



Facultad de ciencias experimentales

Grado en Biotecnología

Terapias basadas en ARN para la retinopatía diabética proliferativa

Memoria de trabajo de fin de grado.

Curso académico

2024-2025 Elche,

Alicante

Autor: Ezequiel D. Cacabelos Vadalá

Modalidad: Revisión bibliográfica.

Tutores: Gema Martínez Navarrete, Adela Bernabéu Zornoza.

Eduardo Fernández Jover.

Departamento: Histología y Anatomía

Área: Biología Celular

Resumen y palabras clave

En la actualidad, más de dos mil millones de personas padecen problemas de visión causados por diversas enfermedades oculares. Entre ellas, la retinopatía diabética proliferativa (RDP) destaca como una de las principales causas de ceguera irreversible a nivel mundial. Afecta principalmente a personas con diabetes mellitus, especialmente cuando la enfermedad ya ha progresado a etapas avanzadas.

La retinopatía diabética (RD) se divide en dos fases. En la etapa no proliferativa (RDNP) se observan cambios microvasculares iniciales, como microaneurismas, hemorragias intrarretinianas y edemas. Si no se controla, la RD puede avanzar hacia su forma proliferativa (RDP), caracterizada por el crecimiento anómalo de nuevos vasos sanguíneos sobre la retina y hacia el humor vítreo. Esta neovascularización puede desencadenar complicaciones graves como hemorragias vítreas, desprendimiento de retina y pérdida visual severa.

Hoy en día, el tratamiento más utilizado para la RDP consiste en la administración intravítrea de fármacos anti-VEGF, que bloquean la formación de estos vasos patológicos. Aunque su eficacia está comprobada, estos tratamientos presentan limitaciones importantes. Requieren inyecciones frecuentes, implican cierto riesgo de infección ocular y, en algunos casos, no logran frenar la progresión de la enfermedad.

Frente a estos desafíos, han surgido nuevas alternativas terapéuticas basadas en ARN, que apuntan directamente a los mecanismos moleculares que impulsan la RDP. En particular, los ARN no codificantes (ncARN), como los miARN y lncARN, han cobrado relevancia por su implicación en procesos clave como la angiogénesis, la inflamación y la disfunción endotelial. Entre los más estudiados se encuentran MALAT1, MIAT y MEG3, cuyos niveles de expresión se alteran en la fase proliferativa de la enfermedad y se relacionan estrechamente con la vía del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), fundamental en la neovascularización.

El uso terapéutico de estos ARN, mediante tecnologías como los ARN antisentido o miméticos, permitiría una intervención más precisa, prolongada en el tiempo y con menos efectos adversos que los tratamientos actuales. Por eso, las terapias génicas basadas en ARN no solo representan un avance prometedor en el manejo de la RDP, sino que podrían transformar profundamente el enfoque clínico de esta complicación ocular avanzada, con un impacto positivo tanto a nivel médico como económico y social.

Palabras clave: retinopatía diabética proliferativa, microARN, lncARN, intervención dirigida, VEGF.

Abstract

Currently, more than two billion people suffer from vision problems caused by various eye diseases. Among them, proliferative diabetic retinopathy (PDR) stands out as one of the leading causes of irreversible blindness worldwide. It mainly affects people with diabetes mellitus, especially when the disease has already progressed to advanced stages.

Diabetic retinopathy (DR) is divided into two stages. In the nonproliferative stage (NPDR), initial microvascular changes such as microaneurysms, intraretinal hemorrhages, and edema are observed. If left unchecked, DR can progress to its proliferative form (PDR), characterized by the abnormal growth of new blood vessels over the retina and into the vitreous humor. This neovascularization can trigger serious complications such as vitreous hemorrhages, retinal detachment and severe visual loss.

Today, the most widely used treatment for PDR is intravitreal administration of anti-VEGF drugs, which block the formation of these pathological vessels. Although their efficacy is proven, these treatments have important limitations. They require frequent injections, involve some risk of ocular infection and, in some cases, fail to halt disease progression.

In the face of these challenges, new RNA-based therapeutic alternatives have emerged that directly target the molecular mechanisms driving PDR. In particular, non-coding RNAs (ncRNAs), such as miRNAs and lncRNAs, have become relevant due to their involvement in key processes such as angiogenesis, inflammation and endothelial dysfunction. Among the most studied are MALAT1, MIAT and MEG3, whose expression levels are altered in the proliferative phase of the disease and are closely related to the vascular endothelial growth factor (VEGF) pathway, which is fundamental in neovascularization.

The therapeutic use of these RNAs, by means of technologies such as antisense or mimetic RNAs, would allow a more precise intervention, prolonged in time and with fewer adverse effects than current treatments. Thus, RNA-based gene therapies not only represent a promising advance in the management of PDR, but could profoundly transform the clinical approach to this advanced ocular complication, with a positive medical, economic and social impact.

Key words: proliferative diabetic retinopathy, non-coding RNA, microRNA, lncRNA, targeted intervention, VEGF.

Índice

1. Introducción	7
1.1 El ojo. Anatomía y fisiología	7
1.1.1 La retina	8
1.2 Patologías del sistema visual	9
1.3 Retinopatía diabética (RD)	10
1.4 Retinopatía diabética proliferativa (RDP)	10
1.4.1 Clasificación y factores relacionados con la RDP	11
1.4.2 Tratamientos actuales.....	12
2. Antecedentes y objetivos	13
2.1 Antecedentes	13
2.2 Objetivos	14
3. Materiales y métodos	14
3.1 Diseño	14
3.1.1 Planteamiento de la búsqueda.....	14
3.1.2 Criterios de selección	15
3.2 Selección de artículos	15
4. Resultados.....	15
4.1 El lncARN MIAT como regulador epigenético en la progresión de la retinopatía diabética proliferativa	15
4.1.1 El eje MIAT/miR-29b/SP1 en la apoptosis inducida por hiperglucemia en células retinianas	16
4.1.2 Regulación de VEGFA por el eje MIAT/miR-150-5p en la angiogénesis proliferativa retiniana	19
4.2 El lncARN MEG3 como supresor molecular y marcador genético en la RDP.....	23
4.2.1 Asociación del polimorfismo rs7158663 del gen MEG3 con menor riesgo de RDP .23	
4.2.2 Regulación funcional de VEGF y TGF- β 1 por MEG3 en condiciones hiperglucémicas	24
4.3 El lncARN MALAT1 y sus vías como diana terapéutica en la retinopatía diabética proliferativa	26
4.3.1 MALAT1 como actor clave en la progresión de la retinopatía diabética proliferativa	26
4.3.2 Regulación de VEGFA por el eje MALAT1/miR-200b-3p en la angiogénesis proliferativa retiniana.....	27
4.3.3 El eje MALAT1/miR-203a-3p/HIF-1 α como modulador de la respuesta angiogénica e hipóxica en RDP	31
4.3.4 Interacción entre MALAT1 y miR-126-5p: implicaciones en la migración, proliferación y neovascularización retiniana	34
5. Discusión	36

5.1 Implicación funcional de MIAT en RDP.....	36
5.2 MEG3 como factor protector y marcador farmacogenético.....	36
5.3 MALAT1: una diana central en la progresión angiogénica de la RDP	37
5.4 Limitaciones y perspectivas futuras	37
6. Conclusión	37
7. Bibliografía.....	39



1. Introducción

1.1 El ojo. Anatomía y fisiología.

El ojo humano es el órgano encargado del procesamiento de la visión, formado por una estructura sensible que le permite ejercer dicha función. Se encuentra ubicado en la órbita del cráneo formado por el globo ocular el cual está protegido por tejido graso, blando y por la estructura ósea de la órbita. Asimismo, el ojo queda protegido externamente por las lágrimas, las pestañas y los párpados [2] (Figura 1).

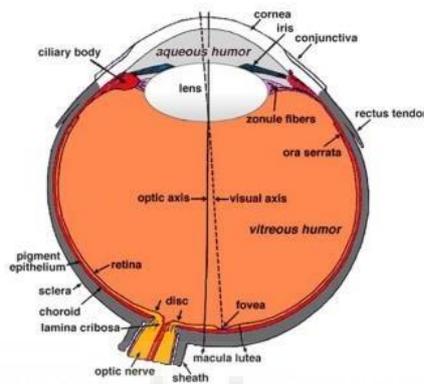


Figura 1. Estructura del ojo [1]

El globo ocular forma parte de un tercio del espacio de la cavidad de la órbita, el restante lo ocupan la vasculatura, nervios y músculos. Dentro del globo se pueden diferenciar tres principales capas concéntricas : la túnica fibrosa, túnica vascular y túnica sensorial [1].

Respecto a la túnica fibrosa, es la capa más externa del globo y se compone principalmente por dos segmentos esféricos. El componente anterior de la túnica fibrosa es la córnea, parte sobresaliente que se encarga de ser la superficie refractante, lisa y transparente del ojo, que protege el contenido intraocular. Asimismo, la esclerótica es el componente posterior de la túnica que rodea el globo ocular yendo desde la parte anterior, el limbo esclerocorneal, hasta la parte posterior, el nervio óptico [2]. Por último, se encuentra la conjuntiva que se ubica cubriendo la esclera y la parte interna de los párpados.

En segundo lugar, se encuentra la túnica vascular que constituye la capa media (úvea) del globo ocular y se caracteriza por su alta vascularización y contenido en melanina. Está implicada en funciones esenciales como la nutrición de las estructuras intraoculares, la regulación de la entrada de luz, y la producción del humor acuoso. Anatómicamente se divide en tres porciones. En la parte anterior se ubica el iris, estructura compuesta por una membrana contráctil pigmentada y circular encargada de regular la luz mediante la regulación del músculo esfínter y dilatador de la pupila. El iris está ubicado entre la córnea y el cristalino anclado en sus extremos a los cuerpos ciliares. Seguidamente, se encuentra la región intermedia, el cuerpo ciliar, ubicado entre el iris y los coroides encargados de los procesos ciliares responsables de la secreción del humor acuoso [3]. Finalmente, en la parte posterior, se encuentra la coroides, capa vascular entre la esclerótica y la retina, donde su superficie externa está unida a la esclerótica y su superficie interna está conectada con el epitelio pigmentario de la retina (RPE) [3]. La coroides se encarga de suministrar nutrientes y oxígeno a la retina, al cristalino y al humor vítreo. El cristalino, se

compone como órgano lenticular encargado de enfocar los rayos a través de la refringencia de los músculos ciliares [3] y el humor vítreo se caracteriza por ser un cuerpo incoloro de textura gelatinosa ubicado entre la retina y el cristalino.

1.1.1 La retina

En la zona más interna del ojo se encuentra la túnica sensorial, también conocida como retina, que se sitúa entre la coroides y el humor vítreo. Esta estructura compleja está organizada en varias capas que desempeñan funciones específicas en el procesamiento de la información visual a través de la transducción de señales bioquímicas a eléctricas. Esta red compleja está formada por una extensa diversidad celular que permiten su funcionamiento (Figura 2 y 3) [1]. Entre la diversidad celular se encuentran:

- Membrana Limitante Interna: formada por las células de Müller, actúa como una barrera selectiva que regula el paso de nutrientes y protege contra la radiación ultravioleta [1].
- Capa de Fibras Nerviosas: compuesta por los axones de las células ganglionares, constituye el inicio del nervio óptico [1].
- Capa de Células Ganglionares: contiene los cuerpos celulares de las células ganglionares, cuyas prolongaciones axónicas forman el nervio óptico [1].
- Capa Plexiforme Interna: es la zona donde se establecen las sinapsis entre las células bipolares, amacrinas y ganglionares [1].
- Capa Nuclear Interna: aquí se localizan los núcleos de las células bipolares, horizontales y amacrinas [1].
- Capa Plexiforme Externa: es el área donde se conectan sinápticamente las células bipolares con los fotorreceptores [1].
- Capa Nuclear Externa: contiene los núcleos de los fotorreceptores, tanto bastones como conos [1].
- Membrana Limitante Externa: separa las células de Müller de los fotorreceptores, proporcionando soporte estructural [1].
- Capa de Fotorreceptores: formada por las terminaciones de los conos y bastones, responsables de la transducción de estímulos luminosos [1].
- Epitelio Pigmentario de la Retina (RPE): desempeña funciones esenciales como la absorción de luz, el transporte de nutrientes a través de la barrera hematoocular, la fagocitosis de discos membranosos envejecidos y la secreción de factores de crecimiento que mantienen la salud retiniana [1].

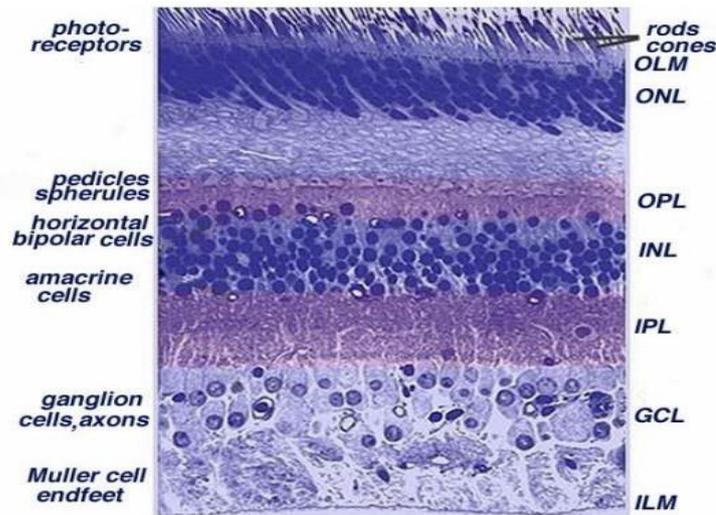


Figura 2. Corte transversal de retina donde se observan los núcleos de los diferentes tipos celulares. [1]

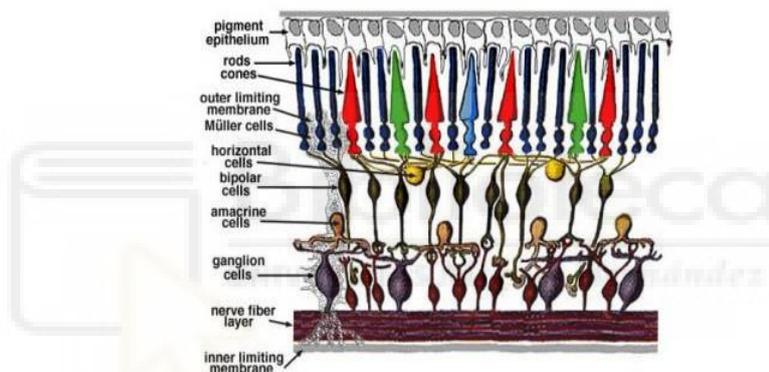


Figura 3. Diagrama organizativo de retina donde se aprecian las conexiones e interacciones entre los distintos tipos celulares. [1]

1.2 Patologías del sistema visual

El sistema visual humano está compuesto por estructuras especializadas que permiten captar, procesar y transmitir información visual al cerebro. La pérdida de función de cualquiera de sus componentes (desde los medios refractivos hasta la retina o el nervio óptico) puede dar lugar a diversas patologías que afectan la calidad de vida de millones de personas en todo el mundo.

Entre las enfermedades más frecuentes se encuentran las disfunciones refractivas (miopía, hipermetropía, astigmatismo y presbicia), cataratas, glaucoma, degeneración macular asociada a la edad (DMAE), y las retinopatías, como la RD y la retinosis pigmentaria.

La DMAE se caracteriza por la acumulación de drusas y atrofia del RPE en la forma seca, mientras que su forma húmeda presenta neovascularización subretiniana, lo que lleva a pérdida de visión central [2].

Por otro lado, la retinosis pigmentaria, una enfermedad hereditaria, provoca degeneración progresiva de los fotorreceptores, alteraciones en la organización de la retina y formación de espículas pigmentarias, derivadas de la migración de células del RPE a través de las células de Müller [2].

En general, todas las enfermedades degenerativas de la retina, independientemente de su etiología, comparten mecanismos comunes como la reprogramación neuronal, remodelado sináptico, neuroinflamación y muerte celular [2].

El crecimiento que ha tenido el conocimiento de estos procesos patológicos ha movido el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, incluyendo las terapias génicas y celulares, con el objetivo de ralentizar o revertir la pérdida visual.

1.3 Retinopatía diabética (RD)

La RD es una de las complicaciones microvasculares más frecuentes de la diabetes mellitus (DM) y representa una de las principales causas de ceguera prevenible (en estadios tempranos) en la población, especialmente entre los 20 y 64 años [6]. Cabe destacar que la RD no solo implica una alteración vascular progresiva, sino que en los últimos años se ha demostrado que también está implicado un componente neurodegenerativo, que afecta tanto a células neuronales como gliales de la retina. Es decir, los cambios funcionales pueden comenzar antes de que sean visibles las lesiones vasculares características.

Desde el punto de vista fisiopatológico, la retinopatía diabética inicia con alteraciones en la microvasculatura retiniana como resultado de la hiperglucemia crónica. Éstas incluyen el engrosamiento de la membrana basal, la pérdida de pericitos y la disfunción endotelial, lo que conlleva a la ruptura de la barrera hematorretiniana, edema, isquemia y neovascularización en etapas más avanzadas [5].

En cuanto a su clasificación clínica, la RD se divide en dos grandes formas: la fase no proliferativa (RDNP) y la fase proliferativa (RDP). En la RDNP se observan microaneurismas, hemorragias puntiformes, exudados duros y edema macular; mientras que en la RDP aparecen neovasos frágiles que, al romperse, pueden provocar hemorragias vítreas, tracción retiniana y, en casos severos, desprendimiento de retina [6].

El diagnóstico se realiza principalmente mediante el examen de fondo de ojo, complementado por técnicas como la tomografía de coherencia óptica (OCT) o la angiografía con fluoresceína. La detección precoz de esta enfermedad es esencial para prevenir complicaciones graves, y para ello es necesario promover controles periódicos en pacientes con diabetes, especialmente aquellos con más de cinco años de evolución.

Por último, es importante subrayar que el tratamiento no se basa únicamente en las intervenciones oftalmológicas, sino que debe enfocarse también en el control riguroso de la glucemia, la presión arterial y los lípidos. [5].

1.4 Retinopatía diabética proliferativa (RDP)

La RDP representa la forma más avanzada y potencialmente devastadora de la retinopatía diabética. Se caracteriza principalmente, como se ha comentado en el apartado anterior por la aparición de neovasos anómalos en

respuesta a la isquemia retiniana generalizada provocada por el cierre capilar. Estos vasos de neoformación pueden localizarse en el disco óptico, en otras regiones retinianas, o incluso en el iris y el ángulo iridocorneal, reflejando una progresión hacia etapas más severas de la enfermedad [7].

La RDP surge como consecuencia directa de una respuesta angiogénica exagerada, mediada principalmente por VEGF, cuya expresión se encuentra significativamente aumentada en el humor vítreo de pacientes con esta condición [8]. La retina, al experimentar hipoxia por la oclusión capilar progresiva, responde liberando VEGF, lo que desencadena la proliferación de nuevos vasos sanguíneos que, por su fragilidad estructural, presentan un alto riesgo de rotura y hemorragia.

Además del componente angiogénico, la RDP también involucra una proliferación fibrovascular en la interfaz vítreo-retiniana. Este fenómeno contribuye a la formación de tractos de tracción, los cuales pueden desencadenar desprendimientos de retina traccionales, una de las complicaciones más graves y difíciles de manejar en este contexto [7].

Es importante destacar que, aunque la RDP puede desarrollarse de forma asintomática en fases iniciales, su progresión sin tratamiento adecuado a lo largo del tiempo puede llevar a complicaciones como hemorragia vítrea recurrente, neovascularización del ángulo con riesgo de glaucoma neovascular, y finalmente, pérdida visual irreversible. Por tanto, su diagnóstico y tratamiento precoz constituyen un objetivo prioritario en la atención oftalmológica del paciente diabético [7].

1.4.1 Clasificación y factores relacionados con la RDP

La clasificación de la RDP se basa principalmente en la localización y extensión de la neovascularización y en la presencia de complicaciones estructurales asociadas, como hemorragia vítrea o desprendimiento de retina. Según los criterios clínicos establecidos, los signos que definen la RDP incluyen [7]:

- Neovasos en el disco óptico: proliferación de nuevos vasos sobre o cerca del disco, visible en la exploración con dilatación pupilar.
- Neovasos en otras áreas de la retina: crecimiento de vasos fuera del disco óptico, frecuentemente en regiones periféricas, en zonas de isquemia.
- Hemorragia vítrea o prerretiniana: consecuencia directa de la fragilidad de los neovasos que se desarrollan sin soporte estructural adecuado.
- Proliferación fibrovascular: la proliferación puede causar tracción sobre la retina, favoreciendo el desarrollo de desprendimiento de retina traccional.

En cuanto a los factores de riesgo, la progresión hacia la RDP está influenciada por múltiples variables, entre las que destacan [7]:

- Hiperglucemia crónica: es el factor más determinante, y su control inadecuado se asocia con mayor incidencia de neovascularización.
- Hipertensión arterial y dislipidemia: contribuyen al daño endotelial y a la disfunción microvascular.
- Nefropatía diabética: especialmente en estadios avanzados, puede asociarse con formas más agresivas de RDP.

- Duración de la diabetes: tanto en tipo 1 como en tipo 2, un mayor tiempo de evolución aumenta el riesgo de complicaciones oculares.

Además, la anemia, embarazo y ciertos fármacos hipoglucemiantes también se han identificado como cofactores relevantes en estudios recientes [7].

Finalmente, el papel del VEGF como mediador clave ha permitido establecer una conexión directa entre la hipoxia retiniana y la progresión clínica de la RDP. Esto no solo ha aportado una mejor comprensión del proceso fisiopatológico, sino que ha abierto nuevas posibilidades terapéuticas dirigidas a inhibir su acción.

1.4.2 Tratamientos actuales

El abordaje terapéutico de la RDP tiene como objetivo principal la regresión de la neovascularización y la prevención de complicaciones visuales graves comentadas, como la hemorragia vítrea o el desprendimiento de retina traccional. Actualmente, las estrategias más utilizadas incluyen la fotocoagulación panretiniana (PRP), las terapias anti-VEGF, y la vitrectomía pars plana (VPP), aplicadas de forma aislada o en combinación, según las características clínicas del paciente.

- Fotocoagulación panretiniana (PRP):

La PRP consiste en la aplicación de impactos de láser térmico sobre la retina periférica isquémica, reduciendo así la demanda metabólica y el estímulo angiogénico que conduce a la formación de nuevos vasos. Este tratamiento ha sido considerado durante décadas un herramienta esencial en el tratamiento para la RDP, con una eficacia bien establecida para prevenir la pérdida visual severa en hasta un 50% de los casos [9].

Las técnicas modernas permiten aplicar entre 1600 y 3000 disparos en una o varias sesiones donde estudios recientes también han documentado mejoras en la densidad vascular macular y en la zona avascular de la fóvea. No obstante, la PRP puede tener efectos adversos que producen reducción del campo visual periférico, disminución de la visión nocturna, aumento del edema macular, dolor durante la sesión e incluso complicaciones inflamatorias o estructurales si no se administra de manera correcta [7].

Se están explorando nuevas modalidades, como el láser micropulsado subumbral, que busca preservar las capas neuronales retinianas y minimizar los efectos colaterales. Esta técnica representa una posible alternativa en casos seleccionados de RDP temprana [7].

- Agentes anti-VEGF

En la última década, el uso de agentes antiangiogénicos, como ranibizumab, aflibercept o bevacizumab, ha modificado el enfoque tradicional del tratamiento. Estos fármacos bloquean el VEGF reduciendo la neovascularización, la permeabilidad vascular y el edema asociado [8][7].

Estudios como el PRIDE y el Protocol S han podido demostrar que ranibizumab en monoterapia

ofrece una eficacia posiblemente superior a la PRP, tanto en frenar la formación de neovasos como en la preservación de la agudeza visual. Además, el uso combinado de PRP con anti-VEGF ha mostrado una mejoría significativa en la reducción del espesor macular central y una menor frecuencia de complicaciones hemorrágicas [8].

No obstante, estos fármacos presentan algunas limitaciones ya que requieren administraciones frecuentes (mensuales o trimestrales), lo que puede dificultar la consistencia del tratamiento en los pacientes. Además, existe un riesgo teórico de empeoramiento de las tracciones retinianas tras inducir la regresión rápida de los neovasos, especialmente con bevacizumab en ojos que padecen desprendimiento de retina incipiente [7].

Pese a ello, los anti-VEGF se consideran actualmente una primera opción en muchos casos, y están particularmente indicados cuando la PRP está contraindicada o es de difícil aplicación (por opacidades del medio ocular, catarata densa o hemorragia vítrea activa).

- Vitrectomía pars plana (VPP)

La VPP está indicada en estadios avanzados de la enfermedad, cuando existen complicaciones como hemorragia vítrea persistente o desprendimiento de retina traccional que compromete la mácula. Esta técnica permite retirar el vítreo, el tratamiento de membranas fibrovasculares y la aplicación directa de terapia láser intraoperatoria.

Diversos estudios han demostrado que la inyección preoperatoria de anti-VEGF (principalmente bevacizumab) puede reducir el sangrado intraoperatorio y facilitar el manejo quirúrgico. Sin embargo, su uso debe ser individualizado, ya que en algunos casos puede acelerar la tracción retinal y empeorar el cuadro clínico si no se planifica adecuadamente [7].

2. Antecedentes y objetivos

2.1 Antecedentes

La RDP es la forma más avanzada de la RD, y representa una de las principales causas de ceguera irreversible en adultos en edad laboral. Si bien el tratamiento actual basado en la PRP, los agentes anti-VEGF y la VPP ha demostrado ser efectivos para frenar la progresión de la enfermedad, estos abordajes no están exentos de limitaciones. Los efectos adversos de la PRP, la necesidad de múltiples inyecciones intravítreas de anti-VEGF, y el carácter invasivo de la vitrectomía, impulsan la necesidad de explorar nuevas alternativas terapéuticas más específicas, menos destructivas y con mejor perfil de seguridad [8][9].

En este contexto, ha surgido un creciente interés por el estudio de posibles terapias basadas en ácidos ribonucleicos no codificantes (ncARN), moléculas que, a pesar de no traducirse en proteínas, desempeñan funciones clave en la regulación génica, la señalización celular y la homeostasis tisular. Estas moléculas han demostrado tener un papel central en la fisiopatología de la RD y la RDP, particularmente en procesos como la angiogénesis, la inflamación crónica, la disfunción de la barrera hematorretiniana y la muerte celular [10][12].

Estos hallazgos han abierto nuevas líneas de investigación centradas en el uso de ncARN como

biomarcadores diagnósticos y, sobre todo, como dianas terapéuticas emergentes en enfermedades retinianas. A pesar de que la mayoría de los estudios aún se encuentran en fase preclínica, los resultados iniciales son prometedores y refuerzan la hipótesis de que la modulación dirigida de los ncARN podría representar una estrategia terapéutica eficaz y personalizada para la RDP [10].

2.2 Objetivos

El objetivo principal es analizar mediante una revisión bibliográfica el potencial terapéutico de los ARN no codificantes (ncARN) en el tratamiento de la retinopatía diabética proliferativa (RDP), además:

1. Estudiar el papel fisiopatológico de los ncARN en la progresión de la RDP, incluyendo su implicación en procesos como la neovascularización, la inflamación y la disfunción de la barrera hematorretiniana.
2. Identificar los principales tipos de ncARN (miARN, lncARN, circARN) relacionados con la RDP y analizar sus mecanismos de acción sobre genes clave como *VEGFA* y *HIF1A*.
3. Evaluar las terapias experimentales que utilizan ncARN como agentes moduladores o inhibidores de procesos patológicos en modelos animales o celulares de RDP.
4. Comparar los enfoques terapéuticos basados en ncARN con los tratamientos actuales (PRP, anti-VEGF y VPP), destacando ventajas, limitaciones y perspectivas de aplicación clínica.
5. Proponer líneas futuras de investigación en el campo de las terapias moleculares dirigidas a ARN como herramienta para el tratamiento de enfermedades retinianas crónicas.

3. Materiales y métodos

3.1 Diseño

Este trabajo corresponde a una revisión bibliográfica centrada en el análisis de estudios científicos relacionados con la RDP y el uso de ncARN como posibles herramientas terapéuticas.

3.1.1 Planteamiento de la búsqueda

La búsqueda de información se realizó principalmente en la base de datos PubMed, complementada con búsquedas en Scopus. Se utilizaron combinaciones de palabras clave como:

“proliferative diabetic retinopathy”, “non-coding RNA”, “microRNA”, “lncRNA”, “circRNA”, y “VEGF”, empleando operadores booleanos como AND y OR.

Como cadenas de búsqueda se emplearon diferentes métodos respecto a la plataforma utilizada. En PubMed se empleó: ("proliferative diabetic retinopathy" OR "PDR") AND ("non-coding RNA" OR "ncRNA" OR "microRNA" OR "miRNA" OR "lncRNA" OR "long non-coding RNA" OR "circRNA") AND ("VEGF" OR "vascular endothelial growth factor") y en Scopus se empleó: ("proliferative diabetic retinopathy" OR "PDR") AND ("non-coding RNA" OR "ncRNA" OR "microRNA" OR "miRNA" OR "lncRNA" OR "long non-coding RNA" OR "circRNA") AND ("VEGF" OR "vascular endothelial growth factor").

El proceso se llevó a cabo entre febrero y mayo de 2025, limitando los resultados a artículos publicados entre 2018 y 2024, escritos en inglés o español y disponibles en texto completo.

3.1.2 Criterios de selección

Se seleccionaron artículos originales y revisiones científicas que abordaran terapias basadas en ncARN aplicadas a la RDP, excluyéndose aquellos no relacionados directamente con el tema, duplicados o con información insuficiente.

3.2 Selección de artículos. Diagrama de flujo

Tras aplicar los criterios mencionados, se seleccionaron 21 artículos para desarrollar el trabajo. El detalle del proceso fue el siguiente:

Primeramente, se seleccionaron 45 referencias, 34 de Pubmed y 11 de Scopus, las cuales 24 fueron descartadas a través de un filtrado ya que se trataba de artículos que hablaban sobre ARN relacionados con la RD, pero no se centraban en la fase proliferativa. Por tanto, se eligieron 21 artículos para desarrollar el trabajo, donde 13 artículos fueron los elegidos para desarrollar el apartado de resultados (Figura 4).

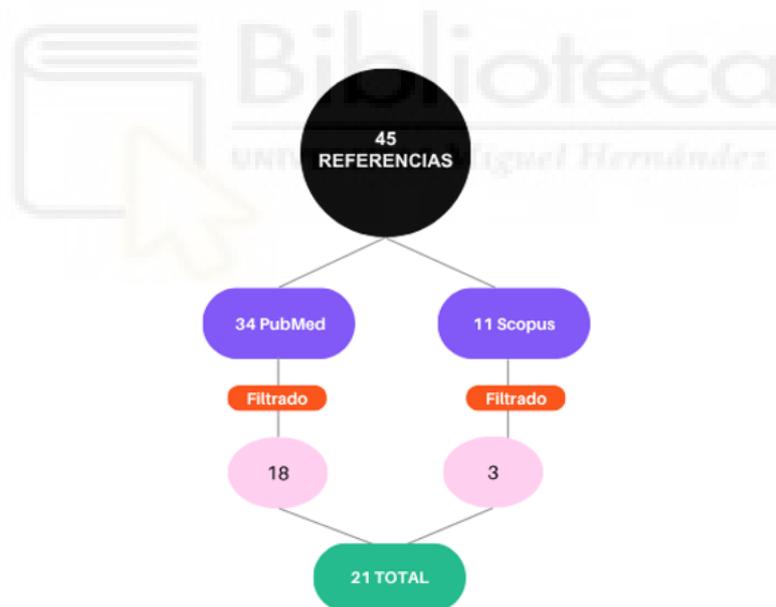


Figura 4. Diagrama de flujo donde se presenta el proceso de selección y filtrado de los artículos escogidos.

4. Resultados

4.1 El lncARN MIAT como regulador epigenético en la progresión de la retinopatía diabética proliferativa

En los últimos años, el lncARN MIAT (*Myocardial Infarction Associated Transcript*), también conocido como “Gomafu”, ha emergido como un regulador clave en la progresión de la RDP. Se trata de un transcrito largo no codificante cuya expresión se ha observado elevada en retina de pacientes diabéticos y en modelos animales de hiperglucemia sostenida. MIAT cumple una función activa en la promoción de procesos patológicos como la angiogénesis anómala, la inflamación crónica, y la disfunción de la barrera hematorretiniana, características propias del estadio proliferativo de la RD [13].

De acuerdo con la revisión realizada por Smit-McBride et al. (2021), diversos estudios experimentales han documentado que MIAT actúa como ARN endógeno competidor (ceARN) (mecanismo por el cual varias moléculas de ARN compiten por unirse a un microARN), interfiriendo con la acción reguladora de microARNs encargados de regular la vía VEGF, como miR-150-5p o miR-29b. Esto resulta en una sobreexpresión de genes proangiogénicos como *VEGFA*, así como de factores inflamatorios como NF- κ B. Además, se sugiere que MIAT podría influir en la expresión de *HIF-1 α* , incrementando la respuesta hipóxica y facilitando la proliferación de neovasos retinianos.

4.1.1 El eje MIAT/miR-29b/SP1 en la apoptosis inducida por hiperglucemia en células retinianas

El lncARN MIAT ha sido objeto de diversos estudios recientes por su implicación en enfermedades vasculares y neurodegenerativas. En el caso de la RDP, el trabajo de Zhang et al. (2017) proporciona una considerable evidencia experimental directa sobre su participación en la regulación de la apoptosis celular retiniana bajo condiciones hiperglucémicas, así como su interacción con microARNs, específicamente con miR-29b.

Para llevar a cabo el estudio, se utilizó un modelo murino de diabetes tipo 1, en el que se inyectó estreptozotocina (STZ, 60 mg/kg) por vía intraperitoneal a 20 ratones macho de la cepa Sprague-Dawley. Además, se emplearon cultivos de células de Müller rMC-1 sometidos a condiciones de alta (25 mM) o normal (5.5 mM) concentración de glucosa. A las 72 horas de post-inyección, se midieron los niveles de glucosa en sangre, confirmando hiperglucemias superiores a 16,7 mM. Posteriormente, se aislaron las células de Müller de la retina para su análisis [14].

Se extrajo ARN total tanto de las células retinianas como de las líneas rMC-1, y se cuantificaron los niveles de expresión de MIAT y miR-29b mediante RT-qPCR. También se llevó a cabo un Western blot para analizar la expresión de proteínas como p-p65 (forma fosforilada de la subunidad p65 de NF- κ B) y SP1, dos factores de transcripción implicados en la angiogénesis. Además, se realizó un ensayo de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) para estudiar la posible unión de NF- κ B al promotor de MIAT. Finalmente, las células fueron transfectadas con ARN silenciador de MIAT (si-MIAT), inhibidores de miR-29b y con un adenovirus que sobreexpresa MIAT (Ad-MIAT) como control negativo [14].

Entre los resultados más destacados, se observó una sobreexpresión significativa de MIAT en las

células de Müller de los ratones diabéticos tratados con STZ, con aumentos de expresión de 2.5, 2.8, 3.1 y 2.9 veces respecto a los controles en los meses 1, 3, 5 y 7, respectivamente (Figura 5). Asimismo, los niveles de p-p65 también estaban elevados en estos animales, lo que sugiere que NF- κ B podría estar activando la transcripción de MIAT. Estos mismos patrones de sobreexpresión se detectaron en las células rMC-1 tras 24, 48, 72 y 96 horas de exposición a glucosa elevada (Figura 6) [14].

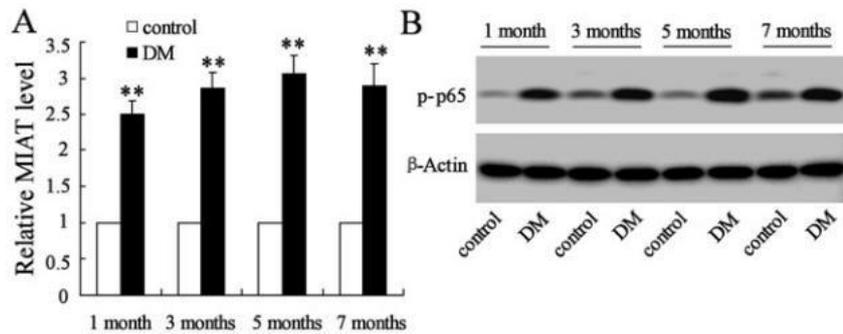


Figura 5. (A) Sobreexpresión de MIAT a través de RT-qPCR medida en células de Müller de ratones diabéticos donde el nivel MIAT fue entre 2,5 y 3,1 mayor que sus controles. (B) Aumento significativo de NF- κ B en los ratones diabéticos en las medidas realizadas en los cuatro meses mencionados a través de Western-Blot *in vitro* [14].

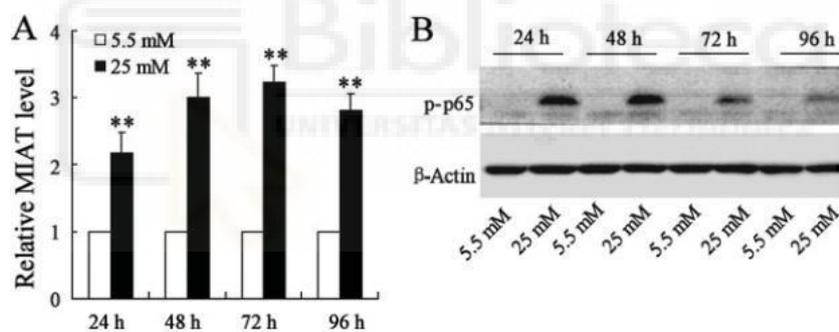


Figura 6. (A) Sobreexpresión de MIAT a través de RT-qPCR en células rMC-1 observando entre 2 y 3 veces más nivel de MIAT que en los controles. (B) Aumento significativo de NF- κ B en las células rMC-1 entre 24 y 96 horas respecto a sus controles en Western-Blot *in vivo* [14].

El ensayo de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) confirmó que NF- κ B se une directamente al promotor del gen MIAT en células rMC-1, lo que sugiere una interacción reguladora directa entre ambos. Por otro lado, la inhibición de MIAT mediante si-MIAT permitió revertir parcialmente la pérdida de viabilidad celular provocada por la exposición a alta concentración de glucosa, y además se observó una reducción en la tasa de apoptosis inducida por hiperglucemia

(Figura 7) [14].

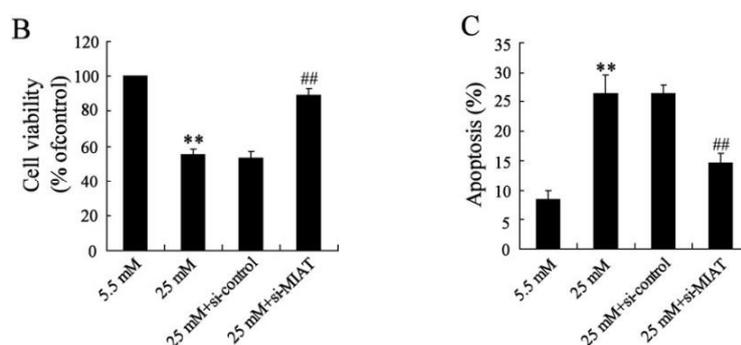


Figura 7. Ensayo de viabilidad celular en células rMC-1 realizado a diferentes niveles de glucosa. Se empleó si-MIAT donde su inhibición revirtió la disminución de viabilidad celular observada en condiciones de alta glucosa (B). Estudio de apoptosis en células rMC-1 donde la inhibición de MIAT consiguió reducir la apoptosis celular respecto a los ensayos en condiciones de niveles de glucosa alta (C) [14].

Por último, se centraron en el estudio de miR-29b, como microARN implicado en la regulación de la apoptosis, y del factor de transcripción SP1. Mediante análisis por RT-qPCR, se observó que la inhibición de MIAT mediante si-MIAT provocaba un aumento significativo en la expresión de miR-29b, alcanzando niveles similares a los observados en condiciones de glucosa normal. En cambio, en condiciones de alta glucosa y sin inhibición de MIAT, la expresión de miR-29b se encontraba reducida (Figura 8).

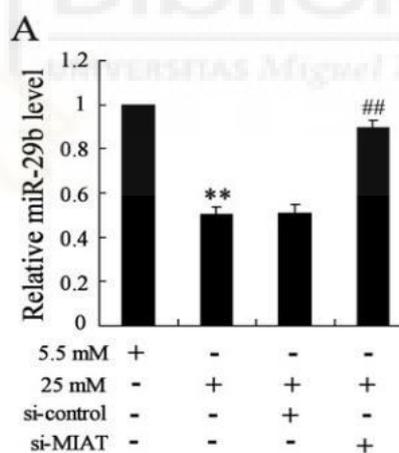


Figura 8. Niveles relativos de miR-29b obtenidos a través de RT-qPCR empleando si-MIAT, en diferentes condiciones de glucosa. Se observaba que cuando se encontraba si-MIAT, los niveles de miR-29b aumentaban significativamente [14].

En línea con los resultados anteriores, observaron que miR-29b regula negativamente a SP1, factor de transcripción implicado en la proliferación y apoptosis celular. MIAT sobreexpresado disminuye miR-29b y aumenta SP1. Estos hallazgos sugirieron que MIAT modula la vía miR-29b → SP1. Para confirmar esta interacción, se combinó si-MIAT con el inhibidor de miR-29b, lo que resultó en la anulación de los efectos protectores previamente observados, tanto sobre la viabilidad como la apoptosis celular. De esta manera, se confirmó que la vía MIAT → miR-29b

→ SP1 está funcionalmente implicada en el daño celular inducido por hiperglucemia (Figura 9) [14].

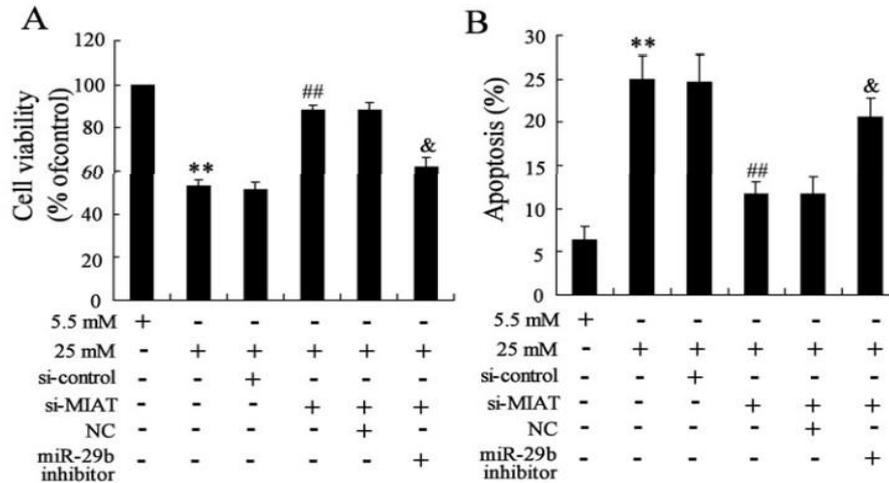


Figura 9 (A) Ensayo de viabilidad celular en células rMC-1 bajo condiciones de alta glucosa, donde se estudió la interacción entre MIAT y miR-29b, utilizando si-MIAT y un inhibidor de miR-29b en diferentes combinaciones.

(B) Ensayo de medición de apoptosis celular en células rMC-1 bajo condiciones de alta glucosa, con el objetivo de estudiar la interacción entre MIAT y miR-29b, utilizando si-MIAT y el inhibidor de miR-29b en distintas combinaciones [14].

Se concluye, por tanto, en este estudio experimental que MIAT no solo se encuentra sobreexpresada en RD, sino que su inhibición con siARN reduce de forma significativa la apoptosis celular en retina. Además, MIAT establece una conexión funcional con miR-29b y SP1, sugiriendo que la regulación de este eje molecular podría ser una estrategia terapéutica eficaz. Por tanto, MIAT representa una diana válida y modulable mediante terapias basadas en ARN, especialmente relevante en RDP [14].

4.1.2 Regulación de VEGFA por el eje MIAT/miR-150-5p en la angiogénesis proliferativa retiniana

El ncARN MIAT no solo participa en la regulación de la apoptosis, sino que también actúa como un regulador directo de la angiogénesis patológica, fenómeno central en la RDP. Se demostró experimentalmente que MIAT ejerce su función angiogénica a través de un mecanismo de ceARN secuestrando a miR-150-5p, un microARN que reprime la expresión de VEGF. Al ser secuestrado, miR-150-5p pierde su capacidad de reprimir VEGF, lo que contribuye a la promoción de la angiogénesis [15].

Como modelo experimental, los autores emplearon ratas Sprague-Dawley inducidas con STZ (60 mg/kg). En el estudio también se emplearon diferentes tipos de cultivos celulares, incluyendo células endoteliales de vena umbilical humana (HUVECs), células endoteliales microvasculares humanas (HMVECs), células de endotelio coroideo de mono rhesus (RF/6A), células del epitelio pigmentario de retina, células ganglionares de retina (RGC-5), células de Müller de rata (rMC-1) y células endoteliales humanas híbridas (EA.hy926). También se incluyeron membranas fibrovasculares de pacientes para validar la interacción entre MIAT-miR-150-5p-VEGF [15].

Para explorar las interacciones moleculares involucradas, se realizaron ensayos de luciferasa, inmunoprecipitación con Ago 2 (proteína que forma parte del complejo RISC transportador de miARN) y RT-qPCR. Además, se llevaron a cabo transfecciones con miR-150-5p mimic (un ARN sintético que imita la función de miR-150-5p) y antagomir (un ARN sintético que inhibe su función), así como con vectores diseñados para el silenciamiento de MIAT (MIATshARN) [15]. También aplicaron la técnica de FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*), que permite visualizar directamente dónde se localiza el ARN dentro de las células. Como resultado, la expresión de MIAT mostró un aumento progresivo en retinas de humanos y ratas diabéticas entre 1 y 7 semanas respecto al grupo no diabético. Se observó una diferencia significativa en la expresión de MIAT, especialmente en la capa de células ganglionares de la retina, en comparación con las otras capas (Figura 10) [15].

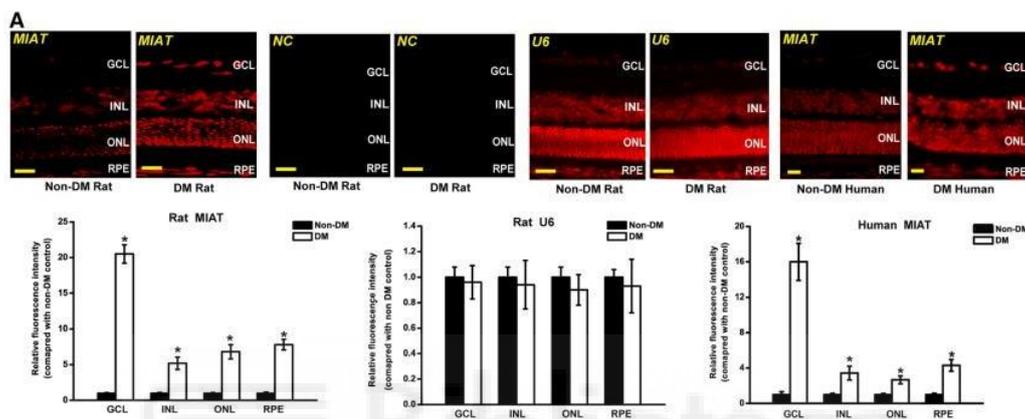


Figura 10. Técnica FISH para evaluar la expresión de MIAT sobre retinas de humanos y ratones control frente a retinas inducidas con diabetes en diferentes capas de la retina. Se empleó sonda de sentido a MIAT como control negativo y sonda para el ARN U6 como control negativo. Además, se comparó la intensidad de la fluorescencia en las muestras de rata y humano con MIAT y U6 frente a los controles no diabéticos [15]

En células RGC-5 en cultivo, en células de epitelio pigmentario RF/6A, y células de Müller expuestas a glucosa alta (30 mM), la expresión de MIAT también se incrementó significativamente entre las 24 y 96 horas, siendo más notorio en la línea celular RF/6A (Figura 11) [15].

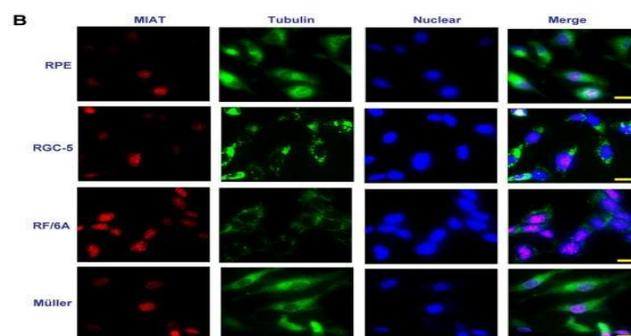


Figura 11. Técnica RNA-FISH en distintos tipos celulares retinianos (donde se observó mayor expresión en RF/6A) para localizar la expresión de MIAT tiñendo núcleos y tubulina como marcadores [15].

Los resultados demostraron que MIAT estaba sobreexpresado significativamente en las capas de la retina donde normalmente se expresa, en retinas de ratas diabéticas (modelo STZ), en células endoteliales humanas cultivadas bajo condiciones de hiperglucemia (30 mM de glucosa) y en membranas fibrovasculares obtenidas de pacientes con RDP, en comparación con los respectivos controles sanos [15].

Se utilizaron técnicas de RT-qPCR para cuantificar el ARN de MIAT en células y tejidos. En el modelo STZ, se observó un patrón de crecimiento progresivo de MIAT a lo largo del tiempo, con mediciones realizadas en diferentes puntos de exposición (0, 2, 4 y 6 meses) (Figura 12C).

Además, se midió también la expresión de MIAT, VEGF y del factor de crecimiento de plaquetas (PDGF) en retinas de ratones db/db (modelo diabético congénito) frente a animales controles. En este caso, también se observó una sobreexpresión de MIAT y VEGF en las retinas de los ratones db/db (Figura 12D). Por último, en las muestras clínicas de pacientes, se detectaron niveles elevados de MIAT en las membranas fibrovasculares de los pacientes con RDP, en comparación con los controles sanos (Figura 12E) [15].

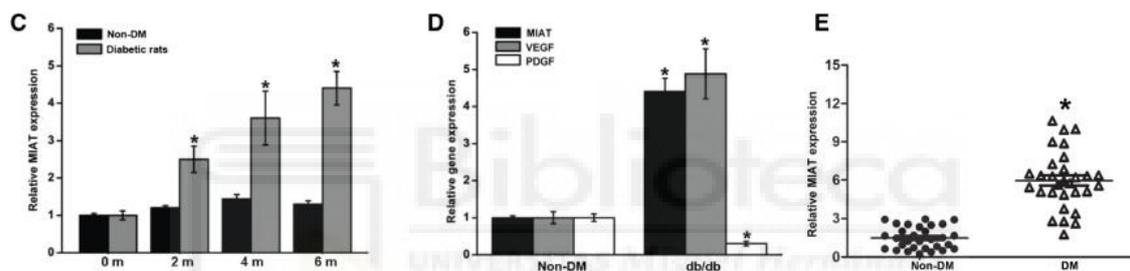


Figura 12. RT-qPCR sobre la expresión de MIAT en ratas diabéticas en distintos meses (C). RT-qPCR de la expresión de MIAT y VEGF en la retina de ratones db/db (D). RT-q PCR de la expresión de MIAT en membranas fibrovasculares de pacientes con diabetes frente a membranas control (E) [15].

Para confirmar la interacción entre MIAT y miR-150-5p se realizaron predicciones bioinformáticas del sitio de unión entre ambos. A continuación, se llevaron a cabo ensayos de doble luciferasa en los que el fragmento del gen MIAT fue clonado y transfectado en células RF/6A. Se emplearon 4 microARN miméticos que podían tener posible interacción con MIAT, pero sólo se observó la reducción significativa de la señal de luciferasa en uno de éstos, en concreto miR-150-5p, corroborando así la unión directa de ambos (Figura 13) [15]

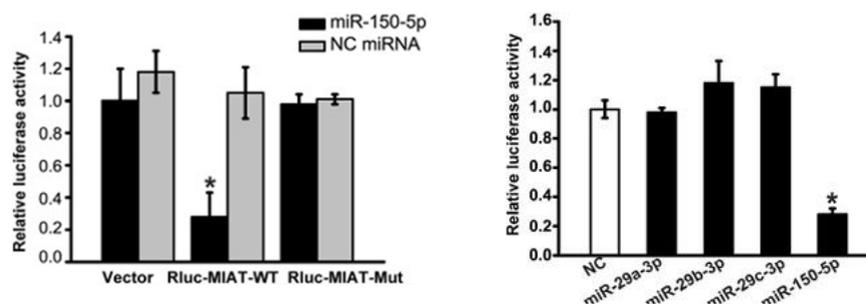


Figura 13. Ensayo de doble luciferasa en células RF/6A utilizando 4 microRNA miméticos observando la reducción de la luciferasa en miR-150-5p [15]

Además, se emplearon ensayos de doble luciferasa para validar la interacción entre miR-150-5p y VEGF, confirmando que este microARN actúa como un represor directo de VEGF. No obstante, cuando MIAT se encontraba sobreexpresado, se observó que era capaz de interferir parcialmente con esta represión, reduciendo así el efecto inhibitor de miR-150-5p sobre VEGF [15].

Con estos resultados, se estableció que MIAT regula negativamente a miR-150-5p, disminuyendo su disponibilidad funcional. Para explorar más a fondo esta relación, se transfectaron células RF/6A con distintas combinaciones y concentraciones de MIAT y miR-150-5p, y se analizó la expresión de VEGF mediante RT-qPCR. Se observó que, cuando ambos (MIAT y miR-150-5p) estaban presentes, los niveles de VEGF aumentaban, aunque no al máximo. Sin embargo, en condiciones donde MIAT no estaba presente, miR-150-5p sí se expresaba plenamente y conseguía inhibir completamente la expresión de VEGF (Figura 14) [15].

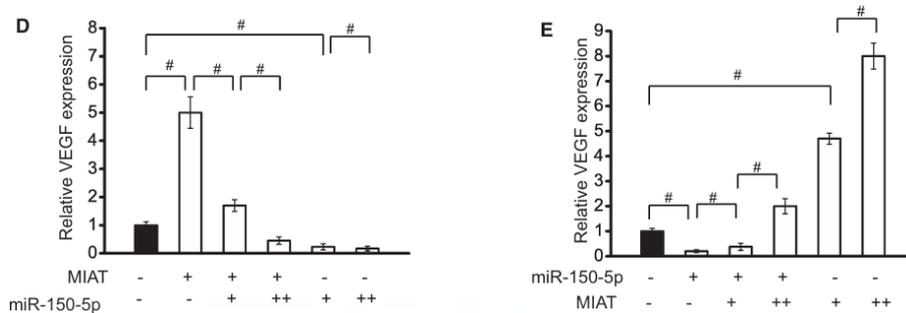


Figura 14. RT-qPCR para medir la expresión de VEGF en células RF/6A probando diferentes combinaciones de MIAT y miR-150-5p [15]

Finalmente, se realizaron ensayos funcionales en células RF/6A para evaluar viabilidad celular, capacidad de migración y formación de tubos con el objetivo de analizar cómo influía la regulación del eje MIAT/miR-150-5p sobre VEGF. Para ello, emplearon ARN miméticos e inhibidores de miR-150-5p y silenciadores de MIAT. Los resultados confirmaron que la sobreexpresión de miR-150-5p tenía un efecto protector ya que contribuía a inhibir la vía VEGF (Figura 15) [16].

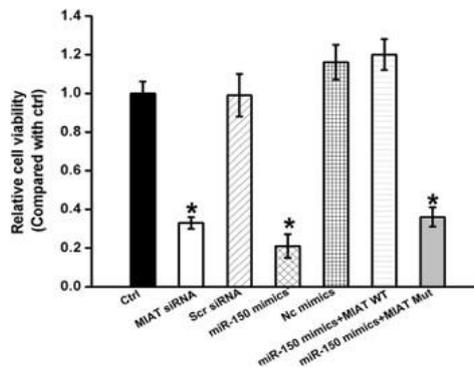


Figura 15. Ensayo MTT de viabilidad celular en células RF/6A empleando controles, ARN silenciadores y miméticos de mi-150-5p y mutantes de MIAT [15].

En conjunto, se demostró que el lncARN MIAT se encontraba significativamente sobreexpresado tanto en retinas diabéticas como en células endoteliales tratadas expuestas a condiciones hiperglucémicas.

Además se observó que su inhibición genética de MIAT atenuaba el deterioro microvascular retiniano inducido por la diabetes mellitus. Por tanto, la reducción de la expresión de MIAT podría aportar beneficios terapéuticos frente a las complicaciones microvasculares asociadas a esta enfermedad [15].

En conclusión, MIAT funciona como ceARN, actuando como esponja molecular (proceso por el cual MIAT se une físicamente a los microARN impidiendo que éstos puedan unirse a los ARN mensajero diana, conocido como mecanismo de esponjamiento) al unirse a miR-150-5p, favoreciendo la expresión de VEGF. Este eje regulador resulta clave en la disfunción endotelial bajo estrés, y posiciona a MIAT como una posible diana terapéutica en enfermedades neovasculares como la RDP.

4.2 El lncRNA MEG3 como supresor molecular y marcador genético en la RDP

4.2.1 Asociación del polimorfismo rs7158663 del gen MEG3 con menor riesgo de RDP

El papel de los polimorfismos en genes no codificantes como MEG3 (*Maternally Expressed Gene 3*) ha cobrado especial interés como ARN protector en las enfermedades microvasculares crónicas, como la RDP. En este contexto, el estudio realizado por Brondani et al. (2024) investigó la relación entre el polimorfismo rs7158663 A/G del gen MEG3 y la susceptibilidad a desarrollar RD, con especial énfasis en la forma proliferativa, en una cohorte brasileña de pacientes con diabetes tipo 2 [16].

Se realizó un estudio control-multicéntrico en el que se incluyeron 1009 pacientes con diabetes tipo 2, 628 con diagnóstico confirmado en RD en los cuales 345 con RDNP y 283 con RDP y 381 pacientes con signos de RD tras más de 10 años de evolución diabética (controles) [16].

A continuación, el genotipo del polimorfismo rs7158663 A/G del gen MEG3 fue determinado a partir de ADN genómico extraído de leucocitos de sangre periférica, empleando la técnica de PCR en tiempo real con sondas TaqMan. Posteriormente, los genotipos fueron analizados bajo distintos modelos de herencia (dominante y recesivo) y se aplicaron análisis estadísticos multivariantes ajustados por variables clínicas relevantes, tales como edad, sexo, índice de masa corporal (IMC), hipertensión arterial y nefropatía diabética, con el fin de controlar posibles factores de confusión y obtener asociaciones más precisas.

En el análisis de asociación entre el polimorfismo rs7158663 del gen MEG3 y la presencia de retinopatía diabética (RD), se observó que la frecuencia del alelo G fue significativamente menor en pacientes con RD (41,8%) en comparación con los controles sin retinopatía (47,2%) ($p = 0,017$). De forma similar, el genotipo G/G se encontró con menor frecuencia en el grupo con RD (17,5%) frente al grupo control (23,6%) ($p = 0,044$). Tras ajustar por variables clínicas y demográficas, el genotipo G/G se asoció a una menor probabilidad de desarrollar RD, con una odds ratio (OR) ajustada de 0,660 (IC 95%: 0,437–0,998; $p = 0,049$) (Figura 16) [16].

Table 2. Genotype and allele distributions of *MEG3* rs7158663 A/G single-nucleotide polymorphisms in patients with type 2 diabetes mellitus categorized according to the presence (case group) or absence (control group) of diabetic retinopathy

rs7158663	Control group (n = 381)	Case group (n = 628)	P*	Adjusted OR (95% CI) / t P
Genotype				
A/A	111 (29.2)	214 (34.1)	0.044	1
A/G	180 (47.2)	304 (48.4)		0.776 (0.553-1.088)/0.142
G/G	90 (23.6)	110 (17.5)		0.660 (0.437-0.998)/0.049
Dominant model				
A/A	111 (29.1)	214 (34.1)	0.119	1
A/G+G/G	270 (70.9)	414 (65.9)		0.739 (0.538-1.015)/0.062
Recessive model				
A/A+A/G	291 (76.4)	518 (82.5)	0.023	1
G/G	90 (23.6)	110 (17.5)		0.770 (0.538-1.101)/0.152
Additive model				
A/A	111 (55.2)	214 (66.0)	0.017	1
G/G	90 (44.8)	110 (34.0)		0.657 (0.434-0.996)/0.048

Data are shown as frequency (%) or proportion. *P values were calculated using the chi-square test. tP values and odds ratios (95% confidence intervals) were calculated using logistic regression analysis adjusted for sex, age, body mass index, and presence of hypertension and diabetic kidney disease. The control group comprised patients with type 2 diabetes mellitus for over 10 years and without diabetic retinopathy. Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; DR, diabetic retinopathy; y, T2DM, type 2 diabetes mellitus.

Figura 16. Distribución de las frecuencias alélicas del polimorfismo rs7158663 *MEG3* entre el grupo control y los pacientes con retinopatía diabética [16].

Por otro lado, cuando se analizó específicamente la asociación con RDP, el efecto protector del genotipo G/G fue aún más significativo. Su frecuencia fue del 14,8% en pacientes con RDP, frente al 23,6% en controles ($p = 0,008$). En el análisis multivariable, el modelo dominante mostró una OR de 0,641 ($p = 0,036$), el modelo aditivo una OR de 0,540 (IC 95%: 0,308–0,947; $p = 0,031$), y la comparación directa entre genotipos G/G vs. A/A arrojó una OR de 0,551 (IC 95%: 0,314–0,966; $p = 0,038$). En cambio, el modelo recesivo no alcanzó significación estadística (OR = 0,696) (Figura 17) [16].

Table 3. Genotype and allele distributions of *MEG3* rs7158663 A/G single-nucleotide polymorphisms in patients with type 2 diabetes mellitus categorized according to the presence of proliferative diabetic retinopathy versus absence of diabetic retinopathy (controls)

rs7158663	Controls (n = 381)	Patients with PDR (n = 283)	P*	Adjusted OR (95% CI) / t P
Genotype				
A/A	111 (29.2)	105 (37.1)	0.008	1
A/G	180 (47.2)	136 (48.1)		0.681 (0.438-1.058)/0.087
G/G	90 (23.6)	42 (14.8)		0.551 (0.314-0.966)/0.038
A	0.528	0.611	0.002	
G	0.472	0.389		
Dominant model				
A/A	111 (29.1)	105 (37.1)	0.037	1
A/G+G/G	270 (70.9)	178 (62.9)		0.641 (0.423-0.972)/0.036
Recessive model				
A/A+A/G	291 (76.4)	241 (85.2)	0.007	1
G/G	90 (23.6)	42 (14.8)		0.696 (0.425-1.140)/0.150
Additive model				
A/A	111 (55.2)	105 (71.4)	0.002	1
G/G	90 (44.8)	42 (28.6)		0.540 (0.308-0.947)/0.031

Data are shown as frequency (%) or proportion. *P values were calculated using the chi-square test. tP values and odds ratios (95% confidence intervals) were calculated using logistic regression analysis adjusted for sex, age, body mass index, ethnicity, and presence of hypertension and diabetic kidney disease. The control group comprised patients with type 2 diabetes mellitus for over 10 years and without diabetic retinopathy. Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; T2DM, type 2 diabetes mellitus.

Figura 17. Distribución de las frecuencias alélicas del polimorfismo rs7158663 *MEG3* entre el grupo control y los pacientes con retinopatía diabética proliferativa [16].

Concluyendo, los resultados del estudio demuestran una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo G/G del polimorfismo rs7158663 del gen *MEG3* y una menor prevalencia de RDP en pacientes con diabetes tipo 2 ya que fue notablemente menos frecuente este genotipo en los pacientes con RDP respecto a los controles. El estudio propone que el polimorfismo rs7158663 podría influir en la estructura secundaria del ARN no codificante *MEG3*, afectando su interacción con microARNs y, por consiguiente, su capacidad para regular genes implicados en vías clave como angiogenesis, inflamación crónica o apoptosis en células endoteliales [16].

Por tanto, este trabajo presenta una posible diana genética para afrontar la RDP, y sugiere que la activación exógena de MEG3 mediante estrategias basadas en ARN podría convertirse en una herramienta terapéutica efectiva frente a la progresión vascular de la enfermedad. En el siguiente apartado, se analizará, particularmente, el potencial efecto protector de MEG3 en muestras de pacientes con retinopatía diabética.

4.2.2 Regulación funcional de VEGF y TGF- β 1 por MEG3 en condiciones hiperglucémicas

Además de los hallazgos genéticos obtenidos en poblaciones humanas, diversos estudios han demostrado que la lncARN MEG3 ejerce funciones biológicas directas sobre vías moleculares relevantes en la fisiopatología de la retinopatía diabética. El estudio experimental de Zhang et al. (2018) aporta evidencia clara sobre el papel regulador de MEG3 en células del RPE (ARPE-19), enfocándose particularmente en la modulación de los factores VEGF y TGF- β 1 bajo condiciones de hiperglucemia [17].

En este estudio se incluyeron un total de 91 participantes distribuidos en tres grupos: 33 pacientes con RD (15 hombres, 18 mujeres; edad media: $56 \pm 11,3$ años), 28 pacientes diabéticos sin signos de retinopatía (12 hombres, 16 mujeres; edad media: $53 \pm 14,1$ años) y 30 sujetos sanos como grupo control (11 hombres, 19 mujeres; edad media: $54 \pm 13,7$ años). Para la preparación de muestras, se extrajeron 20 mL de sangre en ayunas. Los niveles séricos de VEGF y TGF- β 1 se midieron mediante ELISA. A nivel celular, se emplearon células ARPE-19 humanas del RPE, cultivadas según las recomendaciones del ATCC. Utilizando, por un lado, la línea ARPE-19 con la expresión normal de MEG3 y, por otro lado, la misma línea con sobreexpresión de MEG3. Para inducir la sobreexpresión del lncRNA, se utilizó un vector de expresión pIRSE2-EGFP con cDNA de MEG3, transfectado con Lipofectamina 2000. Se evaluó mediante RT-qPCR la expresión de los genes *MEG3*, *VEGF*, *TGF- β 1*, y mediante Western blot la detección de proteínas VEGF, TGF- β 1 y GAPDH en ambas condiciones [17].

Por un lado, se expusieron las células ARPE-19 a diferentes concentraciones de glucosa (5 mM, 15 mM y 30 mM) durante 48 horas, observándose que la condición de hiperglucemia (30 mM) provocó un aumento significativo en la expresión de VEGF, con niveles más de cinco veces superiores respecto al grupo control (5 mM). De forma paralela, TGF- β 1 mostró un incremento de más de 7 veces a nivel de ARN mensajero y más de 4 veces a nivel proteico (Figura 18A–C). Además, se constató que este tratamiento hiperglucémico produjo una disminución marcada en la expresión de MEG3, y que dicha reducción fue dependiente de la dosis de glucosa aplicada y del tiempo de exposición.

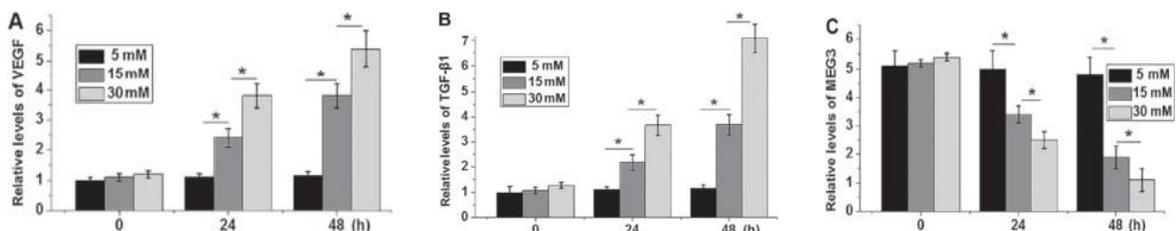


Figura 18. RT-qPCR para medir la expresión de VEGF(A), TGF- β 1(B) y MEG3(C) en células ARPE-19 durante 0, 24 y 48 horas, respectivamente [17].

Por otro lado, cuando se forzó la sobreexpresión de MEG3 en las células ARPE-19 mediante transfección con el vector pIRSE2-EGFP, se volvió a analizar la expresión de VEGF y TGF- β 1. Los resultados mostraron que el aumento de VEGF inducido por la hiperglucemia se redujo significativamente, tanto a nivel de ARN mensajero como a nivel de proteína (Figuras 19 y 20), indicando un efecto regulador directo de MEG3 sobre este factor angiogénico [17].

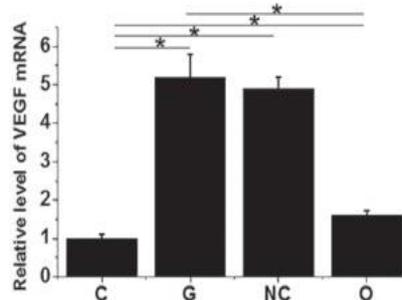


Figura 19. qRT-PCR para medir la expresión de ARNm de VEGF en células ARPE-19 con MEG3 sobreexpresado, siendo C, control, G, 30mM glucosa, NC, control negativo, O, "overexpression"(MEG3 sobreexpresado). [17]

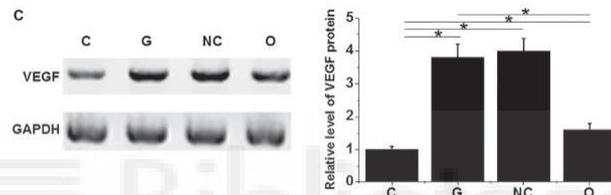


Figura 20. Western blot para medir la expresión de proteína de VEGF en células ARPE-19 con MEG3 sobreexpresado, siendo C, control, G, 30mM glucosa, NC, control negativo, O, "overexpression"(MEG3 sobreexpresado). [17]

Un patrón similar se observó con TGF- β 1, cuya expresión también disminuyó de forma notable en las células ARPE-19 sobreexpresando MEG3. Tanto los análisis de RT-qPCR como los resultados de Western blot confirmaron esta reducción, reforzando la idea de que MEG3 puede actuar como un modulador negativo de rutas implicadas en inflamación y angiogénesis [17].

En conclusión, el estudio demuestra que el lncARN MEG3 se encontró significativamente reducido en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, y que esta disminución se acentúa en presencia de RD. Este descenso se asocia a altos niveles de expresión de VEGF y TGF- β 1 en condiciones de glucosa alta. Sin embargo, la restauración de MEG3 atenúa este efecto, sugiriendo que MEG3 actúa como un regulador negativo de factores angiogénicos e inflamatorios. Por tanto, su modulación puede ofrecer un enfoque terapéutico potencial en la prevención o tratamiento de las complicaciones microvasculares de la diabetes, como la RDP.

4.3 El lncRNA MALAT1 y sus vías como diana terapéutica en la retinopatía diabética proliferativa

4.3.1 MALAT1 como actor clave en la progresión de la retinopatía diabética proliferativa

El lncRNA MALAT1 (*metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1*) ha emergido como un actor clave en la fisiopatología de diversas enfermedades oculares, especialmente en la RDP. Este ncARN, altamente conservado y expresado en múltiples tejidos, desempeña funciones relevantes en procesos celulares como la regulación de la transcripción, la angiogénesis y la inflamación mediante su papel en redes de ceRNA [18].

En el contexto de la RDP, la sobreexpresión de MALAT1 se ha relacionado directamente con la progresión de la enfermedad. En condiciones de hiperglucemia, MALAT1 se encuentra significativamente aumentado en RPE, células endoteliales microvasculares de retina (RMECs) y microglía retiniana. Por lo que, esta sobreexpresión ayuda a contribuir al daño retiniano mediante la inducción de factores inflamatorios como TNF- α , MCP-1 e ICAM-1, y proangiogénicos como VEGF [18].

Estudios han demostrado que la inhibición de MALAT1 mediante siRNA revierte los efectos causados por la hiperglucemia reduciendo el daño oxidativo en las células retinianas. En consecuencia, MALAT1 actúa como esponja molecular de diversos microARNs como miR-124-3p, miR-126-5p, miR-200b-3p y miR-320a, miR-203a-3p, miR-125b y miR-205-5p afectando la expresión de genes clave como *VEGF-A*, *SIRT1* y *HIF-1* [18].

Por tanto, se realizó una revisión crítica de los microARNs regulados por el lncRNA MALAT1 en el contexto de la RDP con el objetivo de identificar cuáles poseían mayor respaldo experimental y funcional en esta fase avanzada de la enfermedad.

En el estudio de Yang y Huang (2025), se identificaron varios miARNs potencialmente implicados en procesos patológicos clave de la RDP, tales como angiogénesis, inflamación, transición epitelio-mesenquimal y proliferación endotelial. No obstante, se seleccionaron tres miARNs como los más relevantes y con mayor grado de evidencia en RDP:

- miR-200b-3p, por su participación directa en la regulación de *VEGF-A* a través del eje YAP–MALAT1–miR-200b-3p, mecanismo estrechamente relacionado con la neovascularización patológica característica de la RDP [19].
- miR-126-5p, por su implicación en la inducción de EMT en células endoteliales retinianas, directamente mediada por MALAT1 actuando como ceARN, durante la fase proliferativa de la enfermedad [18].
- miR-203a-3p, debido a su participación en la proliferación, migración y formación de túbulos capilares en células endoteliales microvasculares de retina humana (HRMECs) bajo condiciones hiperglucémicas, simulando el entorno fisiopatológico de la RDP [18].

Estos tres miARNs no solo presentan interacción funcional con MALAT1, sino que también han sido validados en modelos experimentales directamente relacionados con la RDP, como cultivos de HRMECs y modelos animales de retinopatía inducida [18].

Sin embargo, otros miARNs analizados como miR-124-3p, miR-125b, miR-320a y miR-205-5p mostraron también una relación funcional con MALAT1, especialmente en procesos inflamatorios o angiogénicos generales. Sin embargo, la evidencia directa que los vincule específicamente con la fase proliferativa de la retinopatía diabética es limitada o secundaria. Por tanto, se les considera relevantes de forma complementaria, pero no centrales en esta revisión.

En consecuencia, esta selección permite enfocar el análisis molecular en los miARNs con mayor potencial como dianas terapéuticas específicas para la RDP.

4.3.2 Regulación de VEGFA por el eje MALAT1/miR-200b-3p en la angiogénesis proliferativa retiniana

El lncRNA MALAT1 ha sido implicado en la regulación de la expresión de miR-200b-3p, un microARN que actúa en la vía de inhibición de VEGF, factor crucial para la angiogénesis. En este contexto, el estudio de Han, Tian, Yu y Yu (2019) se centra en la proteína YAP1 (*Yes-associated protein 1*) como regulador que modula la función de las células endoteliales implicada principalmente en la angiogénesis. Por tanto, este estudio propuso que YAP1 puede jugar un papel clave en la RD a través de su regulación sobre MALAT1.

Además, MALAT1 puede actuar como una molécula esponja de miR-200b-3p atrapando y reduciendo su disponibilidad. En condiciones normales, miR-200b-3p inhibe la expresión de VEGFA, potente factor proangiogénico. Sin embargo, en un contexto diabético, miR-200b-3p se encuentra disminuido, lo que favorece la activación de VEGF y la proliferación de vasos sanguíneos anómalos en la retina.

Con base en estos antecedentes, los autores plantearon la hipótesis de que el eje molecular YAP1/MALAT1/miR-200b-3p/VEGFA podría ser un mecanismo clave en el desarrollo de la angiogénesis retiniana en la RD [19].

Respecto al diseño experimental, se empleó un enfoque combinado *in vivo* e *in vitro*, empleando como modelos murinos y cultivos celulares de RMECs. Como modelo *in vivo*, se emplearon 46 ratones C57BL/6J machos, 10 usados como grupo control y 36 tratados con estreptozotocina (45 mg/kg) y dieta alta en grasas para inducir diabetes. Finalmente, 24 de estos se dividieron para ser tratados con vectores plasmídicos de lentivirus, donde 12 se les transfirió con el gen inhibidor de YAP1 (sh-YAP1) y 12 fueron usados como control negativo [19]. Por otro lado, en el modelo *in vitro*, las RMECs fueron cultivadas y expuestas a 30 mM de glucosa para simular las condiciones hiperglucémicas. Posteriormente se realizaron transfecciones con plásmidos portadores de sh-MALAT1, miR-200b-3p mimic, inhibidor de miR-200b-3p, el plásmido para sobreexpresar YAP1 y sus respectivos controles negativos [19].

En primer lugar, mediante RT-qPCR e inmunohistoquímica, se observó una elevación significativa de la expresión de YAP1 en tejido retiniano de ratones con diabetes inducida por estreptozotocina en comparación con los controles sanos. Esto fue confirmado a nivel transcriptómico y proteico (Figura 21 A-C) [19].

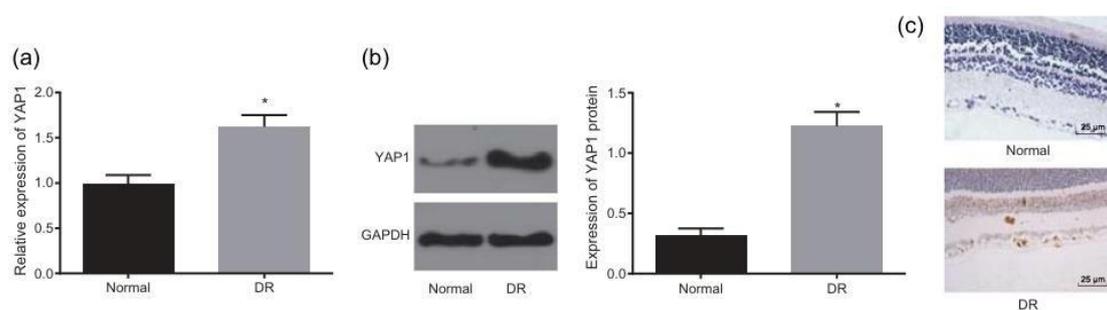


Figura 21. qRT-PCR para detectar expresión de YAP1 (A). Western blot para detectar expresión de YAP1(B). Imagen transversal comparativa de retina diabética y normal. [19]

Además, en cultivos de RMECs expuestas a alta glucosa (30 mM), la inhibición de YAP1 (Figura 22A) mediante el pánsmido sh-YAP1 produjo una disminución significativa en la actividad angiogénica.

En concreto, se observó una disminución de la proliferación celular (medida mediante el ensayo EdU) (Figura 22B), reducción de la migración celular (mediante ensayo Transwell) (Figura 22C) y una inhibición notable en la formación de tubos capilares (ensayo matrigel) (Figura 22D) frente a los grupos controles. Estos resultados evidencian que la inhibición de YAP1 afecta negativamente la capacidad proliferativa y angiogénica de las células [19].

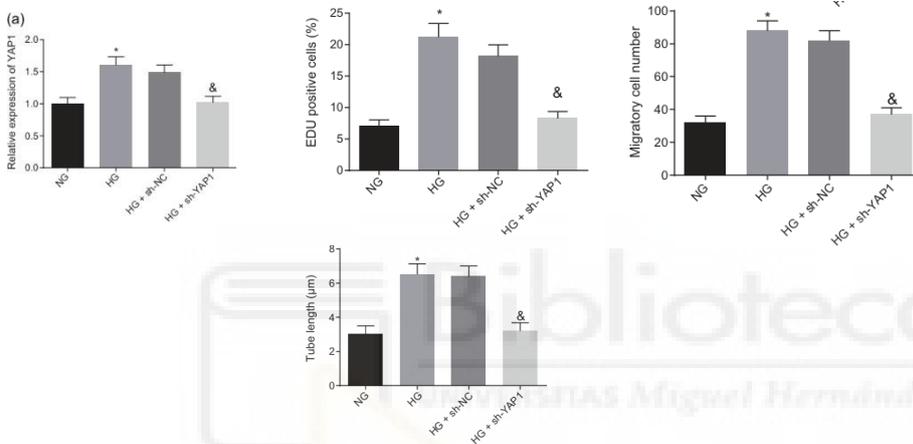


Figura 22. Expresión del ARN de YAP1 a efectos de sh-YAP1 mediante RT-qPCR(A). Ensayo de proliferación celular (medida por EdU) (B). Ensayo de migración (mediante ensayo Transwell) (C). Ensayo de la formación de tubos capilares (ensayo matrigel) (D) frente a los grupos controles. [19]

Se logró identificar una correlación positiva significativa entre YAP1 y MALAT1 en los modelos animales. En concreto, la sobreexpresión de YAP1 incrementó la expresión de MALAT1 medido mediante RT-qPCR. Con estos datos se aplicó un análisis de correlación lineal de Pearson donde se obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0.512$, con un valor de significancia $p = 0.044$, lo que indica una correlación positiva moderada y estadísticamente significativa entre la expresión de YAP1 y MALAT1 (Figura 23B y C) [19].

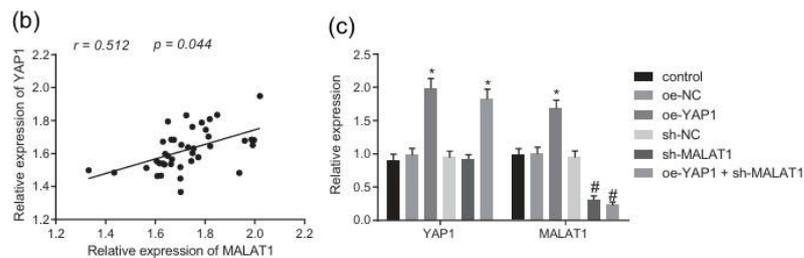


Figura 23. Niveles de expresión de YAP1 y MALAT1 y sus correlaciones (B). Expresiones de MALAT1 y YAP1 en grupos controles y grupos con sh- MALAT y YAP1 (C). [19]

Asimismo, el análisis de RT-qPCR reveló que miR-200b-3p estaba significativamente reducido en retinas de ratones con RD (Figura 24B). Además se evidenció una correlación inversa entre MALAT1 y miR-200b-3p ($r = -0.698$, $p < 0.001$; Figura 24C) lo que sugiere que MALAT1 actúa como ceARN de este microARN. Esta interacción fue validada mediante ensayos de doble luciferasa, que confirmaron la unión directa de miR-200b-3p a MALAT1 (Figura 24D), y mediante ensayos de RNA pull-down con sondas biotiniladas, que reforzaron dicha unión específica (Figura 24E) [19].

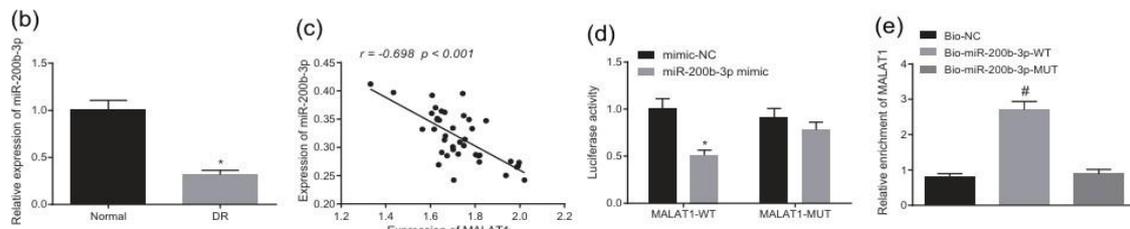


Figura 24. Expresión reducida de miR-200b-3p en tejido retiniano de ratones con RD (RT-qPCR) (B). Correlación negativa entre MALAT1 y miR-200b-3p (C). Ensayo de luciferasa dual confirmando unión MALAT1-miR-200b-3p (D). Ensayo RNA pull-down validando la interacción física (E) [19]

Se confirmó que *VEGFA* era un blanco directo de miR-200b-3p mediante un ensayo de luciferasa dual. Este ensayo utilizó mutantes de *VEGFA* en HRMECs en la región 3'UTR, que es el sitio de posible unión para miR-200b-3p (Figura 25). Este diseño permitió verificar la interacción directa entre ambas moléculas.

En paralelo, se observó que miR-200b-3p se encontraba reducido en los modelos de RD. Además, tanto la sobreexpresión de miR-200b-3p como la inhibición de MALAT1 disminuyeron significativamente la expresión de *VEGFA*, tanto a nivel de ARNm como de proteína [19].

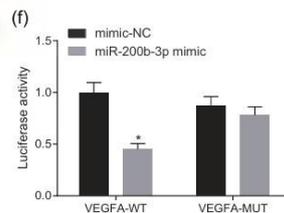


Figura 25. Ensayo de luciferasa dual que demuestra que miR-200b-3p se une directamente a la región 3'UTR de *VEGFA*, reduciendo su expresión [19]

De la misma manera, se estudiaron las posibles correlaciones entre *VEGFA*, miR-200b-3p y MALAT1 comparando sus niveles de expresión. Se encontró una correlación negativa entre miR-200b-3p y *VEGFA* ($r = -0.506$, $p = 0.001$; Figura 26D), y una correlación positiva entre MALAT1 y *VEGFA* ($r = 0.474$, $p = 0.002$; Figura 26E) lo que respalda aún más el papel de MALAT1 como regulador positivo de *VEGFA* al secuestrar a miR-200b-3p [19].

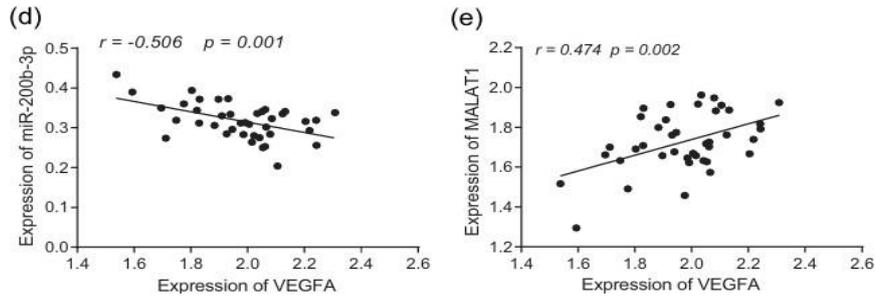


Figura 26. Correlación negativa entre miR-200b-3p y VEGFA en retinas de ratones con retinopatía diabética (D). Correlación positiva entre MALAT1 y VEGFA, indicando que niveles altos de MALAT1 favorecen la expresión de VEGFA (E) [19]

Finalmente, se evaluó el efecto de la inhibición de YAP1 (sh-YAP1) directamente en los ojos de los ratones inducidos con RD mediante inyecciones intravítreas. En ratones con RD no tratados se observó que los núcleos de células endoteliales rompían la membrana limitante interna. Esto se asoció con una arquitectura retiniana desorganizada y claros signos de neovascularización. En contraste, los ratones tratados con sh-YAP1 conservaron la estructura retiniana, mostrando un menor número de núcleos endoteliales atravesando la membrana, confirmando así que la inhibición de YAP 1 frenaba la angiogénesis patológica (Figura 27) [19].

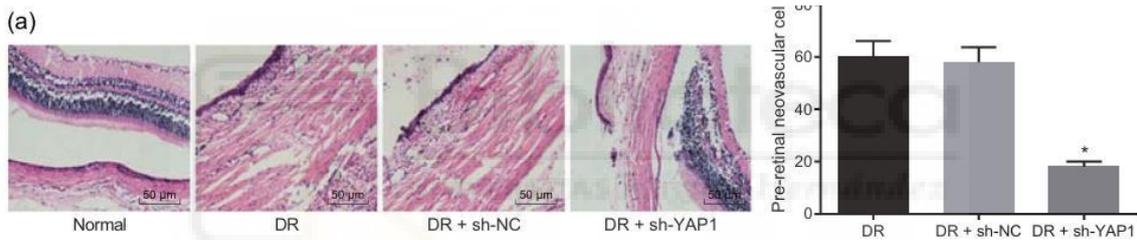
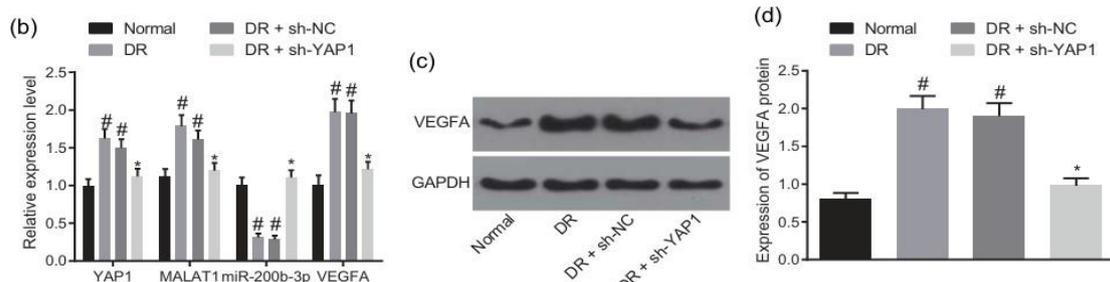


Figura 27. Análisis histológico que mostró que la inhibición de YAP1 disminuye la invasión de núcleos endoteliales a través de la membrana limitante interna en la retina. [19]

Los análisis mediante RT-qPCR y Western blot confirmaron la modulación del eje molecular YAP1/MALAT1/miR-200b-3p/VEGFA tras el tratamiento con el ARN silenciador de YAP1 (sh-YAP1) en retinas de ratones con RD. Se observó una disminución en la expresión de YAP1, MALAT1 y VEGFA, así como un aumento significativo en los niveles de miR-200b-3p (\downarrow YAP1, \downarrow MALAT1, \downarrow VEGFA, \uparrow miR-200b-3p)

Estos resultados indican que la inhibición de YAP1 reduce la transcripción de MALAT1, lo que a su vez libera a miR-200b-3p de su secuestro funcional (esponjamiento) por parte de MALAT1.

Este microARN, una vez disponible, inhibe la expresión de VEGFA, atenuando así la angiogénesis patológica. Por tanto, el estudio propone que YAP1 actúa como regulador positivo de MALAT1, y que este, al bloquear a miR-200b-3p, facilita la sobreexpresión de VEGFA (Fig.



28B–D) [19].

Figura 28. RT-qPCR mostrando disminución de YAP1, MALAT1 y VEGFA, y aumento de miR-200b-3p en retinas tratadas con sh-YAP1 (b). Western blot que confirma la reducción de YAP1 y VEGFA tras inhibición de YAP1(c). Comparación estadística que valida que la modulación del eje YAP1–MALAT1–miR-200b-3p reduce la neovascularización patológica (d) [19].

Finalmente, la interrupción de esta vía molecular, ya sea por medio del silenciamiento de YAP1 o la restauración de los niveles miR-200b-3p, representó un efecto terapéutico significativo suprimiendo la angiogénesis asociada a la retinopatía diabética proliferativa (Figura 29)

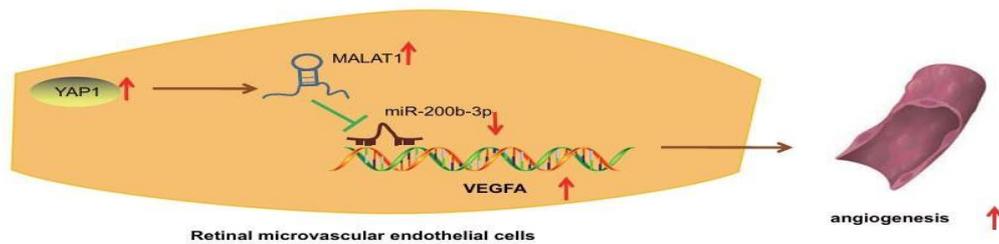


Figura 29. Diagrama esquemático del mecanismo propuesto, donde YAP1 induce MALAT1, que actúa como ceRNA de miR-200b-3p, desinhibiendo la expresión de VEGFA y promoviendo la angiogénesis retiniana [19].

4.3.3 El eje MALAT1/miR-203a-3p/HIF-1 α como modulador de la respuesta angiogénica e hipóxica en RDP

Uno de los microARNs recientemente implicados en la función de MALAT1 como esponja molecular es miR-203a-3p. Su participación en la angiogénesis patológica de la RD fue investigada por Li Yu et al. (2019).

Para ello, se llevó a cabo un análisis *in vivo* similar que con miR-200b-3p, utilizando 30 ratones C57BL/6J con retinopatía inducida por oxígeno (OIR) como modelo de RD, distribuidos en grupo control y OIR. Complementariamente, el modelo *in vitro* empleó HRMECs expuestas a altas concentraciones de glucosa (30 mM de glucosa) [20].

Además, se realizaron transfecciones con siRNA-MALAT1, mimic y antagomir de miR-203a-3p, evaluando la expresión de MALAT1, miR-203a-3p, VEGFA y HIF-1 α mediante RT-qPCR y Western blot. Para evaluar la funcionalidad celular, se llevaron a cabo ensayos de proliferación (MTT), migración (wound-healing) y formación de tubos en Matrigel (angiogénesis), así como un ensayo de luciferasa dual para confirmar la interacción directa entre MALAT1 y miR-203a-3p [20].

Los hallazgos iniciales revelaron que, tanto en las retinas de los ratones OIR como en las células HRMECs, MALAT1, VEGFA y HIF-1 α se encontraban significativamente sobreexpresados. Mientras que miR-203a-3p estaba reducido [20]. Tras esta corroboración, se procedió a analizar cómo estas modulaciones afectan el proceso de la angiogénesis patológica.

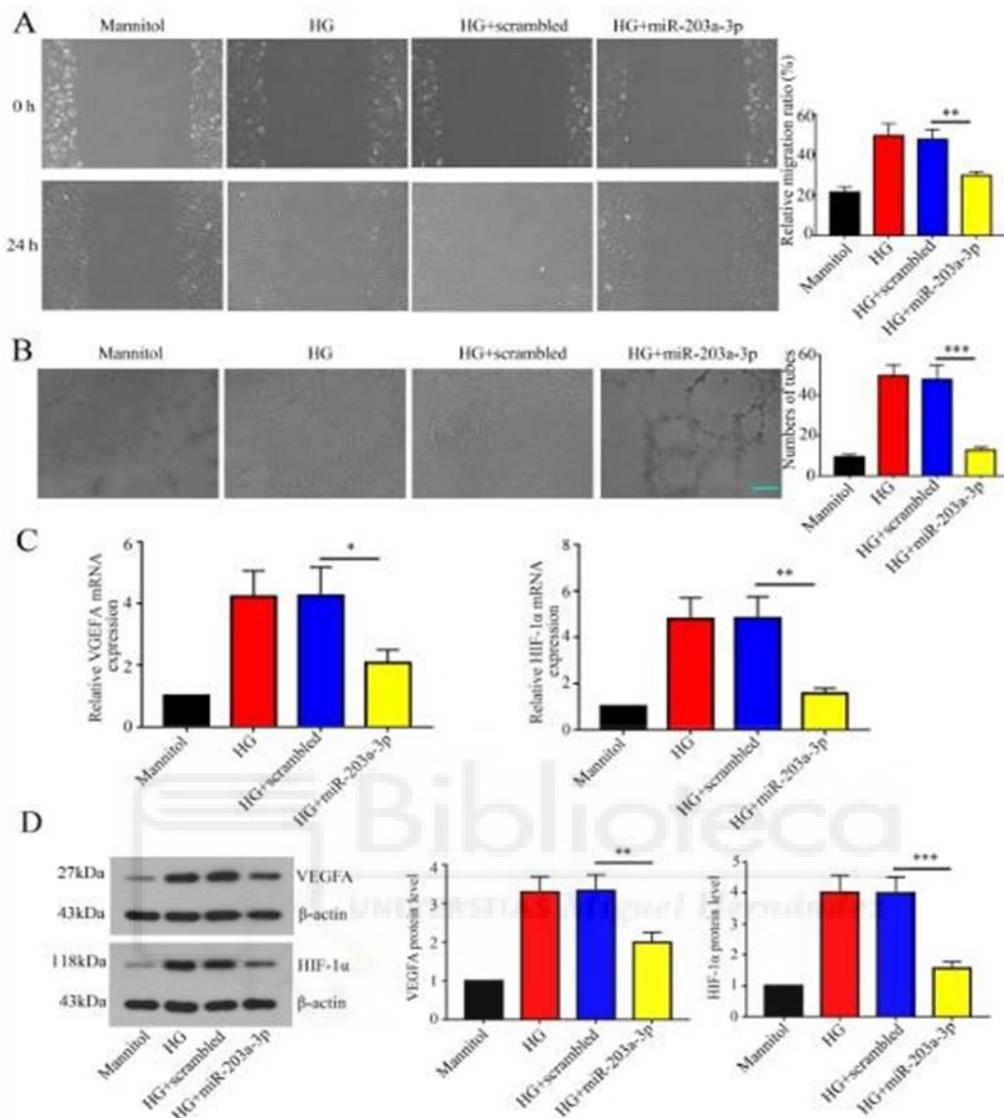


Figura 31. El ensayo de migración celular (wound healing) mostró que la sobreexpresión de miR-203a-3p inhibía la migración de HRMECs bajo condiciones hiperglucémicas (A). El ensayo de formación de tubos en Matrigel revela que miR-203a-3p reducía la capacidad angiogénica de las células endoteliales en glucosa alta (B). RT-qPCR indica que miR-203a-3p disminuía la expresión de VEGFA y HIF-1 α a nivel transcriptómico (C). Western blot que confirmó la reducción de VEGFA y HIF-1 α a nivel proteico tras la sobreexpresión de miR-203a-3p en HRMECs (D) [20].

En conjunto, estos hallazgos consolidaron el eje MALAT1/miR-203a-3p/VEGFA-HIF-1 α como un mecanismo clave en la angiogénesis proliferativa retiniana, y reforzaron la consideración de MALAT1, a través de su inhibición, como una diana terapéutica potencial para el tratamiento de fases avanzadas de la retinopatía diabética.

4.3.4 Interacción entre MALAT1 y miR-126-5p: implicaciones en la migración, proliferación y neovascularización retiniana

Recientemente, se ha descrito que miR-126-5p, un microARN con funciones vasoprotectoras, está implicado en la regulación negativa de factores angiogénicos como *VEGFA*, *MMP-2* y *MMP-9*.

El estudio de Zhao et al. (2023) exploró la hipótesis de que MALAT1 promueve la progresión de la RDP al actuar como una esponja de miR-126-5p, lo que desinhibe la angiogénesis y la migración de células endoteliales retinianas bajo condiciones hiperglucémicas.

Para ello, se estableció un modelo *in vitro* similar a los anteriores descritos, utilizando células endoteliales retinianas de rata (RECs) expuestas a 30 mM de glucosa. Los grupos de estudio incluyeron un control, con glucosa alta sin intervención, un grupo tratado con inhibidor de MALAT1 (sh-MALAT1), un grupo con miR-126-5p mimic, y un grupo con inhibidor para miR-126-5p.

Se emplearon técnicas de RT-qPCR y Western blot para analizar la expresión de genes y proteínas relacionadas con angiogénesis (MALAT1, miR-126-5p, VEGF, MMP-2 y MMP-9). Las funciones celulares se evaluaron mediante ensayos de formación de tubos, migración (scratch) y proliferación (CCK-8). La interacción directa entre MALAT1 y miR-126-5p se confirmó mediante ensayos de luciferasa dual y RNA inmunoprecipitación (RIP) de la misma manera que en los apartados anteriores.

Los resultados iniciales corroboraron que, en condiciones de hiperglucemia, VEGF, MMP-2, MMP-9 y MALAT1 estaban sobreexpresados en las RECs. Además, la inhibición de MALAT1 revirtió el fenotipo proliferativo observado en estas células.

Posteriormente, se validó la interacción de MALAT1 y miR-126-5p. El silenciamiento de MALAT1 incrementó significativamente la expresión de miR-126-5p [21]. Mediante predicción bioinformática, se identificaron sitios de unión de miR-126-5p en MALAT1. Se diseñó un ensayo de luciferasa dual para confirmar la interacción directa entre ambas moléculas, mostrando una disminución de actividad en constructos MALAT1-WT (*Wildtype*) cotransfectados con miR-126-5p, lo que indicó que miR-126-5p se unía efectivamente a MALAT1. En contraste, no se observó ningún efecto en los constructos mutantes (Figura 32C).

Asimismo, el ensayo de inmunoprecipitación (RIP) demostró un enriquecimiento significativo de miR-126-5p en complejos asociados a MALAT1 (Figura 32D) corroborando estas interacciones directas [21].

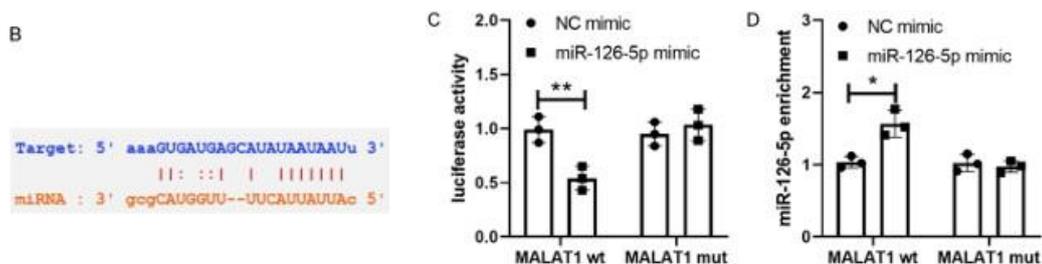


Figura 32. Representación esquemática de la secuencia de unión predicha entre MALAT1 y miR-126-5p, mostrando el emparejamiento específico en la región seed del microARN (B). Ensayo de luciferasa dual que mostró una reducción significativa de la actividad luciferasa al cotransfectar miR-126-5p con MALAT1-WT, mientras que no hay efecto sobre MALAT1-MUT, confirmando la unión directa específica (C). Ensayo RIP (RNA Immunoprecipitation) que demuestra la presencia de miR-126-5p en complejos asociados a MALAT1, validando su interacción en un contexto fisiológico a través del reclutamiento a Ago2 (D)[21].

Además, se demostró que la sobreexpresión de miR-126-5p empleando si-MALAT1 en células endoteliales retinianas (RECs) expuestas a condiciones hiperglucémicas, contrarrestaba el efecto proliferativo, inhibiendo la angiogénesis, la migración y la proliferación celular. El ensayo de formación de tubos capilares reveló que la angiogénesis se redujo significativamente (Figura 33B), mientras que el ensayo de migración (scratch assay) mostró que miR-126-5p inhibió la migración celular inducida por hiperglucemia (Figura 33C). Asimismo, el ensayo CCK-8 indicó que la proliferación celular se redujo al aumentar los niveles de miR-126-5p (Figura 33D). Estos efectos funcionales se correlacionaron con una disminución significativa en la expresión de VEGF, MMP-2 y MMP-9, confirmados mediante Western blot (Figura 33E), lo que sugiere que miR-126-5p actúa como un regulador negativo de estos factores angiogénicos y migratorios [21].

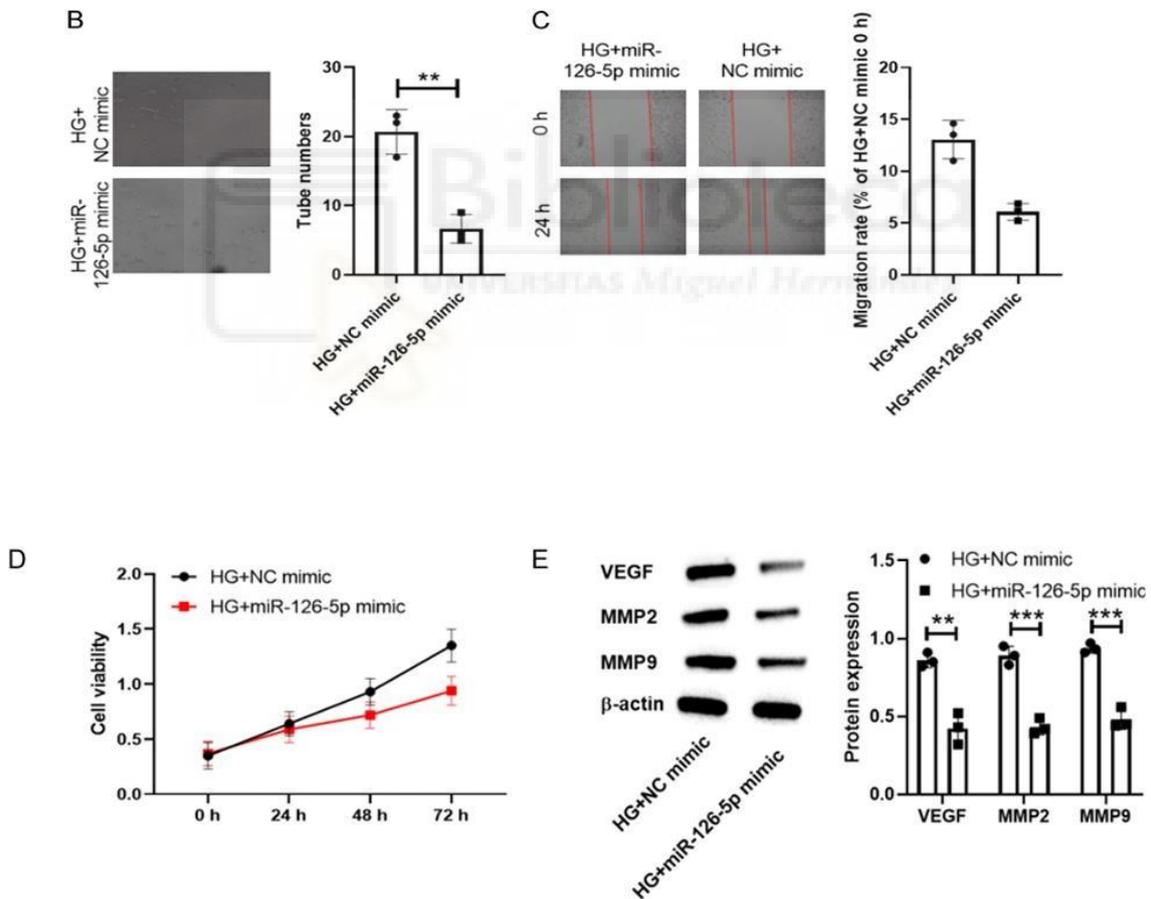


Figura 33. La sobreexpresión de miR-126-5p redujo la angiogénesis en células endoteliales retinianas expuestas a glucosa alta, según el ensayo de formación de tubos (B). El scratch assay mostró una inhibición de la migración celular inducida por hiperglucemia (C). El ensayo CCK-8 reveló una disminución de la proliferación celular al aumentar los niveles de miR-126-5p (D). Western blot confirmó la disminución de VEGFA, MMP-2 y MMP-9, sugiriendo que miR-126-5p regula negativamente estos factores angiogénicos y migratorios (E) [21]

.Por tanto, la sobreexpresión de miR-126-5p o el silenciamiento de MALAT1 atenúan significativamente la proliferación, migración y formación de tubos capilares en células endoteliales retinianas. Esto sugiere que el eje MALAT1/miR-126-5p desempeña un papel clave en la angiogénesis patológica de la RDP. Estos hallazgos proporcionan evidencia de valor clínico, señalando que inhibir MALAT1 o reforzar la expresión de miR-126-5p podría representar una estrategia terapéutica para estudiar el tratamiento futuro de las fases avanzadas de la retinopatía diabética.

5. Discusión

La retinopatía diabética proliferativa (RDP) continúa siendo, hoy en día, una de las principales complicaciones microvasculares derivadas de la diabetes mellitus, y representa un gran desafío tanto a nivel fisiopatológico como terapéutico [5]. En los últimos años, se ha avanzado significativamente en la comprensión de los mecanismos moleculares implicados en la progresión de esta patología, lo que ha abierto nuevas posibilidades en el desarrollo de tratamientos más específicos y dirigidos.

En este trabajo se ha revisado el papel de tres lncARNs (MIAT, MEG3 y MALAT1) que, por distintos mecanismos, participan de forma activa en los procesos patogénicos que caracterizan la progresión de la RDP. Sin embargo, a pesar de describir sus mecanismos individuales, es importante reflexionar sobre cómo estos resultados encajan dentro del panorama terapéutico actual, especialmente si son comparados con los tratamientos disponibles hoy en día.

Actualmente, el tratamiento de elección para la RDP sigue estando centrado en el uso de anticuerpos monoclonales anti-VEGF, como ranibizumab, bevacizumab o aflibercept, administrados mediante inyecciones intravítreas. Estos fármacos han demostrado eficacia en la reducción del edema macular y la regresión parcial de la neovascularización, pero presentan limitaciones claras. Éstos requieren administraciones repetidas, su eficacia es variable entre pacientes y, en algunos casos, la respuesta es incompleta o se desarrolla resistencia al tratamiento. Además, aunque controlan el componente angiogénico, tienen una capacidad limitada para frenar los procesos inflamatorios, oxidativos y neurodegenerativos que también caracterizan a la RDP [7].

Es precisamente en este punto donde los lncARNs analizados en este trabajo adquieren relevancia. Por un lado, tanto MIAT como MALAT1 participan en el control de la expresión de VEGF, pero lo hacen en un nivel regulatorio en etapas más tempranas en la cadena de señalización, es decir, modulando la actividad de microARNs (miR-29b, miR-150-5p, miR-126-5p, entre otros), que actúan sobre múltiples dianas. Esto supone un potencial interesante porque permitiría regular varias rutas patológicas al mismo tiempo, incluyendo no solo la angiogénesis, sino también la inflamación crónica y el daño neuronal, que actualmente quedan desatendidos con los anti-VEGF convencionales.

Por otro lado, MEG3, a diferencia de los anteriores, parece ejercer un efecto protector fisiológico, reduciendo de manera natural la sobreexpresión de VEGF y TGF- β 1. El hallazgo de su asociación genética, especialmente con el polimorfismo rs7158663 G/G, aporta un enfoque farmacogenético interesante, que podría, en un futuro, contribuir a personalizar el tratamiento de los pacientes en función de su perfil genético.

No obstante, aunque los estudios preclínicos revisados aporten datos sólidos y consistentes, todavía existen importantes limitaciones que deben ser reconocidas. En primer lugar, la mayoría

de los trabajos disponibles se han realizado en modelos animales o *in vitro*, lo que dificulta que sean extrapolados directamente a la práctica clínica. En segundo lugar, aunque los mecanismos de esponjamiento descritos son coherentes desde el punto de vista molecular, queda por tener claro si mantienen la misma relevancia en el tejido humano *in vivo*. Además, los aspectos relacionados con la administración de terapias basadas en ARN (vehículos, biodisponibilidad, estabilidad, toxicidad, efectos off-target) son todavía desafíos técnicos no resueltos.

Pese a ello, es indudable que la modulación de lncARNs abre un nuevo campo en el abordaje de la RDP. La posibilidad de desarrollar tratamientos que actúen de forma más específica, dirigiéndose no sólo a VEGF sino a todo el microentorno retiniano alterado, resulta un enfoque atractivo que merece seguir siendo investigado.

Finalmente, no podemos olvidar que este trabajo es una revisión bibliográfica, por lo que está condicionado por la cantidad y calidad de los estudios existentes en la literatura al momento de realizar la búsqueda. La falta actual de ensayos clínicos centrados en lncARNs en oftalmología y concretamente, sobre la RDP, limita todavía su aplicabilidad real, aunque ofrece a la vez un campo abierto de investigación futura.

6. Conclusión

En esta revisión se han abordado de forma estructurada y crítica el papel de los ARN largos no codificantes en la fisiopatología de la RDP. A través del análisis de artículos experimentales, genéticos y de revisión, se ha evidenciado que estos lncARNs no son simples marcadores epigenéticos, sino actores funcionales activos en procesos clave como la angiogénesis, la inflamación crónica, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo en retina. Por tanto, los datos recopilados permiten concluir que:

- MIAT contribuye directamente a la progresión de la RDP a través de la modulación negativa de microARNs como miR-29b y miR-150-5p, favoreciendo la sobreexpresión de genes proangiogénicos como VEGF y factores proinflamatorios como SP1.
- MEG3, por el contrario, presenta una función protectora, ya sea por su capacidad de reducir VEGF y TGF- β 1 en condiciones de hiperglucemia o por su asociación genética con menor riesgo de RDP, como se ha observado con el genotipo G/G del polimorfismo rs7158663.
- MALAT1 actúa como una diana terapéutica central, al interactuar con múltiples microARNs (miR-126-5p, miR-203a-3p, miR-200b-3p, entre otros) y activar vías que promueven la angiogénesis, la migración celular y la inflamación retiniana. Su inhibición ha demostrado beneficios terapéuticos significativos en modelos experimentales.

Estos hallazgos no solo amplían la comprensión de los mecanismos moleculares implicados en la progresión de la RDP, sino que también abren la puerta al desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en ARN, capaces de modular estos lncARNs de forma específica pudiendo desarrollar intervenciones dirigidas. A pesar de los avances, se requiere investigación adicional, especialmente en modelos humanos y estudios clínicos, para validar la seguridad, eficacia y viabilidad de estas intervenciones.

En conjunto, el desarrollo en este trabajo respalda el potencial de los lncARNs como dianas terapéuticas innovadoras y plantea una base sólida para futuras investigaciones orientadas a la medicina personalizada y molecular en oftalmología.

Bibliografía:

1. Arden, G. B., & Ramsey, D. J. (2024). Diabetic retinopathy and its treatment. In H. Kolb, E. Fernandez, B. Jones, & R. Nelson (Eds.), *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. University of Utah Health Sciences Center. <http://webvision.med.utah.edu/>
2. Jones, B. W., Marc, R. E., & Pfeiffer, R. L. (2016). Retinal degeneration, remodeling and plasticity. In *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. University of Utah Health Sciences Center.
3. Kolb, H. (2024). Gross anatomy of the eye & Simple anatomy of the retina. In *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. University of Utah Health Sciences Center.
4. Koplin, R. S., Ritterband, D. C., Schorr, E., Seedor, J. A., & Wu, E. (2020). *The Scrub's Bible: How to Assist at Cataract and Corneal Surgery with a Primer on the Anatomy of the Human Eye and Self Assessment* (2nd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-44345-0>
5. Morya, A. K., Ramesh, P. V., Nishant, P., Kaur, K., Gurnani, B., Heda, A., & Salodia, S. (2024). Diabetic retinopathy: A review on its pathophysiology and novel treatment modalities. *World Journal of Methodology*, 14(4), 95881. <https://doi.org/10.5662/wjm.v14.i4.95881>
6. Tenorio, G., & Ramírez-Sánchez, V. (2010). Retinopatía diabética: conceptos actuales. *Revista Médica del Hospital General de México*, 73(3), 193–201.
7. Raman, R., Ramasamy, K., & Shah, U. (2022). A paradigm shift in the management approaches of proliferative diabetic retinopathy: Role of anti-VEGF therapy. *Clinical Ophthalmology*, 16, 3005–3017. <https://doi.org/10.2147/OPHT.S374165>
8. Zhang, B., Zhou, Z., Zhang, B., & Wang, D. (2021). Efficacy and safety of various treatments for proliferative diabetic retinopathy: A systematic review and network meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 709501. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.709501>
9. García Vázquez, R., Gallego Pinazo, R., & Pons Vázquez, S. (2014). Fotocoagulación panretiniana. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, 89(10), 412–420. <https://doi.org/10.1016/j.oftal.2014.02.007>
10. Wang, W., Lo, A. C. Y., Di, Y., & Ng, T. K. (2022). Non-coding RNAs are promising therapeutic targets for diabetic retinopathy: An updated overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7713. <https://doi.org/10.3390/ijms23147713>
11. Cataldi, S., Vancheri, C., Fabrizi, C., & Balzamino, B. O. (2022). Long non-coding RNAs: New players in diabetic retinopathy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 150, 112982. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112982>
12. Song, J., & Kim, Y. K. (2021). Targeting non-coding RNAs for the treatment of retinal diseases. *Molecular Therapy – Nucleic Acids*, 24, 284–298. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2021.02.031>
13. Smit-McBride, Z., & Morse, L. S. (2021). MicroRNA and diabetic retinopathy—biomarkers and novel therapeutics. *Annals of Translational Medicine*, 9(15), 1280. <https://doi.org/10.21037/atm-20-5189>
14. Zhang, J., Chen, M., Chen, J., Lin, S., Cai, D., Chen, C., & Chen, Z. (2017). Long non-coding RNA MIAT acts as a biomarker in diabetic retinopathy by absorbing miR-29b and regulating cell apoptosis. *Bioscience Reports*, 37(2), BSR20170036. <https://doi.org/10.1042/BSR20170036>
15. Yan, B., Yao, J., Liu, J., Li, X., Wang, X., Li, Y., Tao, Z., Song, Y., Chen, Q., & Jiang, Q. (2015). LncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circulation Research*, 116(7), 1143–1156. <https://doi.org/10.1161/circresaha.116.305510>

16. De Almeida Brondani, L., Dandolini, I., Girardi, E., Canani, L. H., Crispim, D., & Dieter, C. (2024). Association between the G/G genotype of the lncRNA MEG3 rs7158663 polymorphism and proliferative diabetic retinopathy. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 68. <https://doi.org/10.20945/2359-4292-2024-0024>
17. Zhang, D., Qin, H., Leng, Y., Li, X., Zhang, L., Bai, D., Meng, Y., & Wang, J. (2018). LncRNA MEG3 overexpression inhibits the development of diabetic retinopathy by regulating TGF- β 1 and VEGF. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16(3), 2337–2342. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6451>
18. Yang, G., & Huang, X. (2025). LncRNA MALAT1's role in the development of retinopathy: A review. *Medicine*, 104(12), e41954. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000041954>
19. Han, N., Tian, W., Yu, N., & Yu, L. (2019). YAP1 is required for the angiogenesis in retinal microvascular endothelial cells via the inhibition of MALAT1-mediated miR-200b-3p in high glucose-induced diabetic retinopathy. *Journal of Cellular Physiology*, 234(12), 23405–23417. <https://doi.org/10.1002/jcp.29047>
20. Yu, L., Fu, J., Yu, N., Wu, Y., & Han, N. (2019). Long noncoding RNA MALAT1 participates in the pathological angiogenesis of diabetic retinopathy in an oxygen-induced retinopathy mouse model by sponging miR-203a-3p. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 98(4), 219–227. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2019-0489>
21. Zhao, W., Liu, Y., Li, C., Yin, Z., Liu, Y., & An, M. (2023). Mechanisms of MALAT1 regulating proliferative diabetic retinopathy via targeting miR-126-5p. *PubMed*, 15(5), 3279–3289. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37303661>

