

Achados moleculares da Retinopatia Diabética. Em foco  
patogênese bioquímica.

Molecular findings of the Diabetic Retinopatia. In focus  
pathogeneses biochemist.

**Diego Andreazzi Duarte**<sup>1, 2 e 3</sup>

Rua Joaquim Chavasco, 1111 – Bairro São Judas Tadeu. Cidade Ouro

Fino - MG. Cep. 37570-000 - Brasil. Tel. (35) 34410114. E-mail:

[diegoandreazzi@yahoo.com.br](mailto:diegoandreazzi@yahoo.com.br)

**Danillo Barbosa**<sup>1, 2 e 3</sup>

Av. Cesário Alvim, 566 – Centro. Itajuba – MG. Cep. 37501-059 - Brasil

Telefone: (35) 362209 Fax: (35) 3421161.

Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado – CESEP<sup>1</sup>

União das Instituições de Serviço, Ensino e Pesquisa – UNISEP<sup>2</sup>

Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF<sup>3</sup>

Achados moleculares da Retinopatia Diabética. Em foco patogênese bioquímica.

## RESUMO

Reconhecer os fatores moleculares da Retinopatia Diabética, tendo como foco a patogênese bioquímica e fatores de risco. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo descritivo de revisão bibliográfica por meio de pesquisa as bases de dados de artigos da literatura científica. **RESULTADOS: CONCLUSÃO:** Dentre os dados reconhecidos, a retinopatia diabética é uma grande complicação decorrente da DM não controlada, sendo necessária a ênfase no aspecto preventivo de perdas visuais, através do diagnóstico precoce, onde a presença de qualquer grau de RD, é crucial procurar obter o melhor controle possível da pressão arterial, glicemia e do perfil lipídico, além do tratamento oftalmológico específico.

Palavras chave: Retinopatia diabética, patogênese bioquímica, fatores de risco.

Molecular findings of the Diabetic Retinopatia. In focus patogênese biochemist.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To recognize the molecular factors of the Diabetic Retinopatia, having as focus pathogenesises biochemist and factors of risk. **METHODS:** One is about a descriptive study of bibliographical revision by means of research the databases of articles of scientific literature. **CONCLUSION:** Amongst the recognized data, the diabetic retinopathy is a great decurrently complication of the not controlled DM, being necessary the emphasis in the preventive aspect of visual losses, through the precocious diagnosis, where the presence of any degree of RD, is crucial to look for to get optimum possible control of the arterial, glycemic pressure and of the lipídico profile, beyond the specific ophthalmologic treatment.

Words key: Diabetic Retinopatia, pathogenesises biochemist, factors of risk.

## INTRODUÇÃO

Atualmente estima-se que 7 a 8% da população mundial seja portadora de Diabetes Mellitus (DM) e, somente nas Américas, em 1996, o número de casos chegou a 30 milhões, o que representa mais de um quarto do total de pessoas acometidas por esse mal no mundo<sup>(1)</sup>.

A DM é uma doença metabólica complexa, resultante da interação variável entre fatores hereditários e ambientais. Caracterizam-se por secreção anormal de insulina, níveis elevados de glicose sangüínea e uma variedade de complicações em órgãos essenciais para a manutenção da vida, incluindo nefropatia, retinopatia, neuropatia e aterosclerose acelerada. A síndrome clínica completa envolve hiperglicemia, doença microvascular, incluindo retina e rim, e neuropatia<sup>(2)</sup>.

Segundo Hirschi KK et, al.(1997) e Polak M et, al. (1997)<sup>(3,4)</sup>, a Retinopatia Diabética (RD) é a principal causa de cegueira em americanos com idade entre 20 e 74 anos, sendo responsável por 12% de todos os casos de novos cegos em um ano. A prevalência da RD apresenta uma variação muito grande segundo a literatura, dependendo basicamente da população em estudo, variando de 18% a 40%. Calcula-se que 1 a 3% da população mundial esteja acometida pela doença. Aproximadamente 85% dos casos se manifestam após os 40 anos de idade, sendo apenas 5% abaixo dos 20 anos<sup>(1)</sup>.

No Brasil, as estatísticas são insuficientes, trabalhos publicados no VII Congresso de Prevenção da Cegueira mostraram uma prevalência de olhos cegos variando de 1,42 a 9,77% devido à RD<sup>(4)</sup>.

Há uma série de fatores relacionados ao desenvolvimento e progressão da RD, alguns mais fortemente associados com a gravidade da retinopatia, outros menos<sup>(3)</sup>.

Com o objetivo de reconhecer a patogênese bioquímica e os fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da retinopatia diabética, foi realizado um estudo de revisão bibliográfica.

### 3. MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo e analítico de revisão bibliográfica, realizado por meio de pesquisa de artigos indexados nas bases científicas: Bireme, LILACS, SciELO, PubMed e MEDLINE. O critério para a seleção foi baseado na relevância temática, onde foram utilizados os seguintes descritores: *retinopatia diabética*, *alterações microvasculares da retina*, *patogênese bioquímica*.

### 4. RESULTADOS

obtendo a seleção de 63 (sessenta e três) artigos para fundamentação teórica básica e 17 (dezessete) artigo para fundamentação teórica complementar, onde foi possível reconhecer a patogênese bioquímica e os fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da retinopatia diabética.

### 5. RETINOPATIA DIABÉTICA

#### ***Patogênese bioquímica da retinopatia diabética***

As possíveis etiologias das alterações anatômicas da retina são agrupadas em 3 categorias: bioquímicas, hemodinâmicas, endócrinas<sup>(6)</sup>. As categorias interagem entre si e apresentam sequência temporal, sendo a bioquímica a anormalidade mais consistentemente ligada ao início destas alterações<sup>(4,6,7)</sup>.

### ***Via dos polióis***

A via dos polióis é considerada como importante fator no aspecto patogênico, pois a captação de glicose pelo tecido retiniano é independente da insulina. Sendo que, os níveis de glicose neste tecido estão em equilíbrio com a glicemia plasmática, onde o excesso desta ativa a via dos polióis, que converte glicose em sorbitol, através da enzima aldose redutase, e sorbitol em frutose, pela ação da enzima sorbitol desidrogenase<sup>(4,6)</sup>. O acúmulo celular de sorbitol é negligenciável em muitos tecidos, no entanto, na retina, assim como nos tecidos renal e nervosos, o aumento na concentração intracelular de sorbitol leva a um efeitos osmóticos adversos, os quais a resultante será o aumento de influxo de líquido, alterações na permeabilidade da membrana e subsequente início da patologia celular. Além disso, o acúmulo de sorbitol intracelular está ligado à depleção de mioinositol e dos níveis de NADPH e NAD, o que, por sua vez, determina a redução do metabolismo do fosfoinositol, e leva à disfunção celular e a lesões anatômicas, gerada pela depleção de mioinositol, e diminuição da síntese de óxido nítrico, o que pode levar à vasoconstrição, redução do fluxo sangüíneo, isquemia e lesão tissular, geradas pela depleção dos níveis de NADPH e NAD<sup>(4,8)</sup>.

### ***Estresse oxidativo***

A depleção do NADPH relaciona-se também com o “estresse oxidativo”, ou seja, o NADPH é importante na redução do glutation, que e implica na eliminação do peróxido formado. Uma vez que ocorre a redução do NADPH, a resultante será no acúmulo de radicais livres nos indivíduos diabéticos, evidenciando, assim, o estresse oxidativo, cada vez mais implicado no desenvolvimento das complicações do DM<sup>(4,8)</sup>.

### ***Glicação não-enzimática***

A glicação não-enzimática é outra grande contribuinte para o mecanismo da patogênese das complicações do DM. A hiperglicemia leva à glicação de proteínas e lípidos, cuja oxidação produz glicotoxinas e produtos finais de glicosilação avançada (PFGA)<sup>(4,9)</sup>. Os PFGA são encontrados no plasma, parede dos vasos e tecidos, e exercem sua ação por receptores expressos no endotélio, resultando no aumento da permeabilidade vascular e trombogenicidade<sup>(9)</sup>. O aumento brusco dos níveis dos PFGA correlaciona-se com a duração do DM e a gravidade das complicações e também com estresse oxidativo.

### ***Diacilglicerol / proteína quinase C e a endotelina***

Inúmeros outros mecanismos que controlam o tônus vascular, como a via diacilglicerol/proteína quinase C e a endotelina, estão ativados no DM e podem contribuir para a perda da regulação vascular e hemodinâmica<sup>(10)</sup>.

### ***Adesão dos leucócitos***

Apesar da retinopatia não seja considerada doença inflamatória, a partir da década de 90, estudos têm demonstrado fortes evidências do envolvimento dos leucócitos na obstrução capilar e lesão precursora da neovascularização<sup>(11,12)</sup>. Alguns autores afirmam que os leucócitos têm participação ativa na oclusão da microvasculatura retiniana, assim como na hipoperfusão e no extravasamento vascular<sup>(11,12,13)</sup>.

Diversas condições podem favorecer a adesão dos leucócitos aos capilares como, por exemplo, a redução da perfusão que ocorre nos estágios iniciais do DM devido à vasoconstrição, à diminuição do lúmen do vaso por edema perivascular e também edema do endotélio. Todavia, estas situações levam à liberação de fatores quimiotáticos e à expressão de moléculas de adesão<sup>(11)</sup>.

São expressas pelo endotélio duas classes de receptores de leucócitos: as seletinas e as moléculas de adesão celular (MAC)<sup>(13)</sup>. As seletinas E são receptores de adesão expressas de maneira transitória no endotélio, permitindo a adesão de neutrófilos ao endotélio inflamado<sup>(13,14)</sup>. As seletinas P estão presentes nas plaquetas e células endoteliais e, aderentes aos fagócitos. E os receptores da superfamília das imunoglobulinas (Ig), representados pelas moléculas de adesão intercelular 1 (MAI 1) e pelas moléculas de adesão vascular 1 (MAV 1)<sup>(13)</sup>. Todas estas moléculas se expressam nos endotélios ativadas pelo TNF- $\alpha$  e pela interleucina-1. Essas moléculas interagem com as  $\beta$ -integrinas do tipo 2 (CD11/CD18) de leucócitos ativados, produzindo adesão e migração leucocitária<sup>(11,12,14)</sup>.

No estudo de Cavallo e Cols (2003)<sup>(15)</sup> foi evidenciado altos níveis circulantes de TNF- $\alpha$  no indivíduo portador de DM tipo 1 em relação ao portadores de DM tipo 2. Eles analisaram também vasos da coróide e da retina, e o resultado revelou vaso-oclusão em ambas as vasculaturas dos indivíduos diabéticos quando o TNF se apresentava elevado e, além disso, verificou-se ainda, a expressão aumentada das MAI-1 nesses pacientes<sup>(11)</sup>.

### ***Fator Vascular de Crescimento Endotelial (VEGF)***

Os fatores de crescimento são proteínas com propriedade de induzir mitose, mas podem também induzir quimiotaxia, síntese de matriz extracelular e diferenciação celular. O envolvimento dos fatores de crescimento (GF) na RD é baseado em observações clínicas e experimentais e é responsável pelo aumento na permeabilidade capilar e da angiogênese que ocorrem nesta patologia pelas alterações bioquímicas e hemodinâmicas que leva à hipoperfusão da retina, desenvolvimento de anóxia e extravasamento vascular<sup>(6,16)</sup>.

Os fatores de crescimento oculares pró-angiogênicos envolvidos são: 1) Fator de crescimento *insulina-like* 1 (IGF- 1), cujos receptores são encontrados nas células endoteliais vasculares da retina; 2) Fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), sob as isoformas A e B, detectadas nas células endoteliais da retina e no

epitélio pigmentado da retina; 3) Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF), através da regulação da expressão do VEGF nas células endoteliais<sup>(17)</sup> e; 4) Fator vascular de crescimento endotelial (VEGF), o mais potente agente permeabilizante e o que tem recebido maior atenção<sup>(17,18,19)</sup>.

A célula endotelial da retina possui inúmeros receptores para o VEGF, e a hipóxia aumenta o conteúdo de seu RNA mensageiro (RNAm) nos pericitos, células endoteliais e epitélio pigmentado da retina<sup>(18,19)</sup>. Em adição, o conteúdo de VEGF no fluido vítreo e/ou ocular se mostrou bem mais elevado em pacientes com Retinopatia Diabética Proliferativa (RDP) do que em indivíduos com retinopatia simples<sup>(17,20)</sup>. Em estudos experimentais, a expressão do gene para VEGF, através da hibridização, mostrou-se aumentada nas camadas ganglionar e nuclear interna de ratos diabéticos. O provável mecanismo seria a fosforilação de proteínas encontradas nas junções de oclusão, principalmente da ocludina e da tirosina da zona de oclusão-1, ambas de fundamental importância para o controle da permeabilidade vascular<sup>(18,19)</sup>. Desta forma, a resultante será a quebra da barreira hematoretiniana vascular, permitindo a passagem de pequenas e grandes moléculas para o espaço extravascular e extravasamento de albumina, facilitando a migração e adesão de leucócitos ao endotélio<sup>(16,18,20)</sup>.

Um outro fator regulador do crescimento endotelial, descobertos recentemente, porém, atua como o mais potente inibidor da angiogênese, é o fator derivado do epitélio pigmentar (PDF), que parece também atuar na RD, regulando a angiogênese, uma vez que se encontra diminuído em olhos com RDP ativa e em presença de hipóxia<sup>(21)</sup>.

Ao sumarizar as evidências que tornam o VEGF fundamental na retinopatia diabética, verifica-se que o VEGF é conhecido por induzir hiperpermeabilidade em microvasos, sendo que sua produção é aumentada pela isquemia, e a neovascularização. O VEGF se distribui através das camadas da retina, sendo mais pronunciado na camada de fibras nervosas<sup>(18,20)</sup>.

## **Neovascularização**

A angiogênese é definida como a formação de novos vasos sanguíneos a partir de estruturas vasculares preexistentes e está envolvida tanto em processos fisiológicos, como em condições patológicas<sup>(20,23)</sup>.

O processo fisiopatológico angiogênico envolve uma sequência de eventos influenciados por sinais biológicos, tais como hipóxia, e por fatores mecânicos, como alterações de fluxo, pressão e formato da célula sanguínea<sup>(22,24)</sup>. Toda neovascularização pós-natal que ocorre neste tecido é considerada patológica, já que, os vasos sanguíneos da retina humana normalmente não crescem após o nascimento<sup>(25,26)</sup>. Alguns estudos, utilizando modelo experimental de RD, têm demonstrado que os granulócitos podem induzir à obstrução vascular<sup>(11)</sup>. Estas informações somadas às de outro estudo, que mostra aumento nos níveis circulantes de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) nos indivíduos com DM<sup>(27)</sup>, sugerem fortemente a contribuição destes na obstrução capilar e injúria vascular. Porém, a obstrução vascular que leva à hipoperfusão tecidual e que caracteriza a RD possui mecanismos ainda não elucidados.

O PMNs aderem ao endotélio vascular mediado pela adesão de moléculas como as seletinas, a MAI-1 e a MAV-1<sup>(13,14)</sup>. A resultante, hipóxia tecidual, estimula por sua vez, a produção de GF, sendo o VEGF o mais importante na angiogênese retiniana<sup>(28,29)</sup>. Além dos GF, as citocinas inflamatórias, que atuam no sistema imune, apresentam atividade próangiogênica, além de adjuvantes do processo inflamatório, como as interleucinas, o TNF- $\alpha$  e os interferons  $\alpha$  e  $\gamma$ <sup>(15,30)</sup>.

Os vasos neoformados não cumprindo sua função de barreira, hemato retiniana, devido ao fato de perderem suas células murais e os pericitos. permitindo assim, o extravasamento de componentes séricos<sup>(3,7)</sup>. Além disso, estes capilares possuem endotélio muito fino, o que os torna frágeis e fáceis de romper, causando hemorragia dentro da cavidade vítrea<sup>(25,26)</sup>.

Dentre as causas das alterações anatômicas da retina, temos que patogênese bioquímica da RD é a anormalidade mais consistentemente ligada ao início das alterações microvasculares, onde quando interage com as alterações hemodinâmicas e endócrinas, levam a perda progressiva da visão por lesão das camadas da retina e recepção nervosa.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A RD constitui uma grande ameaça para a preservação da saúde do paciente com DM e um importante ônus social e econômico para o sistema de saúde. Atualmente, existem duas formas de intervenção terapêutica, o estrito controle glicêmico como definido pelo DCCT e a cirurgia a laser, que possibilitam obter uma redução significativa de sua incidência, garantindo uma melhor qualidade de vida e menor sofrimento ao paciente com DM, que, entretanto, exige um grande empenho, disciplina, desconforto e mesmo alguns efeitos colaterais conseqüentes às limitações dos recursos terapêuticos atualmente disponíveis. O grande desafio do clínico e do diabetologista é focado na obtenção do bom controle glicêmico e pressórico, que geralmente é obtido por uma avaliação clínica rigorosa e contínua e por uma ação terapêutica agressiva.

Existe um longo e complicado caminho marcado por uma sucessão de etapas no desenvolvimento da RD, e o ideal seria podermos acessar cada uma delas para saber onde estamos, encontrar o respectivo antagonista e inibir a proliferação vascular. No futuro, poderão surgir intervenções mais específicas, que possibilitarão a atuação precoce e segura nos processos fisiopatológicos causadores das lesões oculares do DM.

## 7. CONCLUSÃO

A RD continua sendo um grave problema de saúde pública e deve sempre ser entendida como uma doença de abordagem multidisciplinar. Os fatores de risco associados à RD devem ser levados em conta na abordagem de qualquer paciente portador de DM com o objetivo de prevenir o aparecimento e progressão da RD e consequente aumento da mortalidade e comprometimento na qualidade de vida.

Dentre os dados reconhecidos, a retinopatia diabética é uma grande complicação decorrente da diabetes mellitus não controlada, sendo necessária à ênfase no aspecto preventivo de perdas visuais, através do diagnóstico precoce.

## REFERÊNCIAS

1. Imesch PD, Bindley CD, Wallow IHL. Clinicopathologic correlation of intraretinal microvascular abnormalities. *Retina* 1997;17:321-9.
2. Ishibashi T, Inomata H. Ultrastructure of retinal vessels in diabetic patients. *Br J Ophthalmol* 1993;77:574-8.
3. Hirschi KK, D'Amore PA. Control of angiogenesis by the pericyte: molecular mechanisms and significance. *EXS* 1997;79:419-28.
4. Polak M, Newfield RS, Fioretto P, Czernichow P, Marchase R. Pathophysiology of diabetes complications. *Diabetologia* 1997;40:B65-7.
5. Tsilibary EC. Microvascular basement membranes in diabetes mellitus. *J Pathol* 2003;(4):537-46.
6. Fong DS, Aiello LP, Ferris FL, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2004;27:2540-53.
7. Alder VA, Su EN, Yu DY, Cringle SJ, Yu PK. Diabetic retinopathy: early functional changes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1997;24:785-8.
8. Salceda R, Vilchis C, Coffe V, Hernandez-Munoz R. Changes in the redox state in the retina and brain during the onset of diabetes in rats. *Neurochem Res* 1998;23:893-7.

9. Lu M, Kuroki M, Amano S, Tolentino M, Keough K, Kim I, et al. Advanced glycation and products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest* 1998;101:1219-24.
10. Bursell SE, Takagi C, Clermont AC, Takagi H, Mori F, Ishii H, et al. Specific retinal diacylglycerol and protein kinase C beta isoform modulation mimics abnormal retinal hemodynamics in diabetic rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2711-20.
11. Schröder S, Palinski W, Schmid-Schönbein S. Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 1991;139:81-98.
12. Barouch FC, Miyamoto K, Allport Jr, Fujita K, Bursell SE, Aiello LP, et al. Integrin-mediated neutrophil adhesion and retinal leukostasis in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1153-8.
13. Mc Load DS, Lefer DJ, Merges C, Luttj GA. Enhanced expression of intracellular adhesion molecule-1 and Pselectin in the diabetic human retina and choroids. *Am J Pathol* 1995;147:642-53.
14. Smith CW. Possible steps involved in the transition to stationary adhesion of rolling neutrophils: a brief review. *Microcirculation* 2000;7(6 Pt 1):385-94.
15. Cavallo MG, Pozzilli P, Bird C, Wadha M, Meager A, Visalli N, et al. Cytokines in sera from insulin-dependent diabetic patients at diagnosis. *Clin Exp Immunol* 2003;68:256-9.
16. Paques M, Massin P, Gaudric A. Growth factors and diabetic retinopathy. *Diabetes Metab* 1997;23:152-30.
17. Aiello LP, Avery RL, Arrig PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994;331:1480-7.
18. Murata T, Nakagawa K, Khalil A, Ishibashi I, Inomata H, Sueishi K. The relation between expression of vascular endothelial growth factors and breakdown of the blood-retinal barrier in diabetic rat retinas. *Lab Invest* 1996;74:819-25.
19. Antonetti DA, Barber AJ, Hollinger LA, Wolpert EB, Gardner TW. Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occluding and zonula occluden 1. *J Biol Chem* 1999;274:23463-7.
20. Tanaka Y, Katoh S, Hori S, Miura M, Yamashita H. Vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *Lancet* 1997;349:1520.

21. Bohem BO, Lang G, Volpert O, Jehle PM, Kurkhaus A, Rosinger S, et al. Low content of the natural ocular antiangiogenic agent pigment epithelium derived factor (PDEF) in aqueous humor predicts progression of diabetic retinopathy. *Diabetologia* 2003;46:294-400.
22. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997;386:671-3.
38. Battegay EJ. Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases, and therapeutic prospects. *J Mol Med* 1995;72:333-46.
23. Battegay EJ. Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases, and therapeutic prospects. *J Mol Med* 1995;72:333-46.
24. Folkman J, Greenspan HP. Influence of geometry on control of cell growth. *Biochem Biophys* 1975;417:211-31.
25. VIth Mediterranean Ophthalmological Society Congress. VIth Michaelson Symposium on Ocular Circulation and Neovascularization. Jerusalem, Israel. May 21-26, 2000.
26. Benezra D, Ryan SI, Glaser B, Murfhy RP. Ocular circulation and neovascularization. Amsterdam:Martinus Nijhoff; 1987.
27. Marhoffer W, Stein M, Maeser E, Federlin K. Impairment of polymorphonuclear leukocyte function and metabolic control of diabetics. *Diabetes Care* 1992;15:256-60.
28. Clermont AC, Aiello LP, Mori F, Aiello LM, Bursese SE. Vascular endothelial growth factor and severity of nonproliferative diabetic retinopathy mediate retinal hemodynamics *in vivo*: a potential role for vascular endothelial growth factor in the progression of nonproliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1997;124:433-46.
29. Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, Takagi H, Chen H, Riddle L, et al. Suppression of retinal neovascularization *in vivo* by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10457-61.
30. Andrade SP, Machado RD, Teixeira AS, Belo AV, Tarso AM, Beraldo WT. Sponge-induced angiogenesis in mice and the pharmacological reactivity of the neovasculature quantitated by a fluorimetric method. *Microvasc Res* 1997;54:253-61.