

Novos conceitos em retinopatia diabética: dano neurológico versus dano vascular

New concepts on diabetic retinopathy: neural versus vascular damage

Pedro Durães Serrarbassa¹
Alana Ferreira Gomes Dias²
Marcio Fragoso Vieira³

RESUMO

A retinopatia diabética é a principal causa de cegueira legal irreversível em adultos na idade produtiva. Estima-se que o número de pessoas com risco de desenvolver perda de visão decorrente do diabetes dobre nos próximos 30 anos. Alguns estudos sugerem que alterações neurodegenerativas ocorram antes do comprometimento vascular. Essas alterações incluem aumento da apoptose neural, reatividade de células gliais, ativação microglial e metabolismo alterado do glutamato, e podem explicar algumas das deficiências funcionais que ocorrem logo após o início do diabetes, como alterações precoces no eletrorretinograma. O presente artigo de revisão visa apresentar evidências atuais que apontem a neurodegeneração como possível evento inicial da retinopatia diabética.

Descritores: Retinopatia diabética/etiologia; Degeneração neural; Doenças vasculares; Apoptose; Visão/fisiologia

INTRODUÇÃO

A retinopatia diabética (RD) é uma complicação comum do diabetes e está presente, em algum nível nas pessoas com mais de 15 anos de evolução da doença⁽¹⁾. É considerada a principal causa de cegueira legal em adultos na idade produtiva⁽²⁾. Estima-se que o número de pessoas com risco de desenvolver perda de visão decorrente do diabetes dobre nos próximos 30 anos⁽³⁾.

Um dos sinais clínicos mais precocemente detectáveis na RD é o aumento da permeabilidade vascular, devido à quebra da barreira hemato-retiniana, que causa o edema macular⁽⁴⁾. Seguem-se, mais tardiamente, microaneurismas, exsudatos e, finalmente, proliferação vascular⁽⁵⁾. Desses achados clínicos, o edema macular é o mais correlacionado com o grau de perda visual⁽⁶⁾.

Apesar da maioria das pesquisas estarem centradas nas mudanças vasculares⁽⁷⁾, principalmente no fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), está se tornando mais evidente que outras mudanças degenerativas ocorram além das células vasculares da retina. Estas mudanças incluem: aumento da apoptose, reatividade das células gliais, ativação microglial e alteração do metabolismo do glutamato. Quando ocorrem juntas, podem ser consideradas como neurodegenerativas e poderiam explicar algumas das deficiências funcionais na visão que ocorrem logo após o início do diabetes⁽²⁾.

Progressos nessa área requerem uma nova perspectiva sobre a gênese da retinopatia diabética, que incluem os papéis da retina neural, da ação deficiente da insulina e da resposta inflamatória⁽⁸⁾. Este artigo de revisão procura demonstrar, através de teorias baseadas na anatomia e fisiologia da retina, que as alterações metabólicas do diabetes levam a um dano neural que precede as alterações vasculares.

Trabalho realizado no Setor de Retina e Vítreo do Departamento de Oftalmologia do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo (SP).

¹ Doutor em Medicina pela Universidade de São Paulo - USP - São Paulo (SP) - Brasil; Médico assistente do Setor de Retina e Vítreo do Departamento de Oftalmologia do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo - HSPE - São Paulo (SP) - Brasil.

² Médica estagiária do Setor de Retina e Vítreo do Departamento de Oftalmologia do HSPE - São Paulo (SP) - Brasil.

³ Médico pós-graduando da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - São Paulo (SP) - Brasil.

Endereço para correspondência: Pedro Durães Serrarbassa, Avenida Brigadeiro Faria Lima, 1.903 Cj. 43 - São Paulo (SP) CEP 01452-001
E-mail: serracar@brfree.com.br

Recebido para publicação em 22.05.2007

Última versão recebida em 02.12.2007

Aprovação em 07.12.2007

Fisiologia da retina

A visão normal depende de uma comunicação intacta entre as células neuronais, gliais, microgliais, vasculares e o epitélio pigmentado da retina. As funções fundamentais da retina são: captar fótons; converter a energia fotoquímica em energia elétrica; integrar os potenciais de ação resultantes e transmiti-los para o lobo occipital do cérebro, onde eles são decifrados e interpretados em imagens reconhecíveis. A retina é separada da circulação sistêmica pelas barreiras hemato-retiniana e hemato-aquosa e recebe seus suprimentos nutricionais das circulações retiniana e coroidal, e talvez do corpo ciliar por difusão através do vítreo⁽⁹⁾.

A arquitetura celular lamelar da retina possui camadas alternantes de neurônios (camadas nucleares interna e externa e camadas de células ganglionares), interposta com duas camadas plexiformes, onde ocorre a comunicação neuronal a nível de sinapses entre dendritos e entre dendritos e axônios. A retina inclui cinco maiores tipos de células responsáveis pelas funções sensorial, regulatória, nutricional e imunomoduladora. Os neurônios (fotorreceptores, células bipolares, horizontais, amácrinas e ganglionares) desempenham funções sensoriais e definem a percepção de cor, resolução espacial e discriminação de contraste⁽¹⁰⁾.

As células de Müller e astrócitos, dois tipos de células gliais, provêem suporte nutricional e regulatório para os neurônios. As células de Müller cruzam a retina desde o epitélio pigmentado até a membrana limitante interna. Juntamente com os astrócitos, convertem substratos, incluindo lactato e aminoácidos, da circulação para os neurônios, regulam as propriedades da barreira hemato-retiniana⁽¹¹⁾ além da função sináptica⁽¹²⁾. As células de Müller também armazenam glicogênio para conversão em lactato, sintetizam ácido retinóico do retinol, regulam a concentração de íons extracelular para modular a polarização/despolarização da membrana plasmática, participam com os neurônios no ciclo glutamato-glutamina para controlar a neurotransmissão, e protegem os neurônios da excitotoxicidade do glutamato⁽¹³⁾. As células gliais formam a interface entre os neurônios e a vascularização e são os reguladores chave da nutrição neuronal e do metabolismo⁽⁸⁾.

A camada de células do epitélio pigmentado serve também como um condutor seletivo de substrato como a barreira hemato-retiniana externa e permite a difusão de oxigênio da coróide para a retina externa. Remove o ácido láctico da retina e fagocita o segmento externo dos fotorreceptores, constitui a barreira hemato-retiniana externa, absorve luz, secreta fatores tróficos como o fator derivado do epitélio pigmentar, e, em conjunto com os fotorreceptores, participam do ciclo da vitamina A⁽¹⁴⁾.

As funções imunomoduladoras são desempenhadas pela quarta classe de células, a microglia. Elas são uma população heterogênea de macrófagos residentes que monitoram o ambiente local pela interação com neurônios, glia e endotélio das células e reagem ao estresse causado por infecção, trauma ou descolamento da retina, por liberação de citocinas pró-inflamatórias⁽¹⁵⁾ e removem células apoptóticas ou necróticas atra-

vés de fagocitose⁽¹⁶⁾. As células gliais tornam-se ativadas e ajudam a resolver a injúria local⁽¹⁷⁻¹⁸⁾.

A quinta classe de células inclui as células vasculares endoteliais e pericitos. Elas dão suporte nutricional e removem produtos indesejáveis enviados para dentro da retina e têm sido o foco de muitas pesquisas em RD. É provável que a sua função dependa de sinais ainda não definidos da retina neural. Vasos sanguíneos são as únicas estruturas visíveis ao exame clínico, pois eles carregam eritrócitos contendo um pigmento visível (hemoglobina)⁽¹⁹⁾. Apesar de sua aparência proeminente pelo exame clínico, a vascularização constitui menos de 5% da massa retiniana, logo a retina é um tecido predominantemente neural vascularizado⁽¹⁹⁾.

Fisiopatologia do dano neural na retinopatia diabética

Para entender como a fisiologia retiniana pode predispor ao dano causado pelo diabetes, salientam-se três pontos principais: primeiro, os axônios da retina não possuem bainha de mielina, uma vez que a mielina é opaca e bloqueia a transmissão luminosa. Nervos não-mielinizados necessitam de mais energia para manterem seus potenciais de membranas⁽²⁰⁾; segundo, a quantidade dos vasos sanguíneos que poderiam absorver luz é relativamente baixa, logo, os vasos da retina interna são relativamente hipóxicos ($pO_2 \sim 25$ mm)⁽²¹⁾; e terceiro, a retina interna possui menos mitocôndrias que as camadas mais externas⁽²²⁾. Apesar da sua escassa vascularização, a retina é um dos tecidos de maior demanda metabólica. Para obter a energia suficiente para o seu bom funcionamento em um meio tão inóspito, a retina interna utiliza-se basicamente da glicólise, um meio menos eficiente de gerar ATP do que a fosforilação oxidativa. Esta combinação de alta demanda metabólica e mínimo suprimento vascular pode limitar a habilidade da retina interna de se adaptar frente ao estresse metabólico do diabetes⁽⁸⁾.

Alterações funcionais na retinopatia diabética

Enquanto a maioria dos estudos tem dado ênfase às mudanças na vascularização da retina na RD, surgem evidências de que a função retiniana é alterada logo após o início do diabetes. Mudanças funcionais podem ser identificadas antes do desenvolvimento da patologia vascular, sugerindo que elas são decorrentes de um efeito direto do diabetes na retina neural ao invés de serem secundárias a quebra da barreira hemato-retiniana⁽²³⁾.

Embora alterações microvasculares sejam inegavelmente integrantes da retinopatia, a retina é um tecido neural vascularizado, e não uma rede de vasos sanguíneos. Estudos histopatológicos demonstraram a perda de neurônios na RD há mais de 40 anos⁽²⁴⁻²⁵⁾. Desde então, vários relatos usando eletrorretinografia (ERG), adaptação ao escuro, sensibilidade ao contraste e teste de visão de cores têm demonstrado que a função neuroretiniana é comprometida antes do início das lesões vasculares⁽²⁶⁻³⁰⁾. Outro estudo mostrou que a perda dos potenciais oscilatórios no ERG prediz o início da retinopatia proli-

ferativa (RP) melhor que lesões vasculares vistas nas fotografias da retina ou áreas de não-perfusão capilar observadas na angiografia fluoresceínica (AGF)⁽³¹⁾. Estudo recente, usando teste de campo visual modificado (perimetria de ondas curtas e de dupla frequência), revelou defeitos de campo nos pacientes diabéticos com pouca ou nenhuma retinopatia vascular⁽³²⁾. Autores citam ainda que o campo visual prediz a gravidade da retinopatia diabética de forma mais fidedigna que a acuidade visual (AV)⁽³³⁾. Esses achados sugerem que testes funcionais seriam indicadores mais sensíveis da integridade retiniana que fotografias da retina ou tomografia de coerência óptica (OCT).

Inflamação na retinopatia diabética

A inflamação é um componente de muitas doenças, incluindo degenerações retinianas primárias, resistência a insulina e diabetes⁽³⁴⁾. A inflamação crônica é caracterizada por aumento da permeabilidade vascular, edema, infiltração celular, liberação de citocinas, destruição tissular, neovascularização e tentativa de reparo. A RD exibe a maioria destas alterações. A microglia está intimamente associada com neurônios que exprimem moléculas que regulam negativamente a ativação microglial através de seus respectivos receptores. Logo, uma alteração dessa regulação durante o estresse poderia ativar a microglia para produzir citocinas inflamatórias⁽³⁵⁾. A microglia ativada produz substâncias que induzem a adesão de moléculas, as quais podem promover o acúmulo de neutrófilos no endotélio induzindo o extravasamento de macrófagos⁽³⁶⁾.

Os processos fisiológicos de reparo que auxiliam as células retinianas a sobreviverem ao estresse incluem a liberação aumentada de diversos fatores de crescimento e citocinas, incluindo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), IGF-1, interleucina-1 e fator de necrose tumoral (TNF). Estas proteínas, que têm sido implicadas no desenvolvimento da RD, também provêm funções neurotróficas para apoiar a sobrevivência das células da retina⁽³⁷⁻³⁹⁾. O aumento da liberação de citocinas pode servir a uma função adaptativa para manter a função neuronal mas, ao mesmo tempo, torna-se mal adaptativa, com dano vascular progressivo, finalmente resultando em edema macular e neovascularização. Deste modo, este ciclo vicioso perpetua tanto o dano vascular como o neural e culmina nas características clínicas da RD⁽⁸⁾.

Apoptose na retinopatia diabética

Mesmo antes do surgimento do conceito de apoptose, estudos já demonstravam corpos picnóticos em cortes histológicos da retina de pessoas com diabetes⁽²⁴⁻²⁵⁾. Diversos ensaios sugerem que o diabetes causa uma perda crônica de neurônios da retina interna pelo aumento da frequência de apoptose⁽⁴⁰⁻⁴²⁾. A evidência histológica de apoptose é também embasada por um pequeno número de estudos bioquímicos, os quais demonstram que a expressão de Bax (BCL-2 associate X protein) proteína pró-apoptótica que está associada às doenças degenerativas em geral e caspases (enzimas envolvi-

das na apoptose) estão aumentadas em retinas de ratos diabéticos⁽⁴³⁻⁴⁴⁾. Portanto, o aumento na apoptose dentro da retina interna é um componente da RD.

A insulina estimula funções anabólicas e previne a quebra de tecidos em músculos esqueléticos. Logo, a perda da ação da insulina em pacientes diabéticos causa perda muscular. Novas evidências sugerem que o receptor de insulina também é responsável por funções tróficas no cérebro⁽⁴⁵⁾. Na retina, a insulina estimula receptores específicos⁽⁴⁶⁾. Estudos demonstram que estes receptores estão diminuídos em ratos diabéticos, e a deleção desses receptores leva à degeneração dos neurônios da retina interna e fotorreceptores⁽⁴⁷⁾. Logo, conclui-se que o decréscimo do estímulo anabólico pela insulina pode contribuir para a morte das células da retina⁽⁸⁾. Os neurônios retinianos⁽⁴⁸⁾ e células vasculares⁽⁴⁹⁾ dependem da atividade do receptor de insulina para sobreviverem, e ambos os tipos de células morrem por apoptose em humanos e animais modelo de diabéticos. Pode-se prever que, a longo prazo, os distúrbios na ação da insulina no tecido retiniano podem acelerar a morte celular e prejudicar atividades anabólicas insulino-dependentes como a síntese protéica⁽⁵⁰⁾.

Dados do "Diabetes Control And Complications Trial" (DCCT)⁽⁵¹⁾, assim como estudo recente⁽⁵²⁾, demonstraram que a administração de insulina reduz o risco de retinopatia e que a quantidade de apoptose é menor com o uso intensivo da insulina.

Excitotoxicidade do glutamato na neurodegeneração retiniana

Um mecanismo plausível de dano celular neural é a deficiência na conversão de glutamato para glutamina pelas células de Müller, uma vez que o glutamato é uma potente neurotoxina⁽⁷⁾. Dados sugerem que o diabetes compromete o metabolismo do glutamato alterando pelo menos duas enzimas diferentes. Essas mudanças podem ser precedidas por uma redução na atividade dos transportadores de glutamato nas células de Müller, o que poderia levar à concentração de glutamato no fluido extracelular⁽⁵³⁾. Esses dois mecanismos provavelmente agem conjuntamente, reduzindo a eficiência da eliminação de glutamato pelas células gliais na retina. Baseado nessas informações, pode-se supor que a causa da apoptose neuronal na retina durante o diabetes possa ser a excitotoxicidade crônica do glutamato⁽²⁾.

Função visual e neurodegeneração

A diminuição da visão em pacientes com diabetes é mais frequentemente associada ao edema macular. Os mecanismos celulares específicos através do qual o edema macular reduz a acuidade visual ainda não estão totalmente definidos. De uma maneira geral, os cistos maculares dispersam a luz dentro da retina impedindo a focalização nos fotorreceptores diminuindo a qualidade da imagem. Do ponto de vista celular, a função visual pode diminuir se o acúmulo de fluido dentro da retina: alterar as concentrações iônicas extracelulares necessárias

para ativar os potenciais elétricos; comprimir os neurônios da retina; comprometer a conversão de glutamato em glutamina entre as células gliais e os neurônios necessários para a neurotransmissão; aumentar a suscetibilidade dos neurônios a aminoácidos citotóxicos, anticorpos ou células inflamatórias que alcançam a retina através do extravasamento dos vasos. O extravasamento vascular poderia também prejudicar a função neuronal e a visão na ausência de edema macular clinicamente detectável. Capilares ocluídos próximo à fóvea também podem causar dano isquêmico aos neurônios da retina⁽⁸⁾.

O dano direto do diabetes às células gliais ou ao metabolismo neuronal poderia ter um impacto na neurotransmissão^(29,54), podendo levar à apoptose dos neurônios da retina e defeitos de campo visual. Os axônios da retina são perdidos antes da visualização de lesões vasculares⁽⁵⁵⁻⁵⁶⁾. Relatos recentes também demonstram que a resposta local prejudicada no ERG multifocal prediz o desenvolvimento subsequente das lesões vasculares⁽⁵⁷⁾. Futuros trabalhos são necessários para se determinar como as alterações das interações de células neuronais, microgliais e vasculares reduzem a qualidade da visão⁽⁸⁾.

CONCLUSÃO

A retinopatia diabética é diagnosticada clinicamente com o início dos sinais oftalmoscópicos de lesões vasculares, mas os estudos citados sugerem que os defeitos funcionais podem preceder essas lesões. Indivíduos que não desenvolveram sinais clínicos de retinopatia representam a maior oportunidade terapêutica para preservar a visão, pois eles constituem a grande maioria dos pacientes⁽⁵⁸⁾. Portanto, o desenvolvimento de técnicas sensíveis capazes de medir a função retiniana e o advento de novos estudos do dano neuronal seriam de grande utilidade no diagnóstico precoce e tratamento da retinopatia diabética.

ABSTRACT

Diabetic retinopathy is the leading cause of irreversible legal blindness in working-age adults. The number of people worldwide at risk of developing vision loss from diabetes is predicted to double over the next 30 years. Some elements suggest that neurodegenerative changes occur beyond vascular damage. These changes include increased apoptosis, glial cell reactivity, microglial activation, and altered glutamate metabolism, and could explain some of the functional abnormalities that begin soon after the onset of diabetes, as early changes in electroretinogram. This review article will present some evidences that point out neurodegeneration as a possible initial event in diabetic retinopathy.

Keywords: Diabetic retinopathy/etiology; Nerve degeneration; Vascular diseases; Apoptosis; Vision/physiology

REFERÊNCIAS

1. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophthalmol*. 1984;102(4):520-6.
2. Barber AJ. A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003;27(2):283-90. Comment in: *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2004;28(4):747-8; author reply 745-6.
3. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004; 27(5):1047-53. Comment in: *Diabetes Care*. 2004;27(10):2568-9; author reply 2569.
4. Cunha-Vaz J, Faria de Abreu JR, Campos AJ. Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes. *Br J Ophthalmol*. 1975;59(11):649-56.
5. Aiello LP, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL 3rd, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 1998;21(1):143-56.
6. Moss SE, Klein R, Klein BE. The incidence of vision loss in a diabetic population. *Ophthalmology*. 1988;95(10):1340-8.
7. Gillies M. When does neural degeneration occur in diabetic retinopathy? *Clin Experiment Ophthalmol*. 2000;28(1):1-2. Comment on: *Clin Experiment Ophthalmol*. 2000;28(1):3-8.
8. Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, Freeman WM, Gardner TW, Jefferson LS, Kester M, Kimball SR, Krady JK, LaNoue KF, Norbury CC, Quinn PG, Sandrasegarane L, Simpson IA; JDRF Diabetic Retinopathy Center Group. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes*. 2006;55(9):2401-11.
9. Bito LZ, Salvador EV, Petrinovic L. Intraocular fluid dynamics. IV. Intraocular sites of solute utilization and transport as revealed by studies on aphakic eyes. *Exp Eye Res*. 1978;26(1):47-55.
10. Masland RH. The fundamental plan of the retina. *Nat Neurosci*. 2001;4(9):877-86.
11. Gardner TW, Lieth E, Khin SA, Barber AJ, Bonsall DJ, Leshner T, et al. Astrocytes increase barrier properties and ZO-1 expression in retinal vascular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38(11):2423-7.
12. Newman EA. New roles for astrocytes: regulation of synaptic transmission. *Trends Neurosci*. 2003;26(10):536-42.
13. Lieth E, LaNoue KF, Berkich DA, Xu B, Ratz M, Taylor C, et al. Nitrogen shuttling between neurons and glial cells during glutamate synthesis. *J Neurochem*. 2001;76(6):1712-23.
14. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev*. 2005;85(3):845-81.
15. Krady JK, Basu A, Allen CM, Xu Y, LaNoue KF, Gardner TW, et al. Minocycline reduces proinflammatory cytokine expression, microglial activation, and caspase-3 activation in a rodent model of diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2005;54(5):1559-65.
16. Elward K, Gasque P. "Eat me" and "don't eat me" signals govern the innate immune response and tissue repair in the CNS: emphasis on the critical role of the complement system. *Mol Immunol*. 2003;40(2-4):85-94.
17. Fetler L, Amigorena S. Neuroscience. Brain under surveillance: the microglia patrol. *Science*. 2005;309(5733):392-3.
18. Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*. 2005;308(5726):1314-8.
19. Gardner TW, Antonetti DA, Barber AJ, LaNoue KF, Levison SW. Diabetic retinopathy: more than meets the eye. *Surv Ophthalmol*. 2002;47(Suppl 2):S253-62.
20. Bristow EA, Griffiths PG, Andrews RM, Johnson MA, Turnbull DM. The distribution of mitochondrial activity in relation to optic nerve structure. *Arch Ophthalmol*. 2002;120(6):791-6. Comment in: *Arch Ophthalmol*. 2003;121(9):1342-3.
21. Wangsa-Wirawan ND, Linsenmeier RA. Retinal oxygen: fundamental and clinical aspects. *Arch Ophthalmol*. 2003;121(4):547-57.
22. Germer A, Biedermann B, Wolburg H, Schuck J, Grosche J, Kuhrt H, et al. Distribution of mitochondria within Muller cells-I. Correlation with retinal vascularization in different mammalian species. *J Neurocytol*. 1998;27(5):329-45.
23. Lieth E, Gardner TW, Barber AJ, Antonetti DA; Penn State Retina Research Group. Retinal neurodegeneration: early pathology in diabetes. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2000;28(1):3-8. Comment in: *Clin Experiment Ophthalmol*. 2000;28(1):1-2.
24. Bloodworth JM Jr. Diabetic retinopathy. *Diabetes*. 1962;11:1-22.
25. Wolter JR. Diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1961;51:1123-41.

26. Bearse MA Jr, Han Y, Schneck ME, Barez S, Jacobsen C, Adams AJ. Local multifocal oscillatory potential abnormalities in diabetes and early diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(9):3259-65.
27. Bresnick GH. Diabetic retinopathy viewed as a neurosensory disorder. *Arch Ophthalmol.* 1986;104(7):989-90.
28. Ghirlanda G, Di Leo MA, Caputo S, Cercone S, Greco AV. From functional to microvascular abnormalities in early diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Rev.* 1997;13(1):15-35.
29. Greenstein VC, Shapiro A, Zaidi Q, Hood DC. Psychophysical evidence for post-receptor sensitivity loss in diabetics. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992;33(10):2781-90.
30. Parisi V, Uccioli L. Visual electrophysiological responses in persons with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001;17(1):12-8.
31. Bresnick GH, Palta M. Predicting progression to severe proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 1987;105(6):810-4.
32. Han Y, Adams AJ, Bearse MA Jr, Schneck ME. Multifocal electroretinogram and short-wavelength automated perimetry measures in diabetic eyes with little or no retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 2004;122(12):1809-15.
33. Bengtsson B, Heijl A, Agardh E. Visual fields correlate better than visual acuity to severity of diabetic retinopathy. *Diabetologia.* 2005;48(12):2494-500.
34. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest.* 2005;115(5):1111-9.
35. Schroder S, Palinski W, Schmid-Schonbein GW. Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. *Am J Pathol.* 1991;139(1):81-100.
36. Caicedo A, Espinosa-Heidmann DG, Piña Y, Hernandez EP, Cousins SW. Blood-derived macrophages infiltrate the retina and activate Muller glial cells under experimental choroidal neovascularization. *Exp Eye Res.* 2005;81(1):38-47.
37. Barber AJ, Nakamura M, Wolpert EB, Reiter CE, Seigel GM, Antonetti DA, et al. Insulin rescues retinal neurons from apoptosis by a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-mediated mechanism that reduces the activation of caspase-3. *J Biol Chem.* 2001;276(35):32814-21.
38. Gariano RF, Gardner TW. Retinal angiogenesis in development and disease. *Nature.* 2005;438(7070):960-6.
39. Seigel GM, Chiu L, Paxhia A. Inhibition of neuroretinal cell death by insulin-like growth factor-1 and its analogs. *Mol Vis.* 2000;6:157-63.
40. Hammes HP, Federoff HJ, Brownlee M. Nerve growth factor prevents both neuroretinal programmed cell death and capillary pathology in experimental diabetes. *Mol Med.* 1995;1(5):527-34.
41. Kerrigan LA, Zack DJ, Quigley HA, Smith SD, Pease ME. TUNEL-positive ganglion cells in human primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 1997;115(8):1031-5.
42. Mizutani M, Kern TS, Lorenzi M. Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy. *J Clin Invest.* 1996;97(12):2883-90.
43. Mohr S, Xi X, Tang J, Kern TS. Caspase activation in retinas of diabetic and galactosemic mice and diabetic patients. *Diabetes.* 2002;51(4):1172-9.
44. Podesta F, Romeo G, Liu WH, Krajewski S, Reed JC, Gerhardinger C, et al. Bax is increased in the retina of diabetic subjects and is associated with pericyte apoptosis in vivo and in vitro. *Am J Pathol.* 2000;156(3):1025-32.
45. Plum L, Schubert M, Bruning JC. The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab.* 2005;16(2):59-65.
46. Reiter CE, Wu X, Sandrasegarane L, Nakamura M, Gilbert KA, Singh RS, et al. Diabetes reduces basal retinal insulin receptor signaling: reversal with systemic and local insulin. *Diabetes.* 2006;55(4):1148-56.
47. Yi X, Schubert M, Peachey NS, Suzuma K, Burks DJ, Kushner JA, et al. Insulin receptor substrate 2 is essential for maturation and survival of photo-receptor cells. *J Neurosci.* 2005;25(5):1240-8.
48. Barber AJ, Nakamura M, Wolpert EB, Reiter CE, Seigel GM, Antonetti DA, et al. Insulin rescues retinal neurons from apoptosis by a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-mediated mechanism that reduces the activation of caspase-3. *J Biol Chem.* 2001;276(35):32814-21.
49. Kondo T, Vicent D, Suzuma K, Yanagisawa M, King GL, Holzenberger M, et al. Knockout of insulin and IGF-1 receptors on vascular endothelial cells protects against retinal neovascularization. *J Clin Invest.* 2003;111(12):1835-42. Comment in: *J Clin Invest.* 2003;111(12):1817-9.
50. Chihara T. Impairment of protein synthesis in the retinal tissue in diabetic rabbits: secondary reduction of fast axonal transport. *J Neurochem.* 1981;37(1):247-50.
51. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. *Diabetes.* 1995;44(8):968-83.
52. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest.* 1998;102(4):783-91.
53. Li Q, Puro DG. Diabetes-induced dysfunction of the glutamate transporter in retinal Muller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(9):3109-16.
54. Varkonyi TT, Peto T, Degi R, Keresztes K, Lengyel C, Janaky M, et al. Impairment of visual evoked potentials: an early central manifestation of diabetic neuropathy? *Diabetes Care.* 2002;25(9):1661-2.
55. Chihara E, Matsuoka T, Ogura Y, Matsumura M. Retinal nerve fiber layer defect as an early manifestation of diabetic retinopathy. *Ophthalmology.* 1993;100(8):1147-51.
56. Ozdek S, Lonneville YH, Onol M, Yetkin I, Hasanreisoglu BB. Assessment of nerve fiber layer in diabetic patients with scanning laser polarimetry. *Eye.* 2002;16(6):761-5.
57. Han Y, Bearse MA Jr, Schneck ME, Barez S, Jacobsen CH, Adams AJ. Multifocal electroretinogram delays predict sites of subsequent diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(3):948-54. Comment in: *ACP J Club.* 1994;120 (Suppl 2):30-1; *N Engl J Med.* 1993;329(14):1035-6; *N Engl J Med.* 1994;330(9):641-2; *N Engl J Med.* 1994;330(9):641; author reply 642. *N Engl J Med.* 1994;330(9):642; *N Engl J Med.* 2006;354(16):1751-2; author reply 1751-2.