

Retinopatía diabética y vasoinhibinas

Daniel Moreno-Páramo,* José Carlos Rivera,** Jorge Aranda,** Nélida Salazar,*
Edith Arnold,** Hugo Quiroz-Mercado,* Gonzalo Martínez-de la Escalera,** Carmen Clapp**

* Asociación para Evitar la Ceguera (APEC), Hospital "Luis Sánchez Bulnes".

** Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus UNAM-Juriquilla, Querétaro.

Paciente masculino de 63 años de edad con disminución progresiva de la agudeza visual en ambos ojos. Sus antecedentes heredofamiliares son positivos para diabetes mellitus, y presenta historia personal de diabetes mellitus tipo 2 tratada desde hace 10 años con hipoglucemiantes (5 mg glibenclamida dos veces al día). La exploración funcional reveló una agudeza visual de 3/10 con capacidad visual de 7/10 en el ojo derecho y de 6/10 con capacidad visual de 7/10 en el ojo izquierdo. La presión intraocular en ambos ojos fue normal (18 mm de Hg). La biomicroscopía mostró córneas transparentes, cámaras anteriores formadas sin neovascularización e iris sin rubeosis. En el cristalino derecho se observó una catarata subcapsular posterior y en el izquierdo una opacidad subcapsular posterior incipiente. Se detectaron microaneurismas, exudados y microhemorragias en dos cuadrantes del ojo derecho y en tres del izquierdo, que fueron confirmadas por fluoroangiografía. El diagnóstico fue cataratas mixtas en ambos ojos y retinopatía diabética no proliferativa leve en el ojo derecho y moderada en el izquierdo.

Un mes después, las cataratas de ambos ojos se trataron con facoemulsificación e implantación de lentes intraoculares y el paciente fue sujeto a evaluaciones periódicas. Al cabo de un año, la agudeza visual disminuyó en ambos ojos (1/10 y 3/10 en el ojo derecho y 4/10 y 5/10 en el izquierdo), y se observó tanto un avance al grado severo de la retinopatía diabética no proliferativa como la presencia de edema macular clínicamente significativo (Figura 1 A y B). El paciente recibió fotocoagulación con láser de argón en la retina de ambos ojos. En el ojo derecho, se aplicaron 678 disparos en 360° a una intensidad de 260 miliwatts, con intervalos entre cada disparo

de 0.2 milisegundos y en regiones de 300 micras de diámetro. En el ojo izquierdo, se aplicaron 707 disparos en 360° a 340 miliwatts, bajo intervalos y diámetros similares.

Seis meses después, se controló la reducción de la agudeza visual del ojo derecho (1/10 y 3/10) pero avanzó la del ojo izquierdo (3/10 y 4/10). Asimismo, aumentaron tanto la retinopatía diabética como el edema macular de ambos ojos (Figura 1 C y D). El paciente volvió a recibir en los dos ojos el tratamiento con láser bajo parámetros similares a los descritos. Tres meses después de esta segunda aplicación del láser, la agudeza visual continuó reduciéndose en ambos ojos (1/10 y 1.5/10 en el ojo derecho, mientras que en el ojo izquierdo fue de 2/10 sin mejora con el estenopeico) y la retinopatía diabética y el edema macular volvieron a aumentar en ambos ojos (Figura 1 E y F).

Si bien la fotocoagulación con láser suele ser efectiva en cerca del 50% de los casos con retinopatía no proliferativa severa,¹ este es un ejemplo donde este tratamiento no controló su progresión, e ilustra la necesidad y pertinencia de desarrollar alternativas más eficaces y menos dañinas para el tratamiento y control de la retinopatía diabética.

Retinopatía diabética

La diabetes afecta aproximadamente al 10% de la población mundial y la retinopatía diabética es la principal causa de ceguera en personas entre los 20 y los 65 años de edad. Se considera que después de 20 años con diabetes, el 98% de los pacientes con diabetes tipo 1 y más del 60% de los pacientes con diabetes tipo 2 presenta algún tipo de retinopa-

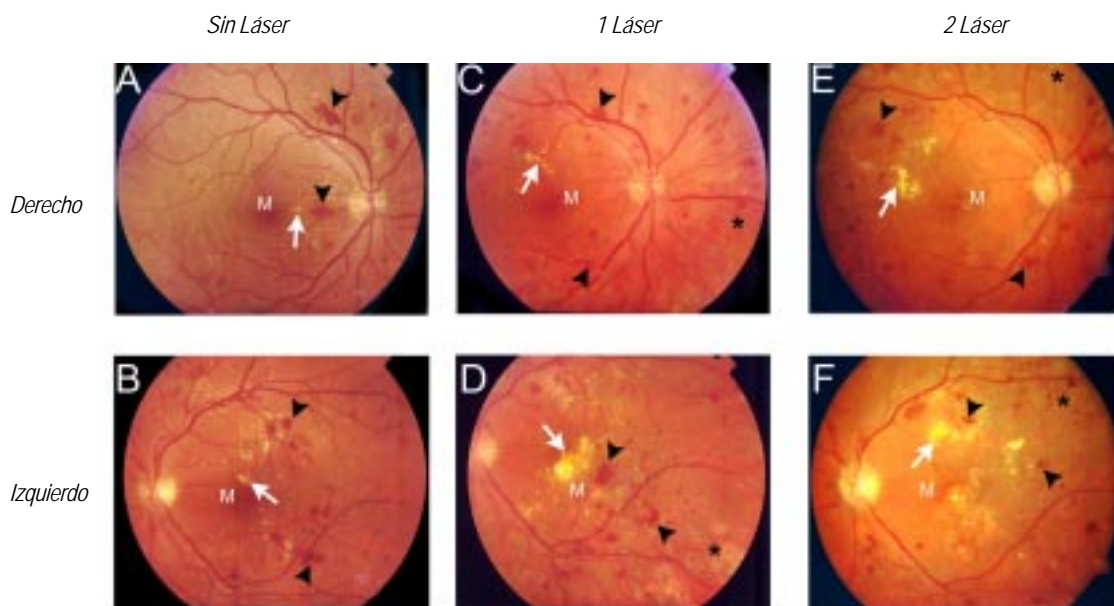


Figura 1. Retinas de un paciente de 63 años de edad bajo 10 años de tratamiento contra la diabetes mellitus. Fotografías tomadas antes de la fotocoagulación con láser de argón (Sin Láser) que muestran en el ojo derecho (A) y en el izquierdo (B) la presencia de retinopatía no proliferativa de grado severo, revelada por la presencia de microhemorragias (puntas de flecha) y de exudados sólidos (flechas) en la mácula, que son característicos del edema macular. Fotografías tomadas seis meses después del primer tratamiento con láser (1 Láser) que muestran un aumento en las microhemorragias y en el edema macular de ambos ojos (C, D). Fotografías tomadas tres meses después de la segunda aplicación del láser (2 Láser), que muestran un mayor incremento en las microhemorragias y en el edema macular de ambos ojos (E, F), particularmente en el ojo izquierdo. * Indican quemaduras focales debidas a la fotocoagulación con láser.

tía.² En los pacientes diabéticos, la hiperglucemia crónica produce un aumento en la pérdida de células asociadas al capilar (pericitos), estimula la permeabilidad vascular, y la oclusión capilar debido al engrosamiento de la matriz extracelular y al depósito de proteínas de origen plasmático.³ En la retina, estas alteraciones ocasionan una reducción severa en la perfusión sanguínea (isquemia) y la consecuente hipoxia. La hipoxia promueve la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) a través de estimular la producción de factores angiogénicos y de inhibir la de los antiangiogénicos. Los nuevos capilares se extienden en la retina e invaden y sangran en el humor vítreo, mermando la visión. Además, los neovasos forman una membrana fibrosa que puede ejercer tracción sobre la retina ocasionando su desprendimiento, y por ende, la ceguera.²

Las estrategias para prevenir y controlar la retinopatía diabética se basan en el control de los niveles circulantes de la glucosa, la exploración anual oftalmológica completa (con dilatación pupilar y fluorangiografía) y la fotocoagulación con láser en zonas localizadas de la retina. Dado que el tratamiento con láser conlleva el riesgo de reducir por sí mismo la agudeza y el campo visual, sería deseable contar con herramientas adicionales capaces de pre-

nosticar la progresión de la retinopatía diabética y con ello auxiliar en la decisión de aplicar o no el tratamiento con láser en la retina. En vista de ello, se presentan como alternativas deseables para el tratamiento de la retinopatía diabética y de otras retinopatías vasoproliferativas, aquellas estrategias capaces de bloquear la formación de los neovasos o de promover su involución.

Angiogénesis ocular

Se denomina como angiogénesis a todo el proceso por el cual se forman vasos sanguíneos nuevos a partir de vasos preexistentes. Este proceso se encuentra altamente restringido en la mayoría de los tejidos del adulto debido a la acción de factores antiangiogénicos endógenos capaces de inhibir la proliferación, la migración y la adhesión, y/o de estimular la apoptosis, de las células del endotelio vascular.⁴ La alteración de este ambiente inhibitorio conlleva a la sobreproducción de vasos sanguíneos característica de los padecimientos "angiogénico-dependientes" que incluyen al cáncer, la artritis reumatoide y la retinopatía diabética.⁵

En el adulto sano, el ojo contiene varios tejidos avasculares, incluyendo la córnea, el cristalino, el

humor vítreo y la mitad externa de la retina.⁶ Cuando estas estructuras se vascularizan, suele disminuir la agudeza visual, generarse opacidad y producirse retinopatías vasoproliferativas, que incluyen la retinopatía del prematuro, la retinopatía diabética y la degeneración macular asociada con la edad. Estos tres últimos padecimientos son las principales causas de ceguera en el mundo.⁷ En las últimas décadas se han descrito diversos factores estimuladores capaces de promover la angiogénesis ocular, entre los que se encuentran el factor básico estimulante de fibroblastos (bFGF), el factor de crecimiento tipo insulina (IGF-1), y el más importante de todos ellos, el factor estimulante del crecimiento vascular (VEGF).⁸⁻¹⁰ Sin embargo, dado que el balance de la regulación de la angiogénesis ocular en condiciones normales se inclina hacia el extremo inhibitorio, es muy probable que la disfunción de las influencias antiangiogénicas sea la causa de las retinopatías vasoproliferativas. Entre los factores antiangiogénicos oculares conocidos se encuentran el factor derivado del epitelio pigmentario, el factor de crecimiento transformante- β_1 , la angiotatina, la endostatina, la trombospondina y las vasoinhibinas.⁷⁻¹¹

Vasoinhibinas

Las vasoinhibinas representan a una familia de péptidos derivados de la proteólisis de la hormona prolactina que poseen acciones antiangiogénicas y vasoconstrictoras.¹¹ Están presentes en la circulación,¹² en la hipófisis anterior y en diferentes tejidos extrahipofisarios, incluyendo el endotelio de diversos lechos vasculares,¹³ los fibroblastos,¹⁴ el cartílago,¹⁵ el tejido nervioso¹⁶ y la retina,¹⁷ entre otros. La presencia de vasoinhibinas endógenas indica la acción fisiológica de proteasas capaces de generarlas. Se sabe que proteasas del tipo de la catepsina-D¹⁸ y las metaloproteasas de matriz (MMP)¹⁵ procesan a la PRL a vasoinhibinas; sin embargo se conoce muy poco acerca de dónde ocurre este efecto y de su posible regulación. La actividad de la catepsina D depende de pH ácido (pH 3-5), por lo que se ha propuesto que su acción generadora de vasoinhibinas podría ocurrir en el microambiente ácido de los gránulos de secreción hipofisarios o de los tumores y tejidos inflamados.¹⁹ Por otro lado, el descubrimiento de que proteasas neutras como las MMP-8, 13, 3, 1, 2, y 9 generan vasoinhibinas, indica que dicho procesamiento puede ocurrir en el espacio extracelular bajo condiciones fisiológicas.¹⁵ Si bien no se tienen agentes farmacológicos capaces de inhibir selectivamente a los distintos tipos de MMP, o bien a los dis-

tintos tipos de catepsinas, el desarrollo de estrategias capaces de alterar la actividad de las proteasas de PRL es de gran interés para evaluar las acciones de las vasoinhibinas sobre la funcionalidad vascular.

Las vasoinhibinas actúan directamente sobre el endotelio vascular, reduciendo su proliferación²⁰ y la producción de proteasas,²¹ y estimulando su apoptosis.²² Además, las vasoinhibinas inhiben el efecto vasoproliferativo y vasodilatador del VEGF y de otras sustancias vasoactivas,²³ y lo hacen a través de bloquear su acción sobre la activación de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) y la subsecuente producción de NO endotelial.²³ De hecho, se sabe que las vasoinhibinas pueden inhibir la activación de la eNOS inducida por VEGF, acetilcolina y bradicidina, a través de interferir con la movilización intracelular de calcio²³ y la fosforilación de la eNOS en el residuo serina¹¹⁷⁹ vía la activación de la proteína fosfatasa 2A (PP2A) que es responsable de remover dicho fosfato.²⁴ La fosforilación de la eNOS en la serina¹¹⁷⁹ le confiere una mayor afinidad por la interacción con el complejo calcio-calmodulina que es esencial para la activación de la enzima.²⁵ Además, como resultado de la inhibición de la eNOS, las vasoinhibinas bloquean la dilatación inducida por acetilcolina y bradicidina de segmentos aislados de aorta y de vasos coronarios de corazones aislados.²³ Otros mecanismos de señalización que median los efectos antiangiogénicos de las vasoinhibinas incluyen la inhibición de la vía de cinasas activadas por mitógenos (MAPK)²⁶ y la activación de las caspasas 8, 9 y 3 a través de la vía del factor nuclear cappa B (NF κ B).²⁷ El hecho de que la prolactina no tiene efecto inhibitorio sobre la angiogénesis sugiere que las acciones de las vasoinhibinas son mediadas a través de un receptor distinto al receptor de la prolactina. Si bien se han identificado sitios de unión específicos, saturables y de alta afinidad para las vasoinhibinas en células endoteliales,²⁸ estos posibles receptores no se han caracterizado químicamente.

Vasoinhibinas y angiogénesis ocular

La prolactina está presente en el humor acuoso humano,²⁹ y tanto esta como las vasoinhibinas se pueden detectar en la retina de la rata.¹⁷ La prolactina ocular puede provenir de la internalización de la hormona circulante, dado que prolactina radioactiva exógena, inyectada en el corazón, se ha detectado en los cuerpos ciliares, la coroides y la retina.³⁰ Sin embargo, la prolactina y las vasoinhibinas también se producen intraocularmente. El ARN mensajero de la

prolactina se expresa en células endoteliales aisladas de la microcirculación de la retina y estas células secretan a la hormona al medio de cultivo.³¹ Además, en vasos sanguíneos de las membranas fibrovasculares que se forman en el ojo de pacientes con retinopatía del prematuro, también se expresa el ARN mensajero de la prolactina.³² De forma complementaria, en los fluidos oculares se ha detectado la actividad de proteasas capaces de generar a las vasoinhibinas a partir de la prolactina.³²

En el ojo, las vasoinhibinas no sólo deprimen la angiogénesis previamente estimulada por factores angiogénicos, sino también participan en el mantenimiento de un tono inhibitorio de la angiogénesis ocular bajo condiciones normales. La transferencia génica de vasoinhibinas mediante un vector adenoviral reduce la neovascularización experimental inducida por hipoxia,³³ y la administración local de vasoinhibinas reduce la angiogénesis de la córnea en respuesta al bFGF.³⁴ La acción antiangiogénica tónica de las vasoinhibinas endógenas se puso de manifiesto en experimentos donde se indujo angiogénesis en la córnea³⁴ y en la retina,¹⁷ mediante implantes conteniendo anticuerpos capaces de inmunosequestrar a las vasoinhibinas. Además, la transfección intraocular de ARNs de interferencia capaces de bloquear la expresión local de prolactina resultó en un aumento en la angiogénesis y en la vasodilatación retinal.¹⁷

Vasoinhibinas y retinopatía diabética

Los efectos antiangiogénicos de las vasoinhibinas podrían ser relevantes en la fisiopatología de las retinopatías vasoproliferativas. Las vasoinhibinas se generan en el ojo de pacientes con retinopatía del prematuro,³² un trastorno neovascular de la retina análogo a la retinopatía diabética, donde las condiciones de hiperoxia de la incubadora a las que son sometidos los recién nacidos prematuros conlleva a la oclusión de vasos sanguíneos retinianos y con ello a la isquemia e hipoxia local.³² En pacientes con el grado más avanzado de la retinopatía del prematuro, sometidos a cirugía intraocular varios meses después de finalizado el proceso angiogénico, se detectó a las vasoinhibinas en el líquido subretiniano y en las membranas fibrovasculares intraoculares.³² Estas vasoinhibinas pueden derivar de la prolactina sintetizada intraocularmente, ya que los vasos sanguíneos de las membranas fibrovasculares expresan el ARN mensajero de la prolactina.³² Al respecto, se propuso que las vasoinhibinas podrían participar en la regresión vascular intraocular que tiene lugar en los pacientes con retinopatía del prematuro. El 80%

de los bebés prematuros que pesan menos de 1.25 Kg al nacimiento desarrollan neovasos en la retina, pero solamente el 6% de estos pacientes llegan a presentar grados avanzados de la enfermedad.³⁵ Esto es así, debido a que los neovasos oculares involucionan por apoptosis en la mayoría de los pacientes.³⁶ Dado que las vasoinhibinas estimulan la apoptosis de las células endoteliales,²² podrían estar implicadas en la regresión de los neovasos y con ello en evitar la progresión de la retinopatía del prematuro. En apoyo a esta posibilidad, se ha visto que la inmunoneutralización de PRLs oculares bloquea la regresión por apoptosis del sistema hialoideo, un sistema vascular fetal que involuciona por apoptosis en la rata recién nacida.³²

Por otra parte, la prolactina sistémica también puede funcionar como fuente de vasoinhibinas intraoculares y en este sentido los niveles elevados de PRL en la circulación podrían tener un valor pronóstico favorable en las retinopatías vasoproliferativas. La posible relación entre las hormonas hipofisiarias y la retinopatía diabética se exploró hace tiempo a consecuencia de la observación de que la hipofisectomía reviste efectos benéficos sobre la regresión vascular ocular.³⁷ En la actualidad, estos efectos benéficos se atribuyen a la supresión de la hormona de crecimiento que es diabetogénica³⁸ y puede estimular la neovascularización a través de inducir la expresión del factor angiogénico IGF-1.³⁹ Sin embargo, dado que la prolactina disminuye en los pacientes hipofisectomizados, también se ha investigado la posible asociación entre los niveles circulantes de prolactina y la retinopatía diabética. Al respecto, en los estudios iniciales se reportaron niveles circulantes de PRL más altos en pacientes diabéticos sin retinopatía severa que en aquellos con retinopatía severa.^{40,41} Sin embargo, estudios subsecuentes no confirmaron estos hallazgos^{42,43} y el tema dejó de explorarse, a pesar de que los estudios negativos no fueron concluyentes, dado que no especificaban el tipo de retinopatía (proliferativa *versus* no proliferativa) y el grado de la misma. Recientemente, el análisis de un grupo de 133 pacientes con retinopatía diabética, categorizados de acuerdo a la severidad del padecimiento, reveló que la concentración sérica de prolactina es significativamente mayor en los diabéticos sin retinopatía o con retinopatía no proliferativa que en aquellos con retinopatía diabética proliferativa, el grado más severo de la enfermedad (Rivera, *et al.* resultados no publicados). Cabe también mencionar que al final del embarazo y en el período postparto, cuando los niveles circulantes de prolactina se encuentran elevados, ocurre una regre-

sión de la retinopatía diabética,^{44,45} y esta correlación ha llevado a plantear el papel protector de la PRL en este padecimiento.⁴⁶ A este respecto, es interesante señalar la observación de que la leche materna protege contra la retinopatía del prematuro⁴⁶ y que este efecto pudiera deberse, entre otros factores, a la presencia de prolactina en la leche, desde donde puede incorporarse a la circulación de las crías.^{47,48} Finalmente, se ha reportado que la prolactina puede tener efectos benéficos sobre la incidencia y progresión de la diabetes tipo-1, a través de acciones conjuntas sobre el sistema neuroendocrino, el sistema inmune y posiblemente sobre la regulación del metabolismo de la glucosa.^{49,50}

CONCLUSIONES

Dado que el tratamiento con láser no es siempre efectivo para controlar la retinopatía diabética, es deseable el desarrollo de alternativas terapéuticas como el uso de agentes capaces de bloquear la formación de los neovasos o de promover su involución. En este sentido, las vasoinhibinas se presentan como una de estas alternativas, ya que son inhibidores endógenos de la angiogénesis ocular. Inhiben tónicamente la angiogénesis retinal en condiciones normales, además de que el bloqueo de su efecto promueve una angiogénesis patológica (Figura 2). Al respecto, la valoración del potencial terapéutico de

las vasoinhibinas en el control de la retinopatía diabética requiere de estudios encaminados a mejorar la eficiencia de producción y administración intraocular de estos péptidos, así como la caracterización de sus acciones en diversos modelos experimentales de neovascularización retiniana. En todo caso, la obtención de mayor información sobre la generación intraocular de las vasoinhibinas y sobre sus mecanismos de acción, permitirá reforzar la noción sobre la participación de estos péptidos en el control fisiológico y patológico de la angiogénesis ocular.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo técnico de Fernando López-Barrera y de María Antonieta Burgoa y la subvención del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SALUD-2004-CO2-16).

PREGUNTAS Y RESPUESTAS

1. Dr. Fernando Larrea (Departamento de Biología de la Reproducción, INCMNSZ). ¿Hay niveles incrementados de prolactina glicosilada en retinopatía no proliferativa?

Dra. Carmen Clapp. Hasta donde estoy informada no se han explorado los niveles de la PRL glicosilada en la diabetes. Pero es una pregunta muy pertinente, ya que se sabe que la PRL actúa sobre sus receptores adenohipofisarios inhibiendo su propia secreción y que la PRL glicosilada podría funcionar como antagonista del receptor de la PRL. De esta manera, una mayor proporción de la forma glicosilada de la PRL podría ayudar a explicar los altos niveles de la PRL en la circulación de pacientes diabéticos reportados en este estudio.

2. Dr. Alfredo López-Ponce (Residente de 3er año de Endocrinología, Diplomado de Obesidad, INCMNSZ). ¿Se controlaron otras variables que se sabe que elevan los niveles de prolactina, como la edad, presencia de insuficiencia renal crónica, hepatopatía, proteinuria o la ingesta de medicamentos que elevan prolactina (procinéticos, etc.)?

Dra. Clapp. El estudio se realizó en hombres entre los 40 y 70 años de edad de los cuales se descartaron aquellos con niveles de creatinina superiores a 1.3 mg/dL y también los tratados con drogas capaces de alterar los niveles circulantes de la PRL. Pero además, entre los grupos de pacientes con y sin trastornos sistémicos aparentes asociados a la diabetes, los niveles de la PRL circulante observados fueron muy similares.

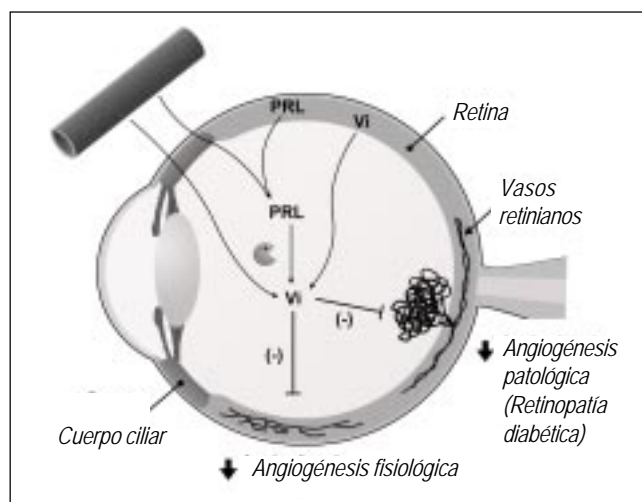


Figura 2. Vasoinhibinas (Vi) provenientes de la circulación o sintetizadas intraocularmente a partir de la proteólisis (⌘) de la prolactina (PRL) sistémica o de la prolactina retinal inhiben la angiogénesis ocular bajo condiciones fisiológicas. La alteración de la producción de vasoinhibinas podría conducir a la neovascularización patológica de la retina característica de la retinopatía diabética.

3. Dr. Alfredo López-Ponce. ¿Se ha observado si en pacientes que tienen retinopatía no proliferativa y que reciben agonistas dopaminérgicos, su retinopatía empeora o sufre algún cambio?
Dra. Clapp. No tengo información de que ese estudio se haya realizado. Sin embargo, de acuerdo con las observaciones de nuestro trabajo, podríamos suponer que la disminución en los niveles circulantes de la PRL a consecuencia del tratamiento con un antagonista dopaminérgico como la bromocriptina, podría acelerar la progresión de la retinopatía diabética.

4. Dr. Alfredo López-Ponce. ¿No sería más importante la captación ocular local de prolactina que sus valores sistémicos para inhibir la angiogénesis?
Dra. Clapp. Efectivamente, la PRL también se produce y procesa hacia vasoinhibinas en el ojo y las vasoinhibinas locales participan en la inhibición de la angiogénesis.

5. Dr. Gerardo Gamba (Unidad de Fisiología Molecular, INCMNSZ e Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México). Por la cercanía entre la hipófisis y el nervio óptico, ¿podría existir una vía directa que las uniera y evitara la circulación sistémica, y la prolactina llegara al ojo por esta vía putativa?
Dra. Clapp. Es una posibilidad real para las vasoinhibinas que se producen en el núcleo supraóptico hipotálmico, el cual recibe aferentes del nervio óptico. Sin embargo, por razones de concentración, parecería más importante la influencia de las vasoinhibinas producidas en la retina.

6. Dr. Gerardo Gamba. ¿Se conocen algunas características nuevas del receptor para vasoinhibinas que permitiera llevar a cabo su clonación?
Dra. Clapp. Si pensamos en un sistema de clonación por expresión, una observación de interés es la capacidad de las vasoinhibinas de bloquear la entrada de calcio en respuesta a bradicidina. Cabe mencionar, que las vasoinhibinas forman parte de una gran familia de factores antiangiogénicos que son fragmentos de proteínas mayores que por sí mismas son inactivas sobre la angiogénesis. Para muchos de estos factores se ha invertido un enorme esfuerzo en tratar de identificar a sus receptores. Se han descrito diversas proteínas de unión a dichos factores, que incluyen algunas proteínas membranales con acciones generales (integrasas, sintetasas de ATP, proteoglicanos, entre otras) o con propiedades más específicas que les dan nombre (anexina, angiomotina, etc.). Sin embargo, aún se desconocen los receptores responsables de explicar sus propiedades antiangiogénicas.

7. Dr. Sergio Ponce de León Rosales (Subdirector de Servicios Paramédicos, INCMNSZ). En el caso de la retinopatía diabética es deseable inhibir la angiogénesis; sin embargo, existen otras circunstancias en las que sería deseable que la angiogénesis no fuese inhibida, como en los pacientes con cardiopatía isquémica.
Al inhibir la angiogénesis en la retina diabética por la prolactina, ¿esto no podría tener un efecto deletéreo en otro sistema (como el corazón) donde la supervivencia del tejido en caso de isquemia depende de la presencia de colaterales formadas mediante angiogénesis? ¿Lo han analizado?
Dra. Clapp. No hemos determinado si la administración intraocular de vasoinhibinas influye sobre sus niveles circulantes y por ende sobre otros sistemas. Este es un problema muy importante ya que dentro de la misma diabetes, al tiempo que se combate la neovascularización ocular, se desea favorecer la formación de colaterales sanguíneas capaces de contrarrestar la isquemia sistémica. A este respecto, sería de mucho interés disminuir los niveles circulantes de la PRL, pero incrementar sus niveles intraoculares. El uso de vectores de expresión intraoculares capaces de generar vasoinhibinas en cantidades pequeñas pero suficientes, en combinación con el bloqueo farmacológico de la secreción hipofisiaria de la PRL son estrategias que deben ser exploradas.

8. Dr. Eduardo Carrillo Maravilla (Médico Adscrito a Medicina Interna, Dirección de Medicina, INCMNSZ). ¿Se conoce cuál es la isoforma predominante de la vasoinhibina? Y ya que se ha comentado de la 10K y 23K, ¿cuál es más eficiente y más potente?
Dra. Clapp. La mayoría de los estudios biológicos se han llevado a cabo con vasoinhibinas de 14 y 16 kDa que no son enteramente comparables porque fueron generadas en diferentes especies (rata y humano) y con estrategias diferentes (proteólisis y purificación o por ADN recombinante). Sin embargo, sus potencias son más o menos equivalentes. En la naturaleza, las isoformas de las vasoinhibinas más reportadas también son las de 14 y 16 kDa. No se ha identificado cuál es la proteí-

na de menor tamaño que aún preserve la actividad biológica de las vasoinhibinas.

9. Dr. Fernando Gabilondo Navarro (Dirección General, INCMNSZ). ¿Se tiene alguna experiencia en el uso de vasoinhibinas en el cáncer de próstata?
Dra. Clapp. No hasta donde estoy enterada.

REFERENCIAS

- Photocoagulation for diabetic Macular Edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report Number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Arch Ophthalmol* 1985; 103: 1796-806.
- Aiello LP, Gardner TW, King GL, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2000; 23: S73-S76.
- Cai J, Boulton M. The pathogenesis of diabetic retinopathy: old concepts and new questions. *Eye* 2002; 16: 242-60.
- Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353-64.
- Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *New Engl J Med* 1995; 333: 1757-63.
- Stone J, Maslim J. Mechanisms of retinal angiogenesis. *Prog Retin Eye Res* 1997; 16: 157-81.
- Das A, McGuire P. Retinal and choroidal angiogenesis: pathophysiology and strategies for inhibition. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22: 721-48.
- Sivalingam J, Kenney GC, Brown WE, et al. Basic fibroblast growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1990; 108: 869-72.
- Smith LE, Shen W, Perruzzi C, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization by insulin-like growth factor-1 receptor. *Nature Med* 1999; 5: 1390-5.
- Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22: 1-29.
- Clapp C, Aranda J, González C, et al. Vasoinhibins: a family of N-terminal prolactin fragments that inhibit angiogenesis and vascular function. *Front Horm Res* 2006; 35: 64-73.
- Corbacho AM, Martínez EG, Clapp C. Roles of prolactin and related members of the prolactin/growth hormone/placental lactogen family in angiogenesis. *J Endocrinol* 2002; 173: 219-38.
- Corbacho AM, Macotela Y, Nava G, et al. Human umbilical vein endothelial cells express multiple prolactin isoforms. *J Endocrinol* 2000; 166: 53-62.
- Corbacho AM, Nava G, Eiserich JP, et al. Proteolytic cleavage confers nitric oxide synthase inducing activity upon prolactin. *J Biol Chem* 2000; 275: 13183-6.
- Macotela Y, Aguilar MB, Guzmán-Morales J, et al. Matrix metalloproteases from chondrocytes generate an antiangiogenic 16kDa prolactin. *J Cell Sci* 2006; 119: 1790-800.
- Clapp C, Torner L, Gutiérrez-Ospina G, et al. The prolactin gene is expressed in the hypothalamic-neurohypophyseal system and the protein is preprocessed into a 14-kDa fragment with activity like 16-kDa prolactin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 10384-88.
- Aranda J, Rivera JC, Jezierski MC, et al. Prolactins are natural inhibitors of angiogenesis in the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 2947-53.
- Baldocchi RA, Tan L, King DS, et al. Mass spectrometric analysis of the fragments produced by cleavage and reduction of rat prolactin: Evidence that the cleaving enzyme is cathepsin D. *Endocrinology* 1993; 133: 935-8.
- Cosío G, Jezierski MC, López-Barrera F, et al. Hypoxia inhibits expression of prolactin and secretion of cathepsin-D by the GH4C1 pituitary adenoma cell line. *Lab Invest* 2003; 83: 1627-36.
- Clapp C, Martial JA, Guzman RC, et al. The 16-kilodalton N-terminal fragment of human prolactin is a potent inhibitor of angiogenesis. *Endocrinology* 1993; 133: 1292-9.
- Lee H, Struman I, Clapp C, et al. Inhibition of urokinase activity by the antiangiogenic factor 16K prolactin: Activation of plasminogen activator inhibitor 1 expression. *Endocrinology* 1998; 139: 3696-703.
- Martini JF, Piot C, Humeau LM, et al. The antiangiogenic factor 16K PRL induces programmed cell death in endothelial cells by caspase activation. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 1536-49.
- González C, Corbacho AM, Eiserich JP, et al. 16K-Prolactin inhibits activation of endothelial nitric oxide synthase, intracellular calcium mobilization and endothelium-dependent vasorelaxation. *Endocrinology* 2004; 145: 5714-22.
- García C, Macotela Y, González C, et al. Dephosphorylation of endothelial nitric oxide synthase contributes to inhibition of endothelial nitric oxide production by vasoinhibins. The Endocrine Society's 88TH Annual Meeting. 2006; Abstract: P3-4011.
- Lane P, Gross SS. Disabling a C-terminal autoinhibitory control element in endothelial nitric-oxide synthase by phosphorylation provides a molecular explanation for activation of vascular NO synthesis by diverse physiological stimuli. *J Biol Chem* 2002; 277: 19087-94.
- D'Angelo G, Martini JF, Iiri T, et al. 16K human prolactin inhibits vascular endothelial growth factor-induced activation of Ras in capillary endothelial cells. *Mol Endocrinol* 1999; 13: 692-704.
- Tabruyn SP, Sorlet CM, Rentier-Delrue F, et al. The antiangiogenic factor 16K human prolactin induces caspase-dependent apoptosis by a mechanism that requires activation of nuclear factor-kappa B. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 1815-23.
- Clapp C, Weiner R. A specific, high affinity, saturable binding site for the 16-kilodalton fragment of prolactin on capillary endothelial cells. *Endocrinology* 1992; 130: 1380-6.
- Pleyer U, Gupta D, Weidle EG, et al. Elevated prolactin levels in human aqueous humor of patients with anterior uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1991; 229: 447-51.
- O'Steen WK, Sundberg DK. Patterns of radioactivity in the eyes of rats after injection of iodinated prolactin. *Ophthalmic Res* 1982; 14: 54-62.
- Ochoa A, Montes de Oca P, Rivera JC, et al. Rat retinal capillary endothelial cells produced and secrete prolactin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1639-45.
- Dueñas Z, Rivera JC, Quiroz-Mercado H, et al. Prolactin in eyes of patients with retinopathy of prematurity: implications for vascular regression. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2049-55.
- Pan H, Nguyen NQ, Yoshida H, et al. Molecular targeting of antiangiogenic factor 16K hPRL inhibits oxygen induced retinopathy in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2413-19.
- Dueñas Z, Torner L, Corbacho AM, et al. Inhibition of rat corneal angiogenesis by 16-kDa prolactin and by endogenous prolactin-like molecules. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 2498-505.
- Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, et al. Incidence and early course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology* 1991; 98: 1628-40.
- IveName the Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group Collective Name. Multicenter trial of cr-

- yo therapy for retinopathy of prematurity: natural history ROP: ocular outcome at 5(1/2) years in premature infants with birth weights less than 1251 g. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 595-9.
37. Wright AD, Kohner EM, Oakley NW, et al. Serum growth hormone levels and the response of diabetic retinopathy to pituitary ablation. *Br Med J* 1969; 2: 346-8.
 38. Jeffcoate W. Growth hormone therapy and its relationship to insulin resistance, glucose intolerance and diabetes mellitus: a review of recent evidence. *Drug Saf* 2002; 25: 199-212.
 39. Merimee TJ, Zapf J, Foesch ER. Insulin-like growth factors. Studies in diabetes with and without retinopathy. *N Engl J Med* 1983; 309: 527-30.
 40. Hunter PR, Anderson J, Lunn TA, et al. Diabetic retinopathy and prolactin. *Lancet* 1974; i: 1237.
 41. Harter M, Balarac N, Pourcher PH, et al. Diabetic retinopathy and prolactin. *Lancet* 1976; ii: 961-2.
 42. Mooradian AD, Morley JE, Billington CJ, et al. Hyperprolactinaemia in male diabetics. *Postgrad Med J* 1985; 61: 11-14.
 43. Froland A, Hagen C, Lauritzen E. Diabetic retinopathy and prolactin. *Lancet* 1977; i: 45.
 44. Srivatsa LP. Evolution and natural history of diabetic retinopathy during pregnancy. *Metab Ped Sys Ophthalmol* 1994; 17: 19-28.
 45. Sheth BP. Does pregnancy accelerate the rate of progression of diabetic retinopathy? *Curr Diab Rep* 2002; 2: 327-30.
 46. Hylander MA, Strobino DM, Pezzullo JC, Dhanireddy R. Association of human milk feedings with a reduction in retinopathy of prematurity among very low birthweight infants. *J Perinatol* 2001; 21: 356-62.
 47. Healy DL, Rattigan S, Hartmann PE, et al. Prolactin in human milk: correlation with lactose, total protein, and alpha-lactalbumin levels. *Am J Physiol* 1980; 238: E83-E86.
 48. Grosvenor CE, Whitworth NS. Accumulation of prolactin in maternal milk and its transfer to circulation of neonate rat: a review. *Endocrinol Exp* 1983; 17: 271-86.
 49. Hawkins TA, Gala RR, Dunbar JC. Prolactin modulates the incidence of diabetes in male and female NOD mice. *Autoimmunity* 1994; 18: 155-62.
 50. Holstad M, Sandler S. Prolactin protects against diabetes induced by multiple low doses of streptozotocin in mice. *J Endocrinol* 1999; 163: 229-34.

Reimpresos:

Dra. Carmen Clapp

Instituto de Neurobiología,
Universidad Nacional Autónoma de México
Campus UNAM-Juriquilla
76230 Querétaro, Qro.
Tel.: (52442) 238-1028
Fax: (52442) 238-1005
Correo electrónico: clapp@servidor.unam.mx

Recibido el 20 de diciembre de 2006.

Aceptado el 1 de junio de 2007.