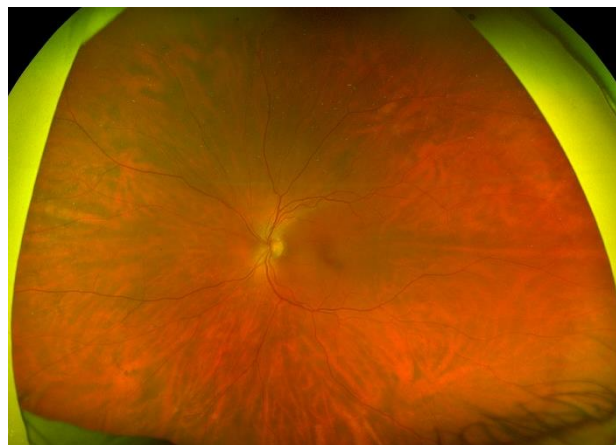
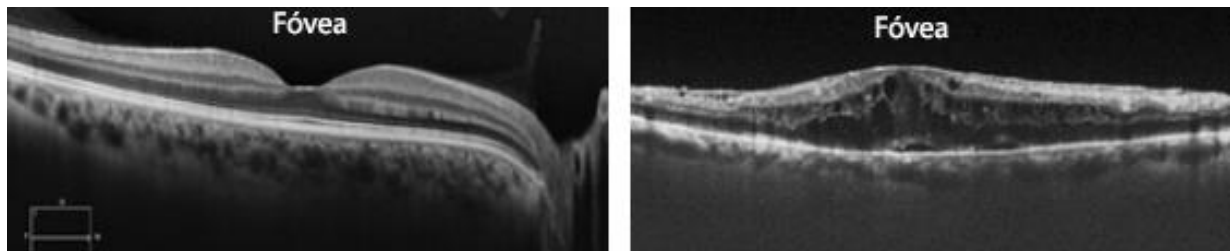


Figura 8. Retinografía de campo ultraamplio que muestra 220° retinianos.

- Tomografía de coherencia óptica (figura 9): Aunque la retinografía es una herramienta de diagnóstico útil, presenta una baja precisión para detectar EMD por su naturaleza bidimensional y porque no puede medir de manera fiable el grosor retiniano. El programa nacional de cribado inglés para la detección de EMD se basa en 3 signos fotográficos: en primer lugar, la presencia de exudados foveales, a menos de un área de disco medido desde la fovea; en segundo lugar, el hallazgo de exudados circinados en la mácula; y tercero, la presencia de microaneurismas o hemorragias que se encuentren dentro de un área de disco desde el centro foveal (92). Sin embargo, este método presenta limitada utilidad diagnóstica. Los métodos de fotografía fundoscópica ofrecen un 86,6% de falsos positivos en la detección de EMD, de acuerdo a un estudio transversal (93). Es por esta razón que la OCT macular es

una mejor opción para evaluar la mácula. Varios estudios han investigado el coste-efectividad y la eficiencia de utilizar la OCT macular en programas de detección de EMD (94). La OCT permite un análisis detallado de todas las capas retinianas. Por ejemplo, cuantifica el adelgazamiento de la capa de fibras ganglionares y fibras nerviosas debido al proceso neurodegenerativo que tiene lugar en los pacientes con RD. También puede detectar la desorganización de las capas retinianas internas maculares, signo acuñado en inglés DRIL (*disorganization at the macular internal retinal layer*), como biomarcador de empeoramiento visual (95); así como la integridad de los conos y del epitelio pigmentario en la parte externa



de la retina.

Figura 9. Imagen de tomografía de coherencia óptica. A la izquierda, perfil macular normal, frente a la imagen de la derecha, en la que se observa EMD.

- Angiografía por OCT (OCT-A) (figura 10): Es una nueva técnica de imagen no invasiva capaz de formar un mapa de la circulación retiniana utilizando algoritmos que detectan el movimiento de los hematíes a su paso por los vasos retinianos. Esta técnica puede mostrar microaneurismas, NV o áreas isquémicas, pero solo en el polo posterior, sin posibilidad de valorar la periferia (96). Describe la anatomía y el flujo sanguíneo del área avascular foveal y los plexos retinianos superficial y profundo de la mácula (96,97). La OCT-A puede medir además la progresión de la RD al correlacionar los cambios vasculares con la AV (98).

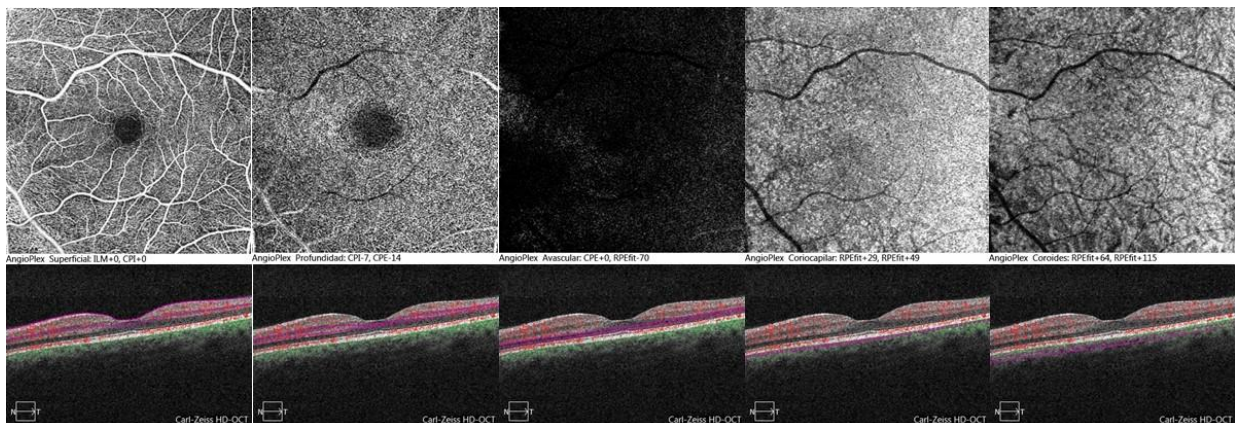


Figura 10. Imágenes de angiografía por OCT de individuo sano, en la que se muestran los cortes en “face” (equivalente a un corte coronal anatómico) en la parte superior, con sus correspondientes cortes longitudinales “b-scans” en la parte inferior. De izquierda a derecha, observamos la señal obtenida de la vascularización a nivel del plexo superficial, profundo, retina avascular, coriocapilar y corioidea.

Imagen mediante *smartphone*: La mayoría de retinógrafos y sistemas OCT son caros y requieren especialistas entrenados para interpretar la imagen retiniana. Para resolver este problema, se han desarrollado algunas aplicaciones para *smartphones* que se han mostrado efectivas y accesibles para la detección de RD. Las cámaras de los móviles modernos tienen incluso mayor resolución que algunas cámaras fundoscópicas. Los *smartphones* de nueva generación incorporan cámaras digitales de campo amplio con resoluciones mayores a 10 megapíxeles (89). Actualmente, se necesita del acople de lentes suplementarias y un *software* específico de edición de imagen. Varios ensayos clínicos han demostrado el potencial de estos dispositivos para detectar RD en diferentes regiones del mundo (99).

- Sistemas automáticos para evaluación de imágenes de RD en teleoftalmología: Gardner *et al.* describieron el uso de una red neuronal artificial capaz de detectar RD con un 88% y 83% de sensibilidad y especificidad, respectivamente, comparado con un oftalmólogo entrenado (100). Estos sistemas utilizan algoritmos de reconocimiento de patrones que identifican signos específicos de RD, como microaneurismas. No obstante, el preprocesado de imagen requiere mucho tiempo para identificar signos clínicamente importantes y el desarrollo de descriptores matemáticos para los diferentes tipos de lesiones. El *Deep Learning* es una nueva inteligencia artificial que utiliza redes neuronales convolucionales para interpretar imágenes mediante análisis repetitivo y comparación del resultado con un estándar que se autocorriga si detecta un error. Múltiples estudios han demostrado resultados prometedores de algoritmos de *Deep Learning* capaces de identificar signos específicos de RD sin la necesidad de enseñar previamente a los sistemas informáticos. Entre los primeros estudios, Shu D *et al.* determinaron en 2017 una sensibilidad y especificidad de este sistema en torno al 90 y 95%, respectivamente (101). No obstante, la aplicación a la práctica clínica no ha sido tan inmediata como se esperaba. Revisiones más actualizadas sobre el uso de estos sistemas establecen unas cifras de sensibilidad del 93% y de especificidad del 88% (102). La generación actual de algoritmos de *Deep learning* que emplea fotografías fundoscópicas a color ha alcanzado una tasa de calificación similar a la de un especialista en retina (102, 103). Algunos de estos algoritmos, como el IDx-DR, han sido aprobados por la FDA (en inglés, *Food and Drugs Administration*) (104). Estos sistemas se entrenan utilizando signos conocidos de RD, como microaneurismas, hemorragias o exudados.

2.5.2. INDICACIONES DE CRIBADO

Las guías sobre diagnóstico de RD del Consejo Internacional de Oftalmología (ICO, abreviatura en inglés para *International Council of Ophthalmology*), incluyen la examinación retiniana con (a) oftalmoscopia directa/indirecta o examen fundoscópico en lámpara de hendidura, o (b) mono-fotografía o estereofotografía mayor o igual a 30° del campo retiniano,

asociado o no a una OCT. Estas imágenes deberían ser siempre analizadas y clasificadas por un especialista entrenado (105).

La Asociación Americana de Teleoftalmología establece cuatro niveles cualitativos en referencia a los sistemas evaluadores de RD. Los métodos descritos por las guías del ICO serían considerados de nivel 1, que se refiere a programas que puedan distinguir entre la ausencia o presencia de mínimas alteraciones de RD. En el polo opuesto, el nivel 4 describe sistemas capaces de realizar una estadificación completa del grado de RD en leve, moderada, severa y pre-proliferativa, con o sin EMD (89).

En cuanto a cuándo hay que comenzar el cribado las guías difieren. En el Reino Unido se recomienda realizar una prueba para descartar RD en toda persona diagnosticada de DM a partir de los 12 años de edad como resultado de un estudio que incluyó 2125 niños diabéticos menores de 12 años, demostrando que sólo 3 de ellos (0.17%) presentó complicaciones visuales, y que ninguno requirió tratamiento. Las guías de la ADA recomiendan iniciar el *screening* 5 años tras el diagnóstico de DM1 y al momento del diagnóstico en DM2, criterio que se sigue también en España, como queda reflejado en el documento “Consenso en el Cribado de Retinopatía Diabética”, en el que participaron varias sociedades españolas, entre ellas la Sociedad Española de Diabetes, Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria, la Sociedad Española de Oftalmología y Sociedad Española de Retina y Vítreo (106).

Sobre qué tipo de *screening* realizar, el Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud publicó en 2019 un informe de coste-efectividad a nivel nacional para el uso de sistemas de campo ultra-amplio a petición del Ministerio de Sanidad. En este informe, se detalla que la mayoría de programas de cribado de RD en las autonomías españolas utiliza retinógrafos no midriáticos con imágenes de 45°. En la comparación de los sistemas de campo ultra-amplio frente a los no midriáticos se calculó un sobrecoste de 55 a 227,42 € por paciente según la densidad de población. Además, en la comparación a efectos de calidad diagnóstica, el informe detalla que a pesar de una mayor sensibilidad de los retinógrafos de campo ultra-amplio frente a los retinógrafos no midriáticos en estadios de RDNP leve y moderada, esta se iguala en estadios avanzados, en los cuales es más probable que aparezca una complicación visual tratable. De esta manera, se concluyó que las cámaras no midriáticas continuaban siendo más coste-efectivas para los programas de cribado de RD (107).

2.6. MANEJO

2.6.1. PRIMERA VISITA

La siguiente figura muestra de manera esquemática las acciones a realizar durante la primera visita oftalmológica de un paciente con cribado de RD positiva.

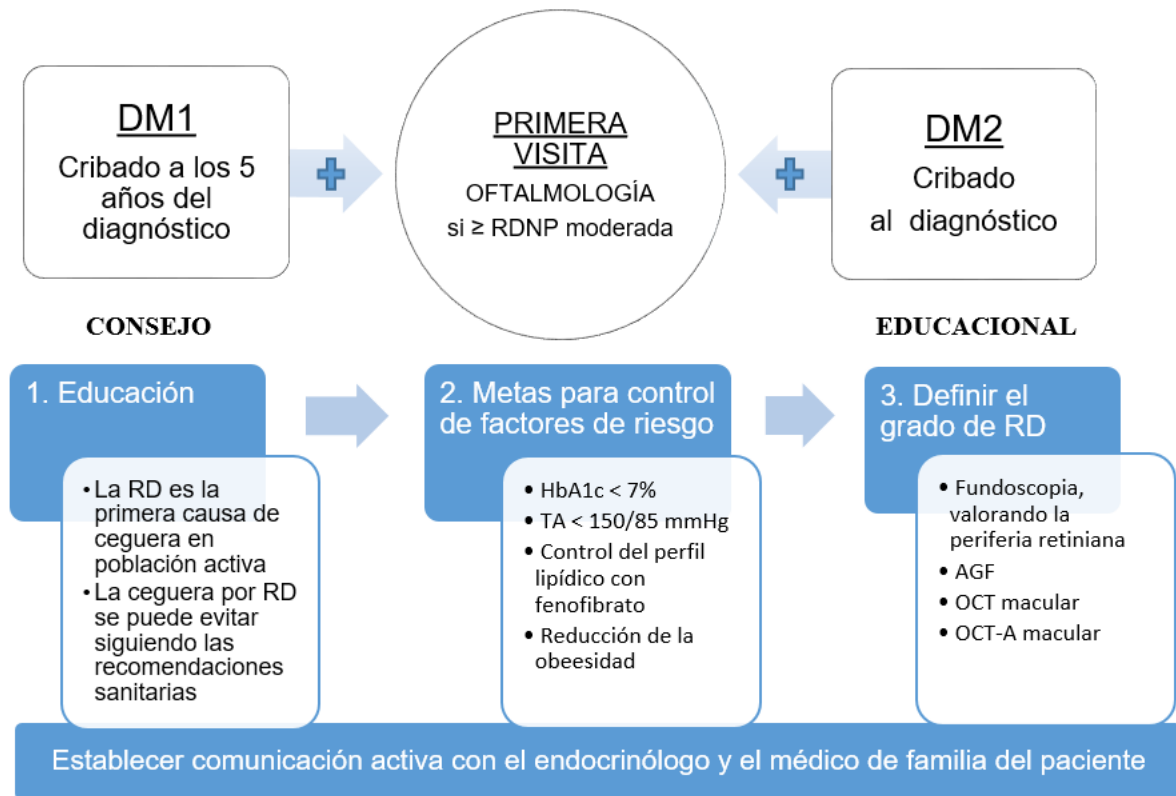


Figura 11. Manejo en la primera visita oftalmológica de un paciente diabético (creación propia).

2.6.2. CONSEJO EDUCACIONAL

Como se detalla en la figura 11, el consejo educativo es crucial para que los pacientes entiendan la implicación de la RD y la importancia de acudir a los controles sucesivos. Un estudio retrospectivo basado en datos de 52067 pacientes que acudían anualmente a *screening* de RD demostró que el absentismo en las visitas incrementaba de manera importante la proporción de pacientes que debían ser derivados a oftalmología en la siguiente visita. Se ha de vigilar especialmente a pacientes varones jóvenes con DM1, que son los que con más frecuencia no se presentan a los controles (108).

La RD es, como se ha mencionado en secciones previas, la primera causa de ceguera en el grupo poblacional de edad laboralmente activa (41), y refleja la afectación sistémica por la DM. De hecho, la presencia de RDNP en estadio leve implica ya un exceso de mortalidad del 81%, porcentaje que se incrementa en un 314% en el caso de presentar RDNP moderada-severa (109). Una DM no controlada, no sólo incrementa las posibilidades de padecer ceguera, sino también muerte por otras causas. Un punto a tener en cuenta es que la ceguera causada por RD

podría ser evitable casi en un 100% si se siguen las recomendaciones de tratamiento y seguimiento (110).

2.6.3. CONTROL DE LOS FACTORES DE RIESGO: OBJETIVOS

En los estadios iniciales de RD, el riesgo de pérdida visual es bajo y, como se ha mostrado en la figura 11, el control de los factores de riesgo asociados con el desarrollo y progresión de la enfermedad es el único tratamiento preventivo que se puede ofrecer a los pacientes. Para ello se deben establecer metas específicas. Los principales objetivos para el control de la RD son la regulación de la HbA1c y la TA. Otros objetivos incluyen la reducción del perfil lipídico y la obesidad.

- HbA1C < 7%: El control del perfil glucémico influye en la memoria metabólica, de manera que su control estricto a lo largo del tiempo ejerce un efecto protector sobre la progresión de la RD (65). Por ello, la intervención temprana sobre este parámetro es esencial. La reducción de un 1% en el nivel de HbA1c se asocia a una reducción del 35% del riesgo a desarrollar RD, del 15-25% del riesgo de progresión, de un 25% respecto a la pérdida visual y de un 15% del riesgo de ceguera (111). En DM1, un valor de HbA1c menor al 7% disminuye en un 75% el desarrollo de RD y en un 50% su progresión, en comparación a valores de HbA1c del 9%. A pesar de la importancia de reducir los niveles de HbA1c, este descenso no ha de ser agudo, porque, aparte del riesgo de hipoglucemia, esta reducción aguda podría promover de forma no deseada la progresión de la RD, como demostró un estudio focalizado en pacientes obesos que fueron sometidos a cirugía bariátrica. Un 18,9% de los pacientes que no presentaban RD antes de la cirugía desarrollaron la enfermedad en el primer año tras la intervención (112). Es por ello, por lo que se recomienda una valoración oftalmológica basal de aquellos pacientes que vayan a ser sometidos a cirugía bariátrica.

La meta de un nivel de HbA1c < 7% puede variar en algunos casos (113). Se recomienda un valor por debajo de 6,5% en aquellos pacientes en riesgo conjunto de nefropatía y retinopatía. Valores entre 7,1 y 8,5% serán tolerables en el caso de comorbilidad múltiple y en casos en que, a pesar de tratamiento máximo, sea difícil alcanzar un valor inferior a 7%.

- TA < 150/85 mmHg: Se ha demostrado un 33% de reducción de la progresión de la RD y de la necesidad de tratamiento con láser, así como un 50% de reducción de pérdida visual en pacientes con presiones menores a 150/85 mmHg (114). Aunque estos datos son antiguos, dos revisiones más recientes y un metanálisis indican que la reducción de la TA previene el desarrollo de RD en un margen de 5 años (115) y que reduce el riesgo relativo de incidencia de RD en un 17% (116), pero no hay evidencia clara de que se reduzca la progresión una vez que la complicación ha aparecido. En contraposición con el control glucémico, el control de

la TA no presenta memoria metabólica; una vez que se descompensa, el riesgo de progresión aumenta sin efecto protector del control previo.

- Perfil lipídico: Varias revisiones han demostrado que el tratamiento con fenofibrato reduce la progresión de RD y la necesidad de tratamiento con láser en pacientes con DM2 (117,118).
- Obesidad: Un metanálisis publicado en 2018 demostró que la obesidad suponía un riesgo relativo de 1,2 para presentar RD, sobretodo en DM2, aunque no se relacionó con mayor porcentaje de RDP (119).
- Consumo de tabaco: la asociación del consumo de tabaco con el desarrollo de RD se ha establecido en DM1 pero no en DM2 (120).

2.6.4. ESTADIFICACIÓN DEL GRADO DE RETINOPATÍA

Una vez se ha detectado la presencia de RD en el programa de cribado, el objetivo es evitar la pérdida visual asociada a EMD o estadios avanzados de la afectación retiniana. La primera acción es determinar el grado de RD, que determinará el plan a seguir en referencia a tratamiento y programación de visitas. En la siguiente tabla, se muestra de manera resumida la planificación propuesta según el estadio, tomando como referencia la clasificación ICDSS (tabla 4) y teniendo en cuenta el riesgo de desarrollar RDP:

Tabla 6. Resumen de estrategias según el grado de RD (105).

	Sin RD	RDNP			RDP	EMD	
		Leve	Moderada	Severa		Sin afectación foveal	Afectación foveal
RIESGO DE PROGRESIÓN A RDP A 5 AÑOS (86)	2.2%	13%	27%	45%			
DERIVACIÓN A OFTALMÓLOGO			INDICADO			RECOMENDADO	INDICADO
TRATAMIENTO	OBSERVAR	OBSERVAR		PFC	ANTI-VEGF/ PFC/ VPP	LÁSER FOCAL/ REJILLA	ANTI-VEGF
ROL DE ANTIOXIDANTES	INDICACIÓN POTENCIAL			EN DUDA		INDICACIÓN POTENCIAL	
SEGUIMIENTO	1-2 años	6-12 meses / 1-2 años*	3-6 meses / 6-12 meses*	< 3 meses	<1 mes Si estabiliza da 6-12 meses	3 meses	1 mes

Abreviaturas. ANTI-VEGF: en inglés Anti-Vascular endothelial growth factor; EMD: Edema macular diabético; RD: Retinopatía diabética; RDNP: Retinopatía diabética no proliferativa; RDP: Retinopatía diabética proliferativa; PFC: Panfotocoagulación VPP: vitrectomía pars plana.

*Recomendaciones específicas para entornos con recursos bajos o intermedios.

En la primera visita, además de la exploración fundoscópica, se recomienda la realización de las siguientes exploraciones complementarias:

- Angiografía fluoresceínica (AGF) de campo amplio: Aunque algunas guías recomiendan realizar la AGF de manera individualizada previo a la indicación de tratamiento láser a nivel macular (121), es fundamental evaluar la vascularización de la retina periférica, ya que el hallazgo de isquemia generalizada supone la indicación de tratamiento láser para prevenir la evolución a RDP (122). Dado que la OCT-A de campo amplio hoy en día no está plenamente desarrollada y tampoco disponible en la práctica clínica, es recomendable realizar una AGF de campo amplio en estadios de RDNP. Hasta la fecha, es la mejor exploración para estadificar la RD (123), detectando 1,6 a 3,5 veces más campos, influyendo en la clasificación.
- OCT: Debería ser obligatoria en cada visita ya que determinados tipos de EMD sólo se pueden detectar mediante esta prueba. La OCT también es la herramienta más útil para calcular y monitorizar la respuesta individual de cada paciente al tratamiento intravítreo con fármacos anti-VEGF (124).
- OCT-A: La OCT-A puede demostrar áreas de no perfusión capilar y es muy útil en el manejo de pacientes con RD y pérdida de AV sin EMD central. Un incremento en el área de la zona avascular foveal se ha asociado con peor AV (121,125–128).

2.6.5. SEGUIMIENTO

La periodicidad de los controles se realizará de acuerdo con las recomendaciones mostradas en la tabla 6. En las visitas sucesivas, se debe reevaluar el estadio de RD determinado la AV, realizando una fundoscopia que incluya periferia retiniana y una prueba de OCT macular.

Ante un paciente que evoluciona a RDNP moderada-severa, con riesgo de progresión a RDP, está indicada la realización de una AGF. Las imágenes de campo ultra-amplio han mostrado en la última década su utilidad en el seguimiento de la RD. El estudio llevado a cabo por Wessel *et al.*, comparó la visualización obtenida mediante angiografía de campo ultra-amplio de 200° frente al aislamiento de los 7 campos estándar del protocolo ETDRS, que suponen aproximadamente la visualización de 75° retinianos. En su muestra de 218 ojos, la AGF de campo ultra-amplio demostró capacidad para detectar 3,9 veces más áreas de no perfusión, 1,9 veces más áreas de NV y 3,8 veces más áreas de panfotocoagulación (PFC) (129). Se ha analizado también el denominado índice isquémico, dividiendo el número total de píxeles de áreas de no perfusión entre los píxeles totales. Este índice se ha relacionado de manera significativa con el desarrollo de EMD (130), el aumento de la zona avascular foveal (131) y presencia de NV (132).

2.6.6. ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO VIGENTES

El tratamiento oftalmológico activo está indicado si existe EMD, que puede estar presente en cualquier estadio de la RD, cuando una RDNP moderada-severa presenta riesgo de progresión a RDP o si ya está presente la RDP. Los tratamientos aplicables para estas situaciones son los fármacos anti-VEGF, la fotocoagulación con láser o cirugía de vitrectomía, que se discuten a continuación.

2.6.6.1 Edema macular clínicamente significativo

La fotocoagulación con láser focal fue en el pasado el estándar de tratamiento del EMCS. En el marco de los estudios ETDRS se demostró que el láser focal o en rejilla reducía el riesgo de mayor pérdida visual y se propuso como el tratamiento de elección (133,134). En los años 2000s la triamcinolona intravítrea comenzó a utilizarse, pero en 2008 la red DRCR (en inglés *Diabetic Retinopathy Clinical Research*) demostró que el láser era superior a la terapia con triamcinolona (135).

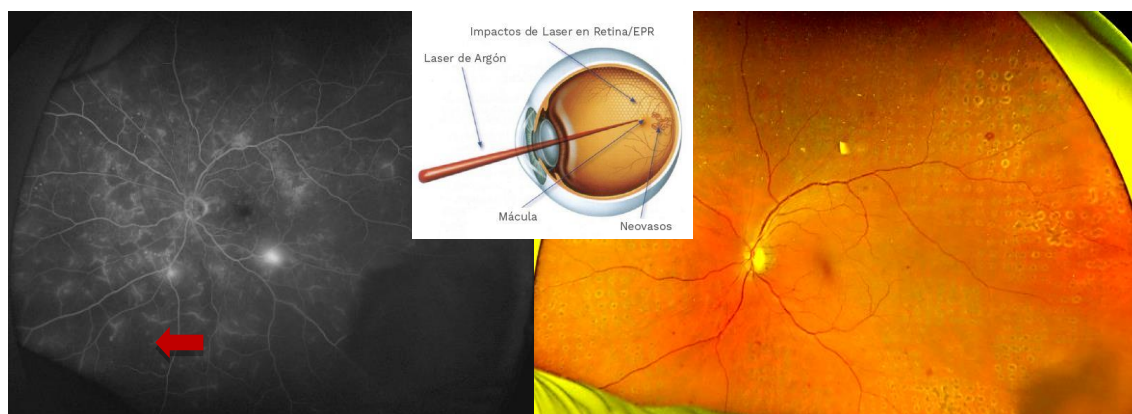


Figura 12. A la izquierda se muestra imagen de angiografía fluoresceínica de un paciente con isquemia retiniana (flecha roja indicando área de no perfusión) y NV, es decir, presenta RDP. A la derecha, retinografía del mismo paciente en la que se observan las marcas tras el tratamiento con láser. En este caso no se trata de un tratamiento focal sino de toda la retina periférica por presentar RDP.

La terapia intravítrea con agentes anti-VEGF (figura 13) para el EMD comenzó en el año 2010, momento en que la DCRC demostró que las inyecciones intravítreas de Ranibizumab superaban al tratamiento con láser en el manejo de la enfermedad (136). Posteriormente, múltiples estudios pusieron de manifiesto que otros agentes anti-VEGF (Bevacizumab y Aflibercept) también eran superiores al láser. La FDA aprobó el uso de Aflibercept y Ranibizumab como tratamientos para el EMD, mientras que el Bevacizumab se ha seguido utilizando fuera de indicación. La terapia anti-VEGF constituye actualmente el tratamiento estándar en el manejo de ojos con EMD central. Numerosos ensayos han demostrado sus beneficios en comparación con láser o incluso frente a terapia combinada con láser (136–141). La mayoría de ojos con EMD responden a terapia anti-VEGF con algún grado de mejora

anatómica y visual, pero en un número significativo de ojos, no se consigue la resolución completa (142). En la práctica clínica, es frecuente encontrar un número inadecuado de inyecciones intravítreas durante el seguimiento, en su mayor parte debido a la dificultad de realizar visitas mensuales. Un estudio aleatorizado que evaluó los resultados tras realizar tratamiento con Bevacizumab, Ranibizumab o Aflibercept, demostró una mejoría global de 7,4 letras en la AV respecto a la visión basal tras 5 años. No obstante la mejoría de la AV decayó entre el segundo y quinto año de seguimiento, período durante el cual no se siguió un protocolo específico de tratamiento (143).



Figura 13. Tratamiento intravítreo con fármacos anti-VEGF.

El tratamiento intravítreo con glucocorticoides, con los implantes de acetónido de fluocinolona de liberación sostenida o el implante de dexametasona (figura 14), se han evaluado en múltiples estudios y han demostrado ser efectivos en la reducción del grosor retiniano y en la mejora de AV. Sin embargo, se incrementa el riesgo de cataratas y de glaucoma (144,145).

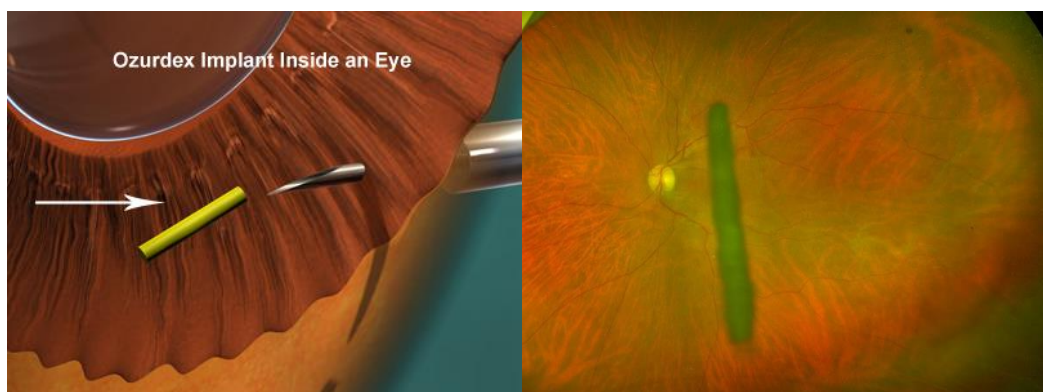


Figura 14. Representación de inyección intravítreo de implante de dexametasona (Ozurdex®).

La Sociedad Europea de Especialistas en Retina no recomienda la fotocoagulación con láser para el tratamiento del EMD, y sugiere la terapia anti-VEGF como primera línea de tratamiento. Los corticoides mantienen su rol en el EMD crónico persistente (146).

Los antioxidantes podrían jugar un efecto adyuvante a los tratamientos mencionados regulando a la baja la expresión de VEGF y las vías proinflamatorias (147). Esta propuesta fue

estudiada por Lafuente *et al.*, observando la efectividad de Ranibizumab intravítreo combinado con un suplemento dietético rico en ácido docohexaenoico (ADH) y otros antioxidantes (148). Este grupo encontró una mejora significativa en el grosor macular central (GMC) comparado con pacientes que sólo recibieron Ranibizumab.

2.6.6.2 Retinopatía diabética proliferativa

La PFC es efectiva para mantener la visión central, pero se puede asociar a exacerbación del EMD, pérdida de campo visual, empeoramiento de la calidad de visión nocturna y de sensibilidad al contraste. No obstante, la PFC con láser se ha considerado el tratamiento de elección de la RDP.

Actualmente se ha relacionado el desarrollo de RD y EMD con altas concentraciones de VEGF en el segmento posterior ocular (134,149). La terapia con anti-VEGF en pacientes con EMD ha demostrado paralelamente una rápida regresión de la NV retiniana, introduciendo la posibilidad de su uso como tratamiento para la RDP. Existe evidencia creciente procedente de ensayos clínicos que demuestra que las inyecciones de fármacos anti-VEGF son seguras y efectivas en el tratamiento de la RDP en un período de al menos 2 años. La red DRCR y el estudio CLARITY reportaron que no había diferencias estadísticamente significativas en la AV entre pacientes tratados con anti-VEGF (Ranibizumab y Aflibercept) y aquellos tratados con PFC tras 2 años (150,151). Diferentes estudios han demostrado una mejor AV, menor incidencia de EMD, menor reducción del campo visual y menor número de vitrectomías por complicaciones avanzadas de la RD en pacientes tratados con anti-VEGF respecto a tratamiento con PFC. La desventaja es que presentan un efecto de menor duración y que requiere mayor número de visitas (152).

En 2018, el estudio PACORES reveló el efecto sinérgico al combinar PFC con anti-VEGF, y concluyó que el tratamiento con Ranibizumab y láser resultaba más efectivo que el láser en monoterapia para la regresión de la NV (153). Estos resultados sugieren que la terapia intravítrea con anti-VEGF puede ser una alternativa o una terapia adyuvante a la PFC en ojos con RDP. Sin embargo, en la práctica clínica, las inyecciones de anti-VEGF en pacientes con RDP presentan algunas barreras que pueden impedir el manejo correcto de la enfermedad como son: la frecuencia de visitas, el número de inyecciones, el coste del tratamiento y la preferencia de los pacientes deben ser considerados en cada caso (154). La tasa de retención a 5 años, a pesar de los máximos esfuerzos en el protocolo de la red DRCR, fue sólo del 66% (155). En un estudio de cohortes retrospectivo de pacientes con RDP, el absentismo en las visitas en un período de seguimiento de 4 años fue del 25,4% (156). Ojos con RDP tratados únicamente con fármacos anti-VEGF intravítreos presentaron peores resultados anatómicos y funcionales tras la falta de seguimiento durante períodos de más de 6 meses en comparación a ojos tratados con PFC (157).

La terapia anti-VEGF no ha demostrado mejorar la perfusión retiniana y puede que no prevenga la progresión de las áreas de no perfusión. Tras el cese de inyecciones, la aparición de NV recurrente puede causar pérdida de AV significativa por desprendimiento de retina traccional o glaucoma neovascular (158).

El uso de fármacos anti-VEGF en monoterapia para tratar RDP requiere una monitorización exhaustiva. La realización de PFC, especialmente en ojos con áreas de isquemia clara, reduce la liberación de VEGF de manera sostenida y duradera. El efecto sinérgico de la terapia anti-VEGF y la PFC favorece la regresión de la NV. En el caso de EMD asociado a RDP, la monoterapia con anti-VEGF es una buena opción, una vez que la NV se ha estabilizado; si se requiriese un nuevo tratamiento, el manejo apropiado sería reevaluar el tratamiento con anti-VEGF o PFC (159).

Con la introducción de los sistemas de imagen de campo ultra-amplio, se ha propuesto la fotocoagulación sectorial de las áreas de no perfusión, para reducir los efectos secundarios del tratamiento con láser en términos de reducción de campo visual y exacerbación de EMD. En el estudio prospectivo publicado por Muquit *et al.* se realizó fotocoagulación sectorial guiada por AGF de campo ultra-amplio, y se demostró una regresión de la RDP del 76% a las 12 semanas, realizando retratamiento con láser en los ojos sin regresión. A las 24 semanas, un 30% necesitó retratamiento por presentar RDP activa. En cuanto a las variables clínicas, a las 24 semanas se reportó una mejora de la sensibilidad en el campo visual (+1,26 dB de desviación media), una disminución del GMC (-12,1 micras) y una mejora de +3 letras en los test de mejor AV corregida (MAVC). Una limitación importante de este estudio es la ausencia de aleatorización para realizar una comparación con el tratamiento estándar de PFC (160).

En este apartado se ha descrito el tratamiento de la RDP una vez establecida, pero las guías también recomiendan, dado el riesgo de progresión a RDP, el tratamiento mediante PFC en pacientes que presenten RDNP severa con alguno de los siguientes factores de riesgo (161–163):

- Mal control metabólico o absentismo.
- RDP en el ojo contralateral.
- Progresión del estadio de retinopatía severa (clasificación ETDRS).
- Presencia de catarata que pueda limitar la PFC a corto plazo, y previo a la cirugía de esta.
- Embarazo.
- Presencia de áreas generalizadas de isquemia visualizadas mediante AGF.

3. ANTIOXIDANTES Y RETINOPATÍA DIABÉTICA

3.1. OXIDACIÓN Y RETINA

3.1.1. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

La mayor parte del oxígeno consumido en nuestro organismo (>90%) se reduce a moléculas de agua por la enzima citocromo oxidasa en la cadena de transporte de electrones a nivel mitocondrial. El oxígeno restante, se reduce por procesos de transferencia de electrones en reacciones de oxidación-reducción (REDOX). En este proceso, la transferencia de un electrón a la molécula de oxígeno produce $\text{O}_2^{\bullet -}$ (figura 15) (164).

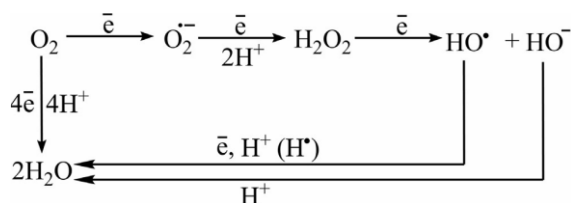


Figura 15. Consumo de oxígeno vía transferencia de electrones (165).

La enzima SOD, cataliza la conversión de $\text{O}_2^{\bullet -}$ a H_2O_2 mediante la transferencia de otro electrón y la captación de dos moléculas de hidrógeno. La transferencia de un electrón a la molécula de H_2O_2 , da lugar a su disociación en un radical hidroxilo ($\text{OH}^{\bullet}$) y un anión hidroxilo (OH^-). Cuando el $\text{OH}^{\bullet}$ capta otro electrón y otro protón da lugar a la formación de agua (165). El paso de H_2O_2 a moléculas de agua también puede ser catalizado por las enzimas catalasa y peroxidasa, sin liberación de $\text{OH}^{\bullet}$, altamente inestable (165). La GSH peroxidasa utiliza moléculas de GSH reducido como donante de electrones. En estas reacciones pasa a su forma oxidada (GSSG). El ratio GSH/GSSG es un buen indicador de la homeostasis redox (166). En la figura 16 se han representado las reacciones de las enzimas SOD, catalasa, peroxidasa y GSH peroxidasa.

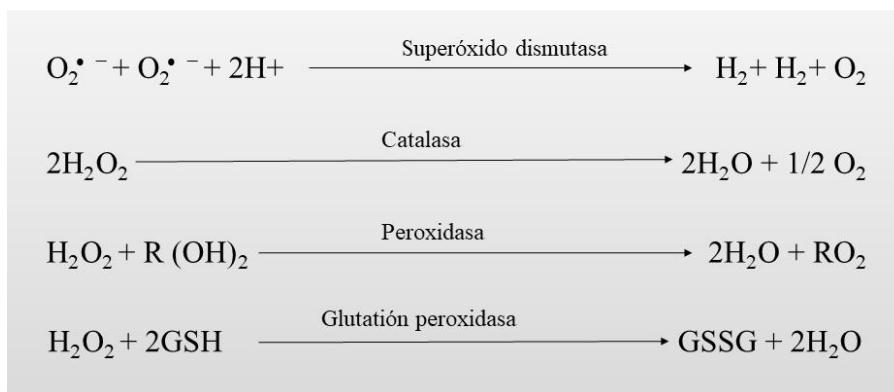


Figura 16. Reacciones de las enzimas antioxidantes SOD, catalasa, peroxidasa y GSH peroxidasa.

Las ROS incluyen radicales libres, el H_2O_2 y el oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$). Participan en las reacciones fisiológicas, pero si no son correctamente reguladas, se produce estrés oxidativo y daño celular derivado de su interacción con ácidos grasos poliinsaturados (elementos esenciales de las membranas celulares), ADN, proteínas, glúcidos y otros lípidos (167). Los radicales libres son moléculas que presentan un electrón no apareado, confiriéndoles su carácter inestable y altamente reactivo. Forman parte de este grupo el $\text{O}_2^{\cdot-}$, el $\cdot\text{OH}$, así como peróxidos de lípidos, proteínas o ácidos nucleicos (165,168).

La peroxidación lipídica es una reacción en cadena en la cual diversas ROS atacan lípidos que contienen enlaces dobles de carbono. Este fenómeno afecta especialmente a ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de membrana, vulnerables porque sus hidrógenos alílicos son fácilmente atacados. La oxidación lipídica por el ataque de las ROS se produce en tres fases: iniciación, propagación y terminación, representadas en la figura 17. En la iniciación, se elimina un hidrógeno alílico, generando un radical lipídico intermedio. En la fase de propagación, el radical intermedio reacciona con oxígeno en cualquier extremo para formar radicales peroxilo. El radical peroxilo puede reaccionar de nuevo eliminando otro hidrógeno, dando lugar a un nuevo radical intermedio y a hidroperóxido lipídico. Siempre que haya oxígeno disponible, un solo radical puede promover la oxidación de miles de ácidos grasos. La terminación tiene lugar cuando dos formas radicales generan un producto no radical. Por ejemplo, cuando antioxidantes como la vitamina E donan un átomo de hidrógeno al radical peroxilo, se produce un radical de vitamina E, que reacciona con otro radical de peroxilo dando lugar a un producto no radicalario (169).

Los productos primarios de la peroxidación lipídica son los hidroperóxidos lipídicos, que se pueden descomponer dando lugar a diversos aldehídos, entre ellos el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal (4-HNE), utilizados como marcadores de peroxidación lipídica. La defensa endógena contra los hidroperóxidos son las GSH peroxidasas (GSH-P) dependientes de selenio, familia de enzimas que además de reducir el H_2O_2 a 2 moléculas de agua, cataliza la reducción de los hidroperóxidos a sus correspondientes alcoholes. Las moléculas GSH proporcionan los electrones necesarios para reducir los peróxidos lipídicos (168).

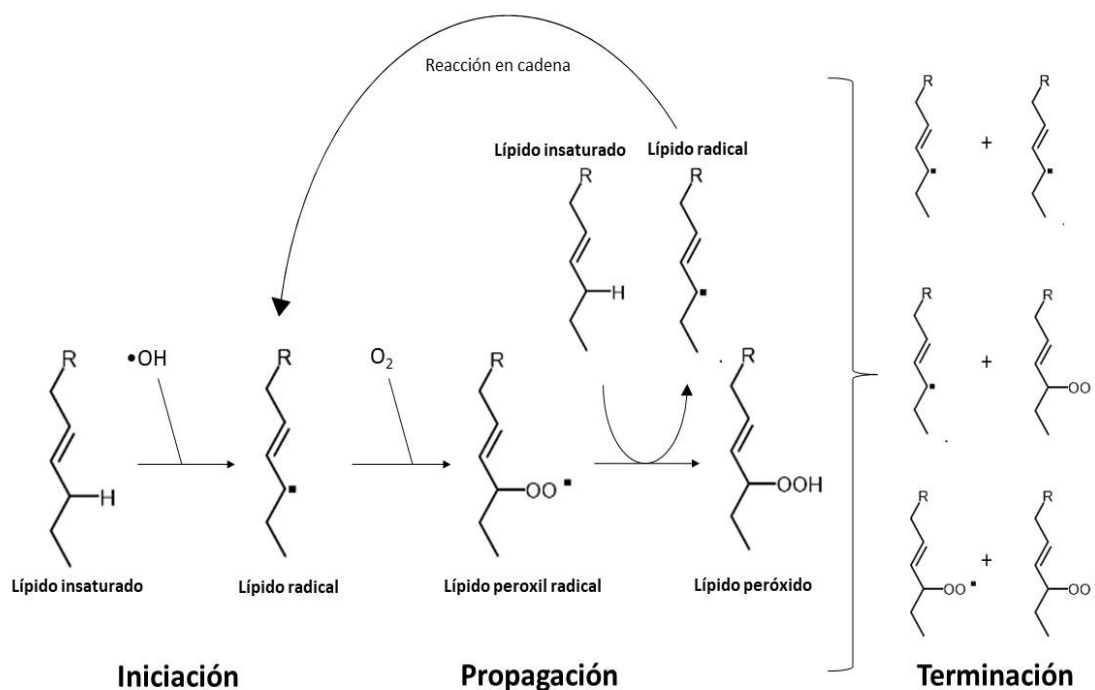


Figura 17. Proceso de peroxidación lipídica (Creación propia).

3.1.2. SÍNTESIS DE GSH

El glutatión reducido, principal regulador de la homeostasis redox intracelular, es un tripéptido constituido por glutamato, cisteína y glicina. El GSH se sintetiza en el citoplasma gracias a la acción de dos enzimas, la glutamato cisteína ligasa (GCL) y la GSH sintetasa. Este proceso va a depender de la actividad de la actividad de la GCL y de la disponibilidad del sustrato cisteína, procedente de la vía de la transulfuración (170). En esta vía, la metionina se convierte a S-adenosilmetionina (SAM), que se transforma en s-adenosilhomocisteína (SAH) y posteriormente a homocisteína. La homocisteína puede seguir la vía de la transulfuración, o remetilarse para regenerar metionina. Si aumentan los niveles de metionina en el organismo y, con ello, de SAM, se favorece la formación de cistationina a partir de la condensación de serina con la homocisteína gracias a la acción de la cistationina β sintasa y la utilización de fosfato de piridoxal como coenzima (171). La cistationina se hidroliza a cisteína y α -cetobutirato gracias a la actividad de la cistationina γ -liasa o γ -cistationasa. La enzima GCL produce la unión de L-glutamato con la cisteína para dar lugar a γ -glutamilcisteína, precursor de la molécula de GSH. Posteriormente la GSH sintetasa catalizará la unión de glicina para la formación de GSH (figura 18) (172).

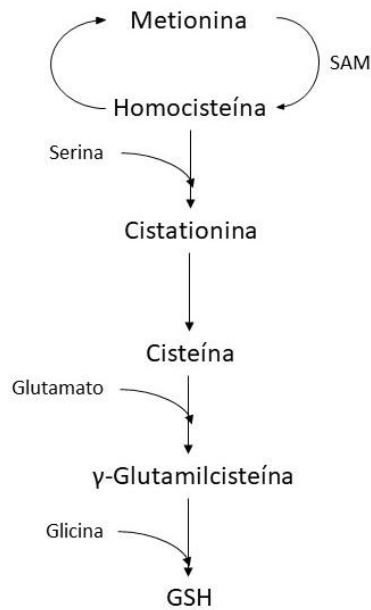


Figura 18. Vía de la transulfuración y síntesis de GSH (171).

3.1.3. VULNERABILIDAD DE LA RETINA A LA OXIDACIÓN

La retina es especialmente sensible al daño producido por peroxidación lipídica debido a dos razones: su elevada concentración en ácidos grasos poliinsaturados, especialmente el ácido docohexaenoico, y el alto aporte de oxígeno que recibe a través de la circulación retiniana y coroidea (30). Los ácidos grasos poliinsaturados se concentran en los segmentos externos de los fotorreceptores. Los segmentos internos de los fotorreceptores están dotados de una gran cantidad de mitocondrias por la elevada actividad metabólica asociada al ciclo visual, que también produce ROS. Por otra parte, la alteración de células del epitelio pigmentario de la retina (EPR), esenciales para el soporte de los fotorreceptores, puede favorecer daño fotooxidativo por exposición a la luz. Además de la función del EPR de absorber la luz dispersa y desenfocada, se encarga de detoxificar los radicales libres y productos de peroxidación lipídica que se generan a nivel de los fotorreceptores (173). Se puede observar un esquema anatómico de la retina en la figura 19, para situar cada tipo de célula (174).

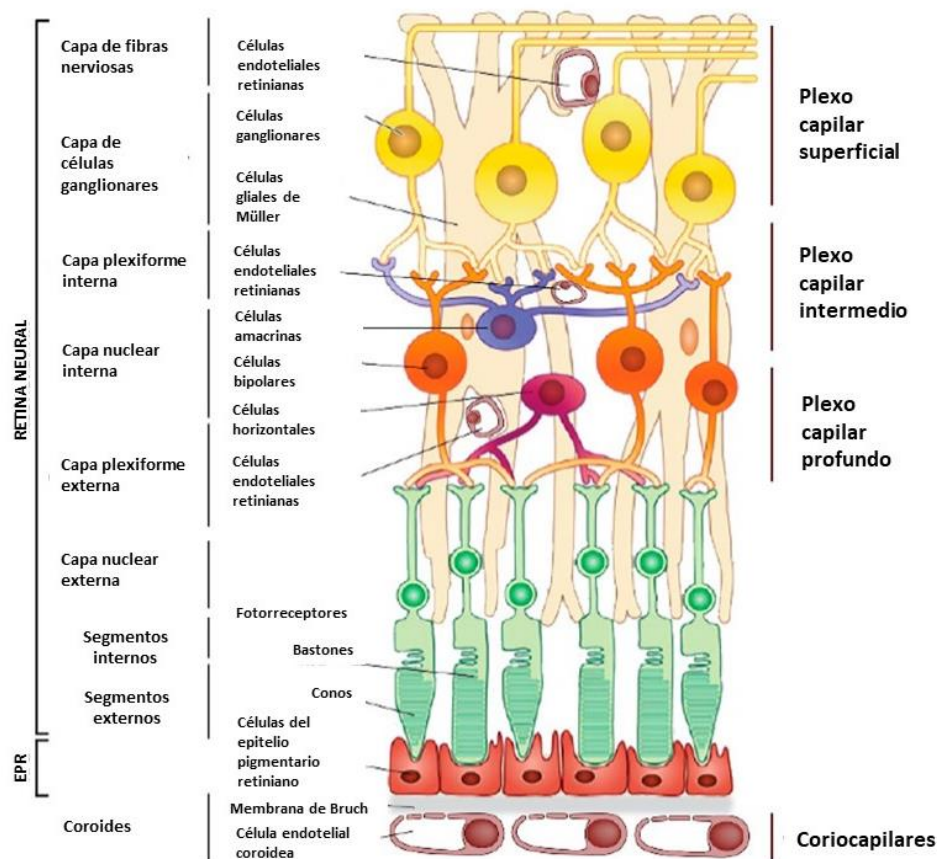


Figura 19. Esquema anatómico de la retina (173)

En modelos de RD se ha publicado muerte de células ganglionares (175), pero también pérdida de fotorreceptores y células del EPR (176). La alteración de las células de la retina denota el proceso precoz de neurodegeneración que se traduce en cambios electrofisiológicos detectables previo a la aparición de signos clínicos (77,78). También se ha postulado su implicación en la aparición de EMD (79).

En fases más avanzadas, tiene lugar el daño endotelial a nivel de la microvasculatura y la alteración de la barrera hematorretiniana interna, con aparición de los signos fundoscópicos de RD. En esta fase, la extravasación de lipoproteínas alteradas por oxidación o bien por glicación avanzada contribuye a extender y exacerbar el daño oxidativo asociado a RD (177).

3.1.4. AGENTES ANTIOXIDANTES PROTECTORES DE LA RETINA

Dependiendo del mecanismo de acción, podemos distinguir antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

3.1.4.1. Antioxidantes enzimáticos

Se trata de enzimas intracelulares intrínsecas (catalasa, SOD, GSH-P y peroxirredoxina) que llevan a cabo la eliminación de ROS en presencia de GSH, de diferentes coenzimas como la ubiquinona (coenzima Q10) o cofactores como el cobre, el manganeso, el zinc o el selenio. Algunos de estos cofactores se han añadido a fórmulas de suplementación oral para promover los mecanismos inherentes de autodefensa en las células (167,178,179).

3.1.4.2. Antioxidantes no enzimáticos

Los agentes no enzimáticos actúan interrumpiendo las reacciones en cadena de las ROS. Podemos considerar 2 grupos: antioxidantes no enzimáticos endógenos como el GSH, o exógenos, la mayoría de los cuales se pueden extraer de fuentes naturales (plantas y frutos). Se incluyen dentro de este segundo grupo (167,180):

- Vitaminas: A, C y E.
- Polifenoles (181,182)
 - Flavonoides: gran grupo de agentes que incluyen flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, antocianinas, isoflavonas y chalconas (Ejemplo: pycnogenol que contiene catequina y epicatequina).
 - No flavonoides
 - Ácidos fenólicos: ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos.
 - Curcuminoides
 - Estilbenos: resveratrol y pteroesstilbeno (PTER).
 - Taninos: galotaninos, elagitaninos, procianidinas.
 - Lignanos
- Carotenoides: luteína, zeaxantina, crocina y crocetina.
- Otros: Ácido α -lipoico (179), ácidos grasos poliinsaturados ω -3 (183), dobesilato de calcio (184).

En la retina, se ha determinado la presencia de cofactores y alguno de los mencionados antioxidantes no enzimáticos. Por ejemplo, la mayor concentración de selenio en el ojo de los humanos se encuentra en las células del EPR (185). Entre las vitaminas, se ha determinado presencia de vitamina C y E, esta última concretamente en el EPR. En cuanto a los carotenoides, la luteína y zeaxantina están presentes en la neuroretina. A nivel foveal se localizan entre la membrana limitante externa e interna, especialmente la zeaxantina. La luteína incrementa su concentración hacia la retina periférica (186).

3.2. POLIFENOLES

Entre los antioxidantes no enzimáticos exógenos, los polifenoles constituyen un grupo muy extenso de compuestos que presentan uno o más anillos aromáticos con grupo(s) hidroxilo (-OH) en su estructura molecular. Son los antioxidantes con mayor distribución en nuestra dieta,

en concreto en frutas y verduras, siendo los flavonoides y los ácidos fenólicos los más consumidos (181).

Son objeto de investigación como terapia en enfermedades inflamatorias crónicas, enfermedades neurológicas, cardiovasculares y metabólicas, así como en el campo de la carcinogénesis, ya que se ha observado su capacidad para producir efectos diferentes en función de si la célula sobre la que actúan es sana o cancerígena. En este sentido, además de inhibir la angiogénesis y ejercer su efecto antiinflamatorio, son capaces de inducir apoptosis por vías pro-oxidativas interactuando sobre cascadas de señalización que afectan a la muerte y ciclo celular (187).

El principal problema de su aplicación en el campo de la Medicina lo plantea su pobre biodisponibilidad, alcanzando los órganos diana en concentraciones muy bajas. Además, a excepción de los flavanoles que se presentan en forma de aglicona, la mayoría de polifenoles de la dieta se encuentran en su forma glucosilada o formando polímeros, de manera que deben ser hidrolizados para favorecer su absorción a nivel del intestino grueso, mostrando una tasa de absorción de aproximadamente un 15 al 20% (181,187).

3.2.1. ESTILBENOS

El interés por los estilbenos y sus aplicaciones se incrementó al inicio de los años 90, momento en que se desarrolló el concepto de “paradoja francesa”, tras los hallazgos del proyecto MONICA, observando una incidencia baja de enfermedad cardiovascular a pesar de dietas ricas en grasas saturadas y factores de riesgo similares a otras poblaciones. Este hecho se atribuyó al consumo de vino, rico en flavonoides y otros compuestos fenólicos, de entre los cuales el resveratrol era específico de la uva y productos derivados, considerándose biomarcador de su consumo (188). Aunque esta afirmación inicialmente recibió varias críticas, ya que habría de realizarse un estudio exhaustivo de las exposiciones de cada población (189), se ha desarrollado desde entonces investigación cuantiosa en torno a estos compuestos, con ensayos clínicos en relación a diabetes, enfermedad cardiovascular, neurológica, carcinogénesis, y aprobación por la FDA de compuestos basados en su estructura molecular como el tamoxifeno, raloxifeno o toremifeno (190).

A nivel molecular, los estilbenos son polifenoles con dos anillos aromáticos unidos por un resto etileno (figura 20), que pueden presentarse en 2 formas isómeras: *trans*-1,2-difeniletileno (isómero E) y *cis*-1,2-difeniletileno (isómero Z). Se encuentran en la naturaleza de manera mayoritaria en su forma *trans*, pudiendo sufrir transformación a su forma *cis* por exposición a radiación ultravioleta (190,191).

El desarrollo de sus propiedades se ha relacionado con la presencia de grupos hidroxilo en la estructura molecular (190). No obstante, los compuestos hidroxilados se metabolizan más rápido. Para solventar este problema, se hace uso de derivados con cambios en los grupos hidroxilo. En esta línea, la metilación de los grupos -OH confiere mayor lipofilidad, disminuye su degradación y promueve su captación celular (181,190).

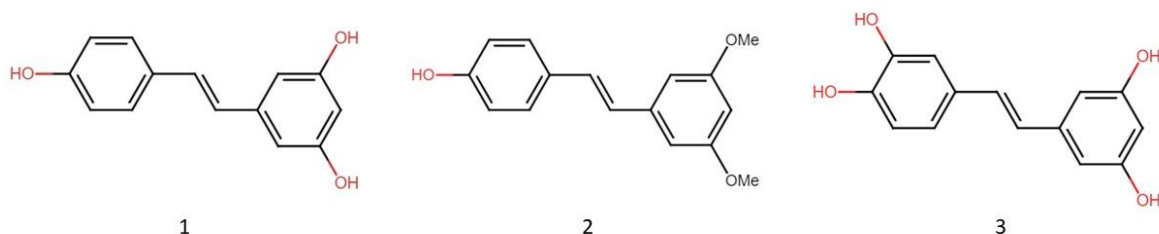


Figura 20. Estructura molecular de 1) resveratrol, 2) pterostilbeno y 3) piceatanol. (Creación propia)

La mayor parte de investigación en torno a la suplementación con polifenoles ha girado hasta la fecha en torno al resveratrol, y se ha comprobado que dosis excesivas para subsanar la baja biodisponibilidad pueden producir toxicidad, por su capacidad de inhibir el citocromo P450 a nivel hepático, inhibir enzimas necesarias para la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) y favorecer cascadas proapoptóticas (192). Por ello se ha analizado el uso de análogos como el PTER, pinosilvina, isorapontigenina o DMU-212 (190).

3.2.2. USO DE PTEROESTILBENO EN DIABETES Y RETINOPATÍA DIABÉTICA

El PTER, es un análogo natural del resveratrol dimetilado en las posiciones 3 y 5 (210), cuya absorción por vía oral en ratas demostró ser del 80% frente al 20% del resveratrol (193). Aislado por primera vez en 1940 a partir del sándalo rojo (*Pterocarpus santalinus*), árbol originario de la India, también se encuentra en el árbol malabar kino (*Pterocarpus marsupium*), hojas de la uva (*Vitis vinifera* L.), especies de arándanos (*Vaccinium ashei* o *Vaccinium stamineum*), drago de cochinquina (*Dracaena cochinchinensis*) y alguna planta leguminosa (*Guibourtia tessmannii*) (191,194,195). Se ha demostrado la síntesis natural de PTER por la resveratrol O-metiltransferasa *in vitro* e *in vivo* (plantas) en respuesta a agentes estresantes como infección, radiación UV o tratamiento con ácido clorhídrico (196).

El potencial del PTER como agente terapéutico en DM se ha analizado en modelos *in vitro* e *in vivo*, observando sus efectos sobre las vías fisiopatológicas de la hiperglucemia crónica (Tabla 7). Ha demostrado mejorar la glucemia en ayunas y los niveles de insulina sérica, traduciendo menor resistencia a la hormona (197–202), así como un aumento en su vía de señalización PI3K/AKT *in vitro* (198,202) e *in vivo* (198,199,202).

El estado oxidativo se ha valorado midiendo el nivel de peroxidación lipídica, formación de productos como MDA, la capacidad antioxidante total, niveles de enzimas

antioxidantes intrínsecas como la SOD y los niveles del tripéptido GSH. Varios estudios han demostrado que el PTER reduce los niveles de peróxidos lipídicos y MDA (197,199,201) y aumenta la actividad de los sistemas antioxidantes endógenos (199,201). Algunos modelos también han observado un aumento en la expresión y/o traslocación nuclear del NRF2, responsable de la expresión de genes que codifican las enzimas antioxidantes (197,198).

Respecto al perfil lipídico, el PTER es capaz de producir disminución significativa en los valores de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), LDL y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (197,199,200). Así mismo, consigue mejorar el perfil inflamatorio, con una disminución en los niveles de IL-6, IL-1 β o TNF- α (198–201).

Respecto a las dosis de tratamiento, el grupo de Sun *et al.* (199) comparó diferentes cantidades de PTER a razón 20/40/80 mg/kg diarios en su modelo animal, observando que en algunos parámetros sólo se obtenían resultados significativos con la dosis intermedia de 40 mg/kg/día (respecto a parámetros oxidativos y PCR) y con la dosis alta de 80 mg/kg/día (PCR). Posteriormente, Zhang *et al.* (200) (mismo grupo de investigación) comparó las mismas dosis, reportando resultados favorables únicamente con las dosis bajas-intermedias, en especial con la dosis media de 40 mg/kg/día, pero no con la dosis de 80 mg/kg/día. Se deduce así una tendencia de mejor respuesta a dosis de PTER intermedias, existiendo controversia respecto al valor de PCR, aunque el grupo advierte de la potencial variabilidad de respuesta individual entre ratas y del desconocimiento de diferencias en las dianas moleculares según la dosis de PTER.

En 2015, Shen y colaboradores (203) analizaron los efectos del PTER sobre un modelo de RD *in vitro*. Se utilizaron cultivos de células endoteliales de retina humana. Por un aparte, se demostró en los cultivos sometidos a hiperglucemia y PTER, una disminución significativa de los factores inflamatorios TNF- α e IL-1 β , reducción de ROS y supresión del NF- κ B, responsable de la transcripción de la mayoría de las moléculas proinflamatorias; respecto al medio enriquecido sólo con glucosa. En cuanto a las defensas antioxidantes, los niveles de enzima SOD aumentaron de manera significativa en el cultivo tratado.

En 2019, Millán I. y colaboradores, de la Universidad de Valencia, publicaron los resultados de la aplicación de PTER en un modelo animal por inducción de DM1 en conejos. En el grupo tratamiento, se administró sal de fosfato disódico de PTER subcutánea diaria, con dosis equivalente a 50 mg/kg. En este estudio se demostró la capacidad del polifenol para producir un descenso de la hiperglucemia respecto a los conejos con DM no tratados aunque sin llegar a alcanzarse valores normoglucémicos. En el análisis de las retinas del grupo PTER, se comprobó una disminución de productos de peroxidación lipídica (4-HNE) y proteica (m-Tyr/Phe, 3NO₂-Tyr/p-Tyr y 3Cl-Tyr/p-Tyr, derivados de la oxidación y la nitración proteica en el aminoácido tirosina), un aumento del ratio GSH/GSSG y de las enzimas SOD y catalasa, así como de la activación de NRF2, medido por la expresión proteica de la NADPH deshidrogenasa quinona 1 (NQO1) (175).

Se llevó a cabo una valoración de la imagen clínica de las retinas, utilizando el programa “ImageJ”, para analizar cambios en la tortuosidad vascular. En los conejos diabéticos no tratados, se comprobó un incremento de este parámetro, que el PTER fue capaz de revertir en el grupo de tratamiento (204). En el análisis histológico de las retinas, se demostró menor muerte celular programada en la capa de células ganglionares en las retinas de los conejos diabéticos tratados con PTER (175).

En este mismo modelo, se realizó una investigación más profunda de los productos de peroxidación lipídica derivados del ADH, adrenico (ADR) y ARA, para poder establecer correlación con productos presentes en muestras de sangre y orina. Se determinó un aumento significativo de prostaglandinas (PGs), isoprostanos, neuroprostanos, dihomio-isoprostanos y dihomio-isofuranos (iso-F). Entre todos ellos, el producto 10-*epi*-17(RS)SC- Δ 15-11-dihomio-IsoF, derivado del ácido ADR, se detectó elevado en las muestras de retina, plasma y orina de conejos diabéticos, postulándose como posible biomarcador de RD, y sus valores fueron normalizados por el tratamiento con PTER (205).

Tabla 7. Resultados de estudios que han analizado el uso de PTER sobre parámetros sistémicos en modelos animales e in vitro de DM.

Estudio	Modelo	Glucemia y regulación	Perfil lipídico	Parámetros oxidativos	Inflamación	Enzimas hepáticas
Bhakkiyalakshmi <i>et al.</i> (2015) (197)	PTER oral 2 grupos Dosis: 5/10 mg/kg/día 5 semanas Ratas DM-STZ	↑ Insulina sérica ↓ GPA (TG)	↓ VLDL, LDL (TG)	↓ POL, MDA Hepáticos ↑ Expresión NRF2 hepático (TG)	NR	NR
Sireesh <i>et al.</i> (2017) (198)	PTER 4 and 8 μ M <i>In vitro</i> : línea celular de insulinooma PTER oral 2 grupos Dosis: 5/10 mg/kg/día Ratas DM-STZ	<i>In vitro</i> : ↑p-Akt <i>In vivo</i> : ↑ Insulina sérica ↓ GPA	NR	<i>In vitro</i> : ↑ Activación + traslocación NRF2 <i>In vivo</i> : ↑ NRF2 tejido pancreático	<i>In vivo</i> : Represión de la expresión de IL-1 β , TNF- α and IFN- γ	NR
Sun <i>et al.</i> (2019) (206)	PTER oral 3 grupos Dosis 20/40/80 mg/kg/día 8 semanas Ratas DM-STZ	↑ Insulina sérica ↓ GPA ↓ glucemia tras TTOG ↑PI3K, p-Akt, GLUT4 (TG)	↓ CT, TG, LDL	↑ SOD* ↓ MDA* *40 mg/kg	↓ IL-6, TNF- α ↓ PCR* *40/80 mg/kg	

Zhang <i>et al.</i> (2020) (200)	PTER oral 3 grupos Dosis: 20/40/80 mg/kg/día 6 semanas Ratas DM-STZ	↓ GPA, IPA* *20 mg/kg	↓ TC, TG, LDL* ↓TC, LDL** *20 mg/kg **40 mg/kg	NR	↓ IL-6, IL1β, TNF-α* *20/40 mg/kg	↓ ALT *20/40 mg/kg
Zhao <i>et al.</i> (2021) (201)	PTER (inyección intraperitoneal) 2 grupos Dosis: nanopartículas de AAAFB-PTER 10/50/100 mg/kg/día + <i>insulina</i> 2 semanas Ratas DM-STZ	↓ Glucemia (TG)	NR	↑ SOD, GSH, CAT ↓ MDA (TG)	↓ IL-6, TNF- α (TG)	NR
Yu <i>et al.</i> (2021) (202)	PTER 10 µm <i>In vitro</i> : hepatocitos PTER oral Dosis: 200 mg / kg ⁻¹ 12 semanas Ratas RI x AGEs	<i>In vitro</i> : ↑ consumo glucosa ↑ captación glucosa ↑PI3K/Akt <i>In vivo</i> : ↓ GPA ↑PI3K/Akt/SRI	NR	NR	NR	<i>In vivo</i> : ↓ CML

Abreviaturas: AAAFB ácido acrilamida fenilborónico, AGEs productos finales de glicación avanzada, ALT enzima alanina aminotransferasa, CAT capacidad antioxidante total, CML carboximetil-lisina, CT colesterol total, GLUT4 proteína transportadora de glucosa-4, GPA glucemia plasmática en ayunas, GSH glutatión, IFN-γ interferón γ, IL-6 interleucina 6, IPA Insulina plasmática en ayunas, LDL lipoproteína de baja densidad, MDA malondialdehído, NR no reportado, NRF2 f Factor nuclear derivado de eritroide 2, p-Akt proteína Akt fosforilada, PCR proteína C reactiva, PI3K fofatidilinositol-3-kinasa, POL peróxidos lipídicos, PTER, RI resistencia insulina, SOD superóxido dismutasa, SRI sustratos del receptor de insulina, STZ estreptozotocina, TG en todos los grupos de tratamiento TG triglicéridos, TNF-α factor de necrosis tumoral α, TTOG test de tolerancia oral a la glucosa, VLDL lipoproteína de muy baja densidad.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Objetivos

Debido a su elevada prevalencia, su diagnóstico tardío, el grupo de edad poblacional que sufre RD, la inexistencia de una aproximación terapéutica efectiva, su fuerte componente etiológico oxidativo y del hecho de que es una patología prevenible se origina que se postule la siguiente hipótesis: El tratamiento con antioxidantes naturales presentes en la dieta, concretamente con el polifenol PTER, puede ser una buena aproximación terapéutica para prevenir la progresión de la RD hacia estadios avanzados, en los que las lesiones desarrolladas son irreversibles. Para ello se plantea como objetivo general evaluar el efecto de la suplementación oral con PTER en pacientes con RDNP leve-moderada no tratada en su evolución clínica. Para su abordaje se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Realizar una revisión sistemática sobre los beneficios de la suplementación oral de antioxidantes en el tratamiento de la RD.
2. Determinar la progresión de la enfermedad en cuanto a términos de AV y GMC como reflejo del desarrollo de EMD.
3. Valorar si se producen cambios morfológicos significativos en la fundoscopia que supongan regresión de estadio de RD.
4. Estudiar si se producen variaciones en los principales parámetros de control metabólico: HTA, dislipemia, IMC y HbA1c.
5. Analizar el efecto del tratamiento sobre el estrés oxidativo en muestras de sangre, plasma y orina.
6. Búsqueda de posibles biomarcadores en sangre u orina que se correlacionen con la presencia y evolución de RD que puedan ser útiles en prevenir lesiones irreversibles retinianas.

Objetivos

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. ANTIOXIDANTES ORALES EN RETINOPATÍA DIABÉTICA: EVIDENCIA PREVIA

La observación y el control de los factores de riesgo sistémicos constituyen el tratamiento actual para los pacientes con RD hasta que se desarrolla RDNP severa, RDP o EMD. En consecuencia, la prevención de la progresión de la RD constituye la mejor herramienta para evitar la pérdida de visión y la ceguera relacionadas con la RD.

El uso de diferentes antioxidantes orales ha proporcionado resultados prometedores en diversas enfermedades retinianas con un fuerte componente etiológico oxidativo, como en la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) (207,208). Sin embargo, su utilización como complemento terapéutico de rutina en pacientes con RD es más limitado. Los estudios *in vitro* e *in vivo* indican que las vías fisiopatológicas de la RD (la inflamación, la neurodegeneración y la microvasculopatía) podrían aliviarse con suplementación de antioxidantes orales (145). Se ha postulado que los antioxidantes mejoran el metabolismo anormal y ralentizan la progresión de la RD al neutralizar e inhibir la producción de ROS y fortalecer el sistema de defensa antioxidante (30,180,209–211). La suplementación oral con antioxidantes naturales presenta la gran ventaja de ser un tratamiento no invasivo sin efectos nocivos (180). Determinar si es un tratamiento efectivo para la RD es un desafío pendiente, así como identificar qué agentes serían los más apropiados para tratar a estos pacientes. A tal efecto, se planteó la siguiente pregunta PICO:

¿Presenta la administración oral de antioxidantes efectos beneficiosos sobre parámetros clínico-analíticos en pacientes diabéticos en relación al desarrollo/progresión de RD?

P (paciente)

- Sujetos con DM1 o DM2 con o sin RDNP

I (Intervención)

- Suplementación oral con antioxidantes

C (Comparación)

- Diferentes antioxidantes administrados vía oral

O (*Outcomes*, resultados en inglés)

- Retraso en la aparición o progresión de la RD, mejora de parámetros clínicos o analíticos, incluyendo bioquímica básica y estado oxidativo.

1.1. REVISIÓN SISTEMÁTICA

Para resolver esta cuestión, se realizó una revisión sistemática de la literatura siguiendo los criterios PRISMA (212). Se llevó a cabo una búsqueda en la base Pubmed (NLM) con el programa EndNote^{x9} (Claritative Analytics, Chandler, Az, USA), realizando las búsquedas siguientes en inglés:

- “Antioxidants” (abstract) AND “diabetic retinopathy” (abstract) AND “trial” (abstract)

n = 29 resultados

- “Supplementation” (abstract) & “diabetic retinopathy” (abstract) & “trial” (abstract)

n = 27 resultados

- “Oral supplement” (abstract) & “retinopathy” (abstract)

n = 14 resultados

- “Antioxidant supplement” (all fields) and “diabetic retinopathy” (all fields)

n = 50 resultados

- “Extract” (abstract) AND “diabetic retinopathy” (abstract) AND “trial” (abstract)

n = 5 resultados

Los criterios de inclusión y exclusión que se establecieron para determinar la elegibilidad de los estudios fueron los siguientes:

1.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Estudios experimentales en humanos
2. Pacientes con DM1 o DM2 con o sin RDNP
3. Seguimiento mínimo de 6 meses
4. Muestra mínima de 30 sujetos
5. Artículos en inglés, español y/o francés

1.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Estudio no experimental
2. Pacientes no diabéticos
3. Seguimiento inferior a 6 meses
4. Muestra inferior a 30 sujetos
5. Artículos no disponibles en inglés, español y/o francés

Después de revisar los resúmenes de los 125 resultados iniciales, finalmente se incluyeron 15 estudios: 1 estudio observacional de casos y controles (213) y 14 ensayos clínicos (214,215,224–226,216–223).

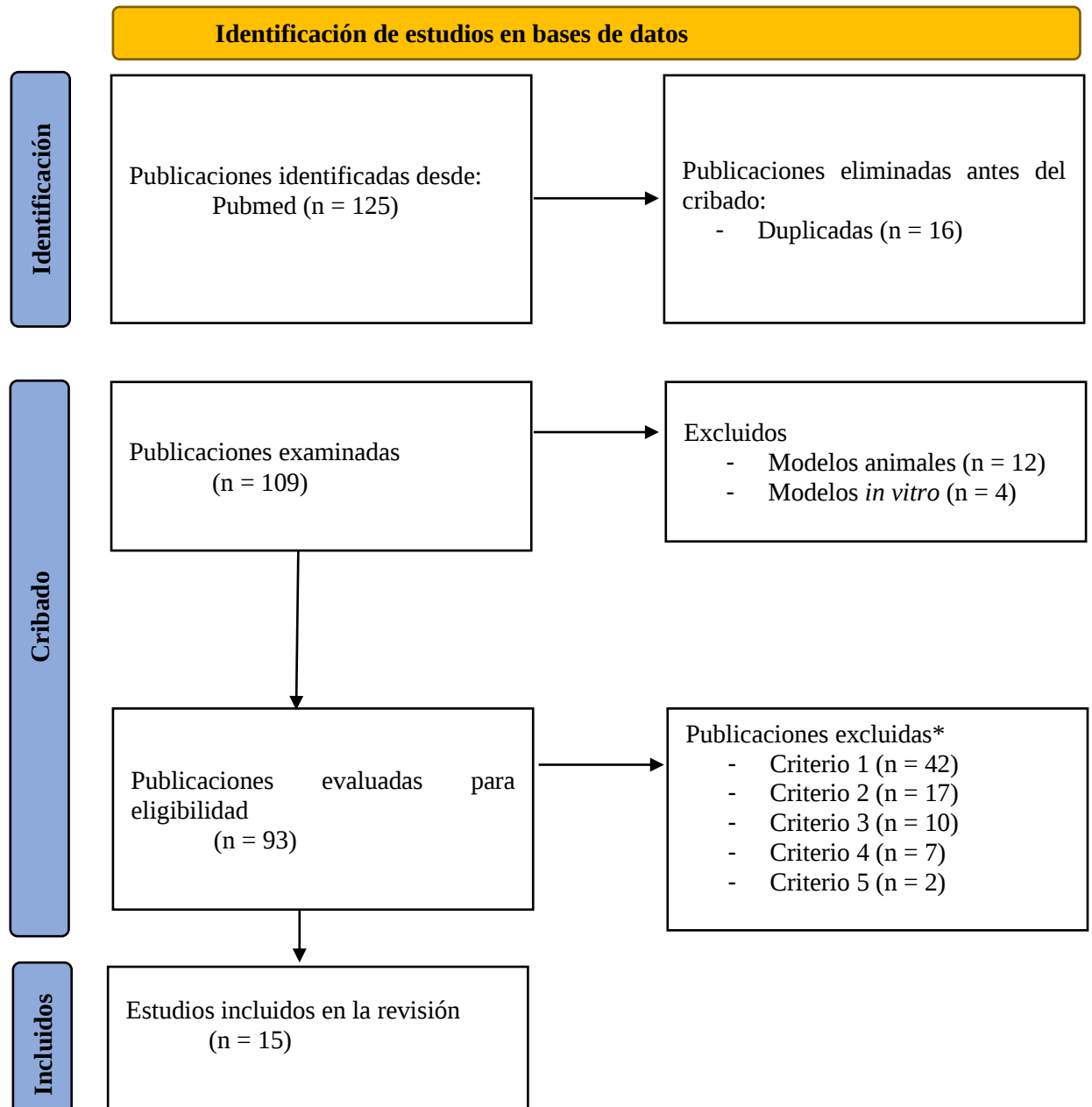


Figura 21. Diagrama de flujo seguido para la búsqueda bibliográfica en la revisión sistemática.

2. ENSAYO CLÍNICO CON PTEROESTILBENO

Se ha demostrado el uso seguro de PTER en ensayos clínicos en humanos (227) y sus aplicaciones en diferentes situaciones clínicas como complemento dietético están exentas de las fases de estudio clínico como fármaco (228). En el presente estudio se ha utilizado la misma dosis que la publicada en el estudio de seguridad (228) (125mg/12h) y el mismo proveedor del suplemento: PteroPure (Life Extension) (figura 22).



Figura 1. PteroPure® (Life Extension)

Se llevó a cabo un estudio de intervención prospectivo, randomizado, doble ciego, en pacientes con RDNP leve-moderada, reclutados en el centro Fundación Oftalmología Médica de la Comunidad Valenciana, para evaluar los efectos de suplementación oral con 250 mg diarios de PTER, frente a placebo. El proyecto fue aprobado por el pertinente Comité de Ética de Investigación Clínica (Anexo 1).

En el estudio se incluyeron 30 pacientes con DM2, entre 50 y 76 años, con signos de RDNP leve-moderada, clasificados según la estadificación ETDRS (Tabla 2). Los pacientes fueron aleatorizados en grupo control-placebo (15 pacientes) y grupo de suplementación oral con 250 mg/día de PTER (15 pacientes). La pauta de administración fue 125mg/12h. Antes de entrar a formar parte del estudio los pacientes fueron informados del mismo y firmaron el consentimiento informado (modelo en el Anexo 2).

2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Para la selección de los pacientes se tuvieron en cuenta los siguientes criterios:

2.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Sujetos entre 50-76 años.
2. DM2 con HbA1c $\leq 10,0\%$ en la visita 1 de *screening*.
3. RDNP moderada con EMD incipiente.
4. AV ≥ 34 letras ETDRS.

5. Sujetos sin intervenciones oculares previas, excepto cirugía de cataratas en los seis meses previos; sin tratamientos con láser argón y sin tratamientos intraoculares con corticoides o anti-VEGF en los seis meses previos al estudio.
6. Obtención y firma del consentimiento informado.

2.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Imposibilidad de cumplimentar el protocolo.
2. Inflamación o infección ocular activa en cualquier ojo.
3. Catarata diagnosticada con indicación de cirugía ya programada.
4. Daño estructural en el área macular que impida la recuperación de AV.
5. Cualquier tipo de cirugía ocular (excepto cirugía de cataratas 6 meses antes), láser argón, tratamiento con anti VEGF o corticoides intraoculares en 6 meses previos al estudio.
6. Presencia de EMCS.
7. Hipersensibilidad conocida a la fluoresceína.
8. Pacientes con insuficiencia hepática significativa, renal o enfermedad del tracto gastrointestinal.
9. Pacientes que reciban tiazolidinedionas o derivados del ácido fíbrico para el tratamiento de la diabetes.
10. Pacientes que manifiesten actualmente una enfermedad cardiovascular aguda.

2.2. PROTOCOLO DE VISITAS

El seguimiento completo se realizó durante 18 meses, a lo largo de los cuales se efectuaron 7 visitas (V) de seguimiento: V1 (inclusión), V2 (1 mes), V3 (3 meses), V4 (6 meses), V5 (12 meses), V6 (15 meses), V7 (18 meses). En todas las visitas se realizó una entrevista clínica completa con comprobación de la medicación concomitante, se midió la presión arterial, el pulso, el peso y la talla y se realizaron las siguientes exploraciones oftalmológicas:

- MAVC.
- Tonometría (medición de la presión intraocular).
- OCT macular (medición del GMC).
- Exploración oftalmoscópica del polo anterior (biomicroscopía).
- Exploración oftalmoscópica del fondo de ojo (oftalmoscopia indirecta).
- Retinografía de campo amplio con OPTOMAP®, con el objeto de clasificar en cada visita el grado de retinopatía.

En las visitas 1, 3, 4, 5 y 7 se realizaron, además, analítica completa con HbA1c, glucemia basal, metabolismo lipídico, perfil hepático y hemograma. En orina se evaluaron los niveles de creatinina, 8-hidroxi-2'-deoxi-guanosina, 2'-deoxi-guanosina, tirosina, m-tirosina, o-tirosina, 3-clorotirosina, 3-nitrotirosina, fenilalanina y peroxidación lipídica.

En las visitas 1, 5 y 7 se realizó una AGF con OPTOMAP® y la evaluación de parámetros de estrés oxidativo referentes al estatus de GSH y peroxidación lipídica. La determinación se realizó por HPLC/MS-MS. En la tabla 8 se muestra un resumen del protocolo y variables a recogidas.

Tabla 8. Detalle de actividades realizadas en cada visita.

ACTIVIDAD	V1 Inclusión Día 1	V2 1 mes (+/- 7 días)	V3 3 meses (+/- 15 días)	V4 6 meses (+/- 15 días)	V5 12 meses (+/- 15 días)	V6 15 meses (+/- 15 días)	V7 18 meses (+/- 15 días)
Peso y talla	X	X	X	X	X	X	X
Presión arterial y Frecuencia cardíaca	X	X	X	X	X	X	X
Analítica clínica completa	X		X	X	X		X
Entrega suplementación/ placebo.	X	X	X	X			
Medida MAVC (EDTRS)	X	X	X	X	X	X	X
Tonometría	X	X	X	X	X	X	X
OCT (medición espesor macular)	X	X	X	X	X	X	X
Biomicroscopía y Oftalmoscopia indirecta	X	X	X	X	X	X	X
Retinografía de campo amplio con OPTOMAP®	X	X	X	X	X	X	X
AGF con OPTOMAP®	X				X		X

2.3. TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño muestral (n) del estudio de intervención para analizar la capacidad antioxidante y antiangiogénica del polifenol se calculó a partir de una población (N) de 45 pacientes diabéticos con RDNP leve-moderada en seguimiento y control médico en el Centro FISABIO - Oftalmología Médica, con un nivel de confianza del 95 % ($Z=1,96$), un margen de error (e) del 5 %. Para determinar el valor de (p), se consultó en la bibliografía, los resultados de los ensayos clínicos RISE y RIDE (139) en los que se describe en el grupo placebo una progresión en el 21 % los pacientes con RDNP moderada a RDNP severa durante el primer año de seguimiento, por lo tanto del valor (p) de probabilidad se considerará que tiene un valor de 0,21 en la fórmula de cálculo muestral:

$$n = \frac{N \times Z^2 \times p \times (1 - p)}{(N - 1) \times e^2 + Z^2 \times p \times (1 - p)}$$

$$n = \frac{45 \times 1,96^2 \times 0,21 \times (1 - 0,21)}{(45 - 1) \times 0,05^2 + 1,96^2 \times 0,21 \times (1 - 0,21)}$$

$$n = \frac{28,7}{0,11 + 0,64}$$

$$n = 38$$

Se observa que el tamaño muestral que se obtiene al aplicar la fórmula es de 38, pero se decide mantener el número de reclutamiento en 30 sujetos por tratarse de un estudio preliminar. Se reclutaron aleatoriamente 15 sujetos en el grupo suplementado con 250 mg/día de PTER y 15 sujetos en el grupo control-placebo.

2.4. VARIABLES CLÍNICAS DETERMINADAS

2.4.1. ÍNDICE DE MASA CORPORAL

Se determinó el IMC como indicador del grado de obesidad, importante factor de riesgo en el desarrollo de DM2 (14) y de RD (119). Si bien no se ha demostrado su implicación en la progresión del grado de RD, se analizó su correlación con el control metabólico de la DM y el efecto del PTER sobre las cifras de IMC. Se realizó el cálculo a partir de la medición del peso en kilogramos (kg) con balanza digital y altura de los sujetos en metros (m), mediante la fórmula: $IMC = kg / m^2$.

2.4.2. PRESIÓN ARTERIAL

La presencia de HTA se ha relacionado con la exacerbación del daño oxidativo en estadios iniciales de RD (62) y el PTER ha demostrado su capacidad para reducir las cifras tanto de PAS como PAD (228). La PA se determinó con un esfigmomanómetro digital. Para

excluir un posible fenómeno de bata blanca, se tomaron al menos 3 medidas en cada visita y se realizó la media entre las tres.

2.4.3. MEJOR AGUDEZA VISUAL CORREGIDA

La AV es la capacidad del sistema óptico para distinguir detalles u objetos mínimamente separados, y que depende, entre otros, de la integridad de la fóvea, el centro de la mácula. Se determinó la MAVC (con la corrección óptica correspondiente) mediante el optotipo diseñado para el estudio ETDRS, obteniendo como valor un número de letras, con un rango entre 34 (según criterios de inclusión) y 100. El optotipo ETDRS (figura 3) presenta 14 líneas de 5 letras cada una. Si se obtiene una lectura correcta de 20 o más letras a una distancia de 4,0 metros, la puntuación obtenida es de 70, sumando 30 puntos extras, es decir, un total de 100. En caso de leer menos de 20 letras a 4,0 metros, la puntuación total será igual al número de letras leídas correctamente a 4,0 metros, más la suma de las letras leídas correctamente a 1,0 metro en las primeras 6 líneas.

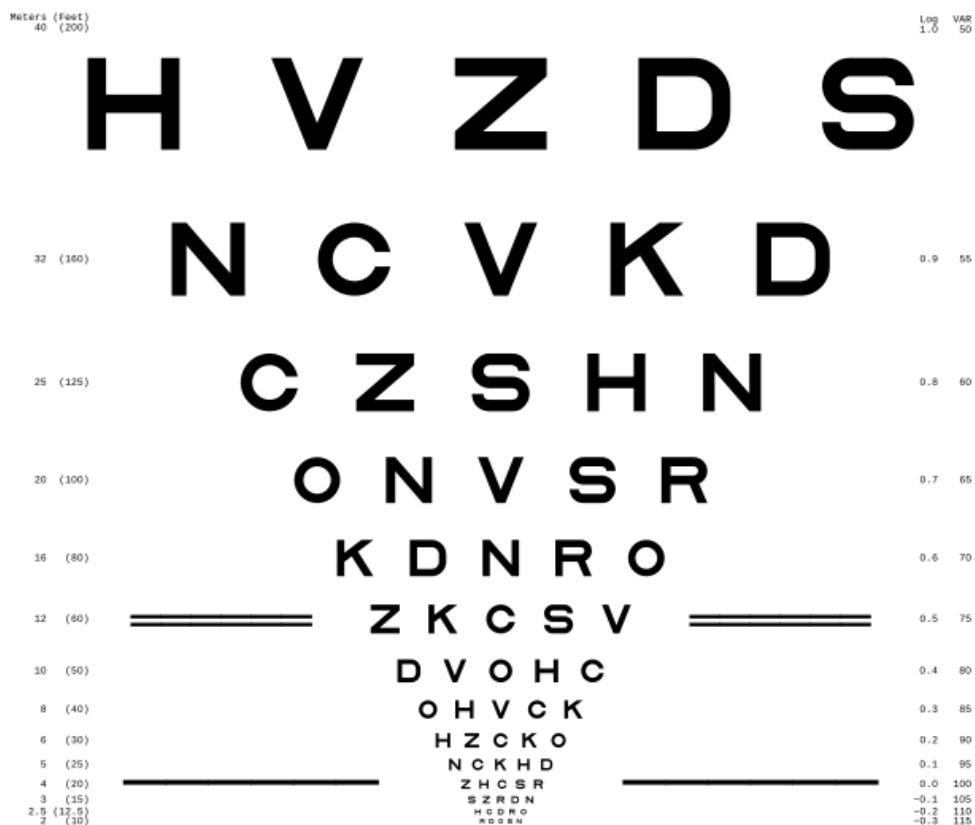


Figura 23. Optotipo ETDRS.

2.4.4. GROSOR MACULAR CENTRAL

El GMC refleja el estado anatómico de la fovea, área macular responsable de la MAVC. La presencia de EMD puede comportar un aumento de este parámetro. Se obtuvieron medidas del GMC en micras (μm) mediante sistema de OCT (Topcon®). La técnica se basa en la interferometría de baja coherencia, midiendo la latencia e intensidad de onda que se refleja tras hacer incidir una radiación luminosa sobre el tejido retiniano, mostrando una imagen de su espesor. Los dispositivos comercializados utilizan *softwares* que analizan los datos correspondientes a la mácula retiniana. El tomógrafo de Topcon utiliza un láser de diodo con longitud de onda de 850 μm y una fuente de luz de 50 nm (229). Se recogieron las cifras GMC a partir de los mapas de grosor macular.

2.4.5. ESTADIO DE RD SEGÚN LA CLASIFICACIÓN ETDRS

La clasificación se realizó rigiéndose por la estadificación ETDRS (tabla 2). Para determinar el estadio basal y su evolución, se utilizaron las retinografías de campo ultra-amplio (200°) obtenidas mediante dispositivo OPTOMAP®. Las imágenes fueron revisadas por dos evaluadoras diferentes. Se consideraron hemorragias leves las hemorragias puntiformes, moderadas aquellas de tamaño menor a 1/3 del diámetro de papila, y severas aquellas con tamaño superior a 1/3 de diámetro de papila.

2.4.6. VARIACIONES EN LA TORTUOSIDAD VASCULAR

Dado que la clasificación ETDRS se basa en cambios clínicos valorados de manera subjetiva, se determinó el índice de tortuosidad vascular (ITV) mediante el programa MATLAB. Se utilizó el código desarrollado por Khansari “retinal_tortuosity_analysis.m” (230). El código permite aislar el árbol vascular a partir de retinografías a color, obteniendo imágenes con los vasos segmentados en formato binario (figura 24), a partir de las cuáles se calcula el ITV. El programa permite seleccionar manualmente el centro del nervio óptico y los vasos objeto de análisis, que en este caso fueron las 4 venas principales. Para el procesado de las retinografías fue necesario recortar las imágenes mediante Adobe Photoshop CS6 V13.0, las cuales se guardaron en formato TIFF (en inglés *Tagged Image File Format*).

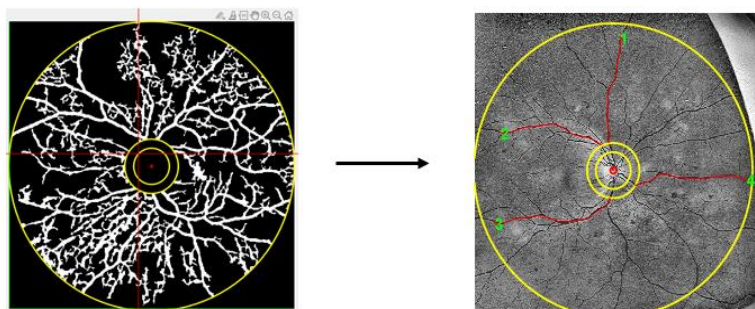


Figura 24. Imágenes obtenidas tras el procesamiento de las retinografías con el programa ImageJ para el análisis del índice de tortuosidad vascular.

El ITV se calcula a partir de varios parámetros, como se ejemplifica en la figura 25 (230):

- Ángulo entre una línea imaginaria tangente a la línea central del vaso y un eje de referencia para el primer punto de la línea central.
- Líneas tangentes para puntos a lo largo de la línea central. Se calcula la desviación estándar de los ángulos entre cada línea tangente y el eje de referencia.
- Puntos críticos (círculos rojos): se establecen acorde a los cambios en el signo de la pendiente de las líneas tangentes.
- Magnitud de la curva representada por el cociente entre la longitud de arco y la longitud de la línea central del vaso entre pares de puntos de inflexión.

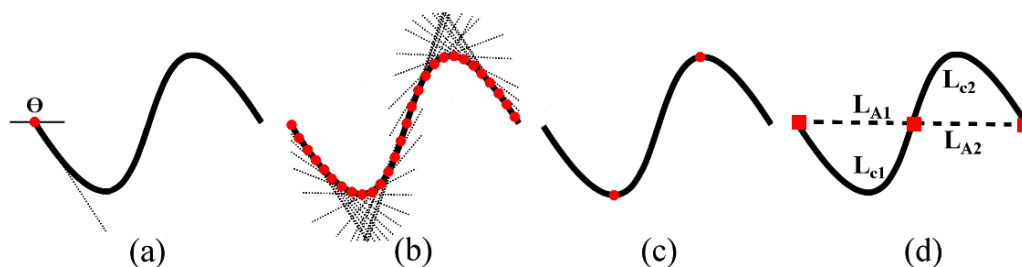


Figura 25. Representación gráfica de los parámetros utilizados para el cálculo del ITV, extraída de la publicación del código desarrollado por Khansari (219). (a) Ángulo entre el vaso y la tangente en cada punto. (b) Desviación estándar de cada ángulo. (c) Puntos críticos. (d) Cociente longitud de arco (LA) / longitud de la línea central del vaso (LC).

Se calculó el ITV para cada una de las 4 grandes venas y se calculó la media de esta cifra en la visita basal, postratamiento y final.

2.5. VARIABLES ANALÍTICAS

Se analizaron las muestras de las visitas 1,5 y 7. Se recogieron 5 mililitros (ml) de sangre en ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) y 1 ml de orina.

2.5.1. BIOQUÍMICA BÁSICA

Se analizaron las cifras de HbA1c% mediante el instrumento Adams A1C HA-8180V (231). Por otra parte, los niveles de glucemia, perfil lipídico, perfil hepático y creatinina en orina y sangre se determinaron mediante el instrumento AU 5800 Beckman Coulter (232).

2.5.2. ESTADO OXIDATIVO

Se determinó, por una parte, la fracción GSH/GSSG plasmática, así como los niveles plasmáticos de los analitos de la vía de la transulfuración: metionina, SAH, SAM, homocistina, homocisteína, cistationina, cistina, cisteína y γ -glutamilcisteína. Por otra parte, se analizó la peroxidación lipídica en muestras de orina.

2.5.3. AGENTES

Se utilizó metanol, NaOH, KOH, etanol, heptano, acetonitrilo, acetato de etilo (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y ácido fórmico y HCl (Panreac, Barcelona, España). Se generó H₂O ultrapura en un sistema milliQ de Millipore.

El daño oxidativo lipídico se determinó mediante el análisis de prostaglandinas (PG), isoprostanos (IsoP), neuroprostanos (NeuroP), dihom-IsoP y dihom-isofuranos (dihomo-IsoF) utilizando espectrometría de masas de cromatografía líquida de ultra alta resolución (UPLCMS/MS) (sistema Waters Acquity UPLC-XevoTQ, Milford, MA, EE. UU.). Este análisis fue llevado a cabo en orina.

El estándar de prostaglandina PGE₂, PGF₂, los estándares IsoP 8-iso-PGE₂, 8-iso-15-ceto-PGE₂, 8-iso-PGF₂ (también denominado 15-F_{2t}-IsoP), 8-iso-15-ceto-PGF₂, 8-iso-15(R)-PGF₂, 5-iso-PGF₂ –VI, 2,3-dinor-8-iso-PGF₂, 1a,1b-dihomo-PGF₂ y PGF₂-d se obtuvieron de Cayman Chemical Company (Ann Arbor, MI, EE. UU.). Los estándares 10-epi-10-F_{4t}-NeuroP, 4(RS)-4-F_{4t}-NeuroP, 14(RS)-14-F_{4t}-NeuroP, 17-F_{2t}-dihomo-IsoP, Ent-7(RS)-7-F_{2t}-dihomo-IsoP, 17-epi-17-F_{2t}-dihomo-IsoP, 17(RS)-10-epi-SC-D15-11-dihomo-IsoF, 7(RS)-ST-D8-11-dihomo-IsoF fueron sintetizados en el Instituto de Biomoléculas Max Mousseron (IBMM) (Montpellier, Francia) por el equipo del Profesor Durand (233).

2.5.4. MUESTRAS PLASMÁTICAS

Las muestras de sangre se centrifugaron durante 10 min a 1.000 g a temperatura ambiente y el sobrenadante (plasma) se separó y se dividió en alícuotas. Las muestras se almacenaron a -80°C hasta el análisis.

Se descongeló un volumen de 200 µl de muestras de plasma a 4°C y 5 µl de patrón interno (20 µM). Las muestras de plasma fueron sometidas a hidrólisis básica por añadiendo 200 µl de solución de KOH al 15% (p/v). La mezcla se incubó a 40°C durante 30 min. Posteriormente, las muestras se diluyeron con 1360 µl de H₂O (pH 3, 0,1 % v/v HCOOH):MeOH (85:15), acidificado con 40 µl de ácido fórmico, y se incubaron en hielo durante 10 min. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 4.000 g durante 10 min (4°C). Se recolectó el sobrenadante y se realizó una limpieza y preconcentración mediante extracción en fase sólida (SPE).

Para lograr una mayor concentración de los analitos se utilizaron placas de pocillos SPE-96 (Discovery®DSC-18, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). Los cartuchos SPE se acondicionaron con 1 mL de metanol y luego con 1 mL de H₂O (pH 3, 0,1% v/v HCOOH). Posteriormente se agregaron las muestras y se lavaron con 500 µl H₂O (pH 3, 0,1% v/v HCOOH) y 500 µl de heptano. La elución se llevó a cabo con 4 lavados de 100 µl cada uno con acetato de etilo en placas de 96 pocillos (Acquity UPLC 700 L, de Waters, Barcelona, España).

El solvente orgánico se eliminó en un concentrador de vacío rápido (Savant SPD111V, Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) a 45°C. Finalmente, los extractos se reconstituyeron en 60 µl de H₂O (pH 3, 0,1% v/v HCOOH): CH₃OH (85:15 v/v) y se midieron en UPLC-MS/MS.

2.5.5. MUESTRAS DE ORINA

Para el análisis de las muestras se utilizó 1 mL de orina. Las muestras se descongelaron a 4°C y se centrifugaron a 14.000 g durante 10 min a 4°C. Se recogieron los sobrenadantes y se agregaron 5 µl de solución estándar interna (20 µM). Luego una SPE y elución en acetato de etilo se realizaron de la misma manera que para las muestras de retina con el fin de lograr una mayor concentración de los analitos. Una vez evaporados, los extractos secos se reconstituyeron en 100 µl de H₂O (pH 3, 0,1% v/v HCOOH):CH₃OH (85:15 v/v). Finalmente, se inyectaron en el sistema cromatográfico (UPLC-MS/MS).

Los resultados se estandarizaron según los niveles de creatinina medidos mediante un ensayo colorimétrico (MicroVue creatinine EIA, Quidel Corporation, San Diego, CA, EE. UU.) según instrucciones del fabricante.

La validación del método bioanalítico en plasma y orina se ha demostrado en estudios anteriores (234) siguiendo las directrices de la FDA (235).

2.5.6. ESPECTROMETRÍA DE MASAS

El análisis UPLC-MS/MS se llevó a cabo en un sistema Acquity-Xevo TQ (Waters, Barcelona, España). Las condiciones utilizadas fueron: ionización en modo negativo (ESI-), tensión capilar de 3,5 kV, temperatura de la fuente 120°C, temperatura de desolvatación 300°C, flujo de gas del cono de nitrógeno de 150 L/h, y caudal de desolvatación de 680 L/h. Las condiciones de separación se seleccionaron para lograr una retención cromatográfica adecuada y resolución usando una columna C18 (2,1 50 mm, 1,7 µm) (Acquity UPLC BEH) y precolumna (2,1 5 mm) de Waters. Una fase móvil binaria CH₃OH (0,1% v/v HCOOH):H₂O (HCOOH al 0,1% v/v) con elución en gradiente. El caudal fue de 0,4 ml/min, las temperaturas de la columna y del autoinyector fueron de 37°C y 4°C, respectivamente. El volumen de inyección fue de 10 µl. El gradiente comenzó con CH₃OH al 30 % v/v (HCOOH al 0,1 % v/v) (es decir, el canal B) y de 1 a 4,0 min %B aumentó hasta el 90%. Finalmente, la composición de la fase móvil volvió a las condiciones iniciales, y se mantuvo durante 3.9 min para acondicionamiento del sistema.

La detección se realizó mediante el seguimiento de múltiples reacciones utilizando la adquisición de parámetros obtenidos en un estudio previo (236,237) . Para la adquisición y el procesamiento de datos, se utilizaron los softwares MassLynx 4.1 y QuanLynx 4.1. Las curvas de respuesta lineal fueron calculadas empleando PGF_{2α}-d₄ como patrón interno.

2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos del ensayo clínico fueron recogidos en el programa Microsoft Office Excel 2016. Los gráficos y el análisis estadístico se llevaron a cabo con IBM® SPSS® versión 28.0.1.1 (238).

La muestra para la investigación incluyó 30 pacientes diagnosticados de RDNP leve-moderada y randomizados a dos grupos según aplicación del tratamiento:

- Control placebo, n=15
- PTER (test), n=15

De 4 pacientes (2 en cada grupo) sólo se obtuvieron datos de la evaluación basal pre-tratamiento, ya que 2 pacientes abandonaron el estudio, 1 paciente se excluyó por incumplimiento del protocolo, y 1 paciente falleció durante el seguimiento. La muestra efectiva para el análisis fue de 26 pacientes (13 en el grupo control y 13 en el grupo tratamiento).

El inicio del tratamiento (T0) se consideró el punto de partida del estudio, con revisiones posteriores a:

- 1 año (T1): fin del tratamiento
- 18 meses (T2)

La investigación recogió variables de perfil demográfico y clínico del paciente y la patología, además de una serie de parámetros analíticos. La variación de estos parámetros a corto plazo (T1-T0), así como su estabilidad (T2-T1) y la variación global (T2-T0) es representativa del grado de efectividad del tratamiento en comparación al grupo control.

Para aquellas variables sin un rango poblacional estandarizado, por no ser utilizadas en la práctica clínica habitual, se trabajó además con las cifras diferenciales entre tiempos (T1-T0, T2-T1, T2-T0).

Dado el pequeño tamaño de la muestra por grupo, el enfoque de análisis fue de tipo no paramétrico.

Se llevó a cabo el análisis descriptivo determinando la media, desviación estándar, mínimo, máximo, mediana y cuartiles para las variables continuas; y frecuencias absolutas y porcentajes para las categóricas.

Para cada parámetro se estimó un modelo de Brunner-Langer para datos longitudinales (equivalente al ANOVA unifactorial de medidas repetidas del enfoque paramétrico) para evaluar y comparar los cambios a lo largo del seguimiento entre ambos grupos. Se atendió al estadístico ATS para concluir sobre los efectos principales e interacción. Para comparar las distribuciones entre tiempos (intra-grupos) se aplicó el test de Wilcoxon, y para las comparaciones en un tiempo concreto (entre-grupos), se aplicó la prueba de Mann-Whitney.

La homogeneidad de los 2 grupos en cuanto al perfil demográfico y clínico basal se estudió utilizando pruebas Chi² de asociación (variables categóricas, recuentos >5), test exacto de Fisher (variables categóricas, algún recuento <5) y test Mann-Whitney (variables cuantitativas).

El nivel de significatividad empleado en los análisis fue el 5% ($\alpha=0,05$). La metodología estadística alcanza una potencia del 77,8% para detectar un tamaño de efecto medio ($f=0,25$) en la diferencia del cambio medio de un parámetro entre los 2 grupos a lo largo del tiempo (término interacción), asumiendo un nivel de confianza del 95%.

En las comparaciones múltiples intra e inter-grupo no se aplicó la corrección de Bonferroni (multiplicación del p-valor x3) para identificar más fácilmente cualquier tendencia interesante, debido al tamaño muestral.

IV. RESULTADOS

1. REVISIÓN SISTEMÁTICA

Entre los 15 estudios revisados, 3 reclutaron pacientes con DM1 (215,217,225), mientras que 14 incluyeron sujetos con DM2. El perfil clínico incluyó diabéticos sin retinopatía y diabéticos con NPDR leve a moderada. Ninguno de los estudios incluyó NPDR severa o RDP. Cinco estudios reclutaron pacientes que presentaron EMD (148,214,217,219,223). Los períodos de seguimiento oscilaron entre 6 a 60 meses.

Muchos de los estudios utilizaron fórmulas comercializadas que incluían una composición mixta de antioxidantes (148,213–215,219,220,223). Entre ellas, Nutrof Omega®, Brudy Retina®, Diaberet® y Vitalux Forte® han sido probados en pacientes con RD. Divfuss® fue desarrollado específicamente para el Estudio de Suplementos de Función Visual de la Diabetes (215). Diaberet® y Vitalux Forte® ya no están disponibles y sus fórmulas han sido actualizadas a Visucomplex Plus® y Vitalux Plus® por los laboratorios correspondientes.

Las variables analizadas se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Revisión sistemática. Variables clínicas, funcionales y bioquímicas.

1.Variables clínicas	2.Variables funcionales	3.Variables bioquímicas
• Inicio o progresión de la RD • Inicio o progresión de la EMD • Incremento de MAVC • Cambios en el GMC • Cambios de espesor de la capa de fibras nerviosas retinianas (en inglés RNFL) • Cambios en el flujo sanguíneo de la retina • Número de inyecciones intravítreas de Ranibizumab requeridas	• Sensibilidad retiniana • Sensibilidad al contraste • Sensibilidad al deslumbramiento • Densidad ocular del pigmento macular (DOPM)	• Valores de HbA1c % • Niveles de colesterol HDL / LDL / CT / TG • Niveles de productos de peroxidación lipídica • Capacidad antioxidante total plasmática • Niveles de ROS • Niveles plasmáticos de IL-6 • Microalbuminuria • Creatinina

Los resultados se presentan de manera resumida en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de la revisión sistemática del uso de antioxidantes orales en RD.

Referencia	Estudio	Criterios inclusión más importantes	Composición suplementos orales	Nombre comercial	N por Grupo: Suplementado (S) y Control (C) Edad media (años)	Tiempo seguimiento meses	Hallazgos clínicos	Hallazgos bioquímicos
Sanz-González 2020 España (213)	Casos y controles	DM2 sin RD o con RDNP leve-moderada	Aceite como fuente de PUFAs: 400 mg Omega-3 ($\omega 3$): ADH 140 mg Vitamina C 80 mg Vitamina D 5 μ g Vitamina B 20,1 mg Vitamina E 12 mg Luteína 6 mg Zeaxantina 0,3 mg GSH 1 mg Hidroxitiroso 0,75 mg Zinc 7,5 mg Cobre 1 mg Selenio 55 μ g Manganeso 2 mg Dosis = 1 comprimido/día: Suplemento o placebo	Nutrof Omega® (Thea SA, (Barcelona, España)	N = 365 225 DM2 -Con RD: 100 -Sin RD: 125 140 controles sanos Edad media: DM2: 60 Controles: 55	38	El grupo presentó más sujetos con DM2 que presentaron progresión de RD Diferencias NS en PIO y GMC	El aporte de A/ $\omega 3$ redujo significativamente los pro-oxidantes ($p < 0,05$) y aumentó los antioxidantes ($p < 0,05$).
Moon 2019 Corea (216)	Ensayo aleatorizado controlado doble ciego	DM2 con RDNP 40–80 años AV > 0,5 Sin láser ni terapia intravítrea ni cirugía intraocular en los 6 meses anteriores	Grupo S 1: 50 mg—Extractos de proantocianidinas de semilla de uva (GSPE) (Extracto de vitis vinifera) Grupo S 2: 250 mg de dobesilato cálcico (CD) Grupo C.	GSPE: Entelon (Hanlim)Pharm, Seúl, Corea del Sur) CD: Doxium (Ilsung Pharm, Seúl, Corea del Sur).	N = 86 3 comprimidos 3 veces al día S1: GSPE (150 mg/día): 32 S2: CD (750 mg/día): 35 Placebo: 19	12	Mejora de la gravedad de los exudados duros: mayor en GSPE (43,9%) vs. EC (14,29%) y vs. placebo (8%) (0,0007) Diferencias NS entre parámetros medidos por OCT (GMC, VMT) GSPE disminuyó significativamente el VMT	Diferencias NS con respecto a los signos vitales y los resultados de laboratorio entre grupos.

Referencia	Estudio	Criterios inclusión más importantes	Composición de los suplementos orales	Nombre comercial	N por Grupo: Suplementado (S) y Control (C). Edad media (años)	Tiempo de seguimiento en meses	Hallazgos clínicos	Hallazgos bioquímicos
Lafuente 2019 España (214)	Estudio aleatorizado simple ciego controlado	DM2 con disminución de la visión debido a EMD con afectación central	Ácidos grasos ω -3 ADH 350 mg APE 42,5 mg ADP 30 mg Vitamina C 26,7 mg Vitamina E 4 mg Vitaminas del grupo B 7,3 mg Luteína 3 mg Zeaxantina 0,3 mg GSH 2 mg Zinc 1,66 mg Cobre 0,16 mg Selenio 9,16 μ g Manganeso 0,33 mg	Brudyretina® 1,5 g (Brudy Lab S.L Barcelona, España) 3 cápsulas de 1,5 g una vez al día	N = 55 (69 ojos) S + Ranibizumab * n = 26 (31 ojos) C: Sólo Ranibizumab * n = 29 (38 ojos) Todos los pacientes recibieron cuatro dosis mensuales de ranibizumab seguidos de pauta pro re nata.	36	AV: Diferencia NS en letras ETDRS. Ganancias de >5 y >10 letras significativamente más altas en el grupo S. GMC: Disminución significativa en el grupo S vs. C grupo (275 $\pm$ 50 μ m vs. 310 $\pm$ 97 μ m) Número de inyecciones de ranibizumab: Diferencias NS entre grupos.	Diferencias significativas en la HbA1c, CAT plasmática, contenido de ADH en eritrocitos y niveles de IL-6 a favor del grupo S.
Sepahi 2018 Irán (217)	Ensayo en fase 2 aleatorizada, doble ciego, controlado con placebo.	EMD refractario a la terapia convencional [#] en DM1 o DM2	S1: Crocina comprimido 15 mg S2: Crocina comprimido 5 mg	Comprimido de crocina Laboratorio farmacéutico de la Escuela de Farmacia Mashhad Iran 1 comprimido al día (15 mg, 5 mg o placebo)	N = 60 pacientes (101 ojos) S 1: 20 (33 ojos) S 2: 20 (34 ojos) C: 20 (34 ojos) Edad: 41–82	Suplementación: 3 Seguimiento: 6	AV: LogMAR: S1 mejoró significativamente en comparación con S2 ($p < 0,05$) y con C ($p = 0,02$). GMC: S1 mejoró significativamente en comparación con S2 ($p < 0,05$) y con C ($p = 0,005$). Mejora de S2 NS en comparación con C.	HbA1c y GPA: S1 y S2 significativamente mejor que C.

Referencia	Estudio	Criterios inclusión más importantes	Composición de los suplementos orales	Nombre comercial	N por Grupo: Suplementado (S) y Control (C). Edad media (años)	Tiempo de seguimiento en meses	Hallazgos clínicos	Hallazgos bioquímicos
Zhang 2017 China (226)	Ensayo aleatorizado, doble ciego, Controlado con placebo	RDNP leve o Moderada en DM2 Criterios de exclusión: EMD, otros trastornos oculares distintos de leve o moderado RDP	Luteína 10 mg Cápsula placebo	Luteína 10 mg 1 cápsula al día Compañía Farmacéutica Ltd. (Cantón, China) 1 cápsula de placebo una vez al día si C	N = 30 pacientes S: 15 C: 15 Edad media: 60,2, SD: 10,3	9	AV: ligera mejoría NS en S ($p = 0,11$) Sensibilidad al contraste: S: aumento significativo en 3 ciclos 0,16 ($p = 0,02$) El análisis ANOVA mostró diferencias entre S y C. NS en 6,12 y 36 ciclos/. Sensibilidad al deslumbramiento: diferencias NS.	
Lafuente 2017 España (148)	Aleatorizado Simple ciego Controlado	Adultos con DM2 con disminución de la visión debido a EMD central	Ácidos grasos ω -3 ADH350 mg APE 42,5 mg ADP 30 mg Vitamina C 26,7mg Vitamina E 4 mg Vitaminas del grupo B 7,3 mg Luteína 3 mg Zeaxantina 0,3 mg GSH 2 mg Zinc 1,66 mg Cobre 0,16 mg Selenio 9,16 μ g Manganeso 0,33mg	Brudyretina® 1,5 g (Brudy Lab S.L Barcelona, España) 3 cápsulas de 1,5 g una vez al día	N = 76 ojos S + Ranibizumab * n = 34 C: Sólo Ranibizumab * n = 42 Todos los pacientes recibieron cuatro dosis mensuales de ranibizumab seguido de pauta pro re nata.	24	AV: Diferencia NS en letras ETDRS. Ganancias de >5 letras significativamente mayor en el grupo S ($p = 0,044$), NS para ganancias de >10 letras. GMC: Disminución significativa en el grupo S (IC del 95%: 7,20–97,656; $p = 0,024$) Número de inyecciones de ranibizumab: Diferencias NS entre los grupos.	Aumento significativo de CAT (capacidad antioxidante total) en el grupo S ($p < 0,001$) Reducción significativa en el contenido eritrocitario de ARA ω -6 en el grupo S ($p < 0,05$) Diferencias NS en niveles de HbA1c

Referencia	Estudio	Criterios inclusión más importantes	Composición de los suplementos orales	Nombre comercial	N por Grupo: Suplementado (S) y Control (C). Edad media (años)	Tiempo de seguimiento en meses	Hallazgos clínicos	Hallazgos bioquímicos
Rodríguez-Carrizalez 2016 México (218)	Ensayo clínico aleatorizado, controlado, en fase IIa	DM2 con RDNP, pero sin EMD	S1: Ubiquinona 400 mg Dosis 1 comprimido/día S2: Vitaminas C 180 mg, E30 mg Luteína 10 mg Astaxantina 4 mg Zeaxantina 1 mg Zinc 20 mg C: Comprimido de placebo	Suplemento no comercializado Dosis 1 comprimido/día	N = 60 pacientes S1: N = 20 S2: N = 20 C: N = 20 Edad media S1: 58,5 ± 1,9 S2: 62,1 ± 1,1 C: 57,8 ± 1,9	6	AV: cambios NS	S1 y S2 Disminución significativa de los productos de peroxidación lipídica, Metabolitos del NO, catalasa y GSH-P ($p < 0,0001$) Aumento de la CAT ($p < 0,0001$) Vs. Grupo C Cambios NS en HbA1c%, niveles de colesterol y triglicéridos entre grupos
Chous 2016 EE.UU. (215)	Ensayo clínico controlado aleatorizado	DM1 o 2 sin RD o con RDNP sin EMCS	S: Vitaminas C 60 mg, D3 50 mg, E40 mg, Ácido α -lipoico 150 mg Coenzima Q10 20 mg Ácidos grasos ω -3 APE 128 mg ADH 96 mg Zeaxantina 8 mg Luteína 4 mg Óxido de zinc 15 mg Benfotiamina N-acetil cisteína Extracto de uva Resveratrol Raíz de cúrcuma Extracto de hoja de té verde Pycnogenol (mg no especificados)	DiVFuss® (ZeaVision, LLC, Chesterfield, Missouri, Estados Unidos) Dosis=2 comp/día C: Comprimido de placebo	N = 67 pacientes S: N = 39 C: N = 28 Edad S: 53,5 ± 14,6 C: 59,7 ± 10,3	6	AV: Cambios NS GMC: Cambios NS Espesor RNFL: cambios NS Sensibilidad al contraste, campo visual y DOPM: mejora significativa del 27% en el grupo S frente al 2% en el grupo C. (<i>valores de p</i> que oscilan entre 0,008 y <0,0001). DOPM (pigmento macular óptico densidad)	Cambios NS en la HbA1c, CT o TNF- α entre los grupos

Referencia	Estudio	Criterios inclusión más importantes	Composición de los suplementos orales	Nombre comercial	N por Grupo: Suplementado (S) y Control (C). Edad media (años)	Tiempo de seguimiento en meses	Hallazgos clínicos	Hallazgos bioquímicos
Roig-Revert 2015 España (219)	Estudio aleatorizado, prospectivo, multicéntrico	DMT2 Grupo 1: RDNP ± EMD Grupo 2: Pacientes diabéticos sin RD Sujetos sanos	S: Vitamina C 80 mg Vitamina D 5 µg Vitamina B 20,1 mg Vitamina E 12 mg ω-3: DHA 140 mg Luteína 6 mg Zeaxantina 0,3 mg GSH 1 mg Hidroxitirosol 0,75 mg Zinc 7,5 mg Cobre 1 mg Selenio 55 µg Manganeso 2 mg	Nutrof Omega® (Thea SA, Barcelona, España) Dosis = 1 comprimido/día C: sin cápsula de placebo	N = 208 pacientes Grupo 1 DM RD+ (N = 62) S (n=no especificado) C (n=no especificado) Grupo 2 DM RD- (N = 68) S (N=no especificado) C (n=no especificado) Grupo 3 controles (N = 78) S (n=no especificado) C(n=no especificado) Edad media DM RD+ 65,1 ± 8,6 DM RD – 62,3 ± 10,1	18	Grupo 1 DM RD+ Progresión de RD: S: 61% C: 91% Grupo 2 DM RD- Inicio de RD: S: 9% C: 35%	Reducción significativa del EAT en DMRD+ suplementado (p = 0,020) Los subproductos de la peroxidación lipídica plasmática disminuyeron significativamente en el grupo DMRD+ suplementado. Diferencias NS en términos de HbA1c, HDL/LDL colesterol y triglicéridos.
Domanico 2015 Italia (220)	Estudio prospectivo aleatorizado	DM2 con RDNP leve a moderada, sin EMD	Vitamina E 30 mg Pycnogenol 50 mg Coenzima Q10 20 mg	Diaberet® (Visufarma, Roma, Italia)	N = 68 pacientes (ojos) S: N = 34 C: N = 34 Edad S: 58,29 ± 12,37 C: 62,29 ± 11,54	6	GMC: reducción significativa en el grupo S (p < 0,01) (-15,44)	

Referencia	Estudio	Criterios inclusión más importantes	Composición de los suplementos orales	Nombre comercial	N por Grupo: Suplementado (S) y Control (C). Edad media (años)	Tiempo de seguimiento en meses	Hallazgos clínicos	Hallazgos bioquímicos
Watanabe 2014 Japón (221)	Estudio aleatorizado, prospectivo	Pacientes con DM2 sin RD	2,5 g de extracto de goshajinkigan 3 veces al día, que incluía: 4,5 g de extractos compuestos de 10 hierbas medicinales: Rehmanniae radix (5 g), Achyranthis radix (3 g), Corni fructus (3 g), Dioscoreae rhizoma (3 g), Hoelen (3 g), Plantaginis semen (3 g), Alismatis rhizoma (3 g), corteza de Moutan (3 g), corteza de Cinnamomi (1 g) y Aconiti radix (1 g) procesado térmicamente	TJ-107; Tsumura Co., Tokio, Japón	N = 116 pacientes S: N = 74 C: N = 42 Edad media S: 59,4 ± 7,8 C: 60,9 ± 7,4	60	Progresión de la retinopatía: No hay diferencias entre S y C. Un total de 25 pacientes tenían RD al final del estudio. 17,9% en el grupo S 20,0% en el grupo control $p = 0,816$	HbA1c: cambio significativo en S en los meses 54 y 60
Haritoglou 2011 Alemania (222)	Estudio aleatorizado, prospectivo, multicéntrico	DM2 con RDNP leve-moderada en al menos un ojo	S: ácido α lipoico 600 mg Dosificación 1 comprimido/día C: comprimido de placebo	Suplemento no comercializado	N: = 399 pacientes S: = 196 C: = 203 Edad media S 58,0 C 57,9	24	Debut de EMCS durante el seguimiento S 26/196 C 30/203 Reducción NS en el desarrollo del edema macular ($p = 0,7108$)	
García-Medina 2011 España (223)	Estudio prospectivo aleatorizado	DM2 con RDNP pero sin EMCS	S: Vitamina C 60 mg Vitamina E 10 mg Luteína 3 mg Zinc 13,5 mg Cobre 1 mg Selenio 10 μ g Manganeso 1 mg Niacina 10 mg β -Caroteno 3 mg	Vitalux Forte® (Novartis Pharma AG Oftalmología, Basilea, Suiza) Dosis = 2 comprimidos/día C: sin cápsula de placebo	N = 97 pacientes S: N = 56 C: N = 41 Edad media S 53,3 ± 11,9 C 57,0 ± 11,4	60	AV: NS Cambio en el grado de RD: Progresión significativa en el grupo C ($p < 0,01$) vs. progresión no significativa en el grupo S	

Referencia	Estudio	Criterios inclusion más importante	Composición de los suplementos orales	Nombre comercial	N por Grupo: Suplementado (S) y Control (C). Edad media (años)	Tiempo de seguimiento en meses	Hallazgos clínicos	Hallazgos bioquímicos
Forte 2011 Italia (224)	Estudio randomizado prospectivo controlado	DM2 y EMD sin engrosamiento macular en la OCT	S =Desmina 300 mg Troloxrutina 300 mg C. asiatica 30 mg Meliloto 160 Dosis 1/día C = Cápsula de placebo	Suplemento no comercializado	N = 40 pacientes (ojos) S = 20 C = 20 Edad media S 63,6 ± 3,1 C 62,2 ± 3,4.	14	AV: Diferencias NS GMC: Diferencias NS entre grupos. Sensibilidad retiniana (dB): S mostró un aumento significativo en el mes 14 Cambios NS en la presión arterial	Diferencias NS durante el seguimiento en términos de HbA1c, o la microalbuminuria
Bursell 1999 EE.UU. (225)	Estudio aleatorizado doble ciego controlado con placebo	DM1 ± mínima RD	S = Vitamina E 1800 UI/día C = Cápsula placebo	Suplemento no comercializado	S = 36 (DMT1) C = 9 (ND) 4 meses seguimiento Cruce tratamientos S = 9 (ND) C = 36 (DM1) 4 meses seguimiento Edad media DM = 31,2 ± 6,8 ND = 31,6 ± 7,1	8	Aumento significativo del flujo sanguíneo retiniano ($p < 0,001$) (34,5 ± 7,8 pixel2/s) Flujo sanguíneo retiniano medido por los tiempos medios de circulación en la AGF C: Sin cambios	Cambios NS en términos de HbA1c entre grupos Mejoría estadísticamente significativa del aclaramiento de creatinina después de la suplementación en Sujetos con DMT1 ($p = 0,039$). Este cambio se revirtió después del cruce.

Abreviaturas. ADH = Ácido docosahexaenoico, ADP = Ácido docosapentaenoico, APE = Ácido eicosapentaenoico, ARA = ácido araquidónico, AV = agudeza visual. C = Grupo control, DM = Diabetes Mellitus, DM RD + = Pacientes diabéticos con retinopatía diabética, DM RD - = Pacientes diabéticos sin retinopatía diabética, DM2 = Diabetes mellitus tipo 2, DOPM = densidad óptica del pigmento macular, EAT = Estado antioxidante total, EMCS = Edema macular clínicamente significativo, EMD = edema macular diabético, ETDRS = Escala de estudio de retinopatía diabética de tratamiento temprano, GMC = grosor macular central, GPA = glucosa plasmática en ayunas, HbA1C = hemoglobina glicosilada, MDA = Malondialdehído, NO = óxido nítrico. NS = No estadísticamente significativo, PIO = presión intraocular, PUFA = abreviatura en inglés para ácidos grasos poliinsaturados, RD = Retinopatía diabética, RDNP = Retinopatía diabética no proliferativa, S = grupo suplementado, UI = Unidades Internacionales, VMT = volumen macular total. * Dosis de ranibizumab: cuatro dosis de carga seguidas de tratamiento pro re nata, ambos grupos. # Incluye: Fotocoagulación macular e inyección intravítrea de bevacizumab o triamcinolona.

1.1. RESULTADOS DE VARIABLES CLÍNICAS

En cuanto a las variables clínicas, cuatro estudios analizaron la influencia de la suplementación antioxidante en el inicio de la RD o la progresión de la enfermedad (213,216,219,221). Tres de ellos registraron un retraso significativo en la progresión de la RD en pacientes que recibieron suplementos de Nutrof Omega® o GSPE, con períodos de seguimiento de al menos 12 meses (213,216,219). El grupo de Haritoglou *et al.* examinó la aparición de EMD, basando el diagnóstico en una evaluación funduscópica de acuerdo con los criterios ETDRS, ya que no se dispuso de dispositivo OCT en todos los centros involucrados. No encontraron diferencias entre los pacientes suplementados y los controles tras de 24 meses de seguimiento (222). Finalmente, el grupo de Bursell *et al.* utilizó la AGF para analizar el flujo sanguíneo retiniano en pacientes con DM1, encontrando un aumento significativo en el grupo suplementado con vitamina E (225).

En cuanto a las variables cuantitativas, 4 de los 8 ensayos que evaluaron los cambios de GMC encontraron una disminución significativa en micras, con períodos de seguimiento que oscilaron entre 6 y 36 meses, en pacientes suplementados con Crocin 15 mg (217), comprimidos de Brudyretina® (148,214) y de Diaberet® (220). Sin embargo, hay que tener en cuenta que los pacientes incluidos en los estudios de Lafuente *et al.* (148,214) recibieron simultáneamente inyecciones de Ranibizumab y cápsulas de Brudyretina®, de manera que no se puede atribuir directamente la mejoría a la administración del suplemento oral.

En la misma línea, un estudio reportó una reducción significativa del espesor total de RNFL (219). Sin embargo, ese cambio afectó solo a los ojos izquierdos y, por lo tanto, podría considerarse como un hallazgo casual.

A pesar de los resultados positivos, es importante destacar que ninguno de los estudios incluidos en esta revisión pudo probar cambios significativos en la MAVC.

1.2. RESULTADOS DE VARIABLES FUNCIONALES

Se observa una escena diferente con respecto a la influencia de los antioxidantes sobre la función de la retina. Se encontraron 3 estudios que incluyeron el análisis de la sensibilidad retiniana (215,224), la sensibilidad al contraste (215,226), la sensibilidad al deslumbramiento (215) y/o DOPM (215), encontrando todos ellos una mejoría significativa entre los pacientes suplementados con luteína, complejo DiVFuSS® o cápsulas de *C. asiatica*. Dichos cambios se observaron después de períodos de seguimiento relativamente cortos, que variaron de 6 a 14 meses. El perfil de los pacientes incluidos por Zhang *et al.* y Chouss *et al.* fueron individuos con RDNP leve a moderada sin EMCS (215,226), mientras que Forte *et al.* reclutaron diabéticos tipo 2 con EMD, pero sin engrosamiento macular en la OCT(224).

1.3. RESULTADOS DE VARIABLES BIOQUÍMICAS

En cuanto a los resultados bioquímicos, solo 3 de los 10 estudios que analizaron los valores de HbA1c% presentaron mejorías (214,217,221) en pacientes suplementados. Ninguno de los estudios pudo demostrar cambios significativos en los niveles de HDL/LDL/CT o TG. El grupo de Forte *et al.*(224) no observó resultados estadísticamente significativos con respecto a la microalbuminuria. Solo el grupo de Bursell *et al.* encontró una mejoría en el aclaramiento de creatinina en pacientes con DM1 sometidos a suplementos de vitamina E, pero este efecto no se mantuvo después de un período de cruce con placebo (225).

En contraste, se observaron cifras prometedoras con respecto a los parámetros de oxidación. Entre todos los estudios que analizaron el estado antioxidante (148,214,218,219,223), los cambios medidos reflejaron una reducción significativa en los productos finales de peroxidación lipídica y un aumento de la capacidad antioxidante plasmática total, en individuos suplementados con Brudyretina®, Nutrof Omega®, Ubiquinona y Vitalux Forte®, tanto en estudios con los períodos de seguimiento más cortos (6 meses), como en los más largos (60 meses). El grupo de Domanico *et al.* (220) también pudo demostrar una disminución de los niveles de ROS en pacientes suplementados con Diaberet®.

En cuanto a parámetros inflamatorios, el grupo de Lafuente 2019 *et al.* (214) demostró una disminución significativa de los niveles plasmáticos de IL-6 después de 36 meses de seguimiento, lo que sugiere un efecto antiinflamatorio relacionado con la suplementación con DHA (Brudyretina®).

1.4. PERFIL DE SEGURIDAD

La mayoría de los estudios incluidos en la revisión sistemática no registraron eventos adversos relacionados con la suplementación oral. En el estudio del grupo de Bursell *et al.* se detectaron niveles bajos de hormonas tiroideas en relación con la administración de vitamina E en un paciente, recuperándose después de la interrupción del antioxidante (225). Haritoglou *et al.* registraron trastornos nutricionales, vasculares, cardíacos y del sistema nervioso, así como infecciones, en el 46% de los individuos suplementados frente al 48% en el grupo placebo (222). Entre ellos, 10 sujetos del grupo de suplementación frente a 4 del grupo placebo fueron atribuidos al tratamiento del ensayo (ya fuese ácido α -lipoico o cápsula de placebo), pero no se especificó la naturaleza clínica de las reacciones adversas y no se mencionó la interrupción forzada del fármaco. En el estudio realizado por Moon *et al.*, el 27% de los sujetos suplementados con GSPE frente al 27,66% en el grupo placebo informaron reacciones adversas, consistentes en infecciones, trastornos gastrointestinales, oculares y del sistema nervioso central (216). Los eventos gastrointestinales se asociaron potencialmente con el tratamiento administrado, y los fármacos se interrumpieron en 4 pacientes del grupo suplementado frente a

1 en el grupo placebo. Sanz-González *et al.* reportaron molestias gastrointestinales leves relacionadas con el tratamiento con Nutrof Omega®, pero no se especificaron tasas y no se retiró la suplementación (213).

2. ENSAYO CLÍNICO

2.1. ANÁLISIS BASAL. ESTUDIO DESCRIPTIVO

2.1.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

La muestra reunió a 22 hombres (84,6%) y 4 mujeres (15,4%), con DM2 y diagnóstico de RDNP leve-moderada. En el gráfico 1A puede observarse la distribución de los pacientes incluidos en el estudio en función del género. Por otra parte, la edad media global era de $64,5 \pm 5,3$ años con un rango de 55 a 76 años. La edad de los pacientes por grupo queda plasmada en el gráfico 1B.

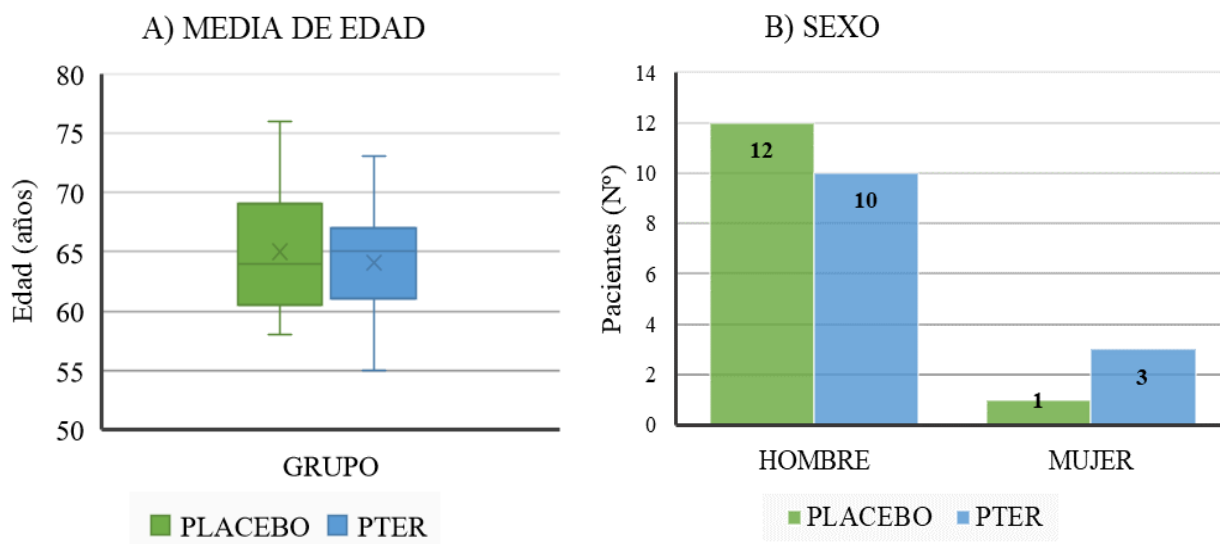


Gráfico 1. Características demográficas basales. A) Distribución de sexo por grupo. B) Edad media por grupo. La cruz representa la media y la línea la mediana.

La distribución de los pacientes según su rango de edad en los grupos experimentales se ra en la tabla 11.

Tabla 11. Rango de edad por grupos

	GRUPO			
	Control		PTER	
	N	%	N	%
Total	13	100,0	13	100,0
<=60	3	23,1	2	15,4
61-69	7	53,8	9	69,2
>=70	3	23,1	2	15,4

2.1.2. VALORES BASALES DE LOS FACTORES DE RIESGO

Se expone a continuación el estado de control de los factores de riesgo para la aparición o progresión de RD que presentaron los sujetos en la primera visita del estudio. Estos factores son los mencionados en el apartado Introducción (epígrafe 2.6.3). El control de las cifras de HbA1c, PA, niveles de lípidos en sangre y el peso son importantes en el seguimiento tanto del grado de retinopatía de fondo como del EMD (146,239,240).

2.1.2.1. HEMOGLOBINA GLICOSILADA

El análisis de la glucemia media en los tres meses previos a la toma de sangre mediante la medida de la HbA1c no presentó diferencias estadísticamente significativas entre el grupo placebo ($7,58 \pm 0,84\%$) y el grupo que iba a ser tratado con PTER ($7,73 \pm 0,9\%$) durante 1 año (Gráfico 2A. El 84,6% de los sujetos utilizaba insulina como parte de su tratamiento diario para el control glucémico, frente a un 76,9% en el grupo tratado con PTER (Gráfico 2B).

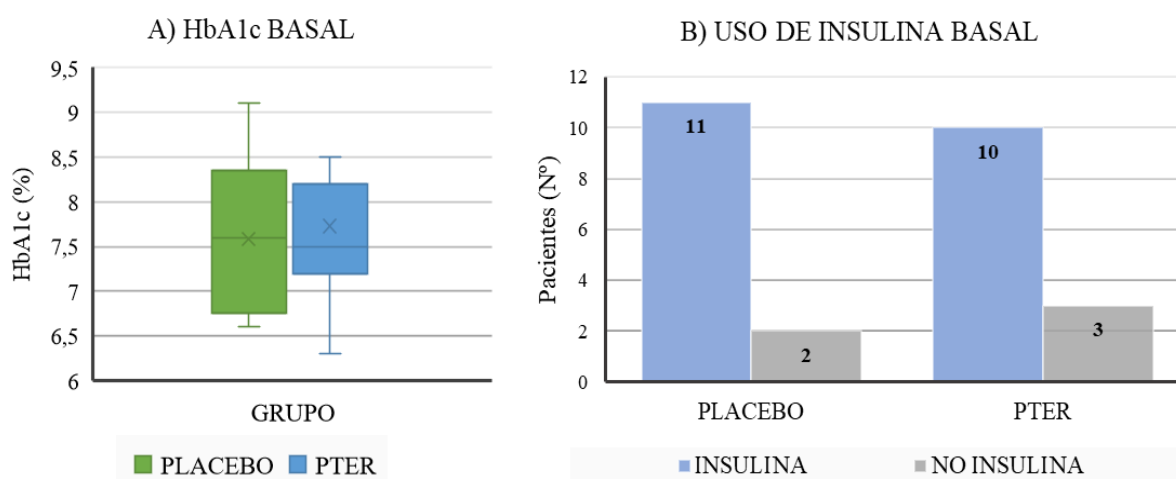


Gráfico 2. Control glucémico(A) y uso de insulina basal por grupo (B). En el gráfico A la cruz representa la media y la línea la mediana.

2.1.2.2. CIFRAS DE TENSIÓN ARTERIAL

El análisis de la presión arterial no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio. El grupo control presentó una cifra basal media de $142,5 \pm 10,7$ mmHg de PAS, y $76,5 \pm 13$ mmHg de PAD. El grupo tratamiento presentó una PAS media basal de $143,6 \pm 17,3$ mmHg, y una PAD media de $79,6 \pm 15$ mmHg. Estos datos se representan en el gráfico 3.

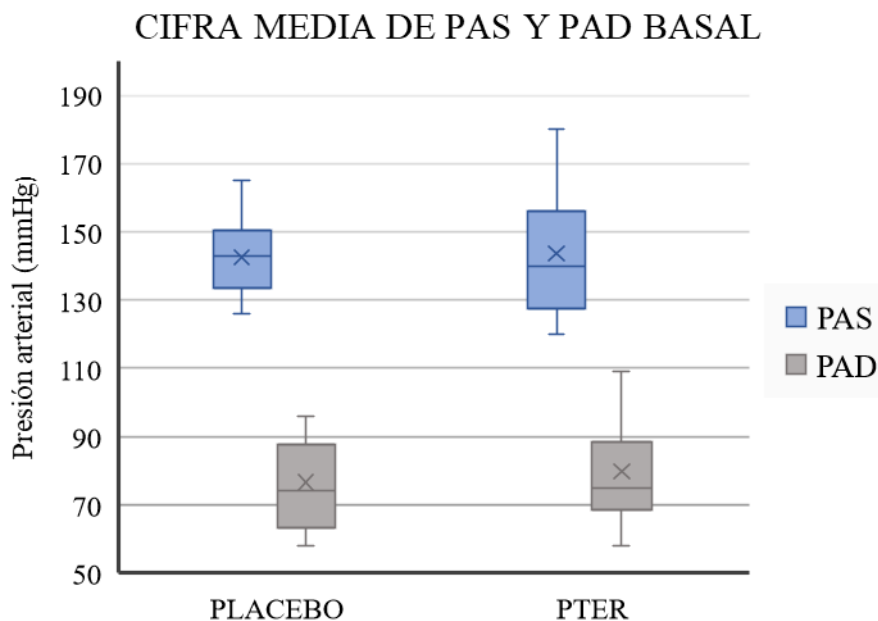


Gráfico 3. Distribución de cifra media de PAS y PAD por grupo al inicio del estudio.
Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

Como se puede observar en el gráfico 4, un 53,85% de sujetos del grupo placebo tomaba al menos un antihipertensivo sistémico, frente al 69,23% en el grupo que se iba a tratar con PTER.

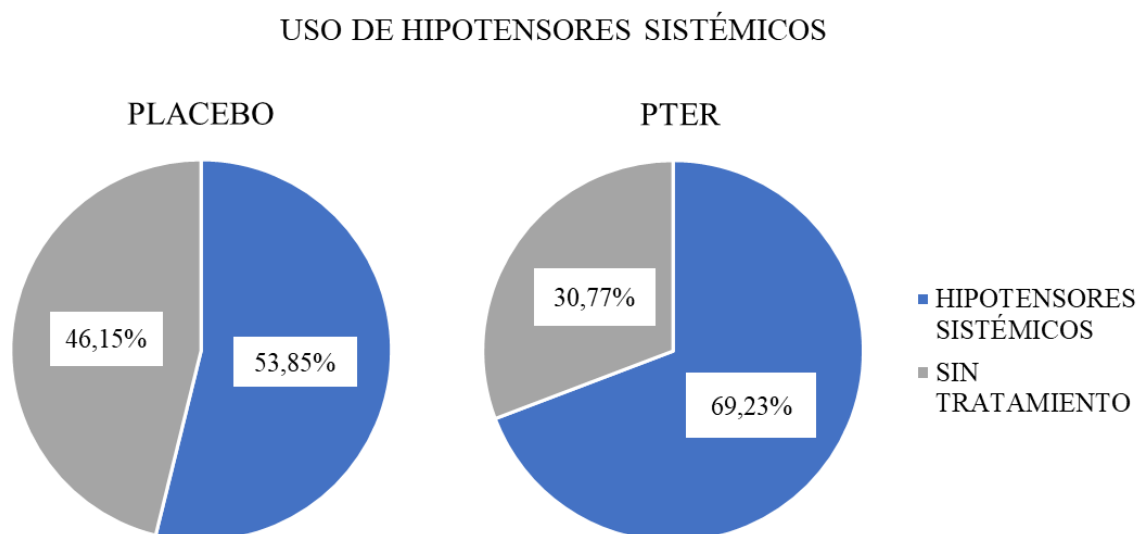


Gráfico 4. Porcentaje de uso de hipotensores sistémicos por grupo.

A pesar que como se ha mencionado en la introducción (epígrafe 2.6.3) se ha publicado un retraso en la evolución de la RD para TA menores de 150/85 mmHg, en el reclutamiento de los pacientes del presente estudio un total de 5 individuos que formaron parte del grupo placebo (38,5%) y 8 del grupo tratado con el polifenol (61,5%) presentaban valores de TA superiores al inicio del estudio.

2.1.2.3. PERFIL LIPÍDICO

El perfil lipídico presentó en el grupo control una cifra media de colesterol total de $151,3 \pm 28,6$ mg/dL, LDL de $82,3 \pm 27,8$ mg/dL, un HDL de $45,2 \pm 15$ mg/dL y triglicéridos de $123,1 \pm 78,1$ mg/dL. El grupo tratamiento, presentó un colesterol total medio basal de $167,2 \pm 30,4$, con media de LDL de $95,4 \pm 27,0$ mg/dL, HDL medio de $46,2 \pm 12,7$ mg/dL y triglicéridos de $143,1 \pm 88,7$ mg/dL. Estas cifras se encuentran representadas en el gráfico 5.

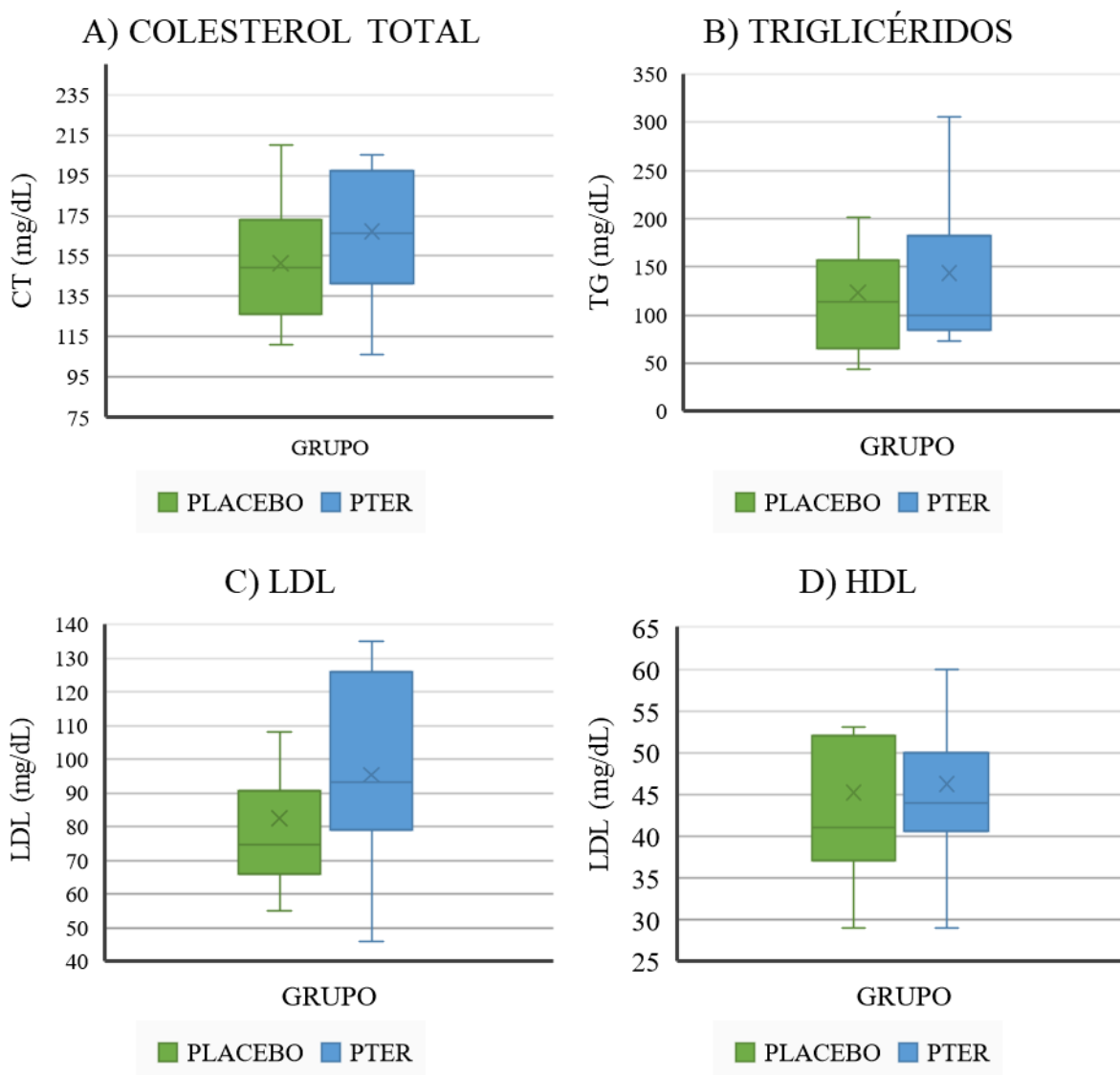


Gráfico 5. Análisis basal del perfil lipídico en los grupos de estudio. A) Distribución por grupo de colesterol total, B) nivel de triglicéridos, C) LDL y D) HDL al inicio del estudio. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

2.1.2.4. OBESIDAD

Como se observa en el gráfico 6A, el IMC medio al inicio del estudio fue similar en ambos grupos de estudio. Se clasificó a los sujetos según su IMC y siguiendo los criterios de la OMS (241) en individuos normopeso ($18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$) y aquellos con obesidad ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$). Según esta clasificación, sólo 1 individuo presentaba un peso normal. En el grupo placebo, un 53,8% de sujetos presentaba sobrepeso y un 46,2% obesidad. En el grupo tratamiento, el sobrepeso era del 23,1% y la obesidad del 69,2%. Los porcentajes se encuentran detallados en el apartado B del gráfico 6.

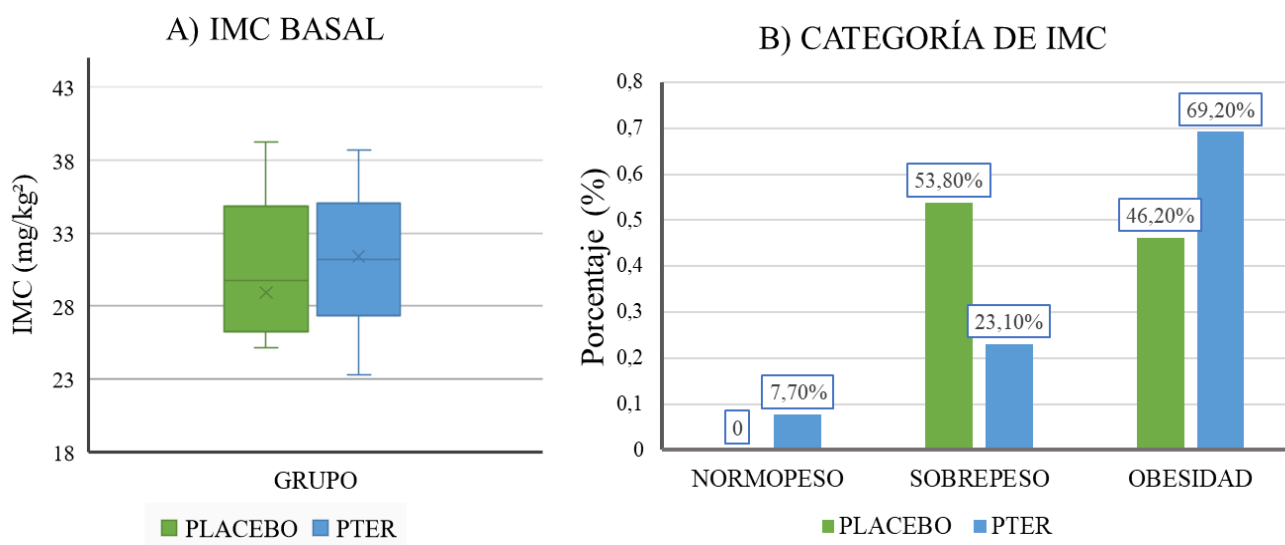


Gráfico 6. Análisis basal del peso en los pacientes sujetos a estudio. A) Distribución de IMC basal y B) categoría de peso según la OMS por grupos. En el gráfico A la cruz representa la media y la línea la mediana.

2.1.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS BASALES EN LA EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

2.1.3.1. MEJOR AGUDEZA VISUAL CORREGIDA

El grupo control presentó una MAVC basal media de $83 \pm 6,6$ letras según el optotipo ETDRS, frente a $86,6 \pm 5,9$ letras en el grupo tratamiento (gráfico 7) por lo que en el momento del reclutamiento no presentaban diferencias significativas.

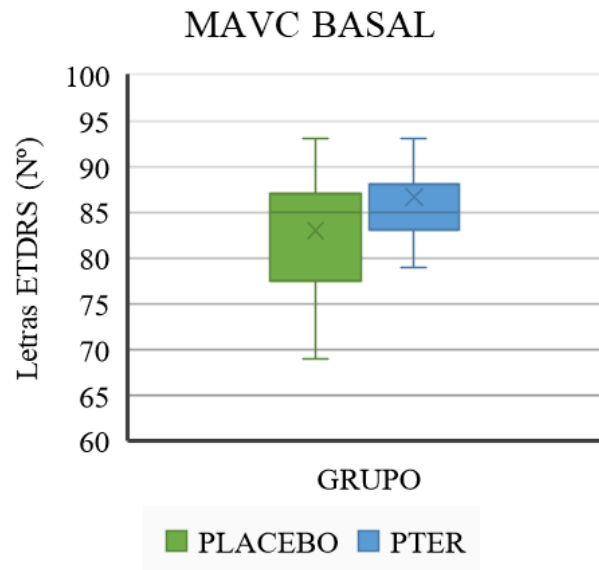


Gráfico 7. MAVC definida por nº de letras del optotipo ETDRS por grupo al inicio del estudio. La cruz representa la media y la línea la mediana.

2.1.3.2. GROSOR MACULAR CENTRAL

La cifra media de GMC inicial en el grupo control fue de $261,7 \pm 32,9 \mu\text{m}$, y de $269,2 \pm 35,9 \mu\text{m}$ en el grupo tratamiento. La distribución de valores de GMC está representada en el gráfico 8.

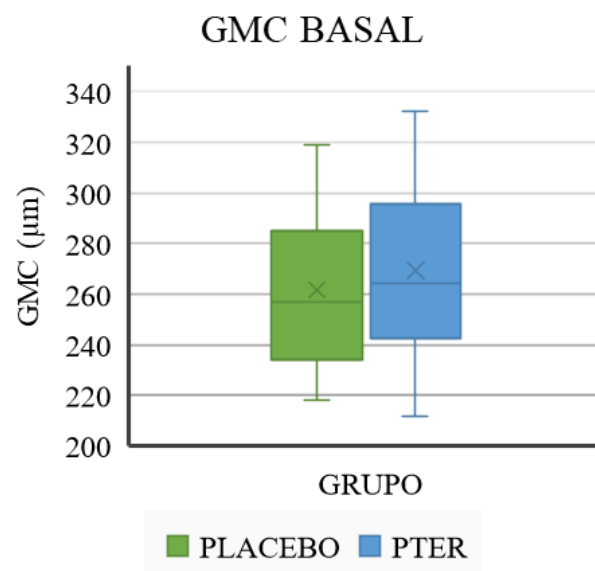


Gráfico 8. Distribución del GMC basal por grupos. La cruz representa la media y la línea la mediana.

2.1.3.3. ESTADIO RETINOPATÍA DIABÉTICA

El gráfico 9 muestra la distribución de los sujetos según su estadio de RD, clasificados por la estadificación ETDRS, y los porcentajes por grupos. En el grupo placebo, un 54% de los sujetos presentaban RDNP leve (estadio 35) al inicio del estudio, y un 46% RDNP moderada (estadios 43-47). En el grupo tratamiento, al inicio del estudio un 31% de los sujetos partieron de un estadio de RDNP leve (estadio 35) y un 69% presentaban RDNP moderada (estadios 43-47).

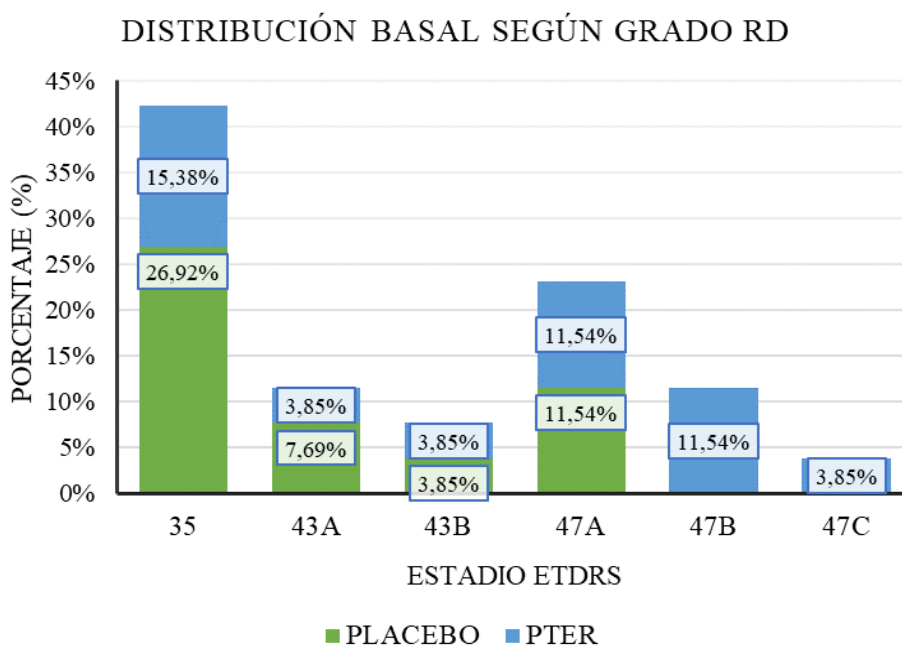


Gráfico 9. Distribución del estadio ETDRS basal por grupos.

2.1.3.4. ÍNDICE DE TORTUOSIDAD VASCULAR

El ITV fue calculado para cada una de las grandes venas retinianas, y el valor para cada ojo fue la media de los cuatro vasos. El valor medio basal para el grupo placebo fue de $0,239 \pm 0,063$ y de $0,237 \pm 0,1$ para el grupo tratamiento, como se muestra en el gráfico 10.

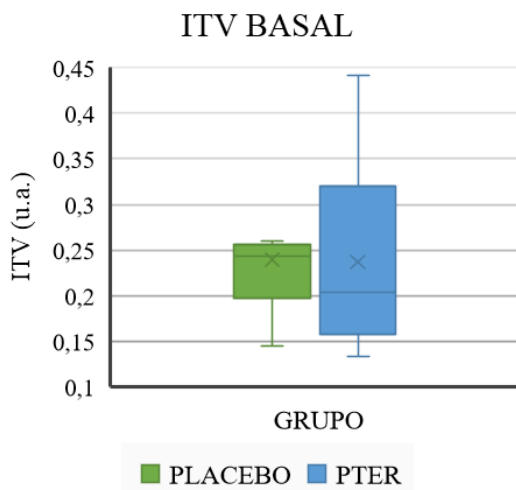


Gráfico 10. Distribución de ITV basal por grupo. La cruz representa la media y la línea la mediana.

2.1.4 ESTADO OXIDATIVO BASAL

2.1.4.1. RATIO GSH/GSSG

El ratio GSH/GSSG fue comparable entre grupos al inicio del estudio con una media de $218,3 \pm 91,05$ para el grupo placebo y de $217,6 \pm 106,8$ para el grupo tratamiento (gráfico 11).

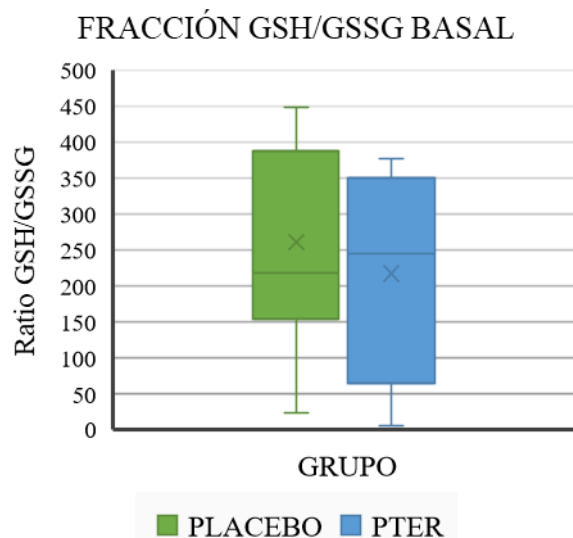


Gráfico 11. Cociente GSH/GSSG por grupos al inicio del estudio.
La cruz representa la media y la línea la mediana.

2.1.4.2. VÍA DE LA TRANSULFURACIÓN

En el gráfico 12 se muestran los niveles basales correspondientes a los analitos de la vía de síntesis de GSH. El grupo placebo presentó las siguientes cifras medias en nmol/mg/proteína: metionina de $0,02 \pm 0,3$, SAM de $1,66 \pm 0,44$, SAH de $1,11 \pm 1,4$, homocisteína de $0,64 \pm 0,3$, cistationina de $0,09 \pm 0,12$, cisteína de $27,56 \pm 11,17$, cistina de $2,7 \pm 0,6$ y γ -glutamilcisteína de $1,28 \pm 0,85$. Las cifras medias para el grupo tratado con PTER al inicio del estudio fueron: metionina de $0,03 \pm 0,04$, SAM de $2,38 \pm 0,85$, SAH de $1,75 \pm 2,55$, homocisteína de $0,66 \pm 0,31$, cistationina de $0,09 \pm 0,06$, cisteína de $30,2 \pm 13,29$, cistina de $2,57 \pm 0,63$ y γ -glutamilcisteína de $1,28 \pm 0,69$.

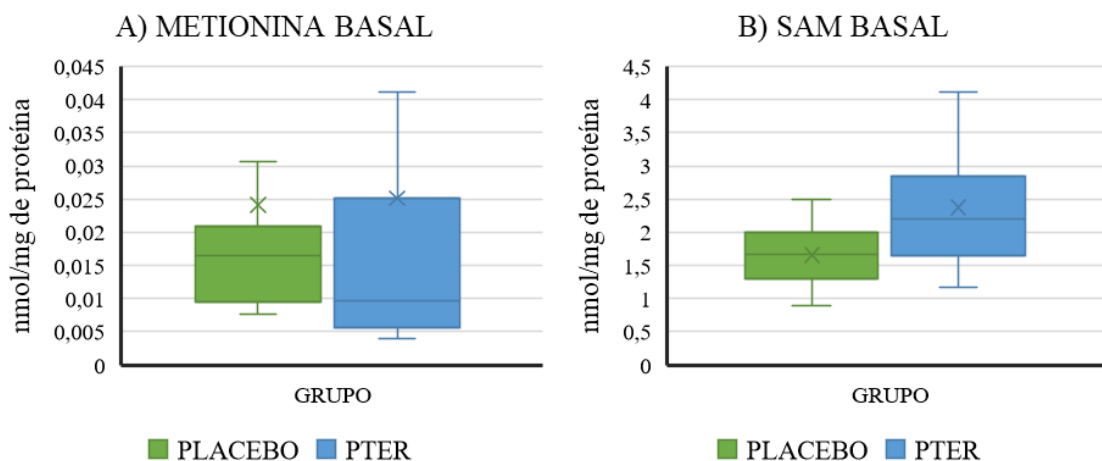


Gráfico 12. Niveles basales de los analíticos de la vía de síntesis de GSH por grupo.
Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

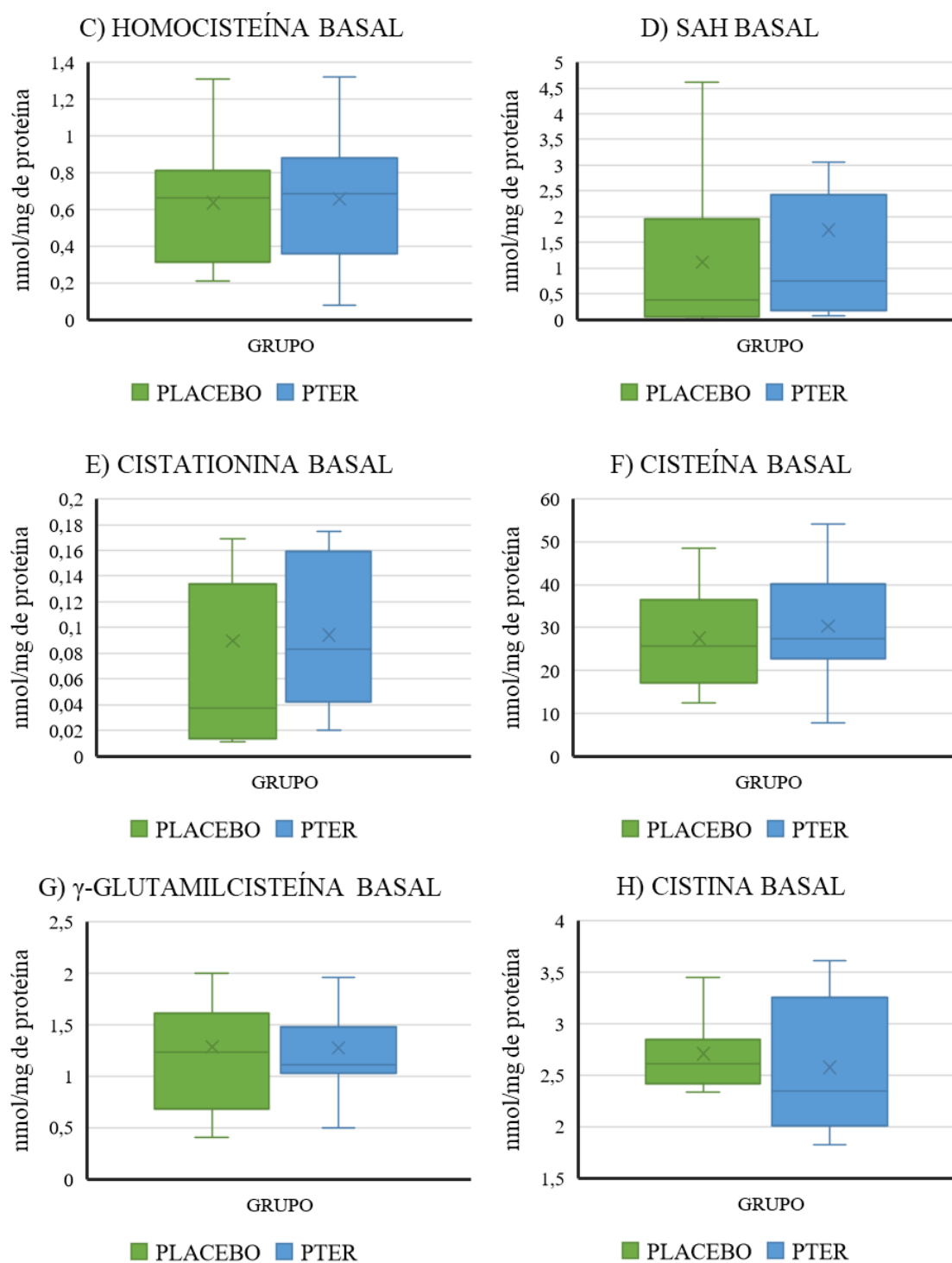


Gráfico 12. Niveles basales de los analíticos de la vía de síntesis de GSH por grupo. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

2.1.4.3. PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

El gráfico 13 muestra el estado basal de aquellos productos de peroxidación lipídica que, tras aplicación de la suplementación con PTER, mostraron cambios significativos tras el período de intervención: la prostaglandina PGE2 e isoprostanos 8-iso-15-keto-PGF2 y 8-iso-PGF2 derivados del ARA; el dihomio-isoprostano 17-epi-17-F2t-dihomo-IsoP derivado del ADH, y el dihomio-isofurano 7(RS)-ST- Δ^8 -11-dihomo-IsoF derivado del ADR.

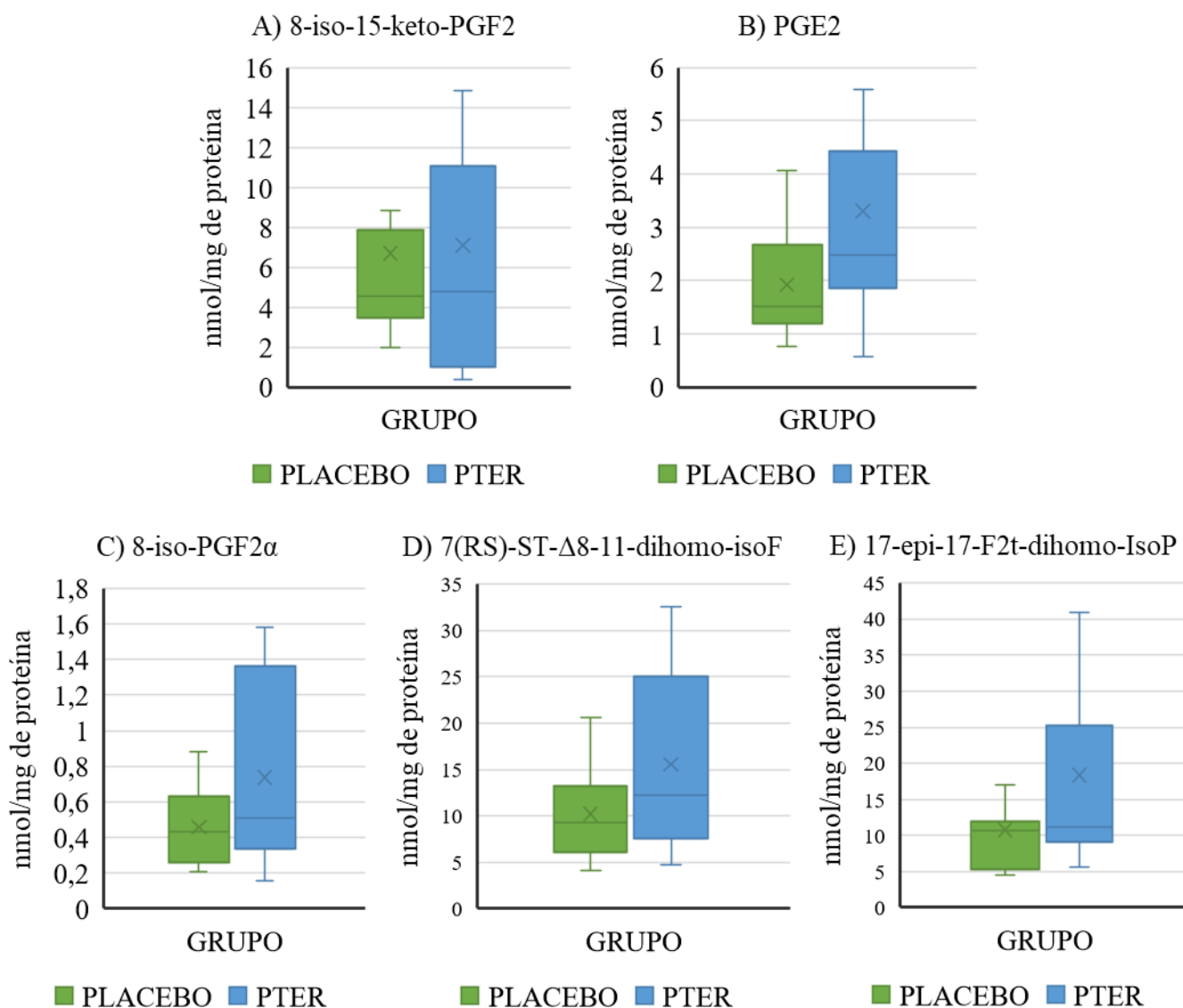


Gráfico 13. Cifras basales de los productos de peroxidación lipídica por grupos. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

2.2.HOMOGENEIDAD ENTRE GRUPOS

Con el objeto de asegurar una correcta distribución de las variables analizadas en los pacientes del grupo control y el grupo tratamiento al inicio del estudio, se analizó la homogeneidad mediante el test Chi², test exacto de Fisher y test de Mann-Whitney, mostrando los resultados en la tabla 12:

Tabla 12. Resultados de los test de homogeneidad entre grupos

	p-valor
SEXO	0,593 (Fis)
EDAD	0,840 (MW)
LATERALIDAD OJO	0,239 (Chi ²)
INSULINA	1,000 (Fis)
IMC	0,840 (MW)
OBESIDAD	0,418 (MW)
PAS	0,960 (MW)
PAD	0,724 (MW)
ESTADIO RD	0,186 (MW)
MAVC	0,511 (MW)
GMC	0,614 (MW)
HbA1c	0,801 (MW)
GLUCEMIA BASAL	0,614 (MW)
CREATININA	0,252 (MW)
TRIGLICÉRIDOS	0,479 (MW)
COLESTEROL TOTAL	0,243 (MW)
HDL	0,545 (MW)
LDL	0,091 (MW)
ITV	0,528 (MW)
GSH/GSSG	0,870 (MW)
METIONINA	0,400 (MW)
SAH	0,458 (MW)
SAM	0,008 (MW)
HOMOCISTEÍNA	0,683 (MW)
CISTATIONINA	0,205 (MW)
CISTEÍNA	0,635 (MW)
CISTINA	0,412 (MW)
g-GLUTAMILCISTEÍNA	0,967 (MW)
8-iso-15-keto-PGF2	0,929 (MW)
PGE2	0,119 (MW)
8-iso-PGF2 α	0,272 (MW)
7(RS)-ST- Δ 8-11-dihomo-isoF	0,133 (MW)
17-epi-17-F2t-dihomo-IsoP	0,225 (MW)

****** $p < 0,01$; ******* $p < 0,001$ Fis = Fisher, MW = Mann Whitney, Chi2 = chi cuadrado.

Los dos grupos presentaron homogeneidad a excepción del LDL, para el que puede sugerirse una débil tendencia ($p=0,091$). El LDL mostró una media con valor de $95,4 \pm 27,0$ mg/dL mg/mL en el grupo PTER y de $82,3 \pm 27,8$ mg/dL en el grupo control.

2.3. EFECTO DEL PTEROESTILBENO SOBRE LOS FACTORES DE RIESGO

2.3.1. HEMOGLOBINA GLICOSILADA

En el gráfico 14 podemos observar la evolución de cifras de HbA1c por grupo a lo largo del estudio.

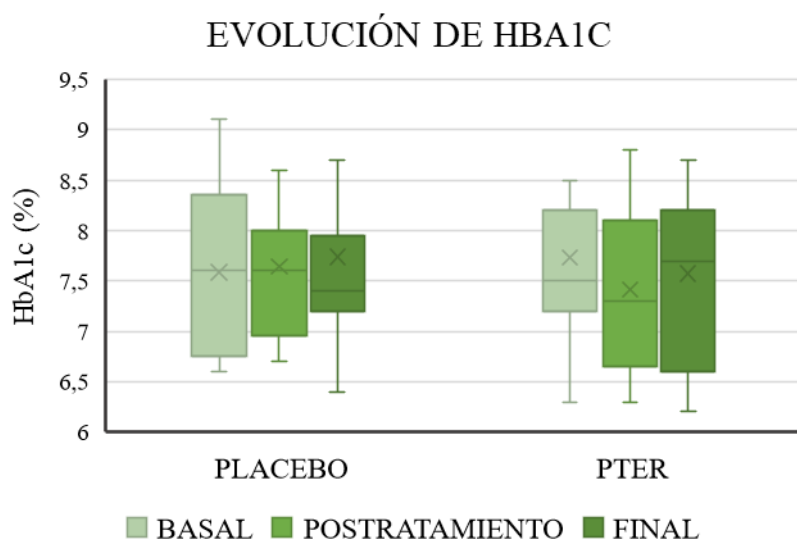


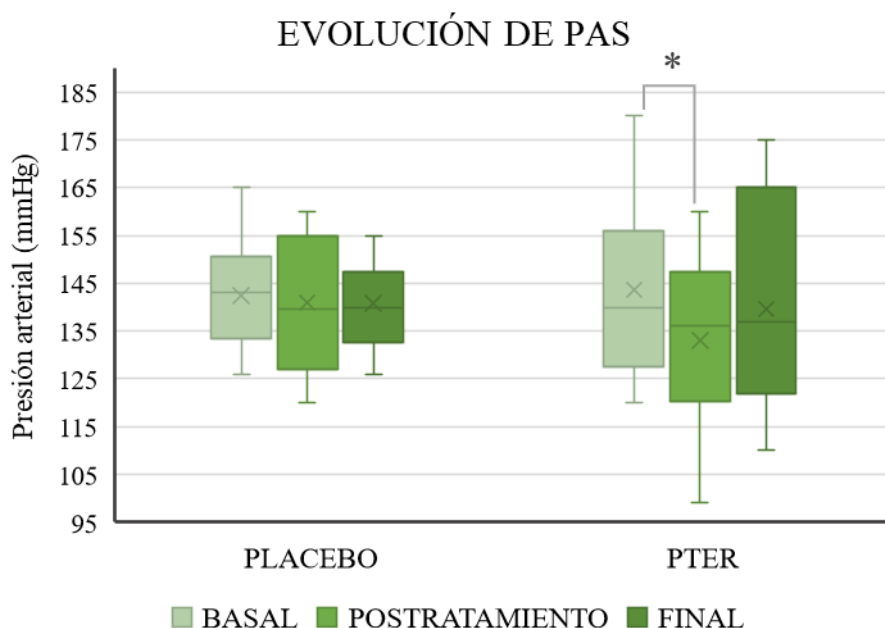
Gráfico 14. Evolución de cifras medias de HbA1c (%) a lo largo del estudio. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas de cada grupo de datos.

Para el análisis de cambios en la HbA1c a nivel global a lo largo del tiempo, el test ATS (del inglés *Attitudes Toward Statistics scale*) del modelo no paramétrico Brunner-Langer determinó que no hubo cambios en este parámetro ($p=0,681$). Esta estabilidad fue aplicable tanto al grupo test como al control ($p = 0,671$).

El test de Wilcoxon para comparaciones múltiples intra-grupo determinó que no hubo cambios entre ningún par de tiempos de los que se evaluaron para ninguno de los dos grupos. El test de Mann-Whitney para comparaciones múltiples inter-grupo estableció que tampoco hubo diferencias entre grupos en ninguno de los tiempos de estudio.

2.3.2. PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA

En cuanto a la PAS, el gráfico 15 muestra su evolución a lo largo del seguimiento por grupos.

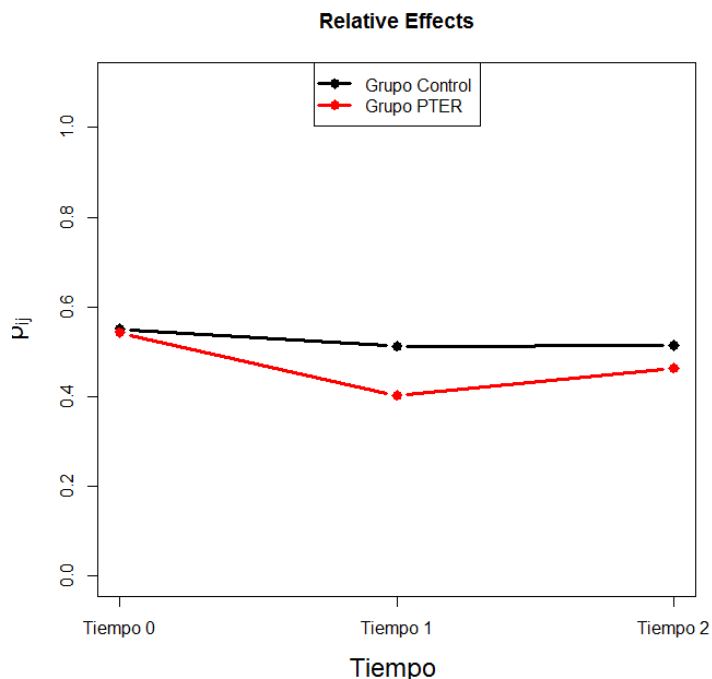


*Gráfico 15. Evolución de las cifras de PAS por grupos a lo largo del estudio. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas. *Reducción significativa media de PAS en el grupo PTER tras la intervención ($p < 0.05$).*

El test de Wilcoxon para comparaciones múltiples intra-grupo, concluyó que hubo una reducción significativa de la PAS tras el periodo de intervención en el grupo tratado con el polifenol ($p = 0,031$); pero tras finalizar el tratamiento el grupo mostró tendencia a la recuperación de niveles basales. Como puede observarse en la gráfica, la PAS disminuyó de una cifra basal media de $143,6 \pm 17,3$ mmHg a $133,1 \pm 19,3$ mmHg tras 12 meses de tratamiento. Sin embargo, a los 6 meses tras cesar el tratamiento la cifra media del grupo tratado aumentó a $139,5 \pm 21,4$ mmHg. Según el test de Mann-Whitney para comparaciones múltiples inter-grupo, no hubo diferencias entre los valores de ambos grupos.

Analizando en profundidad el resultado obtenido, el gráfico de efectos relativos (gráfico 16) permite observar la proporción o porcentaje en que se repite el valor, en este caso de TA, entre todos los elementos de la muestra. A diferencia de un gráfico de frecuencias, da una perspectiva relativa de las frecuencias de los valores en lugar de una absoluta. En el eje vertical se observa la probabilidad de que el valor de un sujeto bajo una condición grupo-tiempo (control vs. PTER, en visita basal, posintervención o final), sea superior al de un individuo extraído al azar del conjunto de la muestra.

Si analizamos el gráfico 16 de efectos relativos, observamos que un paciente del grupo PTER tras haber sido tratado, tendría una probabilidad del 40% de que su propio valor de PAS fuese superior al de cualquier otro miembro de la muestra elegido al azar, mientras que un sujeto del grupo placebo en ese mismo momento, tiene el 55% de probabilidades de que su valor de PAS en ese momento sea superior al de otro sujeto elegido al azar. Esto quiere decir que en el grupo



PTER había menos probabilidades de presentar valores más altos de PAS tras el tratamiento.

Gráfico 16. Gráfico de efectos relativos de la PAS a lo largo del seguimiento según grupo.

2.3.3. PRESIÓN ARTERIAL DIASTÓLICA

El gráfico 17 muestra la evolución de las cifras de PAD a lo largo del tiempo por grupos.

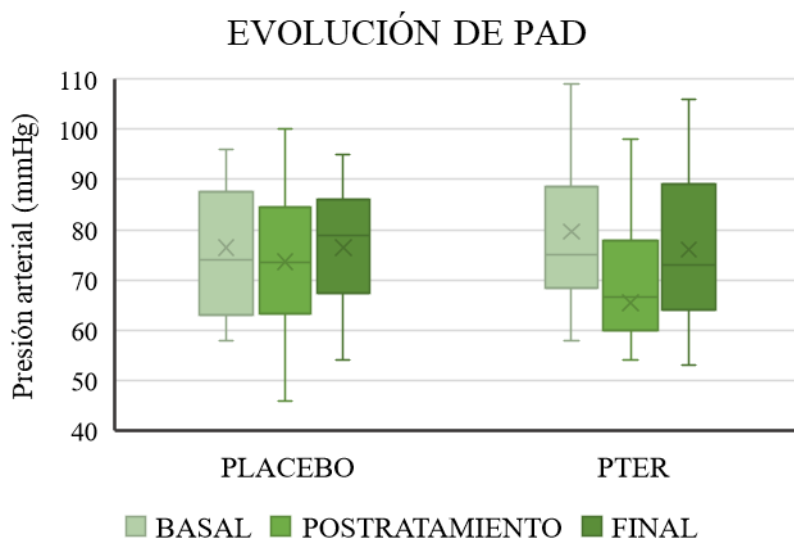


Gráfico 17. Evolución de cifras de PAD por grupos a lo largo del tiempo. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

Al realizar las comparaciones intra-grupo mediante el test de Wilcoxon, se observó una tendencia en el grupo PTER a la reducción de la PAD durante el año de tratamiento ($p = 0,065$), de una cifra inicial media de $79,6 \pm 15$ mmHg a $65,5 \pm 21,3$ mmHg; pero tras finalizar el tratamiento se recuperaron los niveles basales con una media de $76,1 \pm 18,1$ mmHg. No hubo diferencias entre ambos grupos en ninguna de las visitas según el test de Mann-Whitney.

Según la interpretación del gráfico de efectos relativos (gráfico 18), se observa que un sujeto del grupo PTER tras la intervención presentaba una probabilidad del 38% de que su propio valor de PAD fuese superior al de cualquier otro miembro de la muestra elegido al azar, mientras que un sujeto del grupo placebo en ese mismo momento, tenía el 50% de probabilidades de que su valor de PAD fuese superior al de otro sujeto elegido al azar. De la misma manera que con la PAS, el grupo tratado presentó menos probabilidades de que sus valores de PAD tras el tratamiento fuesen más altos.

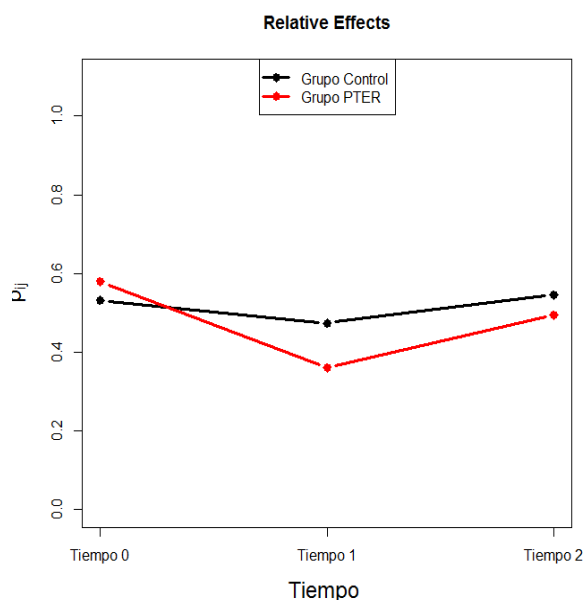


Gráfico 18. Gráfico de efectos relativos para la PAD de ambos grupos a lo largo del tiempo.

Respecto a las cifras de TA sistólica y diastólica, cabe destacar que 7 sujetos del grupo tratado presentaban cifras basales superiores a 150/85 mmHg al inicio del estudio, número que se redujo a 2 pacientes tras la intervención. En el grupo placebo, este número fue de 5 pacientes al inicio del estudio y de 4 tras el período de intervención. Estos datos se muestran en el gráfico 19.

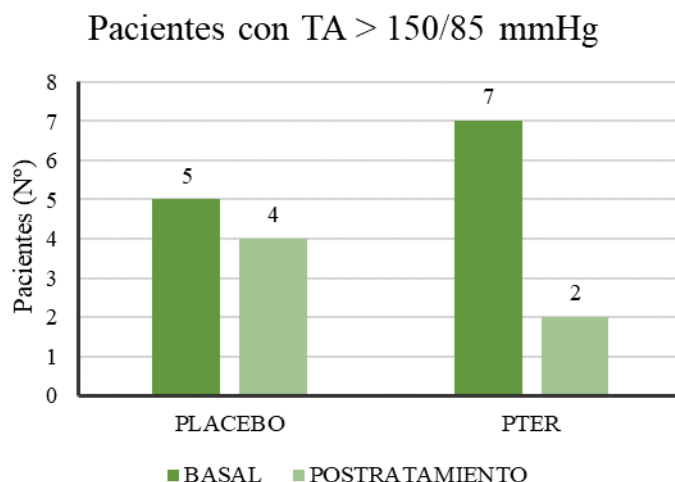


Gráfico 19. Recuento de pacientes con cifras de TA > 150/85 mmHg. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

2.3.4. PERFIL LIPÍDICO

En cuanto al perfil lipídico, el gráfico 20 muestra la evolución de las cifras de colesterol total y de los subcomponentes responsables de esta cifra a lo largo del seguimiento por grupos.

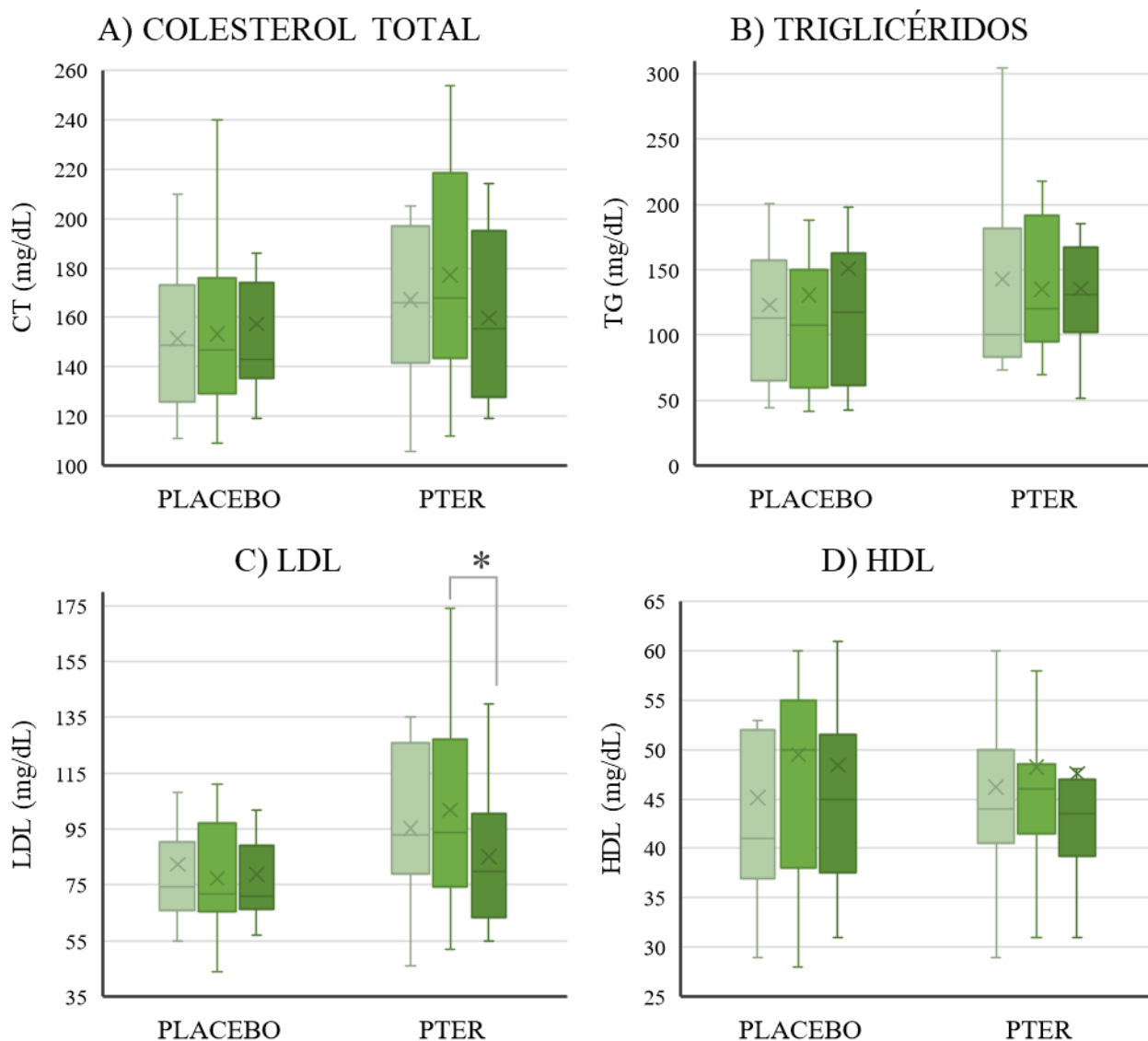


Gráfico 20. Evolución del perfil lipídico: Colesterol total (A), triglicéridos (B), LDL (C) y HDL (D) a lo largo del seguimiento. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

*Reducción significativa de LDL medio en PTER tras suspensión ($p < 0.05$).

Analizamos a continuación las variaciones en los niveles de colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos por separado. En cuanto a las cifras de LDL, el test de Wilcoxon determinó que no hubo cambios significativos para ninguno de los dos grupos tras la intervención, aunque sí determinó una disminución significativa de las cifras de LDL para el grupo tratado con PTER en la visita de los 18 meses ($p = 0,023$) (gráfico 19 C). En la descripción de características basales recordamos que los niveles de LDL fueron la única variable no homogénea entre

grupos, con unas cifras de $95,4 \pm 27$ mg/dL en el grupo PTER y de $82,3 \pm 27,8$ mg/dL. A lo largo del seguimiento, el grupo PTER presentó una cifra media de $101,8 \pm 38,2$ mg/dL a los 12 meses, y de $85,2 \pm 25,8$ a los 18 meses. El grupo placebo presentó una cifra media de $77,4 \pm 20,9$ mg/dL a los 12 meses y de $95,8 \pm 64,6$ mg/dL a los 18 meses. No hubo diferencias intragrupo para las cifras de HDL y de triglicéridos. Tampoco hubo diferencias entre el grupo placebo y el grupo control a lo largo del seguimiento para ninguna de las variables LDL, HDL o nivel de triglicéridos.

2.3.5. OBESIDAD

No se detectaron cambios significativos en el IMC a lo largo del seguimiento. Se comprobó la variación en el peso corporal de los pacientes. Tras la intervención, el grupo placebo mostró una variación media de $+1,1 \pm 3,4$ kg y el grupo tratado con PTER de $-0,7 \pm 3,2$ kg, sin diferencias estadísticamente significativas.

El grado de obesidad se mantuvo estable en el grupo placebo, mientras que mejoró en 3 sujetos del grupo tratado. En este grupo se partía de 1 sujeto normopeso, 3 sujetos con sobrepeso y 9 con obesidad. Tras la intervención, 2 sujetos presentaban un IMC perteneciente a la categoría normopeso, 4 a la categoría sobrepeso, y 7 a la categoría obesidad. Los porcentajes por categoría de peso a lo largo del seguimiento para cada grupo están representados en el gráfico 21.

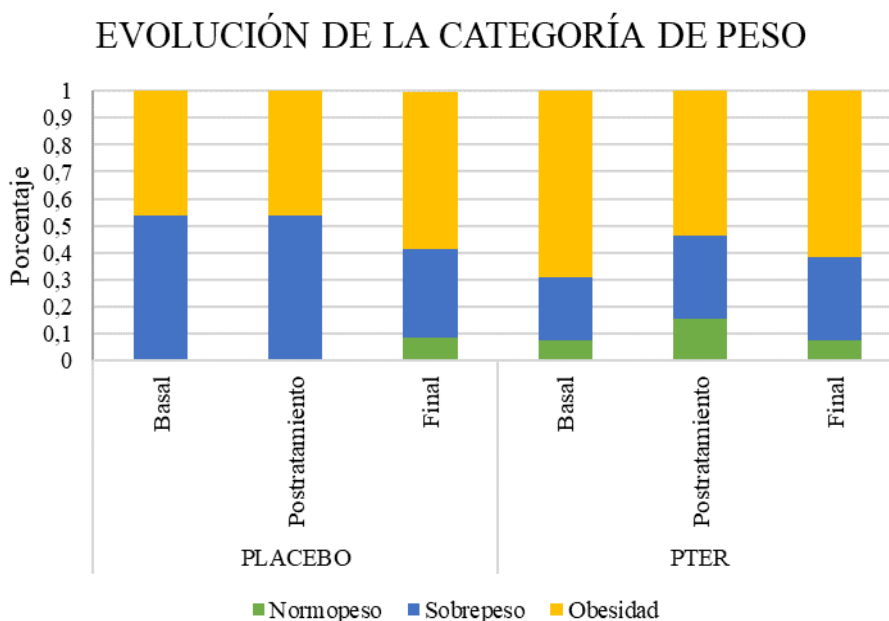
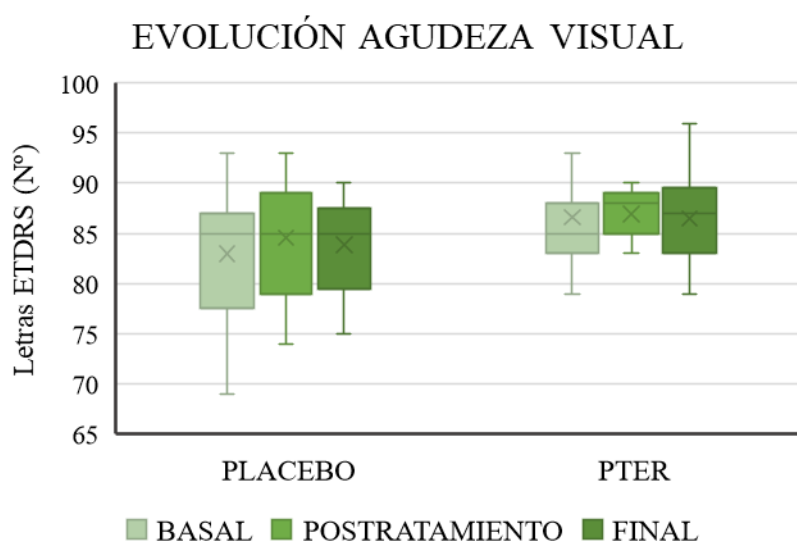


Gráfico 21. Porcentaje de categoría de peso para cada grupo a lo largo del seguimiento.

2.4. EFECTO DEL PTEROESTILBENO SOBRE VARIABLES CLÍNICAS

2.4.1. MEJOR AGUDEZA VISUAL CORREGIDA.

No hubo cambios globales en la MAVC y la estabilidad fue aplicable tanto al grupo tratado como al control. Por tanto, no se observaron diferencias significativas intra-grupo a lo largo del seguimiento, ni entre grupos en los tres tiempos de seguimiento. En el gráfico 22 se puede observar la evolución del número de letras ETDRS a lo largo del seguimiento por grupos.



*Gráfico 22. Evolución de las cifras de MAVC a lo largo del estudio por grupo.
Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.*

2.4.2. GROSOR MACULAR CENTRAL

El gráfico 23 muestra a la variación de GMC en micras para ambos grupos a lo largo del seguimiento. No hubo diferencias significativas globales en la variación del GMC. En el análisis por grupos, el grupo tratado con PTER mostró una tendencia ($p = 0,086$) a la disminución de GMC a largo plazo (entre la visita final respecto a la basal), desde una media de $269,2 \pm 35,9$ obtenida a tiempo inicial a $261,1 \pm 34,7$ 6 meses tras el tratamiento. La variación en micras del GMC medio en la visita final respecto a la basal fue de $-8,2 \pm 16$ μm en el grupo PTER y de $+6 \pm 44$ μm en el grupo placebo.

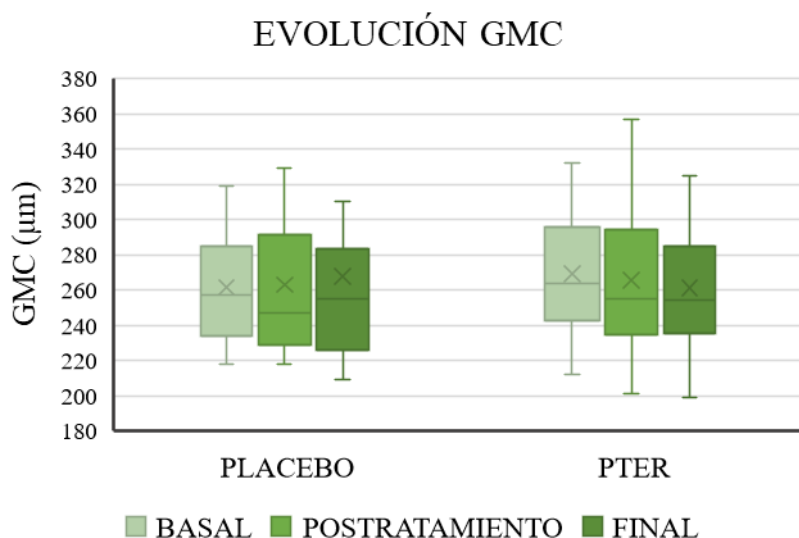


Gráfico 23. Evolución de las cifras de GMC a lo largo del estudio. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

2.4.3. ESTADIO ETDRS

El gráfico 24 muestra la evolución del porcentaje de pacientes que se encontraron en estadio leve (niveles ≤ 35), moderado (niveles 43A – 47C), severo (53A-53E) o proliferativo (≥ 61) a lo largo de las visitas del estudio. Se observa que el grupo tratamiento parte de un mayor porcentaje de individuos en estadio de RDNP moderada respecto al grupo placebo.

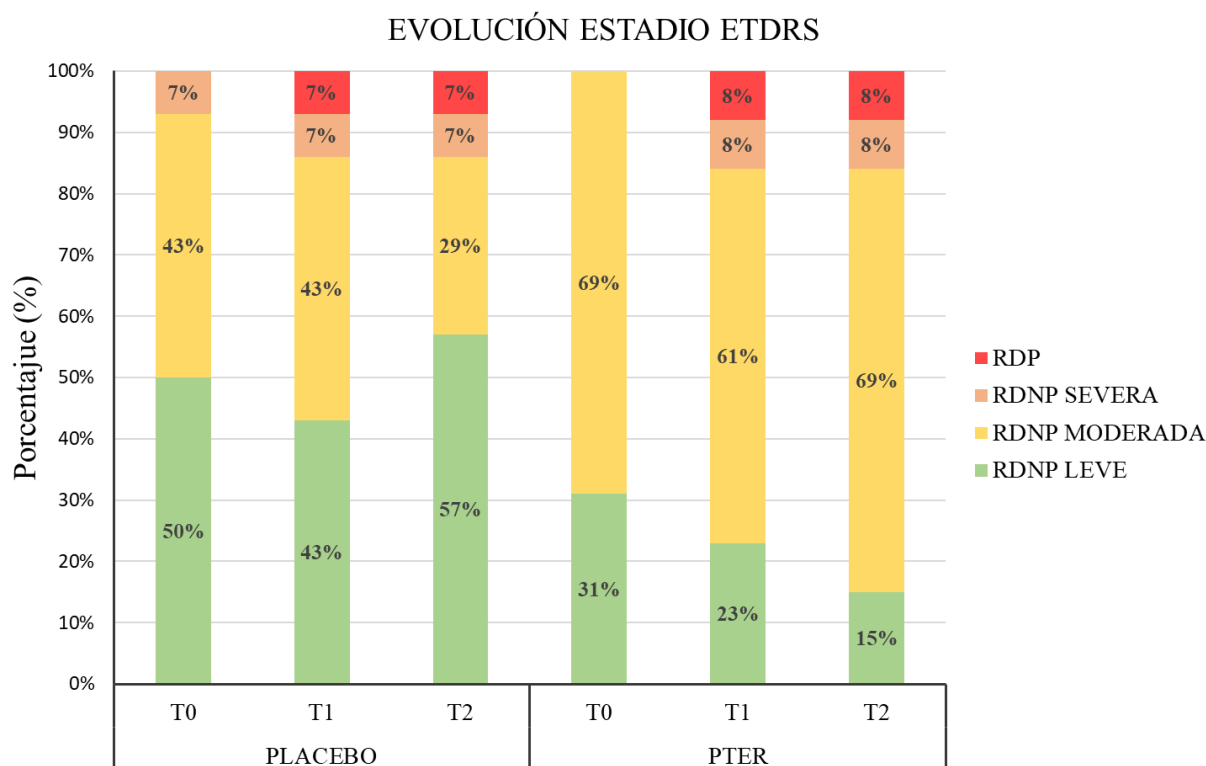


Gráfico 24. Evolución del estadio de RD en el grupo placebo (a la izquierda) y grupo tratado con Pteroestilbeno (a la derecha), a lo largo del seguimiento.

El test ATS del modelo Brunner-Langer concluyó que no hubo cambios en el estadio de la RD ($p=0,628$) de manera global, y que la ausencia de cambios fue aplicable tanto al grupo tratado como al control ($p=0,111$). Sin embargo, sugirió una diferencia en el nivel de severidad entre grupos teniendo en cuenta el promedio de las 3 visitas del estudio ($p=0,089$). No hubo cambios significativos intra-grupo para ninguno de los grupos a lo largo del seguimiento.

2.4.4. ÍNDICE DE TORTUOSIDAD VASCULAR

Analizando los valores de cada tiempo, el grupo placebo mostró un ITV medio basal de $0,239 \pm 0,063$, que aumentó progresivamente a una media de $0,252 \pm 0,113$ en T1 y $0,316 (0,149)$ en T2. El grupo tratado con PTER partió de un ITV basal medio de $0,237 \pm 0,1$, que disminuyó a $0,198 \pm 0,074$ tras la intervención. Esta disminución se revirtió tras el cese de tratamiento, con un aumento significativo del ITV medio final de $0,247 \pm 0,089$ ($p = 0,037$).

Aunque no hubo diferencias entre las cifras basales entre grupos, se observó una gran variabilidad intragrupal, por lo que se trabajó además con las cifras diferenciales entre la visita basal y postratamiento (T1-T0); y la visita basal y final (T2-T0) de cada individuo. La comparación entre grupos mediante el test de Mann-Whitney determinó que la variación T1-T0 fue diferente entre el grupo tratado con PTER, con una reducción media del ITV de $-0,03 \pm 0,16$ respecto al grupo placebo, que mostró un aumento medio de $+0,014 \pm 0,11$ ($p = 0,02$). Después de 6 meses sin tratamiento, al final del seguimiento, la diferencia media del ITV respecto a las basales (T2-T0) en el grupo PTER fue de $+0,03 \pm 0,2$, y de $+0,05 \pm 0,2$ en el grupo placebo. Estos datos se encuentran representados en el gráfico 25.

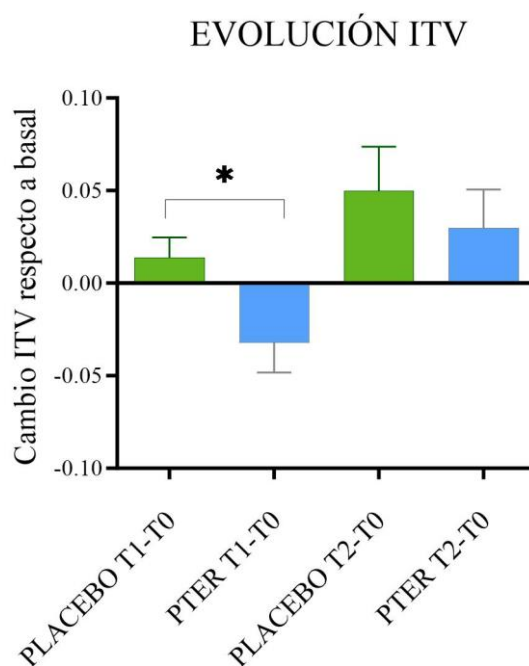


Gráfico 25. Cambio medio del ITV en la visita postratamiento (T1) y final (T2) respecto al ITV basal (T0). *Variación significativa entre grupos tras intervención ($p < 0.05$).

2.5. EFECTO DEL PTEROESTILBENO SOBRE EL ESTADO OXIDATIVO

2.5.1. FRACCIÓN GSH/GSSG

Con objeto de comprobar el efecto de la suplementación sobre el estado oxidativo de los sujetos, se analizó el ratio GSH/GSSG. El grupo tratado con PTER mostró una mejoría de la fracción GSH/GSSG tras el tratamiento, mostrando diferencias significativas entre ambos grupos en la visita postratamiento ($p = 0,017$). Sin embargo, la fracción disminuyó de nuevo en el grupo PTER hasta niveles cercanos a los basales 6 meses tras el cese de la suplementación (gráfico 26).

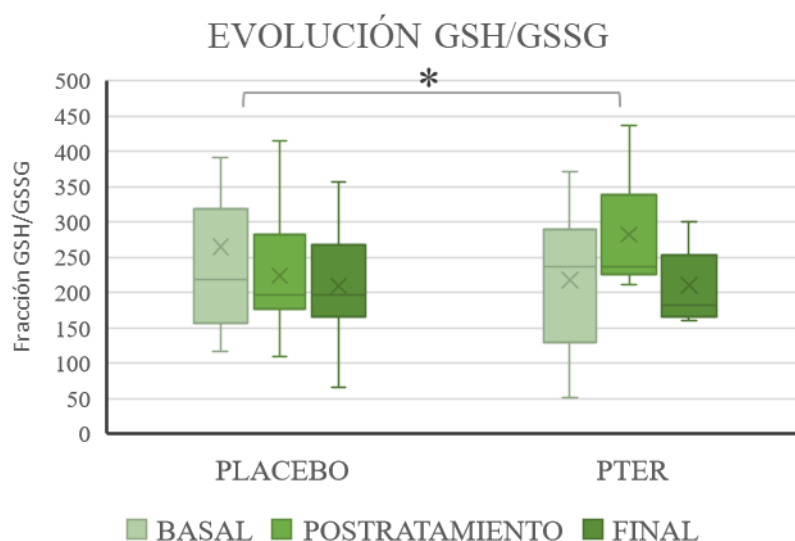


Gráfico 26. Evolución de la fracción GSH/GSSG a lo largo del estudio. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas. *Diferencia significativa entre grupos en la visita postratamiento ($p < 0.05$).

Al revisar las cifras de GSH y GSSG por separado, se observó que la mejoría del cociente GSH/GSSG se produjo debido a una menor oxidación del tripéptido en el grupo tratado con PTER tras 12 meses de estudio (gráfico 27).

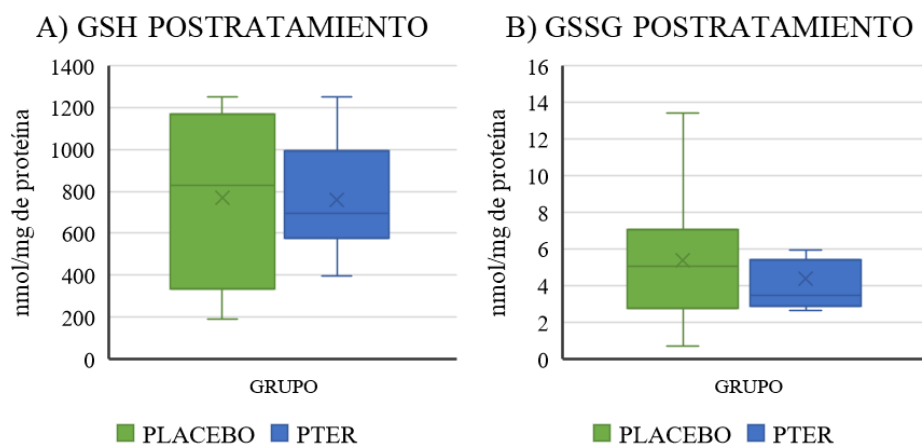


Gráfico 27. Análisis del estado de oxidación del tripéptido GSH. Valores obtenidos en la visita postratamiento (12 meses). A) GSH y B) GSSG. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas.

2.5.2. VÍA DE LA TRANSULFURACIÓN

No se encontraron diferencias en las cifras absolutas de los metabolitos precursores del GSH a lo largo del seguimiento. Se trabajó además con las cifras diferenciales T0-T1 y T1-T2 para homogeneizar las variaciones intragrupo. Se encontró de manera aislada una diferencia en la cifra diferencial de cistina entre ambos grupos, aunque ésta se produjo en el período postratamiento ($p = 0,014$), con una disminución de los niveles en el grupo tratado y una variación mínima en el grupo placebo.

Tabla 13. Variación de los analitos de la vía de la transulfuración (T0-T1 y T1-T2).

ANALITO	$\Delta T0-T1$	$\Delta T1-T2$
Metionina	0,652	0,774
SAM	0,467	0,652
SAH	0,806	0,650
Homocisteína	0,934	0,323
Cistationina	0,743	0,629
Cisteína	0,319	0,967
Cistina	0,478	0,014*
γ -glutamilcisteína	0,774	0,837

*Test de Mann-Whitney * $p < 0,05$.*

2.5.3. ISOPROSTANOS Y NEUROPROSTANOS EN ORINA

Los niveles de isoprostanos y neuroprostanos mostraron una elevada variabilidad intragrupal, por lo que se trabajó con las cifras diferenciales individuales entre T0-T1 y T1-T2. El test de Mann-Whitney determinó que hubo una variación significativa entre grupos para los siguientes productos de peroxidación lipídica: 8-iso-15-keto-PGF2 ($p = 0,014$), 8-iso-PGF2 ($p = 0,019$), PGE2 ($p = 0,014$), 7(RS)-ST- Δ^8 -11-dihomo-IsoF ($p = 0,035$) y 17-epi-F2t-dihomo-IsoP ($p = 0,021$), tras el período de intervención (T1-T0). En el grupo PTER, estos metabolitos disminuyeron más que en el grupo placebo, en el cual hubo algún metabolito que incluso aumentó la cifra diferencial (gráfico 27). Estas diferencias desaparecieron cuando se analizó el incremento en T2, al final del estudio, observando de nuevo una equiparación de las cifras de metabolitos entre ambos grupos (gráfico 28).

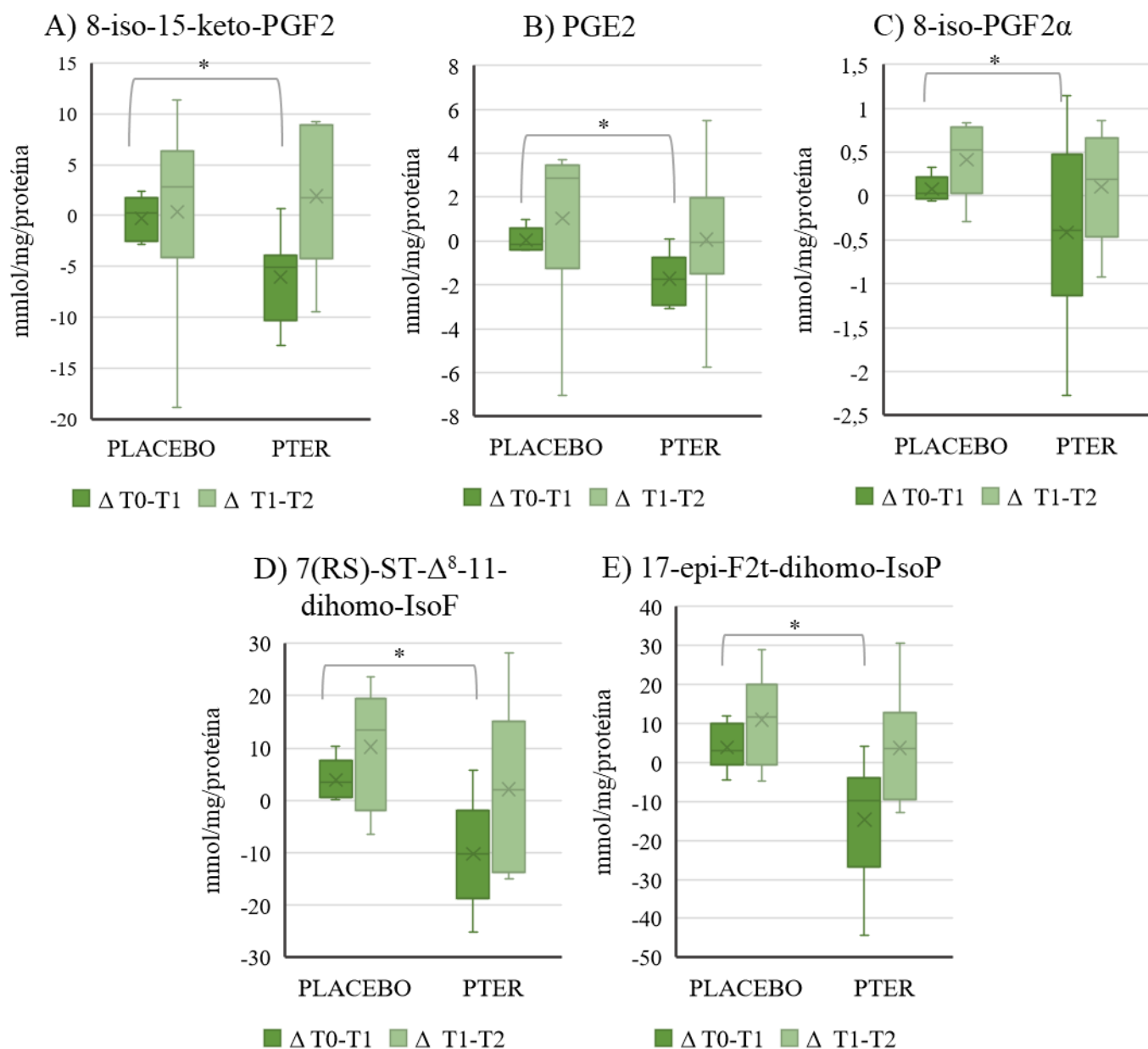


Gráfico 28. Variación en los productos del ácido araquidónico (A) 8-iso-15-keto-PGF2, (B) PGE2 y (C) 8-iso-PGF2α; del ácido adrenico (D) 7(RS)-ST-Δ⁸-11-dihomo-IsoF y del ácido docosahexaeico (E) 17-EPI-17-F2t-dihomo-IsoP, a lo largo del seguimiento. Las cruces representan las medias y las líneas las medianas. *Diferencias significativas entre placebo y grupo tratado ($p < 0.05$).

V. DISCUSIÓN

La RD es la única causa de empeoramiento visual cuya prevalencia ha aumentado en el período entre 1990 y 2020 según una publicación del *Vision Loss Expert Group* (del inglés Grupo de Expertos en Pérdida de Visión) (39). En 2020, la RD constituía la causa de ceguera en 45/100.000 personas por encima de 50 años; y de empeoramiento visual moderado-severo en 155/100.000 individuos de ese mismo grupo de edad a nivel mundial (42). El arsenal terapéutico actual incluye fármacos de inyección intravítrea, fotocoagulación con láser y cirugía de vitrectomía. No obstante, estos tratamientos están indicados en escenarios concretos: cuando el paciente presenta pérdida visual secundaria a EMCS, hemovítreo o desprendimiento de retina traccional; y en casos de riesgo de desarrollo de NV (RDNP preproliferativa) o presencia de NV (RDP) aunque el paciente se encuentre asintomático (163,242). Si se observa la tabla 6 (epígrafe 2.6.4 del apartado Introducción) queda patente que el manejo de pacientes con RDNP sin EMCS o isquemia importante, se basa en el control de los factores de riesgo y la observación en períodos de tiempo que dependen del grado de severidad. Carecemos de opciones terapéuticas activas en las fases más tempranas de la enfermedad (242).

Dada la implicación del estrés oxidativo en la fisiopatología de la RD, se ha planteado el uso potencial de antioxidantes orales como tratamiento adyuvante en los estadios iniciales. El interés por los polifenoles se debe a su capacidad para inhibir la angiogénesis y ejercer un efecto antioxidante y antiinflamatorio (187), aunque el principal problema para su aplicación biomédica ha radicado en la baja biodisponibilidad. Para solventar este inconveniente se han desarrollado derivados de los polifenoles naturales con cambios en los grupos -OH de los anillos aromáticos. El análogo del resveratrol PTER se encuentra dimetilado en las posiciones 3 y 5. Esta metilación confiere mayor lipofilidad y promueve su captación celular (190). La absorción por vía oral en ratas ha demostrado ser del 80% frente al 20% del resveratrol (193).

El objeto de esta tesis ha sido, por una parte, revisar la evidencia hasta la fecha sobre la aplicación de antioxidantes en RD, así como realizar el primer ensayo en pacientes con RD en el que se ha utilizado la suplementación oral con PTER para valorar los posibles efectos protectores y terapéuticos del polifenol sobre esta patología concreta. Como limitaciones de la revisión sistemática, a la que se añade el ensayo clínico realizado, se ha comprobado que la evidencia disponible hasta la fecha incluye estudios con una alta heterogeneidad con respecto a la variabilidad de los antioxidantes suministrados, las variables clínicas estudiadas y los períodos de seguimiento, que oscilan entre 6 a 60 meses. Los seguimientos más cortos podrían explicar la falta de resultados significativos con respecto a los hallazgos clínicos, dado el carácter crónico de la enfermedad. También hay que considerar que algunos de los estudios no evalúan los niveles de fármacos administrados o los parámetros de oxidación (215–217,222,224–226), sin verificar, por tanto, el cumplimiento del tratamiento o la mejora en el estado oxidativo. Además, la distribución de cantidades desconocidas de antioxidantes incluidos en la dieta habitual podría influir en los resultados. Existen excepciones, por ejemplo, el grupo

de Roig-Revert *et al.* comprobó la adherencia inicial de todos los participantes a la dieta mediterránea y tuvo en cuenta este factor para el análisis estadístico (219).

Los datos relativos a la biodisponibilidad de los fármacos sólo fueron reportados por dos grupos de investigación. El grupo de Lafuente *et al.* analizó el contenido en eritrocitos de DHA, obteniendo diferencias significativas entre los grupos suplementados y placebo (148,214). En segundo lugar, el grupo de Sanz-González midió los niveles de vitamina C y encontró una biodisponibilidad inadecuada, dependiendo de las diferentes expresiones genéticas de SLC23A2 (codifica para una proteína responsable de la captación de vitamina C), en el contexto de hiperglucemia crónica y RD (213). En esta línea, el estudio de Haritoglou *et al.*, que publicó resultados clínicos no significativos y no midió los niveles de ácido α -lipoico suplementado, postuló que las dosis administradas podrían no haber sido suficientes para producir cambios en la retina porque la dosis ideal en humanos aún no se ha establecido en comparación con los niveles de seguridad bien definidos en ensayos *in vivo* en animales (222). La biodisponibilidad o fracción de compuesto bioactivo que llega a la circulación sanguínea suele ser muy baja. En los últimos años, se han utilizado nanoformulaciones para aumentar la biodisponibilidad de compuestos fenólicos, vitaminas y minerales (243).

En cuanto al ensayo clínico, el reclutamiento se llevó a cabo mediante una técnica de muestreo no probabilística, de conveniencia. Se establecieron unos criterios de inclusión y exclusión muy estrictos, buscando un perfil de sujeto con unas características muy definidas. La RD es una patología crónica, y el hecho de que los pacientes no reciban tratamiento oftalmológico activo hasta presentar EMD o alcanzar estadios de RDNP severa, supuso un reto importante en su reclutamiento. Encontrar sujetos en los estadios más tempranos requirió una selección de pacientes a partir de imágenes de cribado del Sistema Nacional de Salud, que son revisadas telemáticamente por facultativos especialistas en Oftalmología. La complejidad del reclutamiento fue debida a que el perfil de pacientes seleccionado no era atendido presencialmente en Servicios de Oftalmología y se buscaban pacientes con una mínima cantidad de fluido en la OCT macular, pero no susceptibles de recibir tratamiento con intravítreas. Es decir, presentaban EM clínicamente no significativo manteniendo una buena agudeza visual.

Se ha trabajado con una mayor proporción de pacientes varones (84,6%) que de mujeres (15,4%). En cuanto al género, existen estudios poblacionales que describen diferencias según el sexo en cuanto a la incidencia y progresión de la RD. Los resultados varían según el área geográfica, teniendo en cuenta que el acceso a los sistemas de salud puede no ser igualitario, si bien no es ésta la situación general en nuestro medio (244–247). El estudio prospectivo UKPDS sobre DM2 determinó que el sexo masculino era un factor de riesgo independiente tanto para desarrollar RD, como para la progresión de la retinopatía, con un *ODDS ratio* de 0,7 para el sexo femenino. A pesar de ello, esta diferencia por sexos parece igualarse a medida que crece la duración de la retinopatía y el grado de severidad (43). Este hecho puede explicar que

hayamos encontrado más varones durante el reclutamiento de pacientes, ya que son sujetos diagnosticados por primera vez a partir de imágenes de cribado. La distribución de varones por grupo tratado y placebo, no obstante, fue equiparable.

De los resultados obtenidos en el ensayo clínico y en la revisión sistemática sobre el uso de antioxidantes orales en RD, podemos establecer tres pilares de variables analizadas: cambios clínicos, cambios en los factores de riesgo y en parámetros que reflejan el estado oxidativo.

En cuanto a cambios clínicos, se puede deducir de la revisión sistemática que, en líneas generales, se observan efectos beneficiosos tras períodos de tratamiento largos, en términos de retraso de la aparición o reducción de la progresión de la RD en DM2. Sin embargo, la suplementación con antioxidantes aún no ha demostrado tener un impacto en la mejora de MAVC o regresión de EMD a medio plazo. Una excepción fueron los estudios realizados por Lafuente *et al.*, en los que, como se comentará más adelante, se utilizaron fármacos anti-VEGF además de los antioxidantes orales, sin poder evaluar de manera aislada el efecto del tratamiento oral (148,214).

En nuestro ensayo tampoco se produjeron cambios significativos en la MAVC entre grupos ni intra-grupo a lo largo del seguimiento. Como se ha explicado en la introducción (epígrafe 2.1.1), la agudeza visual depende de la transparencia de medios (córnea, cámara anterior, cristalino / lente intraocular, vítreo) y de la integridad de la estructura de la retina. Teniendo en cuenta que se incluyeron pacientes sin EMCS, hemos trabajado con sujetos que podían presentar cierto grado de fluido intraretiniano, pero con un perfil anatómico foveal prácticamente respetado, que tal como indican las guías de manejo de RD y EMD son susceptibles de observación por presentar una agudeza visual del 80% o superior (146,163). Dado que la suplementación se ha aplicado como tratamiento adyuvante en pacientes que presentaban una buena agudeza visual basal, es un resultado que era esperable y en línea con la ausencia de variaciones de agudeza visual en los estudios incluidos en la revisión sistemática.

Lo mismo sucedió con el GMC, ligado a la presencia de EMD, que no experimentó cambios en los sujetos del estudio. En las guías de tratamiento del EMCS se considera respuesta al tratamiento intravítreo una reducción del GMC de al menos un 10% o $\leq 250 \mu\text{m}$ (146). Los valores medios basales de los sujetos del estudio eran de $265,5 \pm 33,9 \mu\text{m}$, valores comparables a individuos sanos de la población (248). La ausencia de cambios significativos era, por tanto, esperable, ya que los sujetos presentaban escaso EMD no candidato a tratamiento con antiangiogénicos.

Los estudios de la revisión sistemática que demostraron una reducción significativa del GMC corresponden a escenarios diferentes. Por una parte, el grupo de Lafuente *et al.* (148,214) incluyó pacientes con EMCS tratado de manera concomitante con fármacos anti-VEGF intravítreos. Por otra parte, el estudio publicado por Domanico *et al.* (220), incluyó pacientes con EMD refractario a los tratamientos estándar, de manera que eran pacientes con edemas

crónicos que ya habían recibido tratamiento con láser y/o inyecciones intravítreas de anti-VEGF. Son, por tanto, situaciones no comparables a las de nuestro ensayo clínico.

Respecto a la evolución del estadio de RD en el ensayo, el grupo PTER presentó casos de mayor severidad ya en la visita basal (gráfico 24), con un 69% de pacientes que presentaban RDNP moderada en el grupo PTER frente a un 46% en el grupo placebo. Esa diferencia de severidad en la clasificación clínica se mantuvo en las sucesivas visitas a lo largo del seguimiento. No se observó un retraso en la progresión del grado de retinopatía bajo suplementación y no hubo diferencias significativas entre grupos. La variabilidad en los estadios basales (35-47D) de la clasificación ETDRS en una muestra pequeña puede haber dificultado el análisis de los efectos del PTER. Atendiendo a los resultados de la revisión sistemática (249), tres de los 15 estudios analizados demostraron un retraso en el debut o progresión de la RD. De ellos, dos utilizaron la misma escala de gradación (ETDRS) (213,219), mientras que el grupo de Moon basó el análisis de la evolución en función de la presencia y variación únicamente de los exudados duros (216). De aquellos que utilizaron la escala ETDRS, el estudio de Sanz-González incluyó 225 pacientes con RD de las mismas características que en nuestro ensayo, aunque su período de seguimiento fue de 38 meses (213). Un tiempo de seguimiento mayor en una patología crónica facilita la evaluación de la progresión. El estudio de Roig-Revert, con un seguimiento también de 18 meses, incluyó una muestra de 360 diabéticos con RD y sin RD (219), evaluando tanto el retraso en el debut como en la progresión, de manera que parte del efecto en términos de retraso concierne a pacientes con DM2 sin retinopatía, que desarrollaron la complicación de manera más tardía que los sujetos no suplementados.

La determinación del estadio ETDRS depende de la evaluación subjetiva de los signos oftalmoscópicos, de manera que se analizó cuantitativamente el cambio morfológico de los vasos en las retinografías de campo amplio. La tortuosidad vascular se encuentra aumentada en pacientes con RD y es reflejo de la disfunción endotelial prolongada (250), pero no es un parámetro incluido en las escalas de gradación de RD, ni en la ETDRS ni en la ICDSS, por la dificultad para objetivar cambios entre visitas por parte del oftalmólogo en la práctica clínica a corto plazo. En los últimos años disponemos de una nueva tecnología capaz de valorar de forma no invasiva el árbol vascular retiniano, la OCT-A, que ofrece mapas de los plexos retinianos superficial, intermedio y profundo. El inconveniente que presenta esta técnica es que la extensión del campo retiniano estudiado se limita al polo posterior. Actualmente se encuentran en desarrollo equipos capaces de captar campos más amplios (96). La OCT-A permite cuantificar parámetros como el área de zona avascular foveal, densidad vascular, tortuosidad vascular, calibre vascular o el índice de flujo vascular, entre otros (251). Si analizamos el aporte de esta técnica al manejo de la RD, se ha demostrado que signos como el aumento de la zona avascular foveal y la disminución de la densidad vascular y del flujo sanguíneo en DM2 se asocian a posterior desarrollo de RD en pacientes sin retinopatía aparente

(252). Así mismo, el análisis de tortuosidad vascular a partir de imágenes de OCT-A ha demostrado que el ITV es un parámetro sensible para distinguir RD no proliferativa y proliferativa, que aumenta significativamente a medida que aumenta el grado de RD y, por tanto, sirve para monitorizar la progresión (251). Sin embargo, los estudios se limitan al análisis de mapas angiográficos foveales con una extensión de 6x6 mm. En nuestro ensayo clínico se utilizaron retinografías de campo ultra amplio para el análisis del ITV mediante el código desarrollado por Khansari (230). Aunque la valoración de las retinografías se llevó a cabo por dos examinadores independientes, la cuantificación de la tortuosidad vascular mediante el programa MATLAB ofrece una valoración objetiva sobre la morfología de los vasos y su cambio a lo largo del seguimiento. Se observó que el ITV disminuyó en los sujetos tratados con PTER, aunque de manera transitoria, ya que se produjo un aumento del valor tras el cese de tratamiento. No hubo cambios en el grupo placebo. La capacidad del PTER para reducir la tortuosidad fue demostrada en un estudio previo en conejos diabéticos suplementados con PTER llevado a cabo por Millán y colaboradores (204).

Además de los cambios clínicos, en la revisión sistemática encontramos 3 estudios que demostraron una influencia temprana en los parámetros retinianos funcionales después de períodos de seguimiento cortos, que oscilaron entre 6 y 14 meses. Los parámetros analizados incluyeron la sensibilidad retiniana (215,224), la sensibilidad al contraste (215,226), la sensibilidad al deslumbramiento (215) y la densidad óptica del pigmento macular (215). El perfil de estos pacientes consistió en DM1 o DM2 que presentaban RDNP leve a moderada sin EMCS, o con EMD, pero sin engrosamiento de la retina en la OCT. Estos hallazgos sugieren que los antioxidantes suponen una terapia adyuvante profiláctica válida en etapas tempranas de la RD, en las que el daño anatómico no sea excesivo, y todavía no haya engrosamiento de la mácula central.

Así pues, debido a la dificultad para detectar cambios clínicos significativos en las fases tempranas de RD por la carencia de sintomatología o en la evaluación precisa de la efectividad de un tratamiento que retrase el desarrollo de la enfermedad hacia estadios avanzados, análisis como la medición del ITV o de los parámetros funcionales podrían ser de gran utilidad diagnóstica y pronóstica.

En lo que respecta a los factores de riesgo para el desarrollo y progresión de RD, hubo 3 estudios de la revisión sistemática que evaluaron la HbA1c y que encontraron mejorías significativas (214,217,221). En cuanto al perfil lipídico, ningún estudio de la revisión demostró cambios significativos (215,218,219). Sólo 1 estudio valoró la TA sin encontrar cambios significativos. En nuestro ensayo se ha realizado un análisis exhaustivo de los factores de riesgo modificables encontrando hallazgos prometedores. El estado basal de los factores de riesgo de la muestra fue el siguiente: Un 61,5% (16 pacientes) del total tomaba antihipertensivos orales al inicio del estudio. Entre el 38,5% (10 pacientes) de sujetos que no tomaba antihipertensivos

orales al inicio, un 60% (6 sujetos) presentaba cifras de TA por encima de 140/80 mmHg. En total, 22 pacientes (84,6%) presentaban HTA o tratamiento antihipertensivo al inicio del estudio. Un 53,8% de los pacientes se encontraba en tratamiento con hipolipemiantes al inicio del estudio, 6 en el grupo placebo y 8 en el grupo control. Según el IMC sólo un 3,8% presentaba una cifra correspondiente al grado considerado normopeso según la escala de la OMS (241). El 38,5% presentaba sobrepeso y un 57,7% obesidad. De este último grupo de obesidad, 6 sujetos pertenecían al grupo placebo y 9 al grupo tratamiento. Estos datos sobre TA, hiperlipidemia y sobrepeso-obesidad reflejan la relación de los factores de riesgo definidos por el estudio UKPDS en el desarrollo y progresión de RD (43).

Analizando la HbA1c, que representa la glicosilación de la hemoglobina de los eritrocitos en sangre y representa los niveles medios de glucemia de los 3 últimos meses, ni en el estudio previo publicado por Riche y colaboradores (228) en diabéticos tratados con PTER ni en nuestro ensayo se han encontrado variaciones significativas de las cifras de HbA1c. Si bien en modelos de diabetes inducida en ratas se ha podido comprobar una mejora de este parámetro tras la administración de PTER (253). Hay que tener en cuenta que los animales no reciben tratamiento para normalizar la glucemia. En cambio, los sujetos del ensayo clínico fueron pacientes en tratamiento con antidiabéticos orales y un 80,77% también insulinizados por esta razón, no se ha podido comprobar un beneficio adicional bajo suplementación con el polifenol.

Tres estudios de la revisión sistemática fueron capaces de detectar cambios en esta variable. Sepahi y colaboradores estudiaron pacientes con EMD refractario a otros tratamientos. Este grupo detectó una disminución de la HbA1c tras tratar a los pacientes con 15 mg de crocina durante 3 meses. El porcentaje de pacientes insulinizados en este estudio era del 19% e incluía tanto DM1 como DM2, sin especificar el grado de retinopatía (217). Lafuente y colaboradores estudian la capacidad del DHA para tratar junto con anti-VEGF el EMD. No hay datos sobre el estadio de retinopatía basal ni los tratamientos hipoglucemiantes de los pacientes. La disminución significativa de la HbA1c se produce en el mes 36 pero no durante los 2 primeros años de estudio. El estudio de Watanabe y colaboradores, de 60 meses de seguimiento y que incluía pacientes sin RD para valorar el retraso en su aparición, determinó disminución significativa de las cifras de HbA1c en los meses 54 y 60, pero no durante los primeros 4 años de tratamiento (221). En ninguno de los 3 estudios hay datos posteriores al cese de la intervención. Se observa la disparidad entre estudios en cuanto al tiempo en el que se produce el cambio. En los estudios de Sepahi y Watanabe el hecho de que la cifra varíe únicamente en visitas finales tras años de tratamiento podría ser un hallazgo casual.

En cuanto a la tensión arterial, en nuestro ensayo se ha observado un descenso significativo medio de la PAS de -11,3 (14,7) mmHg ($p < 0,05$), así como una tendencia a la disminución de la cifra media de PAD de -13,3 (27,9) mmHg ($p = 0,065$) bajo tratamiento con PTER. Este hallazgo no se produjo en el grupo control, que presentó una variación media de -

0,8 (13,9) mmHg PAS y de -1,9 (7,5) mmHg de PAD. El descenso de PA en relación al antioxidante no se mantuvo tras el cese del tratamiento.

Si atendemos a las recomendaciones de control de los factores de riesgo (apartado 2.6.3. de la introducción), al inicio del estudio, observamos que 5 pacientes del grupo placebo y 7 pacientes del grupo PTER presentaban cifras basales por encima de 150/85 mmHg (Gráfico 19). Tras 12 meses de tratamiento, en el grupo placebo 5 pacientes continuaban presentado cifras por encima de 150/85 mmHg, mientras que en el grupo PTER el número se redujo de 7 a 2 sujetos.

La hipertensión se relaciona con una mayor resistencia al flujo en los vasos sanguíneos (254). Se ha descrito que los polifenoles son capaces de producir una mejoría de la geometría vascular en arteriolas mesentéricas y cerebrales de ratas, medida en términos de disminución de la fracción diámetro lumen vascular / diámetro túnica media en mm (255), aunque la vía fisiológica exacta no está clara. El grupo de Kosuro y colaboradores describe una disminución significativa de la PA media en ratas diabéticas tras 8 semanas de tratamiento con PTER a razón de 20 mg/kg diarios. En este modelo se demostró una reducción significativa de la expresión del NF- κ B (inductor proinflamatorio), así como un aumento de los niveles de NRF2 lo cual originó un aumento de la expresión de enzimas antioxidantes en muestras de tejido cardiaco de las ratas (256). En humanos también se ha descrito el potencial hipotensor del polifenol PTER. De acuerdo a nuestras observaciones, Riche y colaboradores (228) demostraron que su grupo (20 sujetos) tratado con 250 mg de PTER diario mostró descensos significativos de -7,8 mmHg ($p < 0,001$) de PAS y -7,3 mmHg ($p < 0,001$) de PAD tras 6-8 semanas de tratamiento. No se ofrecen datos tras el cese de la suplementación, aunque los resultados obtenidos en nuestro ensayo apuntan a un efecto pasajero tras la interrupción.

En cuanto al perfil lipídico, a pesar de que se ha demostrado la capacidad del PTER para disminuir las cifras de LDL y VLDL en modelos animales (197,199,200), no encontramos en nuestro ensayo variaciones significativas intra ni entre grupos en las cifras de colesterol total, LDL, VLDL o TG tras la intervención. Particular énfasis merece el análisis de las cifras de LDL, dada su implicación en las alteraciones vasculares de la DM2, con estimulación proinflamatoria y de factores de adhesión y crecimiento vascular (11,36). A diferencia y en contra de lo observado en modelos animales, ha habido dos estudios en humanos que han descrito un aumento significativo de las cifras de LDL asociado a la administración de PTER oral, poniendo en duda el perfil de seguridad del compuesto (228,257). En el estudio de Dellinger y colaboradores (257) se utilizó una combinación de ribósido de nicotinamida con PTER (dosis de 250/50 mg o 500/100 mg) durante 60 días. Se describe un aumento de LDL significativamente mayor en individuos tratados con ambas dosis de suplemento respecto a placebo, aunque hay que destacar que ya se partía de niveles basales significativamente mayores que en los controles. En el estudio de Riche y colaboradores (228) se advertía un incremento de las cifras de LDL en todos los participantes tratados con PTER en monoterapia (tanto con la

dosis de 125 como 250 mg diarios) tras 6-8 semanas de suplementación. Este incremento no se detectó en su grupo control ni en otro grupo que recibió una combinación de PTER 50 mg diarios junto con 100 mg de extracto de uva. Los investigadores remarcan que esta subida no supuso un incremento en la puntuación del riesgo de enfermedad cardiovascular de los participantes y, por otra parte, que no se produjo incremento de LDL en aquellos participantes que recibían tratamiento con hipolipemiantes al inicio del estudio. En esta publicación, se postula que el incremento de LDL puede deberse a una selectividad cruzada por las isoformas γ de receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPARs) (228).

Los PPARs son factores de transcripción activados por ligandos que participan en la regulación del metabolismo lipídico y la homeostasis de la glucosa (258). Existen tres isoformas: α , β/δ y γ . Mientras que los PPARs α y β/δ están implicados en combustión de energía, las isoformas γ promueven la adipogénesis para almacenarla. El PTER ha demostrado ser un potencial agonista de las isoformas α , que se han relacionado con la disminución de los niveles de LDL

. En contraposición, las isoformas γ regulan la liberación, transporte y almacenamiento de los ácidos grasos, produciendo una redistribución de la grasa para evitar la lipotoxicidad en los tejidos viscerales y derivar los almacenamientos a tejido adiposo subcutáneo. De esta manera puede explicarse que exista un aumento plasmático de las cifras de LDL, que también ocurre por ejemplo con el uso de las tiazolidinedionas o las glitazonas, fármacos hipoglucemiantes agonistas de los PPAR γ (259).

En nuestro ensayo, el grupo tratado con PTER mostró un incremento no significativo de la media de LDL de $95 \pm 27,0 \text{ mg/dL}$ basales a $101,8 \pm 38,2 \text{ mg/dL}$ tras 12 meses de suplementación, que después decreció de forma significativa tras 6 meses del cese de tratamiento a $85,2 \pm 25,8 \text{ mg/dL}$ (Gráfico 20). Destacamos que este aumento medio de LDL no fue significativo y que, analizando los datos individualmente, no se produjo, a excepción de 1 sujeto, ningún incremento en aquellos pacientes que recibían tratamiento con hipolipemiantes. Disponemos de datos de suplementación a 12 meses, en comparación con los ensayos previamente mencionados con 2 meses de seguimiento (228,257). Aunque sería conveniente analizar un mayor número de muestras, con los datos obtenidos podemos afirmar que el PTER mantuvo un perfil seguro.

Respecto al grado de obesidad, el potencial de los polifenoles para reducir el peso corporal se ha relacionado con su capacidad para inducir adipocitos de tipo pardo (llamados adipocitos *beige*) en el tejido adiposo blanco, así como para activar la termogénesis tanto en el tejido adiposo pardo como blanco, reduciendo la acumulación de grasa (260). Mientras que el tejido adiposo blanco se encarga de almacenar energía, es en el tejido adiposo pardo donde se disipa energía en el proceso de termogénesis. Los PPAR γ juegan un papel importante en el inicio y mantenimiento de la diferenciación de adipocitos (261). Este potencial se ha

relacionado, entre otros mecanismos, con el agonismo del PTER por los PPAR γ , activación de la proteína desacoplante 1C (UCP1) y activación de la sirtruína-1 (260,262,263).

La función de los adipocitos pardos, que en contraposición a los blancos presentan muy poca grasa almacenada y gran cantidad de mitocondrias, se atribuye a la existencia de las proteínas desacoplantes en las mitocondrias, que impiden el acoplamiento de la cadena respiratoria a la ATP sintetasa, con la consiguiente producción de calor. La UCP1 es exclusiva del tejido adiposo pardo. Esta proteína es activada por el coactivador 1 del PPAR γ , (261,264). La sirtruína 1 es la enzima que desacetila el coactivador 1 del PPAR γ , estimulando mitocondriogénesis y la transcripción de genes específicos del tejido adiposo pardo (262,263).

En un modelo animal de obesidad, se alimentó a ratas con una dieta alta en grasas durante 30 semanas. La administración de PTER produjo un aumento de la proteína UCP1 en adipocitos blancos, un aumento de transcripción de los genes que codificaban PPAR γ y sirtruína-1 en el análisis de tejido adiposo blanco inguinal, y, por último, una disminución del aumento de peso en el grupo tratado (262). La suplementación con PTER en nuestro ensayo no consiguió reducir de manera significativa el IMC, aunque se observó una pérdida de peso en 8 sujetos del grupo tratado frente a 4 en el grupo placebo, así como una variación en el grado de obesidad, consiguiendo que 3 sujetos mejorasen su categoría de IMC únicamente en el grupo tratado. 2 sujetos volvieron a mostrar un empeoramiento de su grado 6 meses tras dejar el antioxidante.

El tercer pilar de análisis en el ensayo ha sido la variación en el estado oxidativo de los pacientes. En la revisión sistemática varios estudios observaron una mejoría de la capacidad antioxidante total (148,214,218,219,223) o de productos de peroxidación lipídica como el MDA (219) en muestras plasmáticas. En el caso concreto del PTER, estudios previos en ratas diabéticas han demostrado su capacidad para mejorar los sistemas de defensa antioxidante en muestras de tejido hepático. Bhakkiyalakshmi y colaboradores (197) describieron un aumento de la expresión NRF2 de hasta 1,46 veces más tras la administración de PTER, con un subsecuente aumento de las enzimas SOD, CAT, GSH peroxidasa y de los niveles de GSH. Posteriormente, el grupo de Kosuru (265) describe una reducción de los productos de peroxidación lipídica tras administración de PTER, aumento de los niveles de SOD y de GSH. Añade, además, que estos hallazgos se produjeron también bajo tratamiento con metformina, y que no hubo diferencias significativas en la mejora de los parámetros antioxidantes entre el grupo tratado con PTER y el grupo de metformina. En tejido retiniano de conejos diabéticos, el grupo de Millán y colaboradores comprobó una activación de NRF2 tras administración de PTER, medido por la expresión proteica de la NADPH deshidrogenasa quinona 1 (NQO1), con un aumento del ratio GSH/GSSG y de las enzimas SOD y catalasa, así como reducción de productos de peroxidación lipídica (175).

Para medir el estado de la homeostasis redox intracelular y el efecto del tratamiento con PTER en nuestro ensayo se utilizó la ratio GSH/GSSG. Una disminución de esta relación es sinónimo de daño oxidativo (266), pero si existen mecanismos para regenerar las moléculas de GSH, tanto del reciclaje del GSSG como por su síntesis de novo la fracción puede mantenerse en un rango adecuado para la defensa antioxidante. Se observaron diferencias significativas entre grupos placebo y tratado en la relación GSH/GSSG plasmática tras la intervención, con un cociente mayor en el grupo PTER que en el grupo placebo. Esta diferencia no se mantuvo tras cesar el tratamiento, mostrando cifras equiparables al final del seguimiento. Se observó que esta diferencia entre grupos se produjo a expensas de unos niveles de GSSG más elevados en el grupo placebo que en el grupo tratado con PTER y no a expensas de cambios en los niveles de GSH. Este hallazgo se encuentra en consonancia con el estudio previo en conejos diabéticos. En este estudio se observó una relación GSH/GSSG significativamente mejor en las retinas de los animales tratados con PTER que en las de los controles, también a expensas de unos niveles de GSSG más elevados en los animales no tratados (175). El GSSG que se produce en la célula puede regenerarse a GSH a través de la enzima GSSG reductasa con NADPH como donante de electrones. Si existe un ambiente de estrés oxidativo que supera la capacidad de la célula para reducir el GSSG, éste se puede exportar activamente fuera de la célula (267). La mejoría del ratio GSH/GSSG bajo tratamiento con PTER implicaría que se produce menos cantidad de GSSG en un ambiente celular menos estresado bajo tratamiento con PTER.

En el estudio en conejos diabéticos de Millán y colaboradores se demostró de manera paralela un incremento del precursor de GSH γ -glutamylcisteína bajo tratamiento con PTER, y postulan una rápida síntesis de las moléculas de GSH para contrarrestar el estrés oxidativo y explicar la ausencia de variación en los niveles de GSH (175). En relación a la vía de la transulfuración en el ensayo, no se encontraron variaciones plasmáticas en el precursor γ -glutamylcisteína ni en el resto de metabolitos de la vía de la transulfuración durante el período de intervención.

En el intento de dar respuesta a la posible vía de acción antioxidante del polifenol, varios estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la capacidad del PTER para activar la vía PI3K/AKT y favorecer la traslocación del NRF2 al núcleo celular para activar la expresión de enzimas antioxidantes e incrementar los niveles de GSH (197–199,202). En el estudio en conejos diabéticos de Millán y colaboradores se investigó, además, la capacidad del PTER para activar el receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP1R), paso previo para iniciar la cascada metabólica PI3K/AKT/GSK3 β y de la activación del NRF2 (175,204). En este estudio se demostró, por una parte, que el PTER actuaba como agonista de GLP1R comparando su acción con exendina 4 (agonista GLP1R) en una línea celular de riñón humano, y que además se producía una activación de NRF2. Por otra parte, también se demostró que el PTER producía un aumento de la cantidad de GLP1R en las retinas de los conejos diabéticos tratados (175). Los

fármacos comercializados agonistas de GLP1R han demostrado especial utilidad en el control de los factores de riesgo cardiovascular. Se ha demostrado su capacidad para reducir la PAS, reducción del peso y del colesterol total (268).

Más allá, se ha demostrado *in vitro* la capacidad de los agonistas GLP1R para activar la transcripción de los PPAR γ , utilizando exendina 4 en cultivos de células endoteliales de vena umbilical humana (269). Como se ha desarrollado anteriormente, el agonismo por los PPAR γ puede explicar fisiológicamente efectos beneficiosos sobre factores de riesgo como la reducción de peso (262,263). También se ha demostrado su implicación en la reducción de la presión arterial, a través de un mecanismo de supresión del sistema renina-angiotensina (270). Aunque pueden contribuir a la reducción del colesterol total, como efecto contraproducente se ha descrito el aumento de la fracción LDL (259). Por todo ello, podemos hipotetizar que el agonismo del PTER por GLP1R y la interacción con PPARs podría actuar como mecanismo de modulación de los factores de riesgo y aumentar las defensas antioxidantes a través de la activación de NRF2.

En la introducción (epígrafe 3.1.2.) se ha mencionado que el tejido retiniano presenta una concentración elevada de ácidos grasos poliinsaturados y que es, por ello, especialmente vulnerable al daño inducido por peroxidación lipídica. Para observar el efecto del PTER sobre la peroxidación lipídica, se analizaron los niveles en orina de productos de los ácidos ARA, ADH y ADR, los ácidos grasos más abundantes en la retina. En el estudio animal de suplementación con PTER de Millán y colaboradores (175), se demostró que las retinas de conejos diabéticos presentaban niveles aumentados de isoprostanos, dihomio-isoprostanos, dihomio-isofuranos y neuroprostano, que se consiguieron normalizar respecto a los controles bajo tratamiento con PTER. Además, el 17(RS)-10-epi-SC--11-dihomo-IsoF, derivado ADR, se halló aumentado en muestras de retina, plasma y orina de los conejos y se propuso como biomarcador de la presencia de RD (205). En nuestro ensayo clínico los productos que disminuyeron significativamente en orina de los sujetos diabéticos del ensayo tratados con PTER fueron los derivados de la oxidación de:

- ARA: la prostaglandina PGE2 y los isoprostanos 8-iso-15-keto-PGF2 y 8-iso-PGF2.
- ADH: el dihomio-isoprostanos 17-epi-17-F2t-dihomo-IsoP
- ADR: el dihomio-isofurano 7(RS)-ST- Δ^8 -11-dihomo-IsoF. No se observaron cambios en el 17(RS)-10-epi-SC--11-dihomo-IsoF como se produjo en los conejos diabéticos.

No se disponen de cifras estandarizadas de estos metabolitos para comparar con la población sana, de manera que los resultados nos permiten afirmar que se produjo una mejoría del estado oxidativo en los pacientes suplementados con PTER en comparación con el grupo placebo, en el que no hubo mejoría de ninguno de los derivados analizados. Sería interesante ampliar el análisis de estos derivados en futuros estudios para poder determinar el valor y significado de cada uno de ellos.

Teniendo en cuenta la heterogeneidad de los estudios y las limitaciones, se puede recomendar la suplementación oral con antioxidantes en pacientes con DM2 sin retinopatía o RDNP leve-moderada sin EMD con un nivel de evidencia IIb.

VI. CONCLUSIONES

1. Aunque el papel de los antioxidantes orales es limitado en cuanto a cambios en agudeza visual o edema macular, han demostrado su capacidad para mejorar parámetros funcionales, así como para retrasar la aparición y progresión de la RD.
2. Teniendo en cuenta la heterogeneidad de las variables estudiadas y la diversidad de antioxidantes estudiados hasta la fecha, se puede recomendar su uso como tratamiento adyuvante en pacientes con DM2 sin retinopatía o RDNP leve a moderada sin EMD, con un nivel de evidencia IIb, con el objeto de frenar la progresión de la enfermedad a estadios más avanzados en los que las aproximaciones terapéuticas pretenden evitar el desarrollo de ceguera *in extremis* y en los cuales el daño neuroretiniano generado es irreversible.
3. A diferencia de otros compuestos con actividad antioxidante, el polifenol natural PTER no presenta efectos adversos en los sujetos tratados en el ensayo.
4. El polifenol ha permitido mejorar el estado oxidativo reflejado por una mejoría de la fracción GSH/GSSG plasmática y una reducción de una variedad de productos de peroxidación lipídica en orina.
5. Al igual que se ha observado en otros ensayos clínicos, el tratamiento con PTER objetivó una mejoría paralela de las cifras de presión arterial sistólica, y una tendencia a la disminución de la presión arterial diastólica.
6. Asimismo, se produjo una mejoría en el índice de tortuosidad venosa cuantificado a partir de retinografías de campo ultra amplio. En este sentido se presenta este tipo de análisis vascular como de una elevada sensibilidad y de potencial utilidad en el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de la RD.
7. Los efectos beneficiosos significativos del tratamiento polifenólico se produjeron de manera conjunta tras el período de tratamiento, aunque parecen ser transitorios ya que se revirtieron tras el cese de la suplementación.
8. A falta de profundizar en los mecanismos moleculares implicados en las mejorías observadas tras el tratamiento con PTER en la evolución de la RD, se postula que los efectos del polifenol podrían atribuirse al agonismo por GLP1R e interacción con los PPARs.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2022). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 45 (1):17–38. <https://doi.org/10.2337/dc22-S002>
2. Powers AC. (2016). Diabetes mellitus: diagnóstico, clasificación y fisiopatología. En Hauser SL, Larry Jameson J, Fauci AS, Longo DL, Loscalzo J, (Eds.), *Harrison. Principios de Medicina Interna*. (19ª ed., pp. 2399-2429). Mc Graw Hill Education.
3. International Diabetes Federation (2021). *IDF Diabetes Atlas* (10th Edition). International Diabetes Federation. <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>
4. Bommer C, Heesemann E, Sagalova V *et al.* (2017). The global economic burden of diabetes in adults aged 20–79 years: a cost-of-illness study. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 5(6), 423–430. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(17\)30097-9](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30097-9)
5. Bauer W, Gyenesei A, Krętownski A. (2021). The multifactorial progression from the islet autoimmunity to type 1 diabetes in children. *Int J Mol Sci*, 22(14), 7493. <https://doi.org/10.3390/ijms22147493>
6. Robertson CC, Rich SS. (2018). Genetics of type 1 diabetes. *Current Opinion in Genetics & Development*, 50, 7–16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gde.2018.01.006>
7. Triolo TM, Fouts A, Pyle L, Yu L, Gottlieb PA, Steck AK. (2019). Identical and nonidentical twins: Risk and factors involved in development of islet autoimmunity and type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 42(2), 192–199. <https://doi.org/10.2337/dc18-0288>
8. Rewers M, She JX, Ziegler AG *et al.* (2008). The environmental determinants of diabetes in the young (TEDDY) study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1150 (1), 1-13. <https://doi.org/10.1196/annals.1447.062>
9. Hummel S, Beyerlein A, Tamura R *et al.* (2017). First Infant Formula Type and Risk of Islet Autoimmunity in The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Study. *Diabetes Care*, 40 (3), 398–404. <https://doi.org/10.2337/dc16-1624>
10. Rewers M, Hagopian W, She J *et al.* (2018). The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Study: 2018 Update. *Current Diabetes Reports*, 18(12). [10.1007/s11892-018-1113-2](https://doi.org/10.1007/s11892-018-1113-2)
11. Lima JEBF, Moreira NCS, Sakamoto-Hojo ET. (2022). Mechanisms underlying the pathophysiology of type 2 diabetes: From risk factors to oxidative stress, metabolic dysfunction, and hyperglycemia. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 874-875. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2021.503437>.
12. Serbis A, Giapros V, Tsamis K *et al.* (2023). Beta Cell Dysfunction in Youth- and Adult-Onset Type 2 Diabetes: An Extensive Narrative Review with a Special Focus on the Role of Nutrients. *Nutrients*, 15, 2217. <https://doi.org/10.3390/nu15092217>.

13. Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. (2016). Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1863(12), 2977–92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.012>
14. Ramasubbu K, Devi Rajeswari V. (2023). Impairment of insulin signaling pathway PI3K/Akt/mTOR and insulin resistance induced AGEs on diabetes mellitus and neurodegenerative diseases: a perspective review. *Molecular Cell Biochemistry*, 478(6), 1307-1324. <https://doi.org/10.1007/s11010-022-04587-x>
15. Lee SH, Park SY, Choi CS. (2022). Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes & Metabolism Journal*, 46(1), 15-37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>
16. Acosta-Martinez M, Cabail MZ. (2022). The PI3K/Akt Pathway in Meta-Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 15330. <https://doi.org/10.3390/ijms232315330>
17. Merz KE, Thurmond DC. (2020). Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance and Glucose Uptake. *Comprehensive Physiology*, 10(3), 785-809. <https://doi.org/10.1002/cphy.c190029>
18. Ahmed B, Sultana R, Greene MW. (2020). Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111315>
19. Morris AP. (2018). Progress in defining the genetic contribution to type 2 diabetes susceptibility. *Current Opinion Genetic Development*, 50, 41–51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gde.2018.02.003>
20. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I *et al.* (2018). Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta- analyses. *Plos One*, 13(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194127>;1–27.
21. Kolb H, Martin S. (2017). Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Medicine*, 15(1):1–11. DOI 10.1186/s12916-017-0901-x
22. Sousa M, Rego T, Armas JB. (2022). Insights into the Genetics and Signaling Pathways in Maturity-Onset Diabetes of the Young. *International Journal of Molecular Sciences*; 23(21). <https://doi.org/10.3390/ijms232112910>.
23. Rodrigo GC, Herbert KE. (2018) Regulation of vascular function and blood pressure by circadian variation in redox signalling. *Free Radical Biology and Medicine*, 119, 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.381>
24. An Y, Xu BT, Wan SR *et al.* (2023). The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. *Cardiovascular Diabetology*, 22 (1). <https://doi.org/10.1186/s12933-023-01965-7>

25. Pereira C, Maria L, Ana S *et al.* (2016). The linkage between oxidative stress, in inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *Journal of Diabetes and Its Complications Diabetes mellitus*, 30(4), 738–745.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2015.12.018>
26. Rodríguez ML, Pérez S, Mena-mollá S *et al.* (2019). Oxidative Stress and Microvascular Alterations in Diabetic Retinopathy: Future Therapies. 2019; *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4940825>
27. Horal M, Zhang Z, Stanton R *et al.* (2004). Activation of the hexosamine pathway causes oxidative stress and abnormal embryo gene expression: Involvement in diabetic teratogenesis. *Birth Defects Research Part A - Clinical and Molecular Teratology*, 70(8), 519–527. <https://doi.org/10.1002/bdra.20056>
28. Karan A, Bhakkiyalakshmi E, Jayasuriya R *et al.* (2020). The pivotal role of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in diabetes-induced endothelial dysfunction. *Pharmacology Research*, 153. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104601>
29. Xiao Q, Wang D, Li D *et al.* (2023). Protein kinase C: A potential therapeutic target for endothelial dysfunction in diabetes. *Journal of Diabetes Complications*, 37(9). <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2023.108565>
30. Liu J, Pan S, Wang X *et al.* (2023). Role of advanced glycation end products in diabetic vascular injury: molecular mechanisms and therapeutic perspectives. *European Journal of Medical Research*, 28(1). <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01431-w>
31. Bitar MS, Al-Mulla F. (2011). A defect in nrf2 signaling constitutes a mechanism for cellular stress hypersensitivity in a genetic rat model of type 2 diabetes. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 301(6), 1119–1129. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00047.2011>
32. Mishra M, Zhong Q, Kowluru RA. (2014). Epigenetic modifications of Keap1 regulate its interaction with the protective factor Nrf2 in the development of diabetic retinopathy. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*, 55(11), 7256–7265.
33. Rabbani PS, Soares MA, Hameedi SG *et al.* (2019). Dysregulation of Nrf2/Keap1 Redox Pathway in Diabetes Affects Multipotency of Stromal Cells. *Diabetes*, 68(1), 141-155. <https://doi.org/10.2337/db18-0232>
34. Wu J, Sun X, Jiang Z *et al.* (2020). Protective role of NRF2 in macrovascular complications of diabetes. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(16), 8903–8917. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15583>
35. Cai F, Chen W, Zhao R *et al.* (2023). Mechanisms of Nrf2 and NF-κB pathways in diabetic wound and potential treatment strategies. *Molecular Biology Reports*, 50(6), 5355-5367. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08392-7>

36. Poznyak A, Grechko A V., Poggio P *et al.* (2020). The diabetes mellitus–atherosclerosis connection: The role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1–13.
<https://doi.org/10.3390/ijms21051835>
37. Hasheminasabgorji E, Jha JC. (2021). Dyslipidemia, Diabetes and Atherosclerosis: Role of Inflammation and ROS-Redox-Sensitive Factors. *Biomedicines*, 9(11), 1602.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9111602>
38. Horton WB, Barrett EJ. (2021). Microvascular Dysfunction in Diabetes Mellitus and Cardiometabolic Disease. *Endocrine Reviews*, 42(1), 29–55.
<https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa025>
39. Bourne RRA, Steinmetz JD, Flaxman S *et al.* (2021). Trends in prevalence of blindness and distance and near vision impairment over 30 years: An analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Global Health*, 9(2), 130–143.
[https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30425-3](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30425-3)
40. Chang DF. (2012). Examen oftalmológico. En Riordan-Eva P, Cunningham ET (Eds.), *Vaughan y Asbury: Oftalmología General*. (18ª ed., pp. 27–58). Mc Graw Hill Education.
41. Bourne RRA, Steinmetz JD, Saylan M *et al.* (2020). Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: The Right to Sight: An analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Global Health*, 9(2), 144–160. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30489-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30489-7)
42. Supplementary Material (2020). En *Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: The Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study ANNEXIS*, 8. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30489-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30489-7)
43. Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ *et al.* (2001). UKPDS 50: Risk factors for incidence and progression of retinopathy in Type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia*, 44, 156–63. <https://doi.org/10.1007/s001250051594>
44. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. (1991). Grading Diabetic Retinopathy from Stereoscopic Color Fundus Photographs—An Extension of the Modified Airlie House Classification: ETDRS Report Number 10. *Ophthalmology*, 98(5), 786–806. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(13\)38012-9](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(13)38012-9)
45. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R *et al.* (2012). Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group (2012). Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes care*, 35(3), 556–564. <https://doi.org/10.2337/dc11-1909>

46. Teo ZL, Tham YC, Yu M *et al.* (2021). Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology*, 128(11):1580–1591. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2021.04.027>
47. Vila L, Viguera J, Alemán R. (2008). Retinopatía diabética y ceguera en España. Epidemiología y prevención. *Endocrinología y Nutrición*, 55(10):459–475. [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(08\)75843-1](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(08)75843-1)
48. Li JQ, Welchowski T, Schmid M *et al.* (2020). Prevalence, incidence and future projection of diabetic eye disease in Europe: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Epidemiology*, 35(1), 11–23. <https://doi.org/10.1007/s10654-019-00560-z>
49. Martínez Rubio M, Moya Moya M, Bellot Bernabé A *et al.* (2012). Cribado de retinopatía diabética y teleoftalmología. Archivos de la Sociedad Española de *Oftalmología*, 87(12), 392–395. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ofal.2012.04.004>
50. Alonso-Morán E, Orueta JF, Esteban JIF *et al.* (2014). The prevalence of diabetes-related complications and multimorbidity in the population with type 2 diabetes mellitus in the Basque Country. *BMC Public Health*, 14(1), 1–9. <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/14/1059>
51. Romero-Aroca P, De La Riva-Fernandez S, Valls-Mateu A *et al.* (2016). Changes observed in diabetic retinopathy: Eight-year follow-up of a Spanish population. *British Journal of Ophthalmology*, 100(10), 1366–1371. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-307689>
52. Rodriguez-Poncelas A, Miravet-Jiménez S, Casellas A *et al.* (2015). Prevalence of diabetic retinopathy in individuals with type 2 diabetes who had recorded diabetic retinopathy from retinal photographs in Catalonia (Spain). *British Journal of Ophthalmology*, 99(12), 1628–33. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-306683>
53. Rodríguez Villa S, Alonso Álvarez C, de Dios del Valle R, *et al.* (2016). Análisis de un programa de teleoftalmología para el cribado de retinopatía diabética en área rural tras cinco años. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, 91(9), 426–430. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ofal.2016.01.023>
54. Castillo-Otí JM, Cañal-Villanueva J, García-Unzueta MT *et al.* (2020) Prevalence and risk factors associated with diabetic retinopathy in Santander. Northern Spain. *Atención Primaria*, 52(1), 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2018.10.001>
55. Romero-aroca P, Navarro-gil R, Valls-mateu A *et al.* (2017). Differences in incidence of diabetic retinopathy between type 1 and 2 diabetes mellitus : a nine-year follow-up study. *British Journal of Ophthalmology*, 101(10), 1346–1351. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2016-310063>

56. Pedro RA, Ramon SA, Marc BB *et al.* (2010). Prevalence and relationship between diabetic and nephropathy, and its risk factors in the north-east of Spain, a population-based study. *Ophthalmic Epidemiology*, 17(4), 251–265.
<https://doi.org/10.3109/09286586.2010.498661>
57. Gubitosi-Klug R *et al.* (2016). Intensive Diabetes Treatment and Cardiovascular Outcomes in Type 1 Diabetes : The DCCT / EDIC Study. *Diabetes Care*, 39(5), 686–693. <https://doi.org/10.2337/dc15-1990>
58. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. (1998). Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *The Lancet*, 352(9131), 854-865. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)07037-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)07037-8)
59. Hussain A, Ashique S, Afzal O *et al.* (2023). A correlation between oxidative stress and diabetic retinopathy: An updated review. *Experimental Eye Research*, 236. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2023.109650>
60. Kowluru RA. (2023). Cross Talks between Oxidative Stress, Inflammation and Epigenetics in Diabetic Retinopathy. *Cells*, 12(2), 300.
<https://doi.org/10.3390/cells12020300>
61. Wu M, Yiang G, Lai T *et al.* (2018). The Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction during the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3420187>
62. Pinto CC, Silva KC, Biswas SK *et al.* (2007). Arterial hypertension exacerbates oxidative stress in early diabetic retinopathy. *Free Radical Research*, 41(10), 1151-1158. <https://doi.org/10.1080/10715760701632816>
63. Xie L, Zhu X, Hu Y, *et al.* (2008). Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis in High Glucose – Induced HRECs. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 49(9), 4203-4209. <https://doi.org/10.1167/iovs.07-1364>
64. Liu DD, Zhang CY, Zhang JT *et al.* (2023). Epigenetic modifications and metabolic memory in diabetic retinopathy: beyond the surface. *Neural Regeneration Research*, 18(7), 1441-1449. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.361536>
65. Testa R, Bonfigli AR, Prattichizzo F *et al.* (2017). The “Metabolic Memory” Theory and the Early Treatment of Hyperglycemia in Prevention of Diabetic Complications. *Nutrients*, 9(5), 437. <https://doi.org/10.3390/nu9050437>
66. Wang Z, Zhao H, Guan W *et al.* (2018). Metabolic memory in mitochondrial oxidative damage triggers diabetic retinopathy. *BMC Ophthalmology*, 18(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12886-018-0921-0>

67. Wang W, Lo ACY. (2018). Diabetic Retinopathy: Pathophysiology and Treatments. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1816. doi:10.3390/ijms19061816
68. Midena E, Frizziero L, Midena G *et al.* (2021). Intraocular fluid biomarkers (liquid biopsy) in human diabetic retinopathy. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 259(12), 3549-3560. <https://doi.org/10.1007/s00417-021-05285-y>
69. Mason RH, Minaker SA, Lahaie Luna G *et al.* (2022). Changes in aqueous and vitreous inflammatory cytokine levels in proliferative diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *Eye* (2022). <https://doi.org/10.1038/s41433-022-02127-x>
70. Kuo CYJ, Murphy R, Rupenthal ID *et al.* (2022). Correlation between the progression of diabetic retinopathy and inflammasome biomarkers in vitreous and serum - a systematic review. *BMC Ophthalmology*, 22(1), 238. <https://doi.org/10.1186/s12886-022-02439-2>
71. Rübsam A, Parikh S, Fort PE. (2018). Role of Inflammation in Diabetic Retinopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 942. <https://doi.org/10.3390/ijms19040942>
72. Tang L, Xu GT, Zhang JF. (2023). Inflammation in diabetic retinopathy: possible roles in pathogenesis and potential implications for therapy. *Neural Regeneration Research*, 18(5), 976-982. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.355743>
73. Blum A, Pastukh N, Socea D *et al.* (2018). Cytokine Levels of adhesion molecules in peripheral blood correlat with stages of diabetic retinopathy and may serve as bio markers for microvascular complications. *Cytokine*, 106, 76–79. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.10.014>
74. Tian P, Ge H, Liu H, Kern TS, Du L, Guan L, *et al.* (2013). Leukocytes from diabetic patients kill retinal endothelial cells : Effects of berberine. *Molecular Vision*, 19, 2092–2105. <http://www.molvis.org/molvis/v19/2092>
75. Altmann C, Schmidt MHH. (2018). The Role of Microglia in Diabetic Retinopathy: Inflammation, Microvasculature Defects and Neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 110. <https://doi.org/10.3390/ijms19010110>
76. Wu H, Wang M, Li X, *et al.* (2021). The Metaflammatory and Immunometabolic Role of Macrophages and Microglia in Diabetic Retinopathy. *Human Cell*, 34(6), 1617-1628. <https://doi.org/10.1007/s13577-021-00580-6>
77. Fragiotta S, Pinazo-Durán MD, Scuderi G. (2022). Understanding Neurodegeneration from a Clinical and Therapeutic Perspective in Early Diabetic Retinopathy. *Nutrients*, 14(4), 792. <https://doi.org/10.3390/nu14040792>.
78. Sasaki M, Ozawa Y, Kurihara T *et al.* (2010). Neurodegenerative influence of oxidative stress in the retina of a murine model of diabetes. *Diabetologia*, 53(5), 971-979. doi: 10.1007/s00125-009-1655-6.

79. Zhou J, Chen B. (2023). Retinal Cell Damage in Diabetic Retinopathy. *Cells*, 12(9), 1342. <https://doi.org/10.3390/cells12091342>.
80. Rajendran S, Seetharaman S, Dharmarajan A *et al.* (2021). Microvascular cells: A special focus on heterogeneity of pericytes in diabetes associated complications. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 134. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2021.105971>
81. Durham JT, Herman IM. (2011). Microvascular modifications in diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reports*, 11(4), 253-264. <https://doi.org/10.1007/s11892-011-0204-0>
82. Bygari R, Naik R, Uday P. (2021). Blindness (Diabetic Retinopathy) Severity Scale Detection. *8th Swiss Conference on Data Sciences (SDS)*. <https://arxiv.org/pdf/2110.01333.pdf>
83. Zhang D, Lv FL, Wang GH. (2018). Effects of HIF-1 α on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression. *European Review for Medical and Pharmacology Sciences*, 22(16), 5071–5076. doi: 10.26355/eurrev_201808_15699.
84. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. (1991). Fundus Photographic Risk Factors for Progression of Diabetic Retinopathy: ETDRS Report Number 12. *Ophthalmology*, 98(5), 823–33. [http://dx.doi.org/10.1016/S0161-6420\(13\)38014-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0161-6420(13)38014-2)
85. Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE *et al.* (2003). Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology.*, 110(9), 1677–82. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(03\)00475-5](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(03)00475-5)
86. Lee CS, Lee AY, Baughman D *et al.* (2017) . The United Kingdom Diabetic Retinopathy Electronic Medical Record Users Group: Report 3: Baseline Retinopathy and Clinical Features Predict Progression of Diabetic Retinopathy. *American Journal of Ophthalmology*, 180, 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2017.05.020>
87. Bernardes R, Serranho P, Lobo C. (2011). Digital ocular fundus imaging: a review. *Ophthalmologica*, 226(4), 161-181. <https://doi.org/10.1159/000329597>
88. Ullah W, Pathan SK, Panchal A *et al.* (2020). Cost-effectiveness and diagnostic accuracy of telemedicine in macular disease and diabetic retinopathy: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 99(25). <http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000020306>
89. Kanclerz P, Tuuminen R, Khoramnia R. (2021). Imaging Modalities Employed in Diabetic Retinopathy Screening: A Review and Meta-Analysis. *Diagnostics*, 11(10), 1802. <https://doi.org/10.3390/diagnostics1110180290>
90. Silva PS, Dela Cruz AJ, Ledesma MG *et al.* (2015). Diabetic Retinopathy Severity and Peripheral Lesions Are Associated with Nonperfusion on Ultrawide Field Angiography. *Ophthalmology*, 122(12), 2465-2472.

91. Rajalakshmi R, Prathiba V, Arulmalar S *et al.* (2020). Review of retinal cameras for global coverage of diabetic retinopathy screening. *Eye*, 35(1), 162-172.
92. Scanlon PH. (2016). The English National Screening Programme for diabetic retinopathy 2003-2016. *Acta Diabetologica*, 54(6), 515-525. doi: 10.1007/s00592-017-0974-1
93. Wong RLM, Tsang CW, Wong DSH *et al.* (2017). Are we making good use of our public resources? The false-positive rate of screening by fundus photography for diabetic macular oedema. *Hong Kong Medical Journal*, 23(4), 356-64.
doi: 10.12809/hkmj166078.
94. Prescott G, Sharp P, Goatman K *et al.* (2014). Improving the cost-effectiveness of photographic screening for diabetic macular oedema: a prospective, multi-centre, UK study. *British Journal of Ophthalmology*, 98(8), 1042-9.
<https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-304338>
95. Hui VWK, Szeto SKH, Tang F *et al.* Optical Coherence Tomography Classification Systems for Diabetic Macular Edema and Their Associations With Visual Outcome and Treatment Responses - An Updated Review. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*, 11(3), 247-257. doi: 10.1097/APO.0000000000000468
96. Batioğlu F, Yanık Ö, Demirel S *et al.* (2023). Clinical Use of Optical Coherence Tomography Angiography in Retinal Diseases. *Diagnostics*, 13(10), 1820.
<https://doi.org/10.3390/diagnostics13101820>
97. Ting DSW, Siew G, Agrawal R *et al.* (2017). Optical Coherence Tomographic Angiography in Type 2 Diabetes and Diabetic Retinopathy. *JAMA Ophthalmology*, 135(4), 306-12. doi:10.1001/jamaophthalmol.2016.5877
98. Marques IP, Kubach S, Santos T *et al.* (2021). Optical Coherence Tomography Angiography Metrics Monitor Severity Progression of Diabetic Retinopathy—3-Year Longitudinal Study. *Journal of Clinical Medicine*, 10(11), 2296.
<https://doi.org/10.3390/jcm10112296>
99. Wadhwani M, Vashist P, Singh SS *et al.* (2018). Diabetic retinopathy screening programme utilising non-mydratic fundus imaging in slum populations of New Delhi, India. *Tropical Medicine and International Health*, 23(4), 405-14.
<https://doi.org/10.1111/tmi.13039>
100. Gardner GG, Keating D, Williamson TH *et al.* (1996). Automatic detection of diabetic retinopathy using an artificial neural network: a screening tool. *British Journal of Ophthalmology*, 80(11), 940-944.

101. Shu D, Ting W, Cheung CY *et al.* (2017). Development and Validation of a Deep Learning System for Diabetic Retinopathy and Related Eye Diseases Using Retinal Images From Multiethnic Populations With Diabetes. *JAMA*, 318(22), 2211-2223. doi:10.1001/jama.2017.18152
102. Zhelev Z, Peters J, Rogers M *et al.* (2023). Test accuracy of artificial intelligence-based grading of fundus images in diabetic retinopathy screening: A systematic review. *Journal of Medical Screening*, 30(3), 97-112. <https://doi.org/10.1177/0969141322114438>
103. Krause J, Gulshan V, Rahimy E *et al.* (2018). Grader Variability and the Importance of Reference Standards for Evaluating Machine Learning Models for Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology*, 125(8), 1264–72. <https://doi.org/10.1016/j.ophttha.2018.01.034>
104. Heijden AA Van Der, Abramoff MD *et al.* (2018). Validation of automated screening for referable diabetic retinopathy with the IDx-DR device in the Hoorn Diabetes Care System. *Acta Ophthalmologica*, 96(1), 63-68. <https://doi.org/10.1111/aos.13613>
105. Wong TY, Sun J, Kawasaki R *et al.* (2018). Guidelines on Diabetic Eye Care The International Council of Ophthalmology Recommendations for Screening, Follow-up, Referral, and Treatment Based on Resource Settings. *Ophthalmology*, 125(10), 1608-1622. <https://doi.org/10.1016/j.ophttha.2018.04.007>
106. Franch Nadal J, Barrot de la Puente J, Girbés Borrás JA *et al.* (2014). *Consenso en el cribado de la retinopatía diabética. Documento resumen*. Sociedad Española de Retina y Vítreo / EUROMEDICE, Ediciones Médicas, S.L. En: https://serv.es/wp-content/descargasWP/documentacionMedica/Documento_consenso.pdf
107. Martín JI, Muñoz C, Blas MP. (2019). *Detección de complicaciones de la diabetes. Retinopatía diabética. Evaluación económica de la oftalmoscopia por exploración con láser campo ultra-amplio*. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS). https://doi.org/10.46994/ets_02
108. Virk R, Binns AM, Chambers R *et al.* (2021). How is the risk of being diagnosed with referable diabetic retinopathy affected by failure to attend diabetes eye screening appointments? *Eye*, 35(2), 477–83. <http://dx.doi.org/10.1038/s41433-020-0877-1>
109. Frith E, Loprinzi PD. (2018). Retinopathy and mortality. *Diabetes Spectrum*, 31(2), 184–188. <https://doi.org/10.2337/ds17-0010>
110. Ferris FL. 1993. How Effective Are Treatments for Diabetic Retinopathy? *JAMA*, 269(10), 1290–1291. doi:10.1001/jama.1993.03500100088034 .

111. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. (1995). The Relationship of Glycemic Exposure (HbA1c) to the Risk of Development and Progression of Retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial Diabetes. *Diabetes Journals*, 44(8), 968–983. <http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/44/8/968/361553/44-8-968.pdf>
112. Richardson P, Hulpus A, Idris I. (2018). Short-Term Impact of Bariatric Surgery on Best-Corrected Distance Visual Acuity and Diabetic Retinopathy Progression. *Obesity Surgery*, 28(11), 3711–3713.
113. Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee. (2018). Targets for Glycemic Control. *Canadian Journal of Diabetes*, 42, 42–46. <http://guidelines.diabetes.ca/docs/cpg/Ch8-Targets-for-Glycemic-Control.pdf>
114. Turner R, Holman R, Stratton I *et al.* (1998). Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *British Medical Journal*, 317(7160), 703–13. <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7160.703>
115. Do DV, Han G, Abariga SA *et al.* (2023). Blood pressure control for diabetic retinopathy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3(3). doi: 10.1002/14651858.CD006127.pub3
116. Zhou JB, Song ZH, Bai L *et al.* (2018). Could Intensive Blood Pressure Control Really Reduce Diabetic Retinopathy Outcomes? Evidence from Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis from Randomized Controlled Trials. *Diabetes Therapy*, 9(5), 2015–2027. <https://doi.org/10.1007/s13300-018-0497-y>
117. Ngah NF, Muhamad NA, Abdul Aziz RA *et al.* (2022). Fenofibrate for the prevention of progression of non-proliferative diabetic retinopathy: review, consensus recommendations and guidance for clinical practice. *International Journal of Ophthalmology*, 15(12), 2001–2008. doi: 10.18240/ijo.2022.12.16
118. Kataoka SY, Lois N, Kawano S *et al.* (2023). Fenofibrate for diabetic retinopathy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 6(6). doi: 10.1002/14651858.-CD013318.pub2.
119. Zhu W, Wu Y, Meng Y-F *et al.* (2018). Association of obesity and risk of diabetic retinopathy in diabetes patients. *Medicine*, 97(32), e11807. doi: 10.1097/MD.00000000000011807
120. Cai X, Chen Y, Yang W *et al.* (2018). The association of smoking and risk of diabetic retinopathy in patients with type 1 and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Endocrine*, 62(2), 299–306. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1697-y>

121. Amoaku WM, Ghanchi F, Bailey C *et al.* (2020). Diabetic retinopathy and diabetic macular oedema pathways and management: UK Consensus Working Group. *Eye*, 34, 1–51. <http://dx.doi.org/10.1038/s41433-020-0961-6>
122. Fan W, Nittala MG, Velaga SB *et al.* (2019). Distribution of Nonperfusion and Neovascularization on Ultrawide-Field Fluorescein Angiography in Proliferative Diabetic Retinopathy (RECOVERY Study): Report 1. *American Journal of Ophthalmology*, 206, 154–60. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2019.04.023>
123. Ashraf M, Sampani K, Abdelal O *et al.* (2020). Disparity of microaneurysm count between ultrawide field colour imaging and ultrawide field fluorescein angiography in eyes with diabetic retinopathy. *British Journal of Ophthalmology*, 104(12), 1762–7. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2019-315807>
124. Rayess N, Rahimy E, Ying GS *et al.* (2015). Baseline choroidal thickness as a predictor for response to anti-vascular endothelial growth factor therapy in diabetic macular edema. *American Journal of Ophthalmology*, 159(1), 85–91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2014.09.033>
125. Wang J, Hormel TT, You Q *et al.* (2020). Robust non-perfusion area detection in three retinal plexuses using convolutional neural network in OCT angiography. *Biomedical Optics Express*, 11(1), 330. <https://doi.org/10.1364/BOE.11.000330>
126. Boned-Murillo A, Albertos-Arranz H, Diaz-Barreda MD *et al.* (2022). Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review. *Biomedicines*, 10(1), 88. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10010088>
127. Sun, Z., Yang, D., Tang, Z. *et al.* (2021). Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye*, 35, 149–161. <https://doi.org/10.1038/s41433-020-01233-y>.
128. Wang FP, Saraf SS, Zhang Q *et al.* (2020). Ultra-Widefield Protocol Enhances Automated Classification of Diabetic Retinopathy Severity with OCT Angiography. *Ophthalmology Retina*, 4(4), 415–424. <https://doi.org/10.1016/j.oret.2019.10.018>
129. Wessel MM, Aaker GD, Parlitsis G *et al.* (2012). Ultra-wide-field angiography improves the detection and classification of diabetic retinopathy. *Retina*, 32(4), 785–91. doi: 10.1097/IAE.0b013e3182278b64
130. Wessel MM, Nair N, Aaker GD *et al.* (2012). Peripheral retinal ischaemia, as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography, is associated with diabetic macular oedema. *British Journal of Ophthalmology*, 96(5), 694–8. doi:10.1136/bjophthalmol-2011-300774

131. Sim DA, Keane PA, Rajendram R *et al.* (2014). Patterns of peripheral retinal and central macula ischemia in diabetic retinopathy as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography. *American Journal of Ophthalmology*, 158(1), 144-153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2014.03.009>
132. Oliver SCN, Schwartz SD. (2010). Peripheral Vessel Leakage (PVL): A new angiographic finding in diabetic retinopathy identified with ultra wide-field fluorescein angiography. *Seminars in Ophthalmology*, 25(1-2), 27-33. <https://doi.org/10.3109/08820538.2010.481239>
133. Relhan N, Flynn HW. (2017). The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study historical review and relevance to today's management of diabetic macular edema. *Current Opinion in Ophthalmology*, 28(3), 205-212.
134. Aiello LM, Ferris FL. (1987). Photocoagulation for Diabetic Macular Edema. *Archives Ophthalmology*, 105(9), 1163. doi:10.1001/archopht.1987.01060090021004
135. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. (2008). A randomized trial comparing intravitreal triamcinolone acetonide and focal/grid photocoagulation for diabetic macular edema. *Ophthalmology*, 115(9), 1447-1449. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2008.06.015>
136. Elman MJ, Aiello LP, Beck RW *et al.* (2010). Randomized Trial Evaluating Ranibizumab Plus Prompt or Deferred Laser or Triamcinolone Plus Prompt Laser for Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology*, 117(6), 1064-1077. <http://dx.doi.org/10.1016/j.opthta.2010.02.031>
137. Michaelides M, Kaines A, Hamilton RD *et al.* (2010). A Prospective Randomized Trial of Intravitreal Bevacizumab or Laser Therapy in the Management of Diabetic Macular Edema (BOLT Study). 12-Month Data: Report 2. *Ophthalmology*, 117(6), 1078-1086. <http://dx.doi.org/10.1016/j.opthta.2010.03.045>
138. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U *et al.* (2011). The RESTORE study: Ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology*, 118(4), 615-625. <http://dx.doi.org/10.1016/j.opthta.2011.01.031>
139. Nguyen QD, Brown DM, Marcus DM *et al.* (2012). Ranibizumab for diabetic macular edema: Results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology*, 119(4), 789-801. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2011.12.039>
140. Brown DM, Schmidt-Erfurth U *et al.* (2015). Intravitreal aflibercept for diabetic macular edema: 100-week results from the VISTA and VIVID studies. *Ophthalmology*, 122(10), 2044-52. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2015.06.017>

141. Elman MJ, Bressler NM, Qin H *et al.* (2011). Expanded 2-year follow-up of ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology*, 118(4), 609–14. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.12.033>
142. Bressler NM, Beaulieu WT, Glassman AR *et al.* (2018). Persistent macular thickening following intravitreal aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for central-involved diabetic macular edema with vision impairment A secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmology*, 136(3), 257–69.
doi: 10.1001/jamaophthalmol.2017.6565
143. Glassman AR, Wells JA, Josic K *et al.* (2020). Five-Year Outcomes after Initial Aflibercept, Bevacizumab, or Ranibizumab Treatment for Diabetic Macular Edema (Protocol T Extension Study). *Ophthalmology*, 127(9), 1201-1210.
<https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2020.03.021>
144. Maturi RK, Pollack A, Uy HS *et al.* (2016). Intraocular pressure in patients with diabetic macular edema treated with dexamethasone intravitreal implant in the 3-year mead study. *Retina*, 36(6), 1143–52. doi: 10.1097/IAE.0000000000001004
145. Campochiaro PA, Brown DM, Pearson A *et al.* (2012). Sustained delivery fluocinolone acetonide vitreous inserts provide benefit for at least 3 years in patients with diabetic macular edema. *Ophthalmology*, 119(10), 2125–32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.04.030>
146. Schmidt-Erfurth U, Garcia-Arumi J, Bandello F *et al.* (2017). Guidelines for the management of diabetic macular edema by the European Society of Retina Specialists (EURETINA). *Ophthalmologica*, 237(4), 185–222. <https://doi.org/10.1159/000458539>
147. Suganya N, Bhakkiyalakshmi E, Sarada DVL *et al.* (2016). Reversibility of endothelial dysfunction in diabetes: Role of polyphenols. *British Journal of Nutrition*, 116(2), 223–46. doi:10.1017/S0007114516001884
148. Lafuente M, Ortín L, Argente M, *et al.* Combined intravitreal Ranibizumab and oral supplementation with Docosahexaenoic Acid and Antioxidants for diabetic macular edema: Two-Year Randomized Single-Blind Controlled Trial Results. *Retina*, 37(7), 1277–1286. doi: 10.1097/IAE.0000000000001363
149. Funatsu H, Yamashita H, Noma H *et al.* (2002). Increased levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *American Journal of Ophthalmology*, 133(1), 70–7. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(01\)01269-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(01)01269-7)
150. Gross JG, Glassman AR, Jampol LM *et al.* (2015). Panretinal photocoagulation vs intravitreal ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy: A randomized clinical trial. *JAMA*, 314(20), 2137–2146. doi: 10.1001/jama.2015.15217

151. Sivaprasad S, Prevost AT, Vasconcelos JC *et al.* (2017). Clinical efficacy of intravitreal aflibercept versus panretinal photocoagulation for best corrected visual acuity in patients with proliferative diabetic retinopathy at 52 weeks (CLARITY): a multicentre, single-blinded, randomised, controlled, phase 2b. *Lancet*, 389(10085), 2193–203. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31193-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31193-5)
152. Beaulieu WT, Bressler NM, Melia M *et al.* (2016). Panretinal Photocoagulation Versus Ranibizumab for Proliferative Diabetic Retinopathy: Patient-Centered Outcomes From a Randomized Clinical Trial. *American Journal of Ophthalmology*, 170:206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2016.08.008>
153. Figueira J, Fletcher E, Massin P *et al.* (2018). Ranibizumab Plus Panretinal Photocoagulation versus Panretinal Photocoagulation Alone for High-Risk Proliferative Diabetic Retinopathy (PROTEUS Study). *Ophthalmology*, 125(5), 691–700. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2017.12.008>
154. Glassman AR. (2017). Results of a randomized clinical trial of aflibercept vs panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy is it time to retire your laser? *JAMA Ophthalmology*, 135(7), 685–686. doi:10.1001/jamaophthalmol.2017.1652
155. Gross JG, Glassman AR, Liu D *et al.* (2018). Five-Year Outcomes of Panretinal Photocoagulation vs Intravitreal Ranibizumab for Proliferative Diabetic Retinopathy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmology*, 136(10), 1138–48. doi:10.1001/jamaophthalmol.2019.4284
156. Obeid A, Gao X, Ali FS *et al.* (2018). Loss to Follow-Up in Patients with Proliferative Diabetic Retinopathy after Panretinal Photocoagulation or Intravitreal Anti-VEGF Injections. *Ophthalmology*, 125(9), 1386–1392. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2018.02.034>
157. Obeid A, Su D, Patel SN *et al.* (2019). Outcomes of Eyes Lost to Follow-up with Proliferative Diabetic Retinopathy That Received Panretinal Photocoagulation versus Intravitreal Anti-Vascular Endothelial Growth Factor. *Ophthalmology*, 126(3), 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2018.07.027>
158. Jampol LM, Glassman AR, Sun J. (2020). Evaluation and Care of Patients with Diabetic Retinopathy. *New England Journal of Medicine*, 382(17), 1629–1637. doi: 10.1056/NEJMr1909637
159. Sun JK, Glassman AR, Beaulieu WT, *et al.* (2019). Rationale and Application of the Protocol S Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Algorithm for Proliferative Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology* 126(1), 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2018.08.001>

160. Muqit MMK, Marcellino GR, Henson DB *et al.* (2013). Optos-guided pattern scan laser (Pascal)-targeted retinal photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmologica*, 91(3), 251–258. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2011.02307.x>
161. Flaxel CJ, Adelman RA, Bailey ST *et al.* (2020). Diabetic Retinopathy Preferred Practice Pattern®. *Ophthalmology*, 127(1), 66–145. <http://dx.doi.org/10.1016/j.opthta.2019.09.025>
162. Bandello F, Cicinelli MV. (2020). 19th EURETINA Congress Keynote Lecture: Diabetic Retinopathy Today. *Ophthalmologica*, 243(3), 163–71. <https://doi.org/10.1159/000506312>
163. Sociedad Española de Retina y Vítreo. (2022). *Guía 3. Manejo de las complicaciones oculares de la diabetes. Retinopatía diabética y edema macular. Cuarta revisión*. En: <https://serv.es/guias-de-practica-clinica-socios/>
164. Lushchak, V.I. (2012). Glutathione homeostasis and functions: Potential targets for medical intervention. *Journal of Amino Acids*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/736837>
165. Lushchak VI. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164-75. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>
166. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM. (2019). Oxidative stress indexes for diagnosis of health or disease in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4128152>
167. Nimse SA, Pal D. (2015). Free Radicals, Natural Antioxidants, and their Reaction Mechanisms. *Royal Society of Chemistry*, 5. doi: 10.1039/C4RA13315C. .
168. Sinenko SA, Starkova TY, Kuzmin AA *et al.* (2021) Physiological Signaling Functions of Reactive Oxygen Species in Stem Cells: From Flies to Man. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.714370>
169. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
170. Vašková J, Kočan L, Vaško L *et al.* Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. *Molecules*, 28(3), 1447. <https://doi.org/10.3390/molecules28031447>
171. Millán I, De Álvaro F. (1998). Homocisteína y disfunción endotelial en pacientes con diabetes mellitus , insuficiencia renal crónica , diálisis y trasplante. *Nefrología*, 8(3), 186-195. En: <https://www.revistanefrologia.com/es-homocisteina-disfuncion-endotelial-pacientes-con-articulo-X0211699598010451>

172. Matteucci E, Giampietro O. Thiol Signalling Network with an Eye to Diabetes. *Molecules*, 15(12), 8890-8903. <https://doi.org/10.3390/molecules15128890>.
173. Sparrow JR, Vollmer-Snarr HR, Zhou J *et al.* (2003). A2E-epoxides damage DNA in retinal pigment epithelial cells. Vitamin E and other antioxidants inhibit A2E-epoxide formation. *Journal of Biological Chemistry*, 278(20), 18207–18213. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M300457200>
174. Picard E, Daruich A, Youale J *et al.* (2020). From Rust to Quantum Biology: The Role of Iron in Retina Physiopathology. *Cells*, 9(3), 1–29.
175. Millán I, Desco MDC, Torres-Cuevas I *et al.* (2020). Pterostilbene prevents early diabetic retinopathy alterations in a rabbit experimental model. *Nutrients*, 12(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/nu12010082>
176. Tonade D, Kern TS. (2021). Photoreceptor cells and RPE contribute to the development of diabetic retinopathy. *Progress in Retinal and Eye Research*, 83. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100919>
177. Yu JY, Lyons TJ. (2013). Modified Lipoproteins in Diabetic Retinopathy: A Local Action in the Retina. *Journal of Clinical and Experimental Ophthalmology*, 4(06), 6–13. doi: 10.4172/2155-9570.1000314
178. Agbor GA, Vinson JA, Patel S *et al.* (2007). Effect of selenium- and glutathione-enriched yeast supplementation on a combined atherosclerosis and diabetes hamster model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8731-8736. <https://doi.org/10.1021/jf0711901>
179. Ajith TA. (2020). Alpha-lipoic acid: A possible pharmacological agent for treating dry eye disease and retinopathy in diabetes. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 47(12), 1883–1890. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13373>
180. Rossino MG, Casini G. (2019). Nutraceuticals for the treatment of diabetic retinopathy. *Nutrients*, 11(4), 1–29. <https://doi.org/10.3390/nu11040771>
181. Brglez Mojzer E, Knez Hrnčič M, Škerget M *et al.* (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*, 21(7). <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
182. Manach C, Scalbert A, Morand C *et al.* (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
183. Eynard AR, Repossi G. (2019). Role of ω 3 polyunsaturated fatty acids in diabetic retinopathy: a morphological and metabolically cross talk among blood retina barriers damage, autoimmunity and chronic inflammation. *Lipids in Health and Disease*, 18(1), 114. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1049-9>

184. Zhang X, Liu W, Wu S *et al.* (2015). Calcium dobesilate for diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *Sciences China and Life Sciences*, 58, 101–107. <https://doi.org/10.1007/s11427-014-4792-1>.
185. Ulshafer RJ, Allen CB, Rubin ML. (1990). Distributions of Elements in the Human Retinal Pigment Epithelium. *Archives Ophthalmology*, 108(1), 113–117. doi:10.1001/archophth.1990.01070030119041
186. Li B, George EW, Rognon GT *et al.* (2020). Imaging lutein and zeaxanthin in the human retina with confocal resonance Raman Microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(22), 12352–12358. doi:10.1073/pnas.1922793117/-/DCSupplemental.
187. Hussain T, Tan B, Yin Y *et al.* (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>
188. Fragopoulou E, Antonopoulou S. (2020). The French paradox three decades later : Role of in fl ammation and thrombosis. *Clinica Chimica Acta*, 510, 160–9. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.07.013>
189. Law M, Stampfer M, Barker DJP *et al.* (1999). Why heart disease mortality is low in France: the time lag explanationCommentary: Alcohol and other dietary factors may be importantCommentary: Intrauterine nutrition may be important. Commentary: Heterogeneity of populations should be taken into account. *British Medical Journal*, 318, 1471. <https://doi.org/10.1136/bmj.318.7196.1471>
190. Pecyna P, Wargula J, Murias M *et al.* (2020). More than resveratrol: New insights into stilbene-based compounds. *Biomolecules*, 10(8), 1–40. <https://doi.org/10.3390/biom10081111>
191. Estrela JM, Ortega A, Mena S *et al.* (2013). Pterostilbene: Biomedical applications. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 50(3), 65–78. <https://doi.org/10.3109/10408363.2013.805182>
192. Shaito A, Posadino AM, Younes N *et al.* (2020). Potential Adverse Effects of Resveratrol: A Literature Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 2084. <https://doi.org/10.3390/ijms21062084>
193. Kapetanovic IM, Muzzio M, Huang Z *et al.* (2011). Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 68, 593–601. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1525-4>
194. Kim H, Seo KH, Yokoyama W. (2020). Chemistry of Pterostilbene and Its Metabolic Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(46), 12836–12841. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00070>

195. Zhang Y, Shang Z, Gao C *et al.* (2014). Nanoemulsion for solubilization, stabilization, and *in vitro* release of pterostilbene for oral delivery. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 15(4), 1000–1008. <https://doi.org/10.1208/s12249-014-0129-4>
196. Schmidlin L, Poutaraud A, Claudel P *et al.* (2008). A stress-inducible resveratrol O-methyltransferase involved in the biosynthesis of pterostilbene in grapevine. *Plant Physiology*, 148(3), 1630–1639. <https://doi.org/10.1104/pp.108.126003>
197. Bhakkiyalakshmi E, Sireesh D, Sakthivadivel M *et al.* (2016). Anti-hyperlipidemic and anti-peroxidative role of pterostilbene via Nrf2 signaling in experimental diabetes. *European Journal of Pharmacology*, 777, 9–16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.02.054>
198. Sireesh D, Ganesh MR, Dhamodharan U *et al.* (2017). Role of pterostilbene in attenuating immune mediated devastation of pancreatic beta cells via Nrf2 signaling cascade. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 44, 11–21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnuthbio.2017.02.015>
199. Sun H, Liu X, Long SR *et al.* (2019). Antidiabetic effects of pterostilbene through PI3K/Akt signal pathway in high fat diet and STZ-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 859, 172526. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172526>
200. Zhang YJ, Sun HL, Wang T *et al.* (2020). Pterostilbene Ameliorates Glycemic Control, Dyslipidemia and Liver Injury in Type 2 Diabetes Rats. *Biomedical and Environmental Sciences*, 33(5), 365–368. doi: 10.3967/bes2020.049
201. Zhao X, Shi A, Ma Q *et al.* (2021). Nanoparticles prepared from pterostilbene reduce blood glucose and improve diabetes complications. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00928-y>
202. Yu W, Fan L, Wang M *et al.* (2021). Pterostilbene Improves Insulin Resistance Caused by Advanced Glycation End Products (AGEs) in Hepatocytes and Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 65(15), 1–13. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202100321>
203. Shen H, Rong H. (2015). Pterostilbene impact on retinal endothelial cells under high glucose environment. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(10), 12589–12594. PMID: 26722449
204. Millán I. (2021). *Estudio sobre la capacidad protectora del polifenol natural pterostilbeno frente a la retinopatía diabética*. [Tesis doctoral, Universitat de València]. Roderic. <https://hdl.handle.net/10550/78549>
205. Torres-Cuevas I, Millán I, Asensi M *et al.* (2021). Analysis of lipid peroxidation by uplc-ms/ms and retinoprotective effects of the natural polyphenol pterostilbene. *Antioxidants*, 10(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/antiox10020168>

206. Sun H, Liu X, Long SR *et al.* (2019). Antidiabetic effects of pterostilbene through PI3K/Akt signal pathway in high fat diet and STZ-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 859, 172526. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172526>
207. Howard Fine I. (2002). A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta-carotene for age-related cataract and vision loss: AREDs report no. 9. *Evidence-Based Eye Care*, 3(2), 80–81. doi: 10.1001/archophth.119.10.1439
208. Pinazo-Durán MD, Gallego-Pinazo R, García-Medina JJ *et al.* (2014). Oxidative stress and its downstream signaling in aging eyes. *Clinical Interventions in Aging*, 9, 637–652. <https://doi.org/10.2147/CIA.S52662>
209. Safi SZ, Qvist R, Kumar S, Batumalai, K *et al.* (2014). Molecular mechanisms of diabetic retinopathy, general preventive strategies, and novel therapeutic targets. *BioMed research international*, 801269. <https://doi.org/10.1155/2014/801269>
210. Tian J, Jin L, Liu H *et al.* (2023). Stilbenes: a promising small molecule modulator for epigenetic regulation in human diseases. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1326682. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1326682>
211. Robles-Rivera RR, Castellanos-González JA, Olvera-Montaña C *et al.* (2020). Adjuvant Therapies in Diabetic Retinopathy as an Early Approach to Delay Its Progression: The Importance of Oxidative Stress and Inflammation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 3096470. <https://doi.org/10.1155/2020/3096470>
212. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM *et al.* (2021). Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Revista Española de Cardiología*, 74(9), 790–9. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2021.06.016>
213. Sanz-González SM, García-Medina JJ, Zanón-Moreno V *et al.* (2020). Clinical and molecular-genetic insights into the role of oxidative stress in diabetic retinopathy: Antioxidant strategies and future avenues. *Antioxidants*, 9(11), 1–19. <https://doi.org/10.3390/antiox9111101>
214. Lafuente M, Ortín L, Argente M, Guindo JL, *et al.* (2019). Three-year outcomes in a randomized single-blind controlled trial of intravitreal ranibizumab and oral supplementation with docosahexaenoic acid and antioxidants for diabetic macular edema. *Retina*, 39(6), 1083–1090. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002114>
215. Chous AP, Richer SP, Gerson JD *et al.* (2016). The Diabetes Visual Function Supplement Study (DiVFuSS). *The British journal of ophthalmology*, 100(2), 227–234. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-306534>

216. Moon SW, Shin YU, Cho H *et al.* for the Mogen Study Group (2019). Effect of grape seed proanthocyanidin extract on hard exudates in patients with non-proliferative diabetic retinopathy. *Medicine*, 98(21), e15515.
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015515>
217. Sepahi S, Mohajeri SA, Hosseini SM *et al.* (2018). Effects of Crocin on Diabetic Maculopathy: A Placebo-Controlled Randomized Clinical Trial. *American Journal of Ophthalmology*, 190, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2018.03.007>
218. Rodríguez-Carrizalez AD, Castellanos-González JA, Martínez-Romero EC *et al.* (2016). The effect of ubiquinone and combined antioxidant therapy on oxidative stress markers in non-proliferative diabetic retinopathy: A phase IIa, randomized, double-blind, and placebo-controlled study. *Redox Report*, 21(4), 155–63.
<https://doi.org/10.1179/1351000215Y.00000000040>
219. Roig-Revert MJ, Lleó-Pérez A, Zanón-Moreno V *et al.* (2015). Enhanced Oxidative Stress and Other Potential Biomarkers for Retinopathy in Type 2 Diabetics: Beneficial Effects of the Nutraceutical Supplements. *BioMed research international*, 2015, 408180.
<https://doi.org/10.1155/2015/408180>
220. Domanico D, Fragiotta S, Cutini A *et al.* (2015). Circulating levels of reactive oxygen species in patients with nonproliferative diabetic retinopathy and the influence of antioxidant supplementation: 6-Month follow-up. *Indian Journal of Ophthalmology*, 63(1), 9–14. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.151455>
221. Watanabe K, Shimada A, Miyaki K *et al.* (2014). Long-term effects of goshajinkigan in prevention of diabetic complications: A randomized open-labeled clinical trial. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2014, 128726.
<https://doi.org/10.1155/2014/128726>
222. Haritoglou C, Gerst J, Hammes HP *et al.* (2011). Alpha-lipoic acid for the prevention of diabetic macular edema. *Ophthalmologica. Journal internationale d'ophtalmologie. International journal of ophthalmology. Zeitschrift für Augenheilkunde*, 226(3), 127–137. <https://doi.org/10.1159/000329470>
223. Garcia-Medina JJ, Pinazo-Duran MD, Garcia-Medina M *et al.* (2011). A 5-year follow-up of antioxidant supplementation in type 2 diabetic retinopathy. *European journal of ophthalmology*, 21(5), 637–643. <https://doi.org/10.5301/EJO.2010.6212>
224. Forte R, Cennamo G, Finelli ML *et al.* (2011). Combination of flavonoids with centella asiatica and melilotus for diabetic cystoid macular edema without macular thickening. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 27(2), 109–113.
<https://doi.org/10.1089/jop.2010.0159>

225. Bursell SE, Clermont AC, Aiello L. (1999). High-dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes. *Diabetes care*, 22(8), 1245–1251. <https://doi.org/10.2337/diacare.22.8.1245>
226. Zhang PC, Wu CR, Wang ZL *et al.* (2017). Effect of lutein supplementation on visual function in nonproliferative diabetic retinopathy. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 26(3), 406–411. <https://doi.org/10.6133/apjcn.032016.13>
227. Riche DM, McEwen CL, Riche KD *et al.* (2013). Analysis of safety from a human clinical trial with pterostilbene. *Journal of toxicology*, 2013, 463595. <https://doi.org/10.1155/2013/463595>
228. Riche DM, Riche KD, Blackshear CT *et al.* (2014). Pterostilbene on metabolic parameters: A randomized, double-blind, and placebo-controlled trial. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2014, 459165. <https://doi.org/10.1155/2014/459165>
229. Muñoz-Negrete FJ, Ruiz D, Loasada D *et al.* (2011). Dispositivos comerciales. protocolos de escaneado y análisis de resultados. En F, Muñoz Negrete *et al.* (Eds) *Tomografía de Coherencia Óptica*. (61–109). Ponencia de la Sociedad Española de Oftalmología. <https://es.scribd.com/document/407384606/Cap-03-Dispositivos-Comerciales-Protocolos-de-Escaneado-y-Analisis-de-Resultados-Oct>
230. Khansari MM, O'Neill W, Lim J *et al.* (2017). Method for quantitative assessment of retinal vessel tortuosity in optical coherence tomography angiography applied to sickle cell retinopathy. *Biomedical optics express*, 8(8), 3796–3806. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.003796>
231. Courtney HL. (31/01/2017). *ADAMS A1c HA-8180V*. Department of health and human services-FDA. https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/K162822.pdf
232. Beckman Coulter Ireland Inc. (October 2015). *Reference Manual. AU5800 Chemistry Analyzer*. Beckman Coulter. <https://www.beckmancoulter.com/download/file/wsr-224551/B81389AA?type=pdf>
233. De La Torre A, Lee YY, Mazzoni A *et al.* (2015). Total syntheses and in vivo quantitation of novel neurofuran and dihomio-isofuran derived from docosahexaenoic acid and adrenic acid. *Chemistry*, 21(6), 2442–2446. <https://doi.org/10.1002/chem.201405497>
234. Cháfer-Pericás C, Rahkonen L, Sánchez-Illana A *et al.* (2015). Ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry determination of lipid peroxidation biomarkers in newborn serum samples. *Analytica chimica acta*, 886, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.06.028>

235. Food and Drug Administration. (July 2015). Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics. Guidance for Industry. FDA. <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Analytical-Procedures-and-Methods-Validation-for-Drugs-and-Biologics.pdf>
236. García-Blanco A, Peña-Bautista C, Oger C, Vigor C, Galano JM, Durand T, *et al.* Reliable determination of new lipid peroxidation compounds as potential early Alzheimer Disease biomarkers. *Talanta* [Internet]. 2018;184(September 2017):193–201. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.03.002>
237. Kuligowski J, Escobar J, Quintás G, Lliso I, Torres-Cuevas I, Nuñez A, *et al.* Analysis of lipid peroxidation biomarkers in extremely low gestational age neonate urines by UPLC-MS/MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 406(18), 4345–4356. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7824-6>
238. International Business Machines Corporation. *IBM SPSS - Estadísticas avanzadas 28*. https://www.ibm.com/docs/en/SSLVMB_28.0.0/pdf/es/IBM_SPSS_Advanced_Statistics.pdf
239. Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE *et al.* (1998). Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss: Early treatment diabetic retinopathy study report 18. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(2):233–52
240. Xuan J, Wang L, Fan L *et al.* (2022). Systematic review and meta-analysis of the related factors for diabetic retinopathy. *Annals of palliative medicine*, 11(7), 2368–2381. <https://doi.org/10.21037/apm-22-437>
241. Vaamonde JG, Álvarez-Món MA. (2020). Obesity and overweight. *Medicine*, 13(14), 767–776. <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.07.010>
242. Bahr TA, Bakri SJ. (2023). Update on the Management of Diabetic Retinopathy: Anti-VEGF Agents for the Prevention of Complications and Progression of Nonproliferative and Proliferative Retinopathy. *Life*, 13(5), 1098. <https://doi.org/10.3390/life13051098>
243. Kapetanovic IM, Muzzio M, Huang Z *et al.* (2011). Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 68(3), 593–601. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1525-4>
244. Cherchi S, Gigante A, Spanu M *et al.* (2020). Sex-Gender Differences in Diabetic Retinopathy. *Diabetology*, 1(1), 1-10. <https://doi.org/10.3390/diabetology1010001>
245. Ciarambino T, Crispino P, Leto G *et al.* (2022). Influence of Gender in Diabetes Mellitus and Its Complication. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms23168850>

246. Ozawa GY, Bearse MA, Adams AJ. (2015). Male-female differences in diabetic retinopathy? *Current eye research*, 40(2), 234–246.
<https://doi.org/10.3109/02713683.2014.958500>
247. Yirdaw BE, Debusho LK. (2023). Semiparametric modelling of diabetic retinopathy among people with type II diabetes mellitus. *BMC medical research methodology*, 23(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12874-022-01794-4>
248. Solé González L, Abreu González R, Alonso Plasencia M *et al.* (2013). Normal macular thickness and volume using spectral domain optical coherence tomography in a reference population. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, 88(9), 352–358.
<https://doi.org/10.1016/j.oftal.2013.01.005>
249. Alfonso-Muñoz EA, Burggraaf-Sánchez de las Matas R, Mataix Boronat J *et al.* (2021). Role of oral antioxidant supplementation in the current management of diabetic retinopathy. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 4020.
<https://doi.org/10.3390/ijms22084020>
250. Sasongko MB, Wong TY, Nguyen TT *et al.* (2011). Retinal vascular tortuosity in persons with diabetes and diabetic retinopathy. *Diabetologia*, 54(9), 2409–2416.
<https://doi.org/10.1007/s00125-011-2200-y>
251. Yao X, Alam MN, Le D *et al.* (2020). Quantitative optical coherence tomography angiography: A review. *Experimental biology and medicine*, 245(4), 301–312.
<https://doi.org/10.1177/1535370219899893>
252. Safi H, Safi S, Hafezi-moghadam A *et al.* (2018). ScienceDirect Early detection of diabetic retinopathy. *Survey of ophthalmology*, 63(5), 601–608.
<https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2018.04.003>
253. Pari L, Satheesh MA. (2006). Effect of pterostilbene on hepatic key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin- and nicotinamide-induced diabetic rats. *Life sciences*, 79(7), 641–645. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.02.036>
254. Poznyak A, Grechko AV, Poggio P *et al.* (2020). The Diabetes Mellitus-Atherosclerosis Connection: The Role of Lipid and Glucose Metabolism and Chronic Inflammation. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1835.
<https://doi.org/10.3390/ijms21051835>
255. Lee DI, Acosta C, Anderson CM *et al.* (2017). Peripheral and cerebral resistance arteries in the spontaneously hypertensive heart failure rat: Effects of stilbenoid polyphenols. *Molecules*, 22(3), 380. <https://doi.org/10.3390/molecules22030380>
256. Kosuru R, Kandula V, Rai U *et al.* (2018). Pterostilbene Decreases Cardiac Oxidative Stress and Inflammation via Activation of AMPK/Nrf2/HO-1 Pathway in Fructose-Fed Diabetic Rats. *Cardiovascular drugs and therapy*, 32(2), 147–163.
<https://doi.org/10.1007/s10557-018-6780-3>

257. Dellinger RW, Santos SR, Morris M *et al.* (2017). Repeat dose NRPT (nicotinamide riboside and pterostilbene) increases NAD⁺ levels in humans safely and sustainably: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *NPJ aging and mechanisms of disease*, 3, 17. <https://doi.org/10.1038/s41514-017-0016-9>
258. Grygiel-Górniak B. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: Nutritional and clinical implications - A review. *Nutrition journal*, 13, 17. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-17>
259. Rimando AM, Nagmani R, Feller DR *et al.* (2005). Pterostilbene, a new agonist for the peroxisome proliferator-activated receptor α -isoform, lowers plasma lipoproteins and cholesterol in hypercholesterolemic hamsters. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(9), 3403–3407. <https://doi.org/10.1021/jf0580364>
260. Özyalçın B, Sanlier N. (2020). Antiobesity pathways of pterostilbene and resveratrol : a comprehensive insight. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–9. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2238319>
261. Esteve Ràfols M. (2014). Adipose tissue: cell heterogeneity and functional diversity. *Endocrinología y nutrición: órgano de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición*, 61(2), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2013.03.011>
262. La Spina M, Galletta E, Azzolini M *et al.* (2019). Browning effects of a chronic pterostilbene supplementation in mice fed a high-fat diet. *International journal of molecular sciences*, 20(21), 5377. <https://doi.org/10.3390/ijms20215377>
263. Koh Y, Lin S, Hsu K *et al.* (2023). Pterostilbene Enhances Thermogenesis and Mitochondrial Biogenesis by Activating the SIRT1/PGC-1 α /SIRT3 Pathway to Prevent Western Diet-Induced Obesity. *Molecular nutrition & food research*, 67(18), e2300370. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202300370>
264. Rodríguez VM, Macarulla MT, Chávarri M *et al.* (2002). Role of uncoupling proteins in obesity (Papel de las proteínas desacoplantes en la obesidad). *ANALES Sis San Navarra*, 25(1), 65-77. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-17944399149&partnerID=40&md5=94e6cdcb0a3c68bc279bf1bfd381d9d0>
265. Kosuru R, Singh S. (2017). Pterostilbene ameliorates insulin sensitivity, glycemic control and oxidative stress in fructose-fed diabetic rats. *Life sciences*, 182, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.06.015>
266. Go YM, Jones DP. (2013). Thiol/disulfide redox states in signaling and sensing. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 48(2), 173–181. <https://doi.org/10.3109/10409238.2013.764840>
267. Lu SC. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et biophysica acta*, 1830(5), 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>

- 268. Dalsgaard NB, Vilsbøll T, Knop FK. (2018). Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on cardiovascular risk factors: A narrative review of head-to-head comparisons. *Diabetes, obesity & metabolism*, 20(3), 508–519. <https://doi.org/10.1111/dom.13128>
- 269. Onuma H, Inukai K, Kitahara A *et al.* (2014). The glucagon-like peptide 1 receptor agonist enhances intrinsic peroxisome proliferator-activated receptor γ activity in endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 451(2), 339–344. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.07.136>
- 270. Fang S, Livergood MC, Nakagawa P *et al.* (2021). Role of the Peroxisome Proliferator Activated Receptors in Hypertension. *Circulation research*, 128(7), 1021–1039. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.318062>

VIII. ANEXOS

ANEXO I. Dictamen favorable del Comité Ético de Investigación

GENERALITAT
VALENCIANAFundación para el Fomento de la
Investigación Sanitaria y Biomédica
de la Comunitat Valenciana

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN

Título: “Capacidad antioxidante y antiangiogénica del polifenol natural pterostilbeno: estudio piloto en pacientes con retinopatía diabética. PTER-RD”.

IP: M^a Carmen Desco Esteban

El Comité Ético de Investigación CEI Fundación Oftalmológica del Mediterráneo en su reunión del **31 de mayo de 2018**, tras la evaluación realizada de la propuesta del Investigador Principal al proyecto especificado, y teniendo en consideración las siguientes cuestiones:

1. Cuestiones relacionadas con la idoneidad del investigador y de sus colaboradores
2. Cuestiones relacionadas con la idoneidad de las instalaciones.
3. Cuestiones relacionadas con la memoria económica relativa al proyecto.
4. Cuestiones relacionadas con la Ley de Investigación biomédica (*LEY 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica*)
5. Consideraciones generales del proyecto.

Emite un INFORME FAVORABLE a las modificaciones presentadas para dicho proyecto:

“Ampliación de dos visitas, una visita a los tres meses y una última a los 6 meses tras la finalización de la administración del suplemento alimenticio o placebo”

Y CERTIFICA

Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

Que en el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.



GENERALITAT
VALENCIANA



Fundación para el Fomento de la
Investigación Sanitaria y Biomédica
de la Comunitat Valenciana

Los asistentes a la reunión del CEI de fecha 31 de mayo fueron:

- Dña. Gisela Carmona Ibáñez
- Dña. Cristina Peris Martínez
- D. Salvador Aliño Pellicer
- D. Sebastià Longàs López
- Dña. Elena Quintana Gallego
- D. Aitor Lanzagorta Aresti

No asistieron:

- Dña. Isabel Ferrandis Moscardó
- Dña. M^a Carmen Desco Esteban
- D. Francisco Bosch Morell
- Dña. Julia Cañada Blasco
- Dña. Esther Soler Climent
- D. Enrique Jesús Jareño Roglán

Lo que firmo en Valencia a 31 de mayo de 2018

Firmado:



GENERALITAT
VALENCIANA



Fundación para el Fomento de la
Investigación Sanitaria y Biomédica
de la Comunitat Valenciana

Dña. Cristina Peris Martínez
En sustitución de la Secretaria del CEI

ANEXO II. Hoja de información al paciente y Consentimiento Informado del proyecto

TÍTULO DEL PROYECTO: “Capacidad antioxidante y antiangiogénica del polifenol natural pterostilbeno: estudio preliminar en pacientes con retinopatía diabética (PTER-RD)”

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dra. M^a Carmen Desco

INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un proyecto de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación de FISABIO-Oftalmología Médica.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o 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.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

La retinopatía diabética es la causa más importante de ceguera en pacientes que cursan con diabetes mellitus. A pesar de los grandes avances tecnológicos y diagnósticos, el tratamiento de la enfermedad se realiza en estadios avanzados con técnicas lesivas. Por esta razón, cualquier avance que se realice en demorar el progreso de la enfermedad resulta de sumo interés.

Este estudio incluye pacientes que, como usted, padecen retinopatía diabética no proliferativa moderada con edema macular diabético incipiente. Se divide a los participantes de forma aleatoria en dos grupos: uno de los grupos se suplementan con 250 mg/día de pterostilbeno y el otro con placebo. Cada grupo poseerá 15 pacientes. Usted podrá pertenecer a uno u otro grupo al azar.

El pterostilbeno es un análogo dimetilado natural del resveratrol, es decir, un complemento nutricional antioxidante. Ambos polifenoles presentan numerosos efectos beneficiosos para la salud. Los polifenoles son los compuestos con capacidad antioxidante más abundantes en la dieta, debido a dichas propiedades antioxidantes, los polifenoles tienen efectos beneficiosos en la prevención y tratamiento de enfermedades relacionadas con el daño oxidativo. Los efectos beneficiosos que presentan los polifenoles han despertado el interés por extrapolarlos a la retina y al posible efecto protector y terapéutico de las patologías retinianas.

Versión 2, fecha 2 de mayo de 2018

El objetivo del estudio es estudiar el efecto de la suplementación nutricional con pterostilbeno (polifenol natural) en pacientes con retinopatía diabética no proliferativa leve-moderada en su evolución clínica. Evaluar cambios en la agudeza visual, grosor central macular, cambios morfológicos en la retinopatía diabética y cambios de los parámetros de control metabólico, HTA, dislipemia, Hemoglobina glicosilada (HbA1c). Realizando así en todas las visitas las pruebas necesarias para poder evaluar todos los objetivos del estudio. Se considera ampliar dos visitas más en el estudio para poder obtener más información sobre cómo ha evolucionado la retinopatía diabética durante 6 meses después de que haya tomado el suplemento nutricional o placebo.

VENTAJAS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

No se dispone de información de que el producto aporte una ventaja inmediata, pero esperamos que la información obtenida ayude a mejorar los conocimientos científicos sobre este tema y la ayuda de este suplemento pueda frenar el avance de la enfermedad evitando llegar a estadios más avanzados.

Por participar en este estudio no recibirá usted ningún tipo de compensación económica.

Si participa en el estudio, su médico no cambiará la atención ni el tratamiento que recibe.

No hay riesgo alguno ya que se trata de un suplemento nutricional natural.

CONFIDENCIALIDAD

Para este estudio, los datos de los participantes se tratarán disociadamente, es decir, en el momento de inclusión se les asignará un código anónimo por lo que no se utilizarán los datos personales. Su nombre no será desvelado fuera del centro de salud u hospital. El responsable del registro de datos es FISABIO (Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana).

La información obtenida durante el estudio se utilizará con el único propósito de realizar esta investigación, y no para otras finalidades. Esta información se tratará de forma confidencial, de acuerdo con las exigencias legales sobre el tratamiento de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de “Protección de Datos de Carácter Personal”). Usted tendrá derecho a solicitar y obtener gratuitamente la información de sus datos, rectificarlos o cancelarlos, tal y como se contempla en dicha ley. Sus documentos médicos podrían ser revisados por personas dependientes de las Autoridades Sanitarias, miembros de los comités éticos independientes y otras personas designadas por la ley para comprobar que el estudio se está llevado a cabo correctamente, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Estos resultados se publicarán en revistas médicas manteniendo en todo momento la confidencialidad de todos los pacientes participantes.

Versión 2, fecha 2 de mayo de 2018

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL ESTUDIO DEL **PACIENTE POR ESCRITO**

TÍTULO DEL PROYECTO: “Capacidad antioxidante y antiangiogénica del polifenol natural pterostilbeno: estudio preliminar en pacientes con retinopatía diabética (PTER-RD)”

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dra. M^a Carmen Desco

Yo (nombre y apellidos del paciente)

Yo (nombre y apellidos del representante legal/familiar del paciente)

- He leído la hoja de información y se me ha entregado una copia de la información y una copia de este Consentimiento Informado, fechado y firmado.
- Se me han explicado las características, el objetivo del estudio y la ampliación de las dos visitas, sin tomar suplemento nutricional o placebo durante los últimos 6 meses de seguimiento.
- Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas y todas fueron respondidas satisfactoriamente.
- Sé que se mantendrá la confidencialidad de mis datos.
- El consentimiento lo otorgo de manera voluntaria y sé que soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento, por cualquier razón y sin que tenga ningún efecto sobre mi tratamiento médico futuro.

Fecha:

Firma del paciente, representante legal o familiar:

Hago constar que he explicado las características y el objetivo del estudio a la persona cuyo nombre aparece escrito más arriba. Esta persona otorga su consentimiento por medio de su firma fechada en este documento.

Fecha:

Firma del Investigador:

Revocación del consentimiento

Revoco el consentimiento prestado en fecha ____ de ____ de ____.

En Valencia a ____ de ____ de ____.

Fdo: el médico

Fdo: el/la paciente, representante legal o familiar

Versión 2, fecha 2 de mayo de 2018