**Пенішкевич Я.І. Кучук О.П., Каратєєва С.Ю.**

# ПАТОФІЗІОЛОГІЯ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

**(навчальний посібник)**

**Чернівці, 2025**

**УДК 617.735-005-007.23-02:616.379-008.64]-092(075.8)**

**К 21**

**Пенішкевич Я.І., Кучук О.П., Каратєєва С.Ю.** *Патофізіологія діабетичної ретинопатії*: навчальний посібник для студентів закладів вищої освіти. Чернівці: БДМУ; 2025. 123 с.

Матеріал навчального посібника, в основному, викладений у вигляді текстового матеріалу для здобувачів вищої освіти, які навчаються за освітньо-професійною програмою «галузі знань 22 «Охорона здоров'я».

Рецензенти:

Скрипник Рімма Леонідівна, доктор медичних наук, професор кафедри офтальмології Національного медичного університету ім.О.О.Богомольця

Коновалова Наталія Валеріївна, доктор медичних наук, професор кафедри загальної, дитячої та військової хірургії з курсом урології і офтальмології Одеського національного медичного університету

Друкується за рішенням вченої ради Буковинського державного медичного університету (протокол № 9 від 29 травня 2025 року).

**ISBN 978-617-519-171-2**

© Пенішкевич Я.І, Кучук О.П, Каратєєва С.Ю.

© БДМУ, 2025

**ЗМІСТ**


ВСТУП 3

Перелік скорочень 5

Патофізіологія діабетичної ретинопатії 7

Збільшений потік через поліоловий шлях 10

Кінцеві продукти вдосконаленої глікації (AGE) 16

Активація протеїнкінази С (PKC) 20

Збільшення DAG/Активація шляху PKC 21

Збільшений потік через шлях гексозаміну 24

Активований протеїн С 27

Гіперглікемія, окислювальний стрес і запалення 29

Активні форми кисню (АФК) і підвищений індекс окислювального стресу 32

Роль Запалення у патогенезі ДР 34

Роль Факторів росту ендотелію судин у патогенезі ДР 36

Фактор росту ендотелію судин А 38

Ангіопоетини. Роль у патогенезі ДР 40

Макулярний набряк у патогенезі ДР 43

Регуляція кровоносних судин сітківки при діабеті 45

Роль пігметного епітелію сітківки (RPE) у діабетичному макулярному набряку 46

Гемато--ретинальний бар'єр при ДР 48

Дисфункція RPE і роль при порушенні гемато-сітківкового бар'єру 51

Механізм руйнування гемато-ретинального бар'єру 53

Патологія при ДР 61

Гіперглікемія та мікроваскулопатія сітківки 62

Ренін-ангіотензинова система 63

Неоваскуляризація сітківки 64

Дисфункція сітківки. Ангіогенез 66

Розвиток проліферативної діабетичної ретинопатії 67
Нейродегенерація сітківки 68
Роль інсуліну для підтримки глікемічного контролю 73
Резюме ключових моментів 76
Майбутні напрямки 80
Список використаних джерел 81

**Перелік скорочень**

| | |
|---|---|
| zonula occludens | ZO |
| Активні форми кисню | АФК |
| Активований протеїн С | APC |
| Альдозоредуктаза | AR |
| Ангіопоетин | Ang |
| Ангіопоетин | Ang |
| Ангіотензин | ANG |
| Ангіотензин перетворюючий фермент | АПФ |
| Вільні жирні кислоти | ВЖК |
| Гемато--ретинальний бар'єр | BRB |
| Гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа | GAPDH |
| Глутамін фруктозо-6-фосфат амінотрансфераза | GFAT |
| Глутатіон | GSH |
| Діабетична ретинопатія | ДР |
| Діабетична ретинопатія непроліферативна | НПДР |
| Діабетична ретинопатія проліферативна | ПДР |
| Діабетичний макулярний набряк | ДМН |
| Діацилгліцерин | DAG |
| Екстраклітинний матрикс | ECM |
| Ендотеліальні клітини | ЕК |
| Ендотелін | ET |
| Епідермальний фактор росту | Tie |
| Інтерлейкін | IL |
| Кінцеві продукти вдосконаленого глікації | AGE |
| Мітоген - активована протеїнкіназа | MAPK |
| Молекула міжклітинної адгезії | ICAM |
| Моноцитарний хемоаттрактантний білок | MCP |
| Моноцитарний хемотаксичний білок | MCP |
| Нікотин-амід-аденін-динуклеотид-фосфат | NADPH |
| Нуклеарний (ядерний) фактор | NF |
| Пігметний епітелій сітківки | RPE |
| Плацентарний фактор росту | PlGF |
| Протеїнкіназа С | PKC |
| Рубоксистаурину мезилат | RBX |
| Синтаза оксиду азоту | NOS |
| Стрептозотоцин | STZ |
| Судинні ендотеліальні фактори росту | VEGF |
| Супероксиддисмутаза | SOD |
| Супероксиддисмутаза марганцю | MnSOD |
| Транскрипційний фактор вилочної коробки | FOX |
| Трансформуючий фактор росту | TGF |
| Тромбоцитарний фактор росту | PDGF |
| Уридиндифосфат N-ацетилглюкозамін | UDP-GlcNAc |

| | |
|---|---|
| Фактор індуковвний гіпоксвєю | HIF |
| Фактор некрозу пухлин | TNF |
| Фактор транскрипції | Sp |
| Фактор фон Гіппеля-Ліндау | pVHL |
| фосфатидилінозитол-3-кіназа | PI3K |
| Фосфоліпаза А2 | PLA2 |
| Цукровий діабет | ЦД |

# ПАТОФІЗІОЛОГІЯ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

Діабетична ретинопатія (ДР) є найпоширенішим мікросудинним ускладненням у хворих на цукровий діабет (ЦД), з вищою частотою у людей з цукровим діабетом 1 типу порівняно з цукровим діабетом 2 типу [67, 1, 9].

Відповідно до зростання поширеності діабету в розвинених країнах і країнах, що розвиваються, ДР є основною причиною втрати зору в усьому світі серед працюючих дорослих середнього віку [88, 10, 13].

Залежно від наявності чи відсутності неоваскуляризації сітківки ДР можна клінічно класифікувати на непроліферативну (НПДР) і проліферативну (ПДР) форми [14, 6, 106].

В очах із ПДР аномальна неоваскуляризація після ішемії сітківки спричиняє небезпечний для зору крововилив у склоподібне тіло та тракційне відшарування сітківки. Крім того, діабетичний макулярний набряк (ДМН) впливає на центральний зір на будь-якій стадії ДР. Серед популяцій діабетиків оцінена поширеність будь-якої форми ДР становить 34,6% (93 мільйони в усьому світі), а поширеність ПДР і ДМН становить 6,96% і 6,81% відповідно [7, 65, 19].

Основним фактором ризику ДР є стійка гіперглікемія, але також були залучені гіпертонія, дисліпідемія та вагітність [20, 204].

Примітно, що у деяких груп діабетиків не розвивається ДР, незважаючи на ці системні фактори ризику, тоді як хороший глікемічний контроль може не обов’язково усунути ризик ДР протягом життя [5, 30, 112].

Ці моделі вказують на те, що додаткові фактори, такі як генетична сприйнятливість, беруть участь у ініціації та прогресуванні ДР. Таким чином, часто важко передбачити ризик ДР в окремих пацієнтів з діабетом.

За останнє десятиліття фармакологічна терапія з використанням судинних ендотеліальних факторів росту (VEGF) і кортикостероїдів різко змінила клінічне лікування ДР [3, 54, 307].

Однак через їх обмежену ефективність і потенційні побічні ефекти всебічне розуміння патофізіології ДР вкрай необхідно для розробки нових ліків. У цьому огляді ми узагальнюємо поточні знання та нові концепції патофізіології ДР, отримані в клініці та фундаментальних дослідженнях, і представляємо перспективи розробки нових ліків.

**Біохімічні основи діабетичної ретинопатії**

Цукровий діабет викликає подібні мікросудинні аномалії в судинній системі сітківки, ниркових клубочках і vasa vasorum. На ранніх стадіях діабету хронічна гіперглікемія призводить до змін кровотоку та підвищення проникності судин. Це характеризується зниженням активності судинорозширювальних засобів, таких як оксид азоту, і одночасного підвищення активності вазоконстрикторів, таких як ангіотензин II і ендотелін-1, з вивільненням цитокінів, що підвищують проникність судин, таких як VEGF. Виникаючі аномалії позаклітинного матриксу, як якісні, так і кількісні, сприяють необоротному збільшенню проникності судин. Втрата мікросудинних клітин відбувається через запрограмовану клітинну смерть, надмірне виробництво білків позаклітинного матриксу та відкладення періодичної кислоти-Шифф-позитивних білків, індукованих факторами росту, такими як TGF-b, що згодом призводить до прогресуючої оклюзії капілярів.

Гіперглікемія знижує вироблення ендотеліальних і нейрональних клітинних трофічних факторів, що призводить до набряку, ішемії та неоваскуляризації, викликаної гіпоксією. [38-43]

Атеросклероз у пацієнтів без діабету починається з ендотеліальної дисфункції, [44] тоді як у діабетиків це, здається, включає резистентність до інсуліну внаслідок гіперглікемії. [45]

**Молекулярні механізми діабетичних судинних ускладнень**

Раніше було висунуто чотири гіпотези для пояснення механізму мікросудинного пошкодження, спричиненого гіперглікемією. Це

1. Збільшений потік поліольного шляху
2. Кінцеві продукти вдосконаленого глікації (AGE)
3. Активація протеїнкінази С (PKC)
4. Збільшений потік гексозаміну.

Кожен з конкретних інгібіторів альдозоредуктази, утворення AGE, активації PKC і шляху гексозаміну запобігає різним аномаліям, спричиненим діабетом, але жодного явного спільного елемента не було помічено до недавнього відкриття того, що кожен з них викликає надмірне виробництво супероксиду мітохондріальним ланцюгом транспортування електронів [46-48].

Було відмічено, що як діабет, так і гіперглікемія посилюють окислювальний стрес. [49-53].

Щоб зрозуміти, як гіперглікемія призводить до збільшення активних форм кисню (АФК), слід поглянути на зміни в ланцюзі транспортування електронів у мітохондріях. Гіперглікемія, спричиняючи надмірне виробництво донорів електронів (NADH і FADH2) у циклі трикарбонових кислот [54] збільшує градієнт протонів через внутрішню мітохондріальну мембрану. Це подовжує тривалість життя проміжних продуктів електронного транспорту, таких як убісеміхінон, вище порогового значення, таким чином значно генеруючи супероксид. Два регуляторних ферменти можуть бути використані для роз’єднання виробництва АФК, спричиненого гіперглікемією. Підвищення рівня супероксиддисмутази марганцю (MnSOD) усуває утворення активних форм кисню; надлишок роз’єднуючого білка-1 (UCP-1) усував електрохімічний градієнт білка. [55].

Крім того, надмірна експресія або MnSOD, або UCP-1 запобігала активації PKC, активації гексозамінового шляху, утворенню AGE та

збільшенню потоку поліольного шляху. Ці докази переконливо підтверджують переконання, що надмірна кількість супероксиду є центральною в єдиній теорії діабетичної ретинопатії.

Інші експериментальні дані пов'язують гіперглікемію, АФК і чотири вищезазначені біохімічні шляхи. Збільшення АФК, викликане гіперглікемією, знижує активність гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (GAPDH) і, отже, спричиняє збільшення вихідних гліколітичних метаболітів. Це призводить до збільшення потоку поліольного шляху. Метилгліоксальпохідний AGE, найпоширеніший AGE, що виникає в результаті гіперглікемії, ймовірно, є результатом підвищення рівня тріозофосфату. Рівні тріозофосфату зростають із інгібуванням GAPDH за допомогою АФК.45 [56].

Зниження активності GAPDH, викликане АФК, викликає накопичення фруктозо-6-фосфату, основного субстрату на шляху гексозаміну. Інгібування GAPDH призводить до підвищення рівня дигідроксіацетонфосфату, що призводить до збільшення концентрації DAG та активації PKC.

Кілька експериментальних моделей показали, що підвищена активність MnSOD або UCP-1 запобігає ускладненням, спричиненим гіперглікемією. Надмірна експресія будь-якого білка запобігає адгезії моноцитів до ендотеліальних клітин аорти, спричиненому гіперглікемією зниженню активності eNOS та індукованій колагеном агрегації та активації тромбоцитів. [57-59].

Підвищена активність MnSOD запобігає збільшенню синтезу колагену [60] та зменшує запрограмовану смерть клітин, спричинену гіперглікемією.

Оскільки значні клінічні дослідження продовжують зосереджуватися на зменшенні діабетичних ускладнень шляхом мінімізації змін у чотирьох уражених шляхах, подальше обговорення відповідної біохімії є виправданим.

Гіперглікемія визнана основним фактором, відповідальним за розвиток діабетичних ускладнень, особливо мікросудинних захворювань. Наприклад, патології сітківки ока та ниркових клубочків є специфічними для діабету і

зазвичай не спостерігаються у людей похилого віку або інсулінорезистентних людей без діабету. Найбільш вивчені механізми включають:

(i) посилений поліоловий шлях;

(ii) збільшення DAG/активації шляху PKC;

(iii) підвищений окислювальний стрес;

(iv) посилення утворення та дії AGE; і

(v) посилений шлях гексозаміну)

**Збільшений потік через поліоловий шлях**

У поліоловому шляху внутрішньоклітинна глюкоза перетворюється на сорбіт за допомогою альдозоредуктази (AR), яка є ферментом, що обмежує швидкість, у реакції, залежній від нікотинаміаденіндинуклеотидфосфату (NADPH). Потім сорбітол окислюється до фруктози за допомогою сорбітолдегідрогенази (SDH). У нормальному стані глюкози лише невелика частка глюкози метаболізується цим шляхом, оскільки кінетика AP Міхаеліса–Ментена для глюкози вище нормоглікемічного рівня. У діабетичних станах підвищення рівня внутрішньоклітинної глюкози може спричинити збільшення потоку через AR [61-63].

Альдозоредуктаза, перший фермент поліолового шляху, має низьку спорідненість до глюкози за нормальних концентрацій. Однак при гіперглікемії підвищений рівень глюкози призводить до збільшення перетворення в сорбіт із пов’язаним зниженням NADPH. Потім сорбіт окислюється до фруктози з відновленням NADH. Було припущено, що оксигенація сорбітолу збільшує співвідношення NADH/NAD+ у цитозолі, тим самим пригнічуючи активність гліцеральдегід-3-альдегіддегідрогенази (GAPDH).

Ця схема показує механізм, за допомогою якого утворення супероксиду в мітохондріях активує чотири біохімічні шляхи, що призводять до діабетичної ретинопатії. Спричинене гіперглікемією виробництво супероксиду (O2) пригнічує GAPDH, спричиняючи накопичення метаболітів вище за течією. Вони перенаправляються на чотири альтернативні метаболічні шляхи, кожен з яких призводить до пошкодження судинної та інтерстиціальної тканин

Це призводить до підвищення концентрації тріозофосфату, [64-70], який збільшує утворення метилгліоксалю - попередника AGEs - і діацилгліцерину, таким чином активуючи PKC. Відновлення глюкози до сорбіту споживає NADPH; Оскільки NADPH необхідний для регенерації відновленого

глутатіону, це може посилити окислювальний стрес. Спроби інгібувати поліоловий шлях in vivo дали неоднозначні результати. 5-річне дослідження на собаках із діабетом запобігло діабетичній нейропатії, але не змогло запобігти ретинопатії. [71]

Вважається, що активація поліолового шляху викликає судинні патології через осмотичне пошкодження та зниження активності Na+K+АТФази [72]. AR і SDH використовують NADPH і NAD+ як кофактор відповідно. Таким чином, зниження клітинного NADPH і збільшення співвідношення NADPH/NAD+ змінює внутрішньоклітинний окисно-відновний баланс, що призводить до зниження виробництва оксиду азоту та збільшення окисного стресу [73].

Трансгенні миші з цукровим діабетом, специфічні для лінз AR, показали значне зниження рівня глутатіону (GSH), що призвело до посилення окисного стресу. У мишей з нульовими мутантами AR діабет не призводив до зниження рівня нервового GSH [74].

Дослідження інгібування поліолового шляху за допомогою інгібіторів альдозоредуктази (ARI) in vivo дали суперечливі результати. Дослідження на тваринах показали, що ГРВІ запобігає деяким аномаліям при катаракті, ретинопатії [75] нефропатії [76], нейропатії [77,78] та кардіоміопатії.

Однак у 5-річному дослідженні на собаках інгібування AR могло запобігти лише нейропатії, але не запобігло ретинопатії та нефропатії [79].

У клінічних дослідженнях ГРІ не виявили чіткої ефективності у пацієнтів з діабетичною ретинопатією (ДР) і нефропатією [80].

Деякі дослідження показали позитивний вплив на діабетичну нейропатію. У подвійному сліпому плацебо-контрольованому дослідженні фідарестат продемонстрував покращену швидкість нервової провідності та низку суб’єктивних симптомів, таких як оніміння та спонтанний біль [81].

Крім того, повідомлялося, що тривале лікування епалрестатом також може ефективно затримати прогресування діабетичної нейропатії та полегшити пов’язані з нею симптоми [82].

Необхідні додаткові масштабні повні дослідження третьої фази, щоб показати, що ГРВІ може бути ефективним при невропатії.

## Кінцеві продукти вдосконаленої глікації (AGE)

Внутрішньоклітинна гіперглікемія є спонукальною подією для утворення AGEs, які виявляються у підвищених концентраціях у діабетичних кровоносних судинах сітківки [83] та клубочках [84].

Вони виникають внаслідок внутрішньоклітинного автоокислення глюкози до гліоксалю, розкладання продукту Амадорі (похідного з глюкози). 1-аміно-1-дезоксифруктозно-лізинові аддукти) до 3-дезоксиглюкозону, а також фрагментація гліцеральдегід-3-фосфату та дигідроксіацетонфосфату до метилгліоксалю, усі вони реагують з аміногрупами внутрішньоклітинних і позаклітинних білків з утворенням AGE. [85-87].

Інгібітор AGE аміногуанідин частково запобігав пошкодженню мікросудин на тваринних моделях [88] і знижував рівень білка в сечі та сповільнював прогресування ретинопатії у людей. [89].

Виробництво внутрішньоклітинних попередників AGE пошкоджує клітини-мішені шляхом модифікації білків і зміни їх функції. Це змінює компоненти позаклітинного матриксу та інтегрини та модифікує білки плазми, які зв’язуються з рецепторами AGE. Кінцевим результатом є рецепторне утворення активних форм кисню.

Утворення AGE змінює властивості кількох білків позаклітинного матриксу. Поперечне зшивання за допомогою AGE індукує розширення молекулярної упаковки колагену типу I, таким чином змінюючи функцію судин. [90], AGEs змінюють колаген типу IV з базальних мембран. [91].

Утворення AGE на ламініні спричиняє зниження самоскладання полімеру, зниження зв’язування з колагеном типу IV та зниження зв'язування з протеогліканом сульфату гепарину. [92].

Утворення AGE на позаклітинному матриксі перешкоджає взаємодії матриця-клітина. Модифікація доменів зв'язування колагену IV типу знижує адгезію ендотеліальних клітин. Модифікація 6-амінокислотної послідовності, що стимулює ріст, у ланцюзі А ламініну зменшує ріст нейритів. [93].

Ідентифіковано кілька асоційованих із клітинами білків для AGE: OST-48, 80K-H, галектин-3, рецептор макрофагів типу II та RAGE. Вони опосередковують довгострокові ефекти AGEs на макрофаги, мезангіальні клітини клубочків і ендотеліальні клітини судин. Їх вплив включає експресію цитокінів і факторів росту (інтерлейкіну-1, інсуліноподібного фактора росту I, фактора некрозу пухлини TGF-a, TGF-b, макрофагального колонієстимулюючого фактора, гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора та тромбоцитарного фактора). фактор росту) макрофагами і мезангіальними клітинами, а також експресія прокоагуляторних і прозапальних молекул (тромбомодулін, тканинний фактор і VCAM-1) ендотеліальними клітинами. Зв'язування лігандів з ендотеліальними рецепторами AGE опосередковує гіперпроникність капілярної стінки, спричинену VEGF. [94].

Неферментативні реакції між глюкозою та білками, відомі як реакція Майяра, призводять до утворення основи Шиффа. З часом серія хімічних перегрупувань призводить до AGE [95, 96].

При цукровому діабеті підвищені рівні AGE можна знайти в сироватці [97], клубочковій тканині [98] та тканинах сітківки [99,100].

Деякі AGE є стабільними незворотними продуктами, які можуть утворюватися внутрішньо- та позаклітинно. AGE може викликати пошкодження судин через кілька механізмів. Внутрішньоклітинні білки, такі як основний фактор росту фібробластів [101] і пов’язані з мітохондріальними електронами білки [102], можуть бути модифіковані за допомогою AGE, який потім змінює їхню функцію.

Глікація білків ECM, таких як колаген I, IV і ламінін [103-105], може змінити їхню функцію та взаємодію клітина/ECM. Ліпопротеїни також можуть глікуватися та змінюватися під час їх метаболізму [106, 107]. AGE також може взаємодіяти з клітинними рецепторами, один з яких називається рецептором для AGE (RAGE), трансмембранним рецептором, який є членом суперсімейства білків імуноглоблінів [108].

Повідомлялося про взаємодію AGE/RAGE у розвитку діабетичних ускладнень. Повідомляється, що експресія RAGE підвищується в клубочках у хворих на цукровий діабет порівняно зі здоровими суб'єктами контрольної групи [109].

Крім того, детальні дослідження Ямамото та ін. чітко показали взаємодію AGE/RAGE, що призвело до діабетичної нефропатії [110] у дослідженнях на тваринах.

Вони посилено експресували RAGE в судинних ендотеліальних клітинах у мишей і індукували діабет шляхом схрещування їх із мишами, які надмірно експресують індуковану синтазу оксиду азоту (iNOS) під контролем промотора інсуліну. У цих мишей постійно розвивався гіпоінсулінемічний діабет в результаті опосередкованого NO селективного руйнування підшлункової залози, що продукує інсулін. клітини. Подвійні трансгенні миші показали характеристики діабетичної нефропатії та прогресуючої ниркової недостатності, такі як загострення нефромегалії, мезангіального розширення, альбумінурії, клубочкової гіпертрофії та склерозу.

Зв'язування AGE-модифікованих білків з RAGE індукує активацію клітинних сигнальних каскадів, включаючи NFB [111-113], ET1, молекула адгезії судинних клітин, молекула міжклітинної адгезії1, Еселектин, VEGF і прозапальні цитокіни, включаючи IL1, IL6 і TNF індукуються NFB [114-115].

Було також показано, що взаємодії AGE/RAGE індукують судинний окислювальний стрес через активацію NADPH-оксидази [116].

Крім того, повідомлялося, що інші рецептори, такі як рецептор макрофагів, p60, p90 і галектин, також зв'язують AGE [117, 118].

Інгібітор утворення AGE, аміногуанідин, може запобігати розвитку діабетичних ускладнень, таких як ретинопатія та нефропатія на тваринних моделях [119, 120].

Однак клінічні випробування з використанням аміногуанідину не дали остаточних результатів через наявність обмеженої токсичності. Розривники перехресних зв'язків, у тому числі ALT711 і Nphenylhiazolium bromide,

покращили податливість артерій і серцеву функцію [121,122] атеросклероз [123] і діабетичну нефропатію [124, 125].

Було показано, що блокада взаємодії AGE/RAGE розчинним RAGE пригнічує атеросклероз і утворення неоінтими [126-128] та нефропатію у тварин з діабетом [129].

Блокування RAGE пригнічувало макросудинне захворювання в моделі миші з діабетом 1 типу, схильної до атеросклерозу. Блокада RAGE також пригнічувала розвиток діабетичної нефропатії та пародонтозу.

## Активація протеїнкінази С (PKC)

Протеїнкіназа Cisa сімейства найменших [130] ізоформ [131], з яких активується вторинним ліпідним месенджером діацилгліцерином (DAG). Внутрішньоклітинна гіперглікемія збільшує DAG як у сітківці, так і в ниркових клубочках шляхом збільшення синтезу з дигідроксіацетонфосфату. [132].

Це, у свою чергу, активує PKC у судинних клітинах, сітківці та клубочках. Гіперглікемія також активує ізоформи PKC опосередковано через лігування рецепторів AGE [133] і через посилення активності поліолового шляху. [134].

Активація бізоформ PKC опосередковує аномалії ретинально-ниркового кровотоку шляхом пригнічення вироблення оксиду азоту та підвищення активності ендотеліну-1[135].

Гіперглікемічна активація PKC індукує експресію VEGF у гладком'язових клітинах [136].

Активація PKC сприяє збільшенню накопичення матричного білка за допомогою кількох механізмів. PKC індукує експресію TGF-b1, фібронектину та колагену типу IV, що відбувається через інгібування продукції оксиду азоту [137].

PKC викликає надмірну експресію фібринолітичного інгібітора PAI-1 та активує NF-kB в ендотеліальних і гладком'язових клітинах судин. [138, 139].

PKC регулює та активує різні мембраноасоційовані НАДФ(Н)-залежні оксидази.

## Збільшення DAG/Активація шляху PKC

DAG і PKC є важливими внутрішньоклітинними сигнальними молекулами, які можуть регулювати багато судинних функцій. Фізіологічна активація PKC, опосередкована рецептором, опосередкована в основному активацією фосфоліпази C, що призводить до підвищення рівнів Ca2+ і DAG [140].

Внутрішньоклітинна гіперглікемія збільшує потік гліколітичного шляху та призводить до підвищення рівня гліколітичного проміжного дигідроксіацетонфосфату. Підвищені рівні цього проміжного продукту можуть стимулювати збільшення синтезу DAG de novo шляхом відновлення останнього до гліцеральдегідів-3-фосфатів і поетапного ацилювання [141].

При діабеті багато досліджень показали, що рівні DAG у різних тканинах, таких як сітківка [142], клубочки [143, 144], аорта та серце [145], підвищуються.

Крім того, різні дослідження клітинних культур також показують, що рівні DAG підвищуються за рахунок підвищення рівня глюкози від низького до високого в ендотеліальних клітинах сітківки та аорти [146], гладком'язових клітинах [147], мезанхімальних клітинах [148, 149], та інших судинних клітинах. Ці хронічно підвищені рівні DAG можуть активувати PKC.

Крім того, кілька ізоформ PKC також активуються за допомогою інших механізмів, таких як активні форми кисню [150, 151] і вільні жирні кислоти (FFA) [152, 153].

Підвищена активація PKC була пов'язана зі змінами кровотоку, потовщенням базальної мембрани, розширенням ECM, підвищенням проникності судин, аномальним ангіогенезом, надмірним апоптозом, підвищеною адгезією лейкоцитів та змінами змін активності ферментів, таких як Na+K+ATPase, cPLA2 , PI3K і мітоген-активована протеїнкіназа (MAPK) [154].

Ці ефекти, ймовірно, опосередковані через змінену експресію генів для вазоактивних факторів і факторів росту, таких як VEGF [155, 157], ендотелін (ET1) [158 159], трансформуючий фактор росту (TGF) [160, 161] і фактор росту сполучної тканини. (CTGF) [162-164].

Крім того, активація PKC сприяє надмірній експресії активатора плазміногену1 (PAI1) [165, 166], активації NFB та активації NADPH-оксидази [167, 168], у багатьох судинних клітинах, включаючи ендотеліальні клітини, гладком'язові клітини, перицити, мезангіальні клітини та інші [169, 170], PKC — це сімейство ферментів, що складається щонайменше з 12 членів [171].

З різних ізоформ PKC у судинних клітинах PKC, і виявляється, що ізоформи переважно активуються за допомогою імуноблоттингу в аорті та серці діабетичних гризунів, культивованих клітин гладких м'язів аорти та ендотеліальних клітин, які зазнали впливу високих рівнів глюкози [172, 173].

Однак збільшення інших ізоформ, таких як PKC, 2, і у клітинах сітківки [174, 175]та PKC у клубочкових клітинах [176-180], які зазнали впливу високого рівня глюкози або діабету, також було показано, що вони активуються.

У тварин з діабетом рубоксистаурину мезилат (RBX), PKC селективний інгібітор ізоформ, як було показано, запобігає багатьом судинним аномаліям, пов'язаним з ретинопатією, нефропатією та нейропатією [181-185].

Крім того, ми показали, що PKC нульові миші з індукованим стрептозотоцином (STZ) діабетом показали покращення ниркових аномалій, включаючи альбумінурію, гіпертрофію нирок і мезангіальне розширення [186].

Клінічні дослідження показали, що RBX покращує ендотеліальну дисфункцію [187], швидкість ниркової клубочкової фільтрації [188] та запобігає втраті гостроти зору [189] PKC-DRS Study Group у пацієнтів з діабетом.

Однак RBX не був ефективним у пацієнтів з болісною діабетичною нейропатією. Таким чином, активація PKC за участю кількох ізоформ,

ймовірно, відповідальна за деякі патології при ДР, нефропатію та серцево-судинні захворювання.

Опис механізмів діабетичної ретинопатії.

Активація протеїнкінази С (PKC) в ендотеліальних клітинах сітківки сприяє підвищенню проникності судин і утворенню мікроаневризм.

Активація PKC індукують апоптоз перицитів сітківки шляхом активації ядерного фактораB (NFB) за допомогою окислювального стресу та активації гомологічного домену Src2, що містить фосфатазу1 (SHP1), щоб пригнічувати дію тромбоцитарного фактора росту (PDGF) на виживання. Лікування PKC-b-специфічним інгібітором знижувало активність PKC у сітківці та ниркових клубочках діабетичних тварин, скасовувало спричинене діабетом збільшення середнього часу циркуляції в сітківці, нормалізувало швидкість клубочкової фільтрації та коригувало екскрецію альбуміну з сечею. [200].

### Збільшений потік через шлях гексозаміну

У нормальному стані глюкози лише невелика частка (приблизно 1–3%) глюкози метаболізується через гексозаміновий шлях. Підвищення рівня внутрішньоклітинної глюкози може спричинити посилений потік через шлях гексозаміну.

Фруктозо-6-фосфат, проміжний продукт гліколізу, перетворюється на глюкозамін-6-фосфат ферментом, що обмежує швидкість, глутамін фруктозо-6-фосфат амінотрансфераза (GFAT) [201].

Основним кінцевим продуктом є уридиндифосфат N-ацетилглюкозамін (UDP-GlcNAc), який є субстратом для подальшої модифікації GlcNAc, пов'язаної з O, цільових білків за залишками серину та треоніну. Повідомлялося про функціональну важливість модифікації OGlcNAc для кількох факторів транскрипції, таких як Sp [202-204].

Деякі звіти показали, що глюкозамін або надлишкова експресія GFAT збільшували промоторну активність і експресію PAI1 через посилення OGlcNAc модифікації Sp1 в судинних ендотеліальних клітинах [205], гладком'язових клітинах [206] і мезангіальних клітинах [207].

Крім того, повідомляється, що надмірна експресія глюкозаміну або GFAT стимулює надмірну експресію TGF1 через посилену експресію вищестоящих стимулюючих факторів 1 і 2 (USF1 і 2), але не збільшує модифікацію OGlcNAc цих факторів транскрипції в мезангіальних клітинах [208].

Крім того, гіперглікемія може пригнічувати активність ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) шляхом модифікації OGlcNAc на серині 1177 в ендотеліальних клітинах [209].

Надмірна активація шляху гексозаміну спричиняє зміни в активації генів, які, як відомо, призводять до дисфункції ендотелію судин та інших змін, що відповідають тим, що спостерігаються при діабетичній ретинопатії. Надлишок внутрішньоклітинної глюкози у формі фруктозо-6-фосфату

відводиться від гліколізу, щоб забезпечити субстрати для реакцій, які потребують UDP-N-ацетилглюкозаміну.

Кінцеві продукти цих відхилених реакцій включають протеоглікани та O-зв'язані глікопротеїни. Хоча механізм, за допомогою якого посилений потік через шлях гексозаміну опосередковує індуковане гіперглікемією збільшення транскрипції генів, невідомий, ковалентна модифікація фактора транскрипції Sp1 за допомогою N-ацетилглюкозаміну (G1cNAc) може пояснити зв’язок між активацією шляху гексозаміну та індуковані гіперглікемією зміни в транскрипції гена PAI-1.

Глікозильована форма Sp1 сприяє значно більшій активності транскрипції, ніж деглікозильована форма. Крім того, глікозилювання Sp1 пов’язане з відповідно меншим фосфорилюванням Sp1, що свідчить про те, що дві активності конкурують за один і той самий сайт зв’язування та можуть представляти більш узагальнений механізм для регуляції гена, що реагує на транскрипцію глюкози [210].

На додаток до транскрипційних факторів, кілька ядерних і цитоплазматичних білків або глікозильовані O-зв'язаним G1cNAc, або конкурентно фосфорильовані. Наприклад, ізоформи PKC активуються глюкозаміном без транслокації через мембрану. Показано, що гіперглікемія збільшує активність гексозамінового шляху в 2,4 раза в ендотеліальних клітинах аорти, що призводить до збільшення в 1,7 раза Sp1 O-пов’язаного G1cNAc. Гіперглікемія спричинила 3,8-кратне збільшення експресії ділянки ДНК із 85 парами основ, що відповідає за просування PAI-1.

Наше поточне розуміння біохімії сітківки ідентифікує серію шляхів із позитивними та негативними петлями зворотного зв’язку та декількома спільними субстратами та ферментами. Це допускає значні та складні перехресні реакції між шляхами, що свідчить про те, що успішне інгібування будь-якого окремого шляху, швидше за все, призведе до неповної клінічної відповіді.

Якщо єдина теорія діабетичної ретинопатії - гіперглікемічна продукція активних форм кисню - правильна, то дослідження, спрямовані на обмеження АФК, можуть дати найефективніші методи лікування.

## Активований протеїн С

APC також є ендогенним захисним фактором для ендотеліальних клітин. Виробництво APC залежить від зв'язування між тромбомодуліном і тромбіном, яке відбувається на поверхні ендотеліальних клітин. Комплекс тромбін/тромбомодулін каталізує перетворення протеїну С у його форму активації, APC. APC діє безпосередньо на клітини, виявляючи численні цитопротекторні ефекти, включаючи протизапальну, антиапоптотичну активність і захист функції ендотеліального бар'єру через рецептор ендотеліального протеїну С, рецептор, що активується протеазою?1 або рецептор сфінгозину [211].

Повідомлялося, що рівні тромбомодуліну в плазмі, які, як вважають, відображають втрату тромбомодуліну з ендотелію та зниження рівня APC, підвищені у пацієнтів з діабетом, а порушення системи тромбомодулін/протеїн С пов'язане з діабетичними ускладненнями, такими як нефропатія та нейропатія [212, 213].

Нещодавно Isermann та ін. показали, що порушення утворення APC внаслідок зниження експресії тромбомодуліну пов'язане з діабетичною нефропатією; і підвищені рівні APC можуть запобігти діабетичній нефропатії через антиапоптотичні ефекти проти індукованих діабетом ендотеліальних клітин і подоцитів [214].

Недавні дослідження, описані в цьому огляді, ідентифікують різні механізми, за допомогою яких гіперглікемія може викликати несприятливі наслідки, що спричиняють діабетичні ускладнення. Інгібування AR, PKC, взаємодії AGE/RAGE або окислювального стресу повинно забезпечити корисні мішені для лікування.

Лікування цих цілей було успішним на моделях тварин з діабетом; однак багато клінічних випробувань із застосуванням агентів безпосередньо проти цих мішеней не показали серйозних зусиль для запобігання або зупинки різних

діабетичних ускладнень. Недостатня ефективність цих засобів свідчить про те, що в розвитку діабетичних ускладнень залучені інші механізми.

Ми припустили, що функція ендогенних захисних факторів, включаючи інсулін, VEGF, PDGF і APC, є важливою для гомеостазу судин і також може бути порушена діабетом.

Тому необхідні подальші дослідження, щоб зрозуміти втрату захисних факторів у розвитку діабетичних ускладнень. Щоб бути ефективними, нова терапія повинна пригнічувати токсичний ефект гіперглікемії та посилювати ендогенні захисні фактори.

## Гіперглікемія, окислювальний стрес і запалення

Метаболічні аномалії діабету викликають надмірне виробництво мітохондріального супероксиду в судинних ендотеліальних клітинах (ЕК), що згодом призводить до посилення потоку через поліоловий шлях, виробництва прогресуючих кінцевих продуктів глікації (AGE), активації рецептора для AGE та його активація лігандів, активація шляху протеїнкінази С і надмірна активність шляху гексозаміну [215].

Ці шляхи підвищують рівень внутрішньоклітинних активних форм кисню та викликають незворотне пошкодження клітин через епігенетичні зміни, такі як модифікація гістонів, метилювання ДНК і некодуючих РНК [216, 217].

Згідно з цією концепцією «метаболічної/гіперглікемічної пам'яті», евглікемічний повторний доступ після трансплантації клітин острівців підшлункової залози діабетичним мишам, індукованим STZ, не може вилікувати мікросудинне пошкодження сітківки [218].

Ці результати можуть пояснити вплив раннього контролю глікемії на майбутній розвиток ДР [219].

При тривалій гіперглікемії окислювальний стрес, різні сигнальні шляхи та епігенетичні модифікації викликають запалення [220-222].

Рівні прозапальних цитокінів і хемокінів, таких як моноцитарний хемоаттрактантний білок 1 (MCP-1), фактор некрозу пухлини (TNF), інтерлейкін 1 (IL-1) і IL-6 підвищені в очах з DR [223].

Основні функції запалення в ініціації та прогресуванні ДР були емпірично підтверджені терапевтичною ефективністю кортикостероїдів для ДМН та DR per se [224].

У діабетичних сітківках адгезія та інфільтрація лейкоцитів може пошкодити судинні ЕК і нейрогліальні клітини шляхом фізичної оклюзії капілярів і через вивільнення медіаторів запалення та супероксиду [225].

Таким чином, для лікування DR потрібні нові протизапальні препарати з меншою кількістю побічних ефектів, ніж кортикостероїди. На сьогоднішній день кілька сполук і препаратів з антитілами, які спрямовані на сигнали запалення, такі як MCP-1, TNF, IL-1 та IL-6, були клінічно оцінені для ДМН або DR [226, 227], але жоден з їх було затверджено.

Схема ключових клітинних і молекулярних подій у прогресуванні діабетичної ретинопатії. Гіперглікемія ініціює окислювальний стрес, епігенетичні модифікації та запалення в ендотеліальних клітинах судин (ЕК). Дегенерація нейроглії передує мікросудинним змінам.

Втрата перицитів зі стінок судин підвищує чутливість ЕК до подразників мікросередовища. Інфільтруючі макрофаги виділяють васкулярний ендотеліальний фактор росту (VEGF) A і плацентарний фактор росту (PlGF). Позитивна петля зворотного зв'язку між ангіопоетином-2 (Ang2) і транскрипційним фактором вилочної коробки, вилочної коробки O1 (FOXO1), у ЕК ще більше дестабілізує цілісність судин.

Ці події утворюють цикл пошкодження судин, що призводить до руйнування бар'єру «гемат-сітківка». Гіпоксія сітківки, що виникає внаслідок оклюзії судин, індукує екстра-ретинальний неоангіогенез, що супроводжується утворенням фіброваскулярної мембрани.

У всіх цих процесах трансдукція сигналу через мітоген-активовану протеїнкіназу (MAPK) і фосфатидилінозитол-3-кіназу (PI3K)/Akt шляхи нижче за течією рецептора VEGF (VEGFR) 2 у ECs є ключовою в ангіогенезі сітківки та витоку судин. Tie2, тирозинкіназа з імуноглобуліноподібними петлями та домени гомології 2 епідермального фактора росту.

Хоча залишається невідомим, чому мікросудинні аномалії сітківки розвиваються протягом багатьох років періодів гіперглікемії (більше 5 років при цукровому діабеті 2 типу), клінічні та експериментальні дані продемонстрували незворотну втрату нейронів, що передує судинним ураженням у діабетичних сітківках [226-229].

Таким чином, очікується, що нейропротекторні агенти, такі як очні краплі соматостатину або бримонідину (агоніст-2-адренорецепторів), запобігатимуть нейрогліальній дегенерації та довгостроково збережуть зір у субклінічній та ранній стадії ДР (дослідження EUROCONDOR [NCT01726075]) [230-231].

**Активні форми кисню (АФК) і підвищений індекс окислювального стресу**

Нещодавні дослідження показали, що підвищення окисного стресу є основною метаболічною аномалією, яка бере участь у розвитку діабетичних ускладнень [322].

Окислювальний стрес виникає, коли виробництво активних форм кисню (АФК) перевищує можливості антиоксидантних систем. Існують суттєві докази того, що виробництво АФК збільшується в ендотеліальних клітинах, нирках, сітківці ока, які піддаються гіперглікемії або у тварин з діабетом [323-326].

Збільшені маркери окисного стресу відображають збільшення виробництва АФК, зниження антиоксидантів або те й інше. Підвищене утворення АФК є результатом аномального метаболізму глюкози, вільних жирних кислот ВЖК та інших реактивних метаболітів при діабеті [327-329].

Декілька процесів є джерелами збільшення АФК, у тому числі глюкооксиданти та AGE, які утворюються шляхом неферментативного гліколізу та мітохондріального окисного фосфорилювання [330-332].

Крім того, побічні продукти цих процесів можуть викликати активацію певних сигнальних каскадів, таких як PKC, які можуть активувати NADPH-оксидазу для збільшення АФК [333].

Підвищений рівень FFA також може збільшити виробництво АФК шляхом окисного фосфорилювання через мітохондріальний метаболізм [334].

Таким чином, підвищене виробництво АФК при діабеті може виникати внаслідок метаболізму як глюкози, так і ВЖК кількома шляхами. Це дає пояснення для виявлення підвищеного окислювального стресу у інсулінорезистентних пацієнтів без діабету [335].

Навпаки, у хворих на цукровий діабет тварин і пацієнтів було виявлено зниження антиоксидантів. Наприклад, рівень GSH був знижений у нирках і еритроцитах у щурів з діабетом, індукованим STZ [336].

Деякі дослідження показали, що рівні вітамінів С і Е в плазмі були знижені, тоді як інші не показали жодних змін [337, 338].

Однак можливо, що рівень антиоксидантів у плазмі може не відображати рівень антиоксидантів в тканинах.

Антиоксидантна терапія була застосована в експериментах на тваринах, наприклад, вітамін С, вітамін Е та ліпоєва кислота. Усі вони продемонстрували покращення біологічних і патологічних змін і попередили або сповільнили прогресування діабетичних ускладнень.

Надмірна експресія каталази або супероксиддисмутази (SOD) захищала нирки від пошкодження, викликаного гіперглікемією, у мишей.

Однак великі дослідження, такі як Heart Outcomes Prevention Study з використанням вітаміну Е та токоферолу, не показали покращення мікросудинних або серцево-судинних пошкоджень.

## Роль запалення у патогенезі ДР

Запалення відіграє істотну роль у патогенезі ДР. Хронічне запалення низького ступеня виявляли широко на різних стадіях ДР як у тварин, так і у пацієнтів з діабетом.

Лейкостаз був визнаний ключовим процесом на ранній стадії ДР. У 1991 році Шредер та ін. вперше повідомив про оклюзію мікроциркуляторного русла сітківки моноцитами та гранулоцитами у стрептозотоцину (STZ) індукованих діабетичних щурів.

Підвищену адгезію лейкоцитів було виявлено в судинній системі сітківки вже через три дні після індукції діабету у щурів.

Дослідники також виявили, що збільшення лейкостазу просторово корелює з пошкодженням ендотелію та порушенням BRB у діабетичних щурів.

Подальші дослідження показали, що лейкостаз сприяє втраті ендотеліальних клітин і розпаду BRB через Fas (CD95)/Fas-лігандний шлях.

Адгезія лейкоцитів і ендотелію, опосередкована молекулами адгезії, була причетна до лейкостазу при діабеті. Повідомлялося про підвищену адгезію лейкоцитів і посилену експресію b2-інтегринів лейкоцитів CD11a, CD11b і CD18 у щурів і пацієнтів з діабетом.

Крім того, виявлено, що молекули адгезії ендотеліальних клітин, такі як молекула міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1), молекула адгезії судинних клітин (VCAM)-1 і селектини (Е-селектин), також підвищуються у тварин і пацієнтів з діабетом.

Експресія VCAM-1 та Е-селектину в плазмі пацієнтів корелює з тяжкістю ДР. Генетичний дефіцит CD18 або ICAM-1 призводив до значного зниження прилиплих лейкоцитів.

Інгібування CD18 або ICAM-1 анти-CD18 F(ab9)2 фрагментами або антитілами зменшувало лейкостаз сітківки та судинні ураження у діабетичних щурів.

Доведено, що хемокіни, які регулюють залучення та активацію лейкоцитів, також беруть участь у патогенезі ДР. Хемокіни, такі як моноцитарний хемотаксичний білок-1 (MCP-1), макрофагальний запальний білок-1альфа (MIP-1) і MIP-1 повідомлялося, що вони підвищені у пацієнтів з діабетом.

Дефіцит MCP-1 призводить до зниження просочування судин сітківки у діабетичних мишей.

Крім того, запальні цитокіни, такі як фактор некрозу пухлини альфа (TNF), інтерлейкін 6 (IL-6), IL-8 та IL-1 були значно підвищені у пацієнтів з цукровим діабетом, і рівень їхньої експресії корелював із тяжкістю ДР.

Вважається, що дисфункція гліальних клітин сітківки також бере участь у ініціації та посиленні запалення сітківки при ДР.

Гліальні клітини сітківки, включаючи астроцити, клітини Мюллера та мікроглію, відповідають за забезпечення структурної підтримки та підтримання гомеостазу в сітківці.

Під час гіперглікемічного стресу відбувається активація мікроглії з подальшим підвищенням секреції TNF-, IL-6, MCP-1 і VEGF.

Пізніше залучення клітин Меллера та астроцитів пов’язане з посиленням реакцій запалення шляхом вироблення прозапальних цитокінів.

## Роль Факторів росту ендотелію судин у патогенезі ДР

У 1948 році Майклсон припустив наявність проангіогенного фактора, що походить від гіпоксичної сітківки при ДР.

Після відкриття VEGF у 1980-х роках [339] у 1994 році було повідомлено про підвищення рівня VEGF в очах із ПДР.

Згодом ін'єкції VEGF в очі мавп відтворювали аномалії судин сітківки, які спостерігалися в НПДР і ПДР.

Далі, широкі дослідження фізіологічних і патологічних функцій VEGF призвели до розробки препаратів проти VEG.

Сімейство VEGF, що включає VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD і PlGF, є секреторними глікопротеїновими лігандами, кожен з яких чітко зв'язується з трансмембранними тирозинкіназами VEGFR1, VEGFR2 і VEGFR3.

Під час гіпоксії VEGFA посилюється транскрипційно, а альтернативний сплайсинг мРНК генерує кілька ізоформ VEGFA, таких як VEGFA121, VEGFA165 і VEGFA189, у людини.

Ці ізоформи VEGFA мають різну спорідненість зв'язування з позаклітинними матрицями та корецептором VEGFR2, нейропіліном-1. Посттрансляційний процесинг білків VEGFA додатково урізноманітнює їх розподіл і сигнальну діяльність.

У судинних ЕК зв'язування VEGFA з VEGFR2 активує кілька каскадів сигнальної трансдукції, включаючи шлях протеїнкінази, що активується мітогеном, і шлях фосфатидилінозитол 3-кінази (PI3K)/Akt, тим самим сприяючи проліферації та міграції клітин і подальшому утворенню нових кровоносних судин.

Крім того, сигнал VEGFA-VEGFR2 порушує зв'язки EC-EC і щільні з'єднання, що призводить до гіперпроникності судин і екстравазації рідини. Таким чином, сигнал VEGFA-VEGFR2 є ключовим у ангіогенезі сітківки та судинному витоку при ДР.

У ЕК трансмембранний і розчинний VEGFR1 функціонує як приманка для VEGFA, модулюючи інтенсивність сигналу VEGFR2.

Фізіологічні функції ендотеліальної сигналізації VEGFR1, активованої VEGFA, VEGFB або PlGF, вважаються незначними, оскільки миші, у яких відсутній внутрішньоклітинний кіназний домен VEGFR1, життєздатні та не мають судинних аномалій.

Навпаки, сигнал VEGFR1 в моноцитах і макрофагах робить значний внесок при запальних станах, корелюючи з підвищенням регуляції VEGFB і PlGF в очах із DR.

На відміну від своїх шкідливих функцій у патологічних умовах, VEGFA бере участь у підтримці гомеостазу нейронних сітківок, у яких підгрупа нейронів і глія Мюллера конститутивно експресують VEGFR2.

Крім того, VEGFA, який виділяється з клітин пігментного епітелію сітківки (RPE), є незамінним для підтримки хоріоїдальних судин, що викликає занепокоєння щодо шкідливих наслідків повторних ін’єкцій анти-VEGF. Тим не менш, нові препарати проти VEGF все ще розробляються для подовження ефективності та інтервалів між ін’єкціями при лікуванні ДР.

Серед них бролюцизумаб (RTH258), гуманізований одноланцюговий фрагмент антитіла проти VEGFA, як очікується, знизить частоту ін’єкцій через малу молекулярну масу та високу інтравітреальну концентрацію.

## Фактор росту ендотелію судин А

VEGF включає сімейство факторів росту, які діють на ендотеліальні клітини, регульовані гіпоксією, і сприяють ангіогенезу, збільшують проникність судинної мережі, а також відомий як головний регулятор проліферації, міграції та виживання ендотелію.

Повідомлялося про підвищену концентрацію VEGFA в очних рідинах і тканинах сітківки пацієнтів з цукровим діабетом, що пов’язано з тяжкістю проліферативної DR (ПДР). Лікування проти VEGF, включаючи інтравітреальну ін’єкцію, може пригнічувати прогресування ПДР.

Однак цілком імовірно, що рівні VEGF сітківки спочатку підвищені в результаті реакції проти гіпоксії або ішемії сітківки при діабеті для підтримки ендотеліальної функції та кровообігу в результаті втрати перицитів і безклітинних капілярів. Це збільшення VEGF, ймовірно, є реакцією тканин на підвищення виживаності.

Таким чином, використання тривалої терапії анти-VEGF може мати сприятливий вплив на судинну систему в короткостроковій перспективі. Клінічно втрата VEGF без належного глікемічного контролю або зниження метаболічних потреб, як, наприклад, під час фотокоагуляції, може спричинити ускладнення в нервовій сітківці.

## Ангіопоетини. Роль у патогенезі ДР

Ангіопоетин-1 (Ang1) був ідентифікований як агоністичний ліганд ендотеліальної тирозинкінази з імуноглобуліноподібними петлями та рецептором гомологічних доменів 2 епідермального фактора росту (Tie2) у 1996 році Regeneron Pharmaceuticals Inc.

Зв'язування Ang1 з Tie2 активує шлях PI3K/Akt, що призводить до фосфорилювання та інактивації транскрипційного фактора вилочної коробки O1 (FOXO1), у ЕС. Ця сигналізація стабілізує цілісність судин, сприяючи виживанню ЕК, запобігаючи судинній проникності та пригнічуючи запальні реакції.

У 1997 році Regeneron повідомив про інший ліганд, Ang2, який зв'язує Tie2 з такою ж спорідненістю, як Ang1.

Однак Ang2 слабко активує Tie2 в ЕС. Таким чином, припускали, що Ang2 є природним антагоністом Tie2, який протидіє опосередкованій Ang1 стабілізації судин.

Ang2 робить ЕК більш чутливими до проангіогенних, пропроникних і прозапальних стимулів, таких як VEGFA і TNF.

Окрім того, Ang2 активізується гіпоксією, VEGFA та гіперглікемією тоді, як індукована Ang2 активація FOXO1 посилює Ang2, утворюючи позитивну петлю зворотного зв'язку.

Ці результати вказують на те, що Ang2 сприяє ангіогенезу, судинній проникності та запаленню за певних умов захворювання. Ang2 посилюється в очах з DR, віковою дегенерацією жовтої плями та оклюзією вен сітківки.

На сьогоднішній день розроблено серію блокаторів Ang2 та активаторів Tie2 [340].

Серед них активатор Tie2 AKB-9778 біспецифічне антитіло анти-Ang2/VEGFA RG7716 і повністю людський моноклональний анти-Ang2 несвакумаб (REGN910) були клінічно оцінені для лікування ДР.

Дослідження 2 фази RUBY (NCT02712008) щодо ДМН не показало подальшого покращення при комбінації афліберцепту та несвакумабу порівняно з монотерапією афліберцептом. З іншого боку, фаза 2 дослідження TIME-2 (NCT02050828) комбінації AKB-9778 і ранібізумабу та фаза 2 дослідження BOULEVARD (NCT02699450) RG7716 повідомили про сприятливі результати лікування ДМЕ.

Примітно, що Ang2 може діяти як агоніст Tie2, залежно від середовища.

Таким чином, препарати проти Ang2 можуть пригнічувати агоністичну активність Ang2 і призводити до неочікуваних результатів.

Метаболічні аномалії діабету викликають надмірне виробництво мітохондріального супероксиду в судинних ендотеліальних клітинах (ЕК), що згодом призводить до посилення потоку через поліоловий шлях, виробництва прогресуючих кінцевих продуктів глікації (AGE), активації рецептора для AGE та його активація лігандів, активація шляху протеїнкінази С і надмірна активність шляху гексозаміну [215].

Ці шляхи підвищують рівень внутрішньоклітинних активних форм кисню та викликають незворотне пошкодження клітин через епігенетичні зміни, такі як модифікація гістонів, метилювання ДНК і некодуючих РНК [216, 217].

Згідно з цією концепцією «метаболічної/гіперглікемічної пам’яті», евглікемічний повторний доступ після трансплантації клітин острівців підшлункової залози діабетичним мишам, індукованим STZ, не може вилікувати мікросудинне пошкодження сітківки [218].

Ці результати можуть пояснити вплив раннього контролю глікемії на майбутній розвиток ДР [219].

При тривалій гіперглікемії окислювальний стрес, різні сигнальні шляхи та епігенетичні модифікації викликають запалення [220-222].

Рівні прозапальних цитокінів і хемокінів, таких як моноцитарний хемоаттрактантний білок 1 (MCP-1), фактор некрозу пухлини (TNF), інтерлейкін 1 (IL-1) і IL-6 підвищені в очах з DR [223].

Основні функції запалення в ініціації та прогресуванні ДР були емпірично підтверджені терапевтичною ефективністю кортикостероїдів для ДМН та DR per se [224].

У діабетичних сітківках адгезія та інфільтрація лейкоцитів може пошкодити судинні ЕК і нейрогліальні клітини шляхом фізичної оклюзії капілярів і через вивільнення медіаторів запалення та супероксиду [225].

Таким чином, для лікування DR потрібні нові протизапальні препарати з меншою кількістю побічних ефектів, ніж кортикостероїди. На сьогоднішній день кілька сполук і препаратів з антитілами, які спрямовані на сигнали запалення, такі як MCP-1, TNF, IL-1 та IL-6, були клінічно оцінені для ДМН або DR [226, 227], але жоден з їх було затверджено.

Схема ключових клітинних і молекулярних подій у прогресуванні діабетичної ретинопатії. Гіперглікемія ініціює окислювальний стрес, епігенетичні модифікації та запалення в ендотеліальних клітинах судин (ЕК). Дегенерація нейроглії передує мікросудинним змінам.

Втрата перицитів зі стінок судин підвищує чутливість ЕК до подразників мікросередовища. Інфільтруючі макрофаги виділяють васкулярний ендотеліальний фактор росту (VEGF) A і плацентарний фактор росту (PlGF). Позитивна петля зворотного зв’язку між ангіопоетином-2 (Ang2) і транскрипційним фактором вилочної коробки, вилочної коробки O1 (FOXO1), у ЕК ще більше дестабілізує цілісність судин.

Ці події утворюють цикл пошкодження судин, що призводить до руйнування бар’єру «гемат-сітківка». Гіпоксія сітківки, що виникає внаслідок оклюзії судин, індукує екстра-ретинальний неоангіогенез, що супроводжується утворенням фіброваскулярної мембрани.

У всіх цих процесах трансдукція сигналу через мітоген-активовану протеїнкіназу (MAPK) і фосфатидилінозитол-3-кіназу (PI3K)/Akt шляхи нижче за течією рецептора VEGF (VEGFR) 2 у ECs є ключовою в ангіогенезі сітківки та витоку судин. Tie2, тирозинкіназа з імуноглобуліноподібними петлями та домени гомології 2 епідермального фактора росту.

Хоча залишається невідомим, чому мікросудинні аномалії сітківки розвиваються протягом багатьох років періодів гіперглікемії (більше 5 років при цукровому діабеті 2 типу), клінічні та експериментальні дані продемонстрували незворотну втрату нейронів, що передує судинним ураженням у діабетичних сітківках [226-229].

Таким чином, очікується, що нейропротекторні агенти, такі як очні краплі соматостатину або бримонідину (агоніст-2-адренорецепторів), запобігатимуть нейрогліальній дегенерації та довгостроково збережуть зір у субклінічній та ранній стадії ДР (дослідження EUROCONDOR [NCT01726075]) [230-231].

## Макулярний набряк у патогенезі ДР

Живлення сітківки забезпечується двома кровообігами: хоріокапілярним, який живить зовнішню третину сітківки, і двома шарами (поверхневим сплетенням у шарах аксонів і гангліозних клітин, глибоким сплетенням у внутрішньому ядерному шарі) капілярного кровообігу сітківки.

Спостерігаються два різних типи діабетичної макулопатії: ішемічна макулопатія внаслідок випадання капілярів і набряк макули внаслідок ексудації з капілярів сітківки та/або хоріокапілярів.

Точне розташування макулярного набряку - позаклітинний або внутрішньоклітинний - не встановлено, оскільки дослідження вказують на обидва розташування. Гістологічні дослідження енуклеованих очей з діабетом і пухлинами виявили набряк і дегенерацію Мюллерових, біполярних, гангліозних і фоторецепторних клітин і позаклітинних кістозних просторів.

Хоча ангіографічна ішемія та макулярний набряк можуть співіснувати, їхній вплив на гостроту зору є незалежним.

Деякі науковці не виявили кореляції між кровотоком і макулярним набряком, таким чином зробивши висновок, що внутрішня ішемія сітківки не викликає макулярного набряку.

Здається, що потовщення сітківки корелює з порушенням гематоетинального бар'єру; однак ішемія не корелювала з потовщенням макули, що свідчить про те, що основною причиною потовщення сітківки є позаклітинна експансія.

Висновок цих досліджень полягає в тому, що хоча ішемія може призводити до невеликого внутрішньоклітинного набряку, основний внесок у набряк макули є позаклітинний накопичення рідини.

У різних дослідженнях було показано, що за відсутності ретинопатії діабет збільшує або зменшує кровообіг у сітківці. Однак після встановлення ретинопатії кровотік у сітківці збільшується.

Вважається, що функція ауторегуляції втрачається, і артеріоли та венули розширюються та подовжуються. Це призводить до зниження опору артеріол із зменшенням втрати тиску по довжині артеріоли.

Це збільшило б ефективний внутрішньопросвітний тиск у капілярах сітківки, що, згідно із законом Старлінга, призвело б до проходження рідини у позаклітинний простір.

Супутнє вивільнення вазоактивних цитокінів, таких як VEGF, з ендотеліальних клітин, нейроглії та активованих лейкоцитів, створює руйнування гематоретинального бар'єру за допомогою кількох механізмів, що призводить до руху альбуміну в інтерстицій.

Встановлено, що кровообіг у судинній оболонці знижений у хворих на цукровий діабет.

Об'єм кровообігу в судинній оболонці відносно незмінний у хворих на цукровий діабет, але індоціаніново-зелена ангіографія показує ділянки фокальної хоріоїдальної неперфузії в очах з діабетичною пігментною епітеліопатією. Іноді значне просочування через пігментний епітелій відбувається в очах із лише мінімальною ретинопатією.

Як інтрахоріоїдальна неоваскуляризація, так і хоріокапілярна оклюзія частіше трапляються у діабетиків. Обидва ці процеси, ймовірно, є результатом тих самих подій (дегенерація базальної мембрани, ангіогенез), які призводять до діабетичної ретинопатії [341].

## Регуляція кровоносних судин сітківки при діабеті

Оскільки вегетативна нервова система закінчується на lamina cribosaa, регуляція кровоносних судин сітківки опосередковується місцевими факторами, такими як ендотелін-1, ангіотензин II, гіпероксія, CO2, оксид азоту (NO) і аденозин.

Декілька дослідників знайшли докази ауторегуляторної втрати судинної системи сітківки у пацієнтів з діабетом. Lanigan [342] зазначив, що у пацієнтів з легкою діабетичною ретинопатією та мікроальбумінурією зменшилося звуження артеріол і венул сітківки, пов'язане з тривалим скороченням ручки. Інгібітори NO-синтетази викликають меншу пульсацію судин сітківки у пацієнтів з діабетом, ніж контрольна група, що свідчить про те, що у діабетиків менше NO-синтетази або їхні судини менш чутливі до NO.

Перед накопиченням набряку флюорофотометрія склоподібного тіла показала порушення гематоретинального бар'єру.

Ймовірно, це означає ранню втрату білка щілинного з'єднання, що дозволяє молекулам, меншим за альбумін, виходити з просвіту капіляра. Інші пацієнти можуть мати пігментну епітеліопатію сітківки, як перший прояв діабетичної ретинопатії.

Дисфункція RPE, ймовірно, недооцінюється, оскільки розвиток супутнього судинного захворювання сітківки може маскувати це на флюоресцеїновій ангіографії.

**Роль пігметного епітелію сітківки (RPE) у діабетичному макулярному набряку**

На додаток до ізоформ VEGF-A, які зазвичай зустрічаються, очі з діабетичним макулярним набряком мають підвищений рівень ще однієї молекули сімейства VEGF, плацентарного фактора росту (PLGF).

Ці ізоформи реагують з VEGFR-1, але не з VEGFR-2. Було виявлено, що гіперпроникність RPE виникає лише через VEGFR-1.

Показано, що PLGF посилюється в умовах гіпоксії, як це спостерігається при діабетичних захворюваннях очей. Нарешті, руйнування бар'єру RPE було відмічено у стрептозотоцин-індукованих діабетичних щурів.

Гістопатологічні дослідження показали, що кістозний макулярний набряк розвивається у двох шарах сітківки: внутрішньому ядерному шарі та зовнішньому плексиформному шарі.

Однак велика кількість рідини може переливатися у зовнішній ядерний шар. Як гістологічні дослідження, так і ОКТ-дослідження припустили наявність кількох кіст; однак подальший аналіз показує, що рідина існує у великих порожнинах, охоплених клітинами Мюллера.

Витік рідини з капілярів внутрішньої сітківки обмежується внутрішнім і зовнішнім плексиформними шарами, що призводить до накопичення рідини у внутрішньому ядерному шарі. Накопичення рідини у внутрішньому ядерному шарі зміщує тканину в плексиформних шарах, збільшуючи щільність тканини, що призводить до відносного бар'єру для подальшого поширення набряку. Порушення зовнішнього гематоретинального бар'єру часто спричиняє накопичення рідини між зовнішнім плексиформним шаром і зовнішньою обмежувальною мембраною.

Як було продемонстровано в дослідженнях пероксидази хрону на діабетичних щурах, в інших очах з неушкодженими зовнішніми обмежувальними мембранами розвиватимуться обмежені ексудативні

відшарування сітківки з накопиченням рідини між пігментним епітелієм сітківки та зовнішніми сегментами фоторецепторів.

Тому, оскільки вегетативна нервова система закінчується на lamina cribosa, регуляція кровоносних судин сітківки опосередковується місцевими факторами, такими як ендотелін-1, ангіотензин II, гіпероксія, CO2, оксид азоту (NO) і аденозин.

Декілька дослідників знайшли докази ауторегуляторної втрати судинної системи сітківки у пацієнтів з діабетом. Lanigan [342] зазначив, що у пацієнтів з легкою діабетичною ретинопатією та мікроальбумінурією зменшилося звуження артеріол і венул сітківки, пов’язане з тривалим скороченням pen. Інгібітори NO-синтетази викликають меншу пульсацію судин сітківки у пацієнтів з діабетом, ніж контрольна група, що свідчить про те, що у діабетиків менше NO-синтетази або їхні судини менш чутливі до NO.

Перед накопиченням набряку флюорофотометрія склоподібного тіла показала порушення гематоретинального бар’єру.

Ймовірно, це означає ранню втрату білка щілинного з’єднання, що дозволяє молекулам, меншим за альбумін, виходити з просвіту капіляра. Інші пацієнти можуть мати пігментну епітеліопатію сітківки, як перший прояв діабетичної ретинопатії.

Дисфункція RPE, ймовірно, недооцінюється, оскільки розвиток супутнього судинного захворювання сітківки може маскувати це на флюоресцеїновій ангіографії.

## Гемато--ретинальний бар'єр при ДР

Сітківка підпорядковується двом окремим гемато-ретинальним бар’єрам: внутрішньому BRB, який складається з ендотеліальних клітин капілярів сітківки та їх щільних з’єднань, і зовнішньому BRB, який складається з пігментного епітелію сітківки та їх щільних з’єднань.

Клітинні мембрани епітеліальних та ендотеліальних клітин складаються з подвійних шарів із гідрофільними гліцеринами, що зв’язують гідрофобні довголанцюгові фрагменти жирних кислот.

За нормальних, здорових умов клітинні мембрани пропускають невеликі гідрофобні молекули, воду та маленькі незаряджені полярні молекули, але утворюють непроникний бар’єр для проходження іонів та більших незаряджених полярних молекул. Розпад BRB при діабеті може включати внутрішній BRB, зовнішній BRB або обидва.

Щільні з’єднання утворюють бар’єр між сусідніми клітинами ендотелію та епітелію. З’єднання складаються з численних міжклітинних білків, які включають оклюдин, клаудин (23 ізоформи), 7H6, цингулін, zonula occludens (ZO)-1,2,3, молекулу адгезії з’єднання (JAM), мембранно-асоційовані гуанілаткінази з інвертованим доменом структури (MAGI)-1,2,3, гени з дефектами розділу (PAR)3/6 і мульти-pdz білок-1 (MUPP1).

Деякі з білків були детально вивчені та добре охарактеризовані. Окклюдин і клаудіни контролюють більшу частину бар’єрної функції.

Втрата окклюдину у щурів з діабетом збігається з підвищенням проникності сітківки крові для альбуміну (маса 66 кДа), але не для родаміну. -декстран (маса 10 кДа), можливо, через зміни бар'єру не розміру пор, а гідрофобності. Claudin-5 запобігає проходженню невеликих (<0,8 кДа) молекул через гематоенцефалічний бар’єр і, ймовірно, служить тій же меті в сітківці.

Вважається, що ZO-1 у щільних з'єднаннях ендотеліальних клітин сітківки координує збирання з'єднувальних комплексів із всередині клітини і є надійним індикатором функції щільного з'єднання.

Молекули з'єднання (JAM) сприяють взаємодії між ендотеліальними клітинами та лейкоцитами та допомагають у збиранні щільного з'єднання. Крім того, білки з'єднання можуть сприяти структурі клітини.

Внутрішньоклітинні окружні пучки актину утворюються в місцях контакту з оклюдин-позитивними клітинами, але актин не утворюється в областях без оклюдину.

Транспорт через BRB може бути як трансцелюлярним, так і парацелюлярним.

Трансцелюлярний пасаж може відбуватися внаслідок змін у стані бар'єру або насосної здатності ендотеліальних клітин, тоді як парацелюлярний пасаж відбувається через втрату цілісності щільних з'єднань. Підвищені рівні флуоресцеїну в склоподібному тілі, виявлені за допомогою флуорофотометрії склоподібного тіла, передують флуоресцеїновим ангіографічним доказам діабетичної ретинопатії на моделях щурів і мавп і людей.

Це свідчить про те, що ранній розпад BRB дозволяє проходити меншим молекулам, таким як флуоресцеїн, але все ще перешкоджає проходженню білків, таких як альбумін, які необхідні для утворення макулярного набряку.

Було показано, що VEGF руйнує BRB, сприяючи переміщенню між клітинами та пошкоджуючи тісні з'єднання. Ін'єкції VEGF спричиняють утворення мембран у ендотеліальних клітинах щурів і жаб, але не в клітинах мавп. Трансцелюлярні розриви виникають з підвищеною частотою і призводять до підвищення гідравлічної провідності. Протягом 24 годин після перфузії VEGF везикуловакуолярні органели утворюють безперервний міжклітинний ланцюг, розділений лише фенестраціями, у ендотеліальних клітинах судин.

Коли екзогенний VEGF вводять в очі, уражені діабетом, спостерігаються три зміни в тісних з'єднаннях:

- білки щільного з’єднання фосфорилюються;
- існуючі сполучення плазматичної мембрани з цитоплазмою клітини реорганізуються;
- знижується рівень стикового білка.

Діабет змінює рівні сполучних і матричних білків. Вміст оклюдину знижується в сітківці діабетичних щурів. Рівні окклюдину та ZO-1 знижуються в культивованих ендотеліальних клітинах головного мозку, оброблених VEGF.

Сітківка тварин з діабетом показала підвищені рівні мРНК MMP-2, MMP-9 і MMP-14. Гіперглікемія та TGF-b підвищують рівень MMP-9. Клітини, оброблені MMP-2 і MMP-9, показали зміни щілинного з’єднання через підвищення трансепітеліального електричного опору та деградації оклюдину.

**Дисфункція RPE і роль при порушенні гемато-сітківкового бар'єру**

Для підтримки гомеостазу сітківки витік плазми в нервові тканини жорстко регулюється внутрішнім і зовнішнім гемато-сітківковим бар’єрами (BRB), ущільненими судинними ECs і RPE клітинами сітківки відповідно.

Хоча дисфункція RPE може збільшити приплив рідини з підлеглих хоріоїдальних судин в очі хворих на цукровий діабет, патогенна роль руйнування зовнішнього BRB у ДМН не повністю зрозуміла.

І навпаки, підвищений парацелюлярний і трансцелюлярний витік у ЕК сітківки викликає руйнування внутрішнього BRB у DR.

Грунтуючись на початкових гістопатологічних спостереженнях очей людини з діабетом, консенсус полягає в тому, що випадання перицитів зі стінок капілярів сітківки відповідає за розпад внутрішнього BRB.

Перицити сітківки походять від нервового гребеня і регулюють кровотік, забезпечуючи механічну міцність стінок судин.

Крім того, перицити відіграють ключову роль у підтримці цілісності ЕК через секреторні сигнали та прямий міжклітинний контакт.

У розвитку сітківки ЕС-похідний тромбоцитарний фактор росту (PDGF) В сприяє залученню β-експресуючих перицитів рецептора PDGF (PDGFR) до кровоносних судин, що зароджуються [343].

Отже, збої в ПДГФБ-ПДГФР? Сигнал у постнатальних мишей може виснажувати перицити у зростаючих судинах сітківки, що призводить до розширення судин, гіперпроникності, гіпоперфузії, набряку сітківки та крововиливів.

Примітно, що тимчасове гальмування рекрутингу перицитів під час розвитку призводить до стійкої дисоціації ЕС-перицитів у сітківці дорослих із судинними ураженнями, характерними для ДР.

У перицит-дефіцитних сітківках ЕК поверхневих судин сітківки активно проліферують, але не можуть мігрувати вниз у глибші шари, утворюючи аневризмоподібні структури з надлишковим накопиченням ЕК.

У людини DR мітотичні ЕК також виявляються в мікроаневризмах, тоді як мікроаневризми іноді зникають після інтравітреальної ін'єкції анти-VEGF. Ці результати свідчать про те, що утворення мікроаневризм при ДР частково пояснюється надмірною проліферацією ЕК з дефіцитом перицитів у відповідь на VEGFA.

У сітківці мишей дефіцит перицитів викликає ендотеліальне запалення та периваскулярну інфільтрацію макрофагами.

У цьому випадку VEGFA, отриманий із макрофагів, активує ендотеліальний VEGFR2, тоді як VEGFA та PlGF активують VEGFR1 в макрофагах аутокринним способом. Більше того, ЕК без перицитів посилюють регуляцію Ang2 і зазнають ядерної транслокації FOXO1, особливо в мікроаневризмах, утворюючи петлю позитивного зворотного зв'язку на основі Ang2-FOXO1.

Ці експериментальні результати вказують на те, що дефіцит перицитів у зростаючих судинах сітківки викликає цикл пошкоджень через взаємодію ЕС-макрофагів, що призводить до тривалого запалення та необоротного руйнування BRB.

Однак несподівано видалення перицитів із сітківки дорослої людини сенсибілізує ЕК до VEGFA, але цього недостатньо, щоб викликати зміни в структурі та функції судин.

Крім того, PDGFB-PDGFR? сигналу не потрібно для підтримки асоціацій ЕС-перицит у дорослих сітківках.

Таким чином, необхідні подальші дослідження, щоб визначити причини та наслідки випадання перицитів у патофізіології ДР.

## Механізм руйнування гемато-ретинального бар'єру

Точний механізм, за допомогою якого відбувається руйнування гематоретинального бар’єру, все ще досліджується. Це може бути наслідком або пошкодження сполучних комплексів між капілярними ендотеліальними клітинами та клітинами RPE, або змін у стані клітинної мембрани чи насосній здатності. Пропоновані механізми витоку включали фенестрацію цитоплазми ендотеліальних клітин, посилений транспорт через везикули та посилене згортання транссудації хоріоїдального в субретинальний простір, що сприяє RPE.

Показано, що високі концентрації глюкози знижують електричний опір культивованих ендотеліальних клітин капілярів і викликають руйнування гемато-ретинальний бар'єр, опосередкований інсуліном, який не проникає через клітинні мембрани. Це свідчить про пошкодження міжклітинних щільних з’єднань.

Крім того, відкриття фактора росту ендотелію судин (VEGF) та інших запальних цитокінів з їх значним впливом на стикові та інтерстиціальні білки привернуло увагу до щільних з’єднань. Культивовані астроцити одночасно збільшують як функцію міжклітинного бар’єру, так і синтез ZO-1, що свідчить про тісний зв’язок між двома процесами.

Хоча точний біохімічний шлях, що веде до руйнування гематоретинального бар’єру, невідомий, більшість останніх досліджень зосереджено на факторі росту ендотелію судин. Молекули VEGF належать до широкої групи сполук, які можна розділити на кілька сімейств – A, B, C, D, E та плацентарний фактор росту (PDGF). Молекули VEGF стимулюють відомі сигнальні шляхи, включаючи протеїнкіназу C, в ендотеліальних клітинах.

У сімействі A VEGF є п’ять основних молекул і принаймні три додаткові другорядні ізоформи.

Існує щонайменше чотири рецептори тирозинкінази VEGF: VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3 і нейропілін. VEGFR-3, який міститься переважно в лімфатичних клітинах, не зв'язує VEGF-A і, отже, не впливає на судинні зміни.

Роль VEGFR-1 є дещо суперечливою; він може функціонувати як рецептор-приманка або відігравати роль у кровотворенні, однак він активізується в умовах гіпоксії за допомогою фактора, індукованого гіпоксією (HIF)-1.

Крім того, новітні дослідження переносу генів свідчать про те, що VEGFR-1 є ключовим у неоваскуляризації. Фосфорилювання VEGFR-2 індукує проникність судин, ангіогенні та мітогенні зміни.

В оці VEGF виробляється в пігментних епітеліальних, ендотеліальних, гліальних, перицитах, клітинах Мюллера та гангліозних клітинах сітківки, тоді як ендотеліальні клітини капілярів сітківки є його основними мішенями. VEGF здатний стимулювати ангіогенез (через проростання, інвагінацію та залучення клітин-попередників), підвищувати проникність судин і вазодилатацію, запобігати апоптозу ендотелію та рекрутувати запальні клітини

Фізіологічний ангіогенез супроводжується дуже невеликим просочуванням судин.

Проте патологічний ангіогенез має характерне просочування судин, як продемонстрували дослідження.

У мишачих моделях експериментальної неоваскуляризації екзогенне введення пастки VEGF зменшувало неоваскуляризацію на 66%. і перенесення генів VEGFR-1 зменшили неоваскуляризацію на 53-86%.

Ці дані свідчать про те, що VEGF має вирішальне значення для розвитку неоваскуляризації. Хоча VEGF достатньо, щоб викликати неоваскуляризацію з глибокого кровообігу сітківки, його недостатньо, щоб викликати неоваскуляризацію на поверхні сітківки або в судинній оболонці.

VEGF достатньо, щоб викликати витік із нормальних кровоносних судин, як показано в дослідженнях на тваринах після імплантації пристроїв пролонгованого вивільнення або інтравітреальні ін'єкції.

Хоча було опубліковано сотні робіт щодо впливу VEGF на проникність судин, досліджень in vitro було дуже мало. Помітні знахідки включають здатність VEGF збільшувати гідравлічну провідність збільшувати дифузійну проникність для альбуміну але не мати впливу на коефіцієнт онкотичного відбиття (ймовірність того, що молекула відскочить від пори, а не пройде через неї) для альбуміну.

Насправді, гідравлічна провідність (міра легкості, з якою рідина рухається через просвіт) і податливість (зворотна жорсткість) можуть стимулюватися окремо, припускаючи, що проникність і ангіогенез можуть стимулюватися або пригнічуватися окремо.

Негіпоксичний фізіологічний ангіогенез може виникати в результаті чистого стресу в м'язах і під гормональним контролем жіночої репродукції. Крім того, VEGF-індукований ангіогенез може відбуватися в умовах, що характеризуються фізіологічною гіпоксією: спричиненою фізичним навантаженням, у жовтому тілі та в ендометрії.

Вивільнення VEGF призводить до підвищення проникності судин через кілька механізмів. По-перше, він стимулює інозитолтрифосфат (IP3), що призводить до внутрішньоклітинного вивільнення кальцію, тим самим підвищуючи рівень закису азоту та циклічний GMP. Це викликає розслаблення гладкої мускулатури судин. Було показано, що проникність судин, ангіогенез, діаметр судин і кровотік пропорційні рівням синтетази закису азоту.

По-друге, він стимулює вироблення DAG, що збільшує клітинну проникність безпосередньо через DAG-чутливі канали Ca2+. По-третє, стимуляція DAG викликає активацію PKC (протеїнкінази C).

Окрім впливу на ендотелій судин, було показано, що VEGF захищає від апоптозу. Він служить фактором виживання ендотеліальних клітин як in vitro, так і in vivo. VEGF запобігає ендотеліальному апоптозу, спричиненому сироватковим голодуванням, блокуючи шлях гомолога вірусного онкогену мишачої тимоми фосфатидилінозитол 3-кінази/V-akt (PI3-кіназа/Akt),

можливо, шляхом індукції антиапоптотичних білків Bcl-2, A1, XIAP та сурвівіну.

VEGF сприяє запаленню, індукуючи синтез ICAM-1 (молекула міжклітинної адгезії) і викликаючи адгезію лейкоцитів.

Прикріплені лейкоцити потім посилюють ефекти VEGF, виробляючи свої власні.

Це призводить до звуження просвітів судин, тим самим спричиняючи неперфузію нижче за течією від ділянок лейкоцитів. адгезії та призводить до втрати оклюдину та ZO-1 через щільні з'єднання.

Втрата цих білків з'єднання спричиняє руйнування гематоретинального бар'єру.

Інтравітреальний рівень VEGF корелює з тяжкістю діабетичної ретинопатії – вищий у ПДР, ніж BDR.

Навіть у популяції пацієнтів з ДМН водний рівень VEGF тісно корелює з тяжкістю ДМН.

Експресія VEGF посилюється численними факторами росту, включаючи TGF-a, TGF-b, епідермальний фактор росту, IGF-I, FGF, PDGF, а також запальними цитокінами, включаючи IL-1-a та IL-8. Одним з найважливіших стимуляторів є гіпоксія; Експресія мРНК VEGF індукується низькою напругою O2 в тканинах. Існує подібність між гіпоксичною регуляцією VEGF та еритропоетину.

У промоторі гена VEGF людини ідентифіковано послідовність із 28 основ, яка має подібні характеристики зв'язування як HIF-1a, ключовий медіатор гіпоксичних реакцій.

HIF-1a є ключовим транскрипційним регулятором гіпоксичної відповіді, який часто називають «головним перемикачем».

У присутності кисню вільний HIF-1a гідроксилюється за допомогою пропілгідроксилази. Фактор фон Гіппеля-Ліндау (pVHL) потім зв'язується з гідроксильованим HIF-1a в області ODD (кисневозалежний домен). Потім комплекс pVHL/HIF-1a розщеплюється внутрішньоклітинними протеасомами.

Низьке напруження кисню в тканинах, однак, запобігає гідроксилюванню HIF-1a за залишком проліну, тим самим стабілізуючи HIF-1a, який стимулює синтез VEGF. Гіпоксія підвищує рівні субодиниць HIF-1a як за рахунок стабілізації білка, так і за рахунок накопичення мРНК HIF-1a.

Для стабілізації HIF-1a під час гіпоксії необхідний інтактний мітохондріальний електронтранспортний ланцюг для генерації активних форм кисню (АФК). Вважається, що саме концентрація АФК є кисневим датчиком клітини.

Низька внутрішньоклітинна концентрація кисню, опосередковано представлена високими рівнями АФК, обмежує здатність клітини гідроксилювати HIF-1a. Це запускає індукований гіпоксією каскад синтезу білка, який включає запальні цитокіни, такі як VEGF і TNF-a.

Окрім АФК, інші молекули впливають на стабільність HIF-1a. HIF-1a стабілізується факторами росту та цитокінами, такими як IGF-1, 2 та AGE. Інсуліноіндукована експресія VEGF, що супроводжується підвищенням HIF-1a, може пояснити, чому дуже жорсткий контроль рівня глюкози погіршує ретинопатію.

HIF-1a потребує кількох кофакторів: 2-оксоглутарат, вітамін С і залізо. Це пояснює, чому хелатори заліза, такі як дефероксамін, імітують гіпоксію. Існує кілька біохімічних можливостей для модуляції HIF-1a, включаючи інгібітори фосфатидилінозитол-3-кінази, інгібітори мітоген-активованої протеїнкінази (MAPK), активатори домену проліл-4-гідроксилази, агенти, що руйнують мікротрубочки, інгібітори циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), інгібітори протеїну теплового шоку та антисмислова терапія. Прорив у лікуванні ішемічної хвороби сітківки може відбутися після нових методів лікування раку (наприклад, топотекан, аналоги камптотецину).

**Протеїнкіназа С (PKC)** — це сімейство споріднених ферментів, які функціонують як сигнальні компоненти для кількох факторів росту, гормонів, нейромедіаторів і цитокінів. Шлях протеїнкінази С стимулюється присутністю діацилгліцерину. Активований PKC може збільшувати проникність судин за допомогою двох механізмів: активація скорочення ендотеліальних клітин через фосфорилювання цитоскелетних білків кальдесмону та віментину і активація серин/треонінфосфатаз або інактивація кіназ, обидва з яких призводять до дефосфорилювання білків щільного з'єднання оклюдину та клаудинів.

PKC сприяє збільшенню накопичення матричного білка – ознаки діабетичної ретинопатії – шляхом пригнічення синтезу NO, що призводить до збільшення TGF-b1, фібронектину та колагену типу IV.

Кілька досліджень показали, як активована PKC може сприяти розпаду BRB. Екзогенний VEGF спричиняє розпад BRB у щурів без діабету, процес, який блокується інгібіторами PKC.

Крім того, інтравітреальна ін'єкція PKC може викликати розпад BRB у недіабетиків. Інгібітори PKC запобігають виробленню VEGF, спричиненому гіперглікемією.

При пізній діабетичній ретинопатії PKC може опосередковувати дію VEGF, таким чином створюючи підсилювальний цикл. Гіперглікемія може погіршити наявну ретинопатію шляхом індукції синтезу фактора росту ендотелію судин через активацію PKC, а також шляхом синтезу p42/p44 MAPK. Обидва ці шляхи не залежать від стабілізації HIF-1a.

Підтримка нормальної судинної системи сітківки потребує балансу ангіогенних факторів, таких як VEGF, та інгібіторів, таких як ангіостатин і фактор, отриманий з пігментного епітелію (PEDF).

PEDF секретується клітинами Мюллера і ендотеліальними клітинами. Зниження рівня PEDF виявляється в склоподібному тілі очей при BDR; Рівні

PEDF підвищуються до норми після PRP для ПДР. Відомо, що PEDF має протизапальні та антипроникні властивості.

PEDF врівноважує васкулопатичні ефекти VEGF за допомогою кількох механізмів. PEDF пригнічує експресію VEGF, знижуючи рівні HIF через MAPK-опосередковану активацію, і стимулює ендогенне виробництво PEDF.

PEDF конкурує з VRGF за зв'язування з VEGFR-2.

Відомо, що пацієнти з ревматоїдним артритом мають менш важку діабетичну ретинопатію, що спонукає до припущень, що протизапальні препарати, які вони приймають, антагонізують ефекти вазоактивних цитокінів.

Хоча ці препарати можуть боротися з впливом VEGF, вони не знижують рівень VEGF. Аспірин та інгібітори TNF-a знижують рівень ICAM-1 і адгезію лейкоцитів шляхом зниження експресії синтетази закису азоту. Аспірин знижує експресію інтегринів, які зв'язуються з ICAM-1 (LFA-1 [CD11a/CD18] і Mac-1 [CD11b/CD18]).

Отже, точний механізм, за допомогою якого відбувається руйнування гематоретинального бар'єру, все ще досліджується. Це може бути наслідком або пошкодження сполучних комплексів між капілярними ендотеліальними клітинами та клітинами RPE, або змін у стані клітинної мембрани чи насосній здатності. Пропоновані механізми витоку включали фенестрацію цитоплазми ендотеліальних клітин, посилений транспорт через везикули та посилене згортання транссудації хоріоїдального в субретинальний простір, що сприяє RPE.

Показано, що високі концентрації глюкози знижують електричний опір культивованих ендотеліальних клітин капілярів і викликають руйнування гемато-ретинальний бар'єр, опосередкований інсуліном, який не проникає через клітинні мембрани. Це свідчить про пошкодження міжклітинних щільних з'єднань.

Крім того, відкриття фактора росту ендотелію судин (VEGF) та інших запальних цитокінів з їх значним впливом на стикові та інтерстиціальні білки

привернуло увагу до щільних з’єднань. Культивовані астроцити одночасно збільшують як функцію міжклітинного бар’єру, так і синтез ZO-1, що свідчить про тісний зв’язок між двома процесами.

Хоча точний біохімічний шлях, що веде до руйнування гематоретинального бар’єру, невідомий, більшість останніх досліджень зосереджено на факторі росту ендотелію судин. Молекули VEGF належать до широкої групи сполук, які можна розділити на кілька сімейств – A, B, C, D, E та плацентарний фактор росту (PDGF). Молекули VEGF стимулюють відомі сигнальні шляхи, включаючи протеїнкіназу C, в ендотеліальних клітинах.

# ПАТОЛОГІЯ ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ

## Гіперглікемія та мікроваскулопатія сітківки

ДР давно визнано мікросудинним захворюванням. Вважається, що гіперглікемія відіграє важливу роль у патогенезі мікросудинного ураження сітківки. Кілька метаболічних шляхів були залучені до пошкодження судин, спричиненого гіперглікемією, включаючи поліоловий шлях, накопичення кінцевих продуктів глікації (AGE), шлях протеїнкінази С (PKC) і гексозаміновий шлях

Найбільш ранньою реакцією кровоносних судин сітківки на гіперглікемію є розширення кровоносних судин і зміни кровотоку. Ці зміни вважаються метаболічною ауторегуляцією для посилення метаболізму сітківки у хворих на діабет.

Втрата перицитів є ще однією відмітною ознакою ранніх явищ ДР. Докази апоптозу перицитів, викликаного високим вмістом глюкози, були показані як у дослідженнях in vitro, так і in vivo.

Оскільки перицити відповідають за забезпечення структурної підтримки капілярів, їх втрата призводить до локалізованого вибухання стінок капілярів. Цей процес пов’язаний з утворенням мікроаневризми, яка є найбільш ранньою клінічною ознакою ДР.

На додаток до втрати перицитів, апоптоз ендотеліальних клітин і потовщення базальної мембрани також виявляються під час патогенезу DR, які разом сприяють порушенню BRB.

Крім того, виражена втрата перицитів і ендотеліальних клітин призводить до закупорки капілярів та ішемії. Ішемія/гіпоксія сітківки призводить до підвищення регуляції VEGF через активацію фактора 1, індукованого гіпоксією (HIF-1).

Інші дані свідчать про те, що підвищення рівня фосфоліпази А2 (PLA2) при діабеті також викликає регуляцію VEGF.

Вважається, що VEGF, ключовий фактор, який бере участь у прогресуванні ПДР та ДМН, підвищує проникність судин шляхом індукції фосфорилювання білків щільного з'єднання, таких як occludin та zonula occludens-1 (ZO-1).

Крім того, як ангіогенний фактор, VEGF сприяє проліферації ендотеліальних клітин через активацію мітоген-активованого білка (MAP)

Посилена експресія VEGF була виявлена в сітківці діабетичних мишей, а також у склоподібному тілі пацієнтів з ДМН та ПДР.

Інші ангіогенні фактори, такі як ангіопоетини (Ang-1, Ang-2), також беруть участь у регуляції проникності судин шляхом взаємодії з ендотеліальною рецепторною тирозинкіназою Tie2.

Показано, що Ang-2, антагоніст Tie2, сприяє витоку судин у сітківці діабетичного щура.

Існує припущення, що ангіогенні фактори, окрім VEGF, можуть брати участь у зміні мікроциркуляторного русла під час ДР; таким чином, вони можуть забезпечувати нові терапевтичні цілі.

## Ренін-ангіотензинова система

Основний активний продукт системи, ангіотензин II (ANG II), перетворюється з ангіотензину I за допомогою ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ). ANG II впливає на вазоконстрикцію, гомеостаз електролітів, модуляцію споживання алкоголю та стимуляцію вивільнення гормону гіпофіза.

Як фактор росту, ANG II сприяє диференціації, апоптозу та відкладенню позаклітинного матриксу.

Рецептори ангіотензину розташовані в ендотеліальних клітин, глії та нейронів, що свідчить про те, що ANG II може регулювати функції цих клітин.

## Неоваскуляризація сітківки

Під час розвитку інтра-ретинальне зростання нових кровоносних судин ефективно доставляє кисень до нервових тканин.

На відміну від екстра-ретинального судинного розростання, яке не в змозі вирішити тканинну гіпоксію при ПДР.

Порівняльний аналіз фізіологічного та патологічного ангіогенезу в сітківці ока миші забезпечив механістичне уявлення про спрямування судин. У постнатальній сітківці миші ЕК кровоносних судин, що розвиваються, мігрують над каркасами позаклітинного матриксу, які утворюються попередньо існуючою мережею астроцитів.

Астроцити сітківки додатково встановлюють градієнти концентрації VEGFA, що зв'язується з матриксом, який секретується ними або нейронами, сприяючи інтра-ретинальним проекціям ендотеліальних філоподій із проростаючих судинних кінчиків.

Одночасно хеморульсивні сигнали, такі як нейронний семафорин 3E (Sema3E), який зв'язується з ендотеліальним рецептором PlexinD1, втягують дезорієнтовані ендотеліальні філоподії, таким чином виправляючи ангіогенні напрямки.

Навпаки, у мишачій моделі ретинопатії, спричиненої киснем (OIR), ішемія сітківки, яка слідує за регресією судин під дією гіпероксії (75% O2 з постнатального 7-го по 12-й день), викликає доцентрове відновлення судинного росту, що призводить до екстраретинальних судинних пучків.

У цьому випадку дегенеративні астроцити не здатні утворювати позаклітинні матриці фібронектину, тоді як нейрони сітківки, але не астроцити, переважно експресують VEGFA

Таким чином, дефектні фізичні каркаси для міграції ЕС і порушений просторовий розподіл білків VEGFA можуть бути відповідальними за екстра-ретинальний неоангіогенез. Примітно, що ЕС екстраретинальних судин

помітно експресують PlexinD1, а інтравітреальні ін’єкції Sema3E вибірково пригнічують дезорієнтований ангіогенез, не впливаючи на регенерацію судин сітківки в моделі OIR.

Враховуючи зниження рівнів водного розчину Sema3E в очах людини з ПДР додавання інтравітреального Sema3E повинно мати клінічну користь у запобіганні аберрантному неоангіогенезу. Щоб полегшити регенерацію судин в ішемізованій сітківці, слід розробити нові способи відновлення проангіогенної активності астроцитів сітківки.

У формуванні фіброваскулярних мембран, які пов’язані з екстра-ретинальним неоангіогенезом, серія профіброзних сигналів, таких як трансформуючий фактор росту, PDGF і фактор росту сполучної тканини, бере участь у трансдиференціації, проліферації та міграції міофібробласти та продукція ними скорочувального матриксу.

Тим не менш, походження міофібробластів сітківки залишається невідомим у ПДР.

Навпаки, аналіз картування клітинної долі на мишачих моделях фіброзу продемонстрував потенціал перицитів і периваскулярних мезенхімальних клітин трансдиференціюватися в міофібробласти в різних тканинах і органах

Враховуючи швидкий розвиток або прогресування тракційного відшарування сітківки після ін’єкцій препаратів проти VEGF в очі ПДР [344], припускають, що перицити, що залишилися після абляції ЕК від неоваскуляризації сітківки, є джерелом міофібробластів, що має бути підтверджено експериментально в майбутньому навчання.

# ДИСФУНКЦІЯ СІТКІВКИ

## Ангіогенез

Ангіотензин (ANG) має значний вплив на клітини гладких м'язів судин, включаючи ріст клітин, проліферацію та відкладення білків позаклітинного матриксу.

Це опосередковується такими факторами, як TGF-b1, PDGF, VEGF, інсуліноподібний фактор росту та ріст сполучної тканини.

Хоча вплив ANG II на перицити менш добре вивчений, він індукує роз'єднання та міграцію перицитів.

Проангіогенний ефект ANG II у сітківці ссавців із спричиненою киснем ретинопатією опосередковується VEGF.

Фармакологічна блокада RAS зменшує ангіогенез шляхом зниження регуляції VEGF і VEGFR2.

Інгібітор АПФ каптоприл запобігає дегенерації капілярів сітківки; антагоніст рецепторів ангіотензину лозартан пригнічує лейкостаз у щурів, індукований стрептозотоцином, і експресію молекули адгезії судинних клітин-1 (VCAM) в ендотеліальних клітинах людини.

Інгібування АПФ запобігає надмірній експресії VEGF у сітківці при експериментальному діабеті.

Крім того, інгібування АПФ запобігає прогресуванню діабетичної ретинопатії у пацієнтів з нормальним тиском і цукровим діабетом типу I.

Підвищені рівні ангіотензину II корелюють з рівнями VEGF у склоподібному тілі у пацієнтів з діабетичним набряком макули.

Експериментальні дані свідчать про те, що це може бути опосередковано шляхом AT1-R/NF-kB створюючи нові мішені для профілактики діабетичної ретинопатії.

## Розвиток проліферативної діабетичної ретинопатії

Апоптоз судинних клітин сітківки та утворення перицитів-привидів призводять до ацелюлярних капілярів, гіпоксії через відсутність перфузії сітківки та подальшої проліферативної ретинопатії.

Індукований діабетом TNF-α є важливою причиною втрати мікросудинних клітин. FOXO1, вилчастий транскрипційний фактор, який регулює загибель клітин, стимулюється TNF-a. Інгібування FOXO1 за допомогою RNAi зменшує апоптоз клітин і загибель мікросудинних клітин як in vitro, так і in vivo у щурів з діабетом 1 і 2 типу.

Гіперглікемія підвищує рівень білка FOXO1 і РНК в ендотеліальних клітинах капілярів сітківки. Ці фактори різко підвищують рівень генів, які модулюють поведінку ендотеліальних клітин, включаючи ангіогенез і ремоделювання судин.

Оклюзія капілярів сітківки, що виникає в результаті, призводить до часткової відсутності перфузії з подальшою гіпоксією внутрішніх 2/3 сітківки. Стабілізація фактора, індукованого гіпоксією (HIF-1a), призводить до виробництва VEGF. Рівні VEGF у склоподібному тілі вищі в ПДР, ніж у BDR і тимчасово пов’язані з розвитком неоваскуляризації. На додаток до VEGF інші фактори росту, такі як інсуліноподібний фактор росту I (IGF-1), фактор росту гепатоцитів (HGF), основний фактор росту фібробластів (b-FGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), прозапальний цитокіни та ангіопоетини беруть участь у патогенезі ПДР.

Також у сітківці та склоподібному тілі є антиангіогенні фактори, такі як фактор пігментного епітелію (PEDF), трансформуючий фактор росту бета (TGF-b), тромбоспондин (TSP) і соматостатин. Вважається, що неоваскуляризація є результатом дисбалансу ангіогенних і антиангіогенних факторів [344].

## Нейродегенерація сітківки

Нейродегенерація сітківки є ранньою подією під час прогресування ДР. Апоптоз нейронів сітківки можна спостерігати у діабетичних щурів вже через місяць після індукції діабету [345].

Підвищена регуляція проапоптичних молекул, таких як розщеплена каспаза-3, Bax і Fas, була виявлена в нейронах сітківки у тварин і суб'єктів з діабетом [346].

Мітохондріальна дисфункція була причетна до дегенерації сітківки при ДР. Було виявлено, що в донорських очах хворих на цукровий діабет експресія проапоптотичних мітохондріальних білків, таких як цитохром с і фактор, що індукує апоптоз (AIF), значно посилюється.

Дослідження in vitro продемонстрували, що високий рівень глюкози був пов'язаний із збільшенням фрагментації мітохондрій та апоптозу клітин [347], крім пошкодження мітохондрій, участь окислювального стресу в дегенерації сітківки, спричиненій діабетом, також широко досліджується. У сітківці діабетичних мишей утворення активних форм кисню (АФК) значно збільшується.

Придушення генерації АФК ефективно пригнічувало порушення зору та опосередкований каспазою-3 апоптоз нейронів сітківки

З'являється все більше доказів того, що нейродегенерація сітківки може бути незалежною патофізіологією ДР. У мишачій моделі діабету перед появою мікросудинних змін спостерігалася втрата гангліозних клітин і зменшення товщини сітківки [348].

У хворих на діабет було виявлено внутрішнє витончення сітківки без DR або з мінімальною DR (мікроаневризми) [349].

Таким чином, подальше дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі нейродегенерації сітківки, може стати потенційними терапевтичними цілями для раннього втручання при ДР.

## КЛАСИФІКАЦІЯ
## діабетичної ретинопатії

Існує потреба в узгоджених системах класифікації ДР і ДМН для забезпечення категоризації, класифікації та визначення стадії тяжкості захворювання з метою встановлення адекватної терапії. Це також покращить скринінг осіб з діабетом і покращить спілкування між їхніми постачальниками медичних послуг.

### Модифікована класифікація Airlie House

У 1968 році група експертів розробила стандартизовану класифікацію ДР, яка була змінена та використана в DRS та ETDRS. Це вважалося золотим стандартом протягом кількох років завдяки її задовільній валідності та відтворюваності. Він складався з класифікації стереофотографій у 7 стандартних полях і класифікував ДР за 13 складними рівнями від рівня 10 (відсутність ДР) до рівня 85 (сильний крововилив у склоподібне тіло або відшарування сітківки з участю макули). М Хоча це був чудовий інструмент для дослідження, його клінічне застосування було обмежене його складністю.

Міжнародна клінічна шкала тяжкості захворювання для діабетичної ретинопатії. Щоб спростити класифікацію ДР, група з 31 особи з 16 країн, які представляють комплексну офтальмологію, вузькі спеціальності сітківки, ендокринологію та епідеміологію, досягли консенсусу щодо конкретних систем класифікації. На основі публікацій ETDRS та WESDR було узгоджено п’ятиступеневу класифікацію тяжкості захворювання для ДР (табл. 27.2): яks

1. Відсутність видимої ретинопатії. При дилатаційній офтальмоскопії аномалій не виявлено.

2. Легка НПДР: лише мікроаневризми, це відповідало 20 стадії ЕДРS.

3- Помірна НПДР: більше, ніж просто мікроаневризми, але менше ніж важка НПДР, це включає очі з рівнями ETDRS від 35 до 47.

4. Важка НПДР: ця стадія включала стадії ETDRS 53 і вище та має найбільш зловісний прогноз щодо прогресування до ПДР. Діагностика важкої НПДР базується на правилі 4:2:1 ETDRS. Використовуючи стандартні фотографії 2A, 6A та 8A для порівняння з результатами очного дна, важку НПДР можна діагностувати за наявністю будь-якого з наступних ознак і відсутністю ознак проліферативної ретинопатії:

• Великі (>20) інтраретинальні крововиливи принаймні розміром стандартної фотографії 2A в кожному з 4 квадрантів.

• Чітко виражене венозне виділення такої ж величини або більше, ніж стандартна фотографія 6A у 2+ квадрантах.

• Виражені інтраретинальні мікросудинні аномалії (IRMA) такої ж величини або більше, ніж на стандартній фотографії 8A в квадранті 1+

5. ПДР: один або декілька з наступного:

• Неоваскуляризація диска, райдужної оболонки та/або кута сітківки

• Крововилив у склоподібне тіло або преретинальний.

Таким чином, рівні класифікації ретинопатії включають три з відносно низьким ризиком і два зі значним ризиком втрати зору. Ця нова класифікація проста у використанні, її легко запам’ятати та базується на наукових доказах. Ця система не призначена як керівництво для лікування ДР та ДМН, скоріше вона спрямована на те, щоб ідентифікація конкретних рівнів тяжкості призвела до більш відповідного та послідовного направлення до лікувальних центрів. На малюнках 27.4A–F показано клінічні приклади, що демонструють різні ступені ДР.

Стосовно ДМН (рис. 27.5-27.7), слід зазначити наявність або відсутність ДМН (немає видимого потовщення сітківки або твердих ексудатів у задньому

полюсі). Якщо він присутній, його можна далі класифікувати як легкий, помірний і важкий залежно від відстані ексудату та потовщення від центру ямки, як описано нижче:85

■ Легкий ДМН: потовщення сітківки або тверді ексудати розташовані далеко від центру ямки.

■ Помірний ДМН: потовщення сітківки або твердий ексудат, що наближається до центру макули, але не зачіпає центр.

■ Важкий ДМН: центр ямки вражений твердим ексудатом і потовщенням.

| **Таблиця 27.2: Міжнародна клінічна шкала тяжкості захворювання діабетичної ретинопатії.** | |
|---|---|
| Тяжкість захворювання | Розширені результати офтальмоскопії |
| Відсутність видимої ретинопатії. | Відсутність відхилень |
| Легкого ступеня НПДР | Лише мікроаневризми |
| Помірного ступеня НПДР | Більше, ніж просто мікроаневризми, і менше ніж важке захворювання |
| Тяжкого ступеня НПДР | Відсутність ознак НПДР і будь-яке з наступного:<br>• 20 інтраретинальних крововиливів у кожному з 4 квадрантів<br>• Венозні кульки в >2 квадрантах<br>• Виражена IRMA >1 квадранта |
| ПДР | Один або декілька з наступного:<br>• Неоваскуляризація<br>• Крововилив у склоподібне тіло або преретинальний |
| (НПДР: непроліферативна діабетична ретинопатія; ПДР: проліферативна діабетична ретинопатія; IRMA: інтраретинальні мікросудинні аномалії). | |
| | |

Джерело: Wilkinson CP, Ferris FL 3rd, Klein RE. et al Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. Ophthalmology. 2003; 110(9)-1677-82.

## Роль інсуліну для підтримки глікемічного контролю

Інсулінорезистентність спостерігається у хворих не тільки на цукровий діабет 2 типу та ожиріння, а й на цукровий діабет 1 типу. На додаток до його важливої ролі для підтримки глікемічного контролю, інсулін має багато вазотропних дій. Інсулінорезистентність судинних тканин пов'язана з ендотеліальною дисфункцією, що призводить до серцево-судинних захворювань, включаючи атеросклероз [350].

Крім того, мікроальбумінурія, яка відома як прогностичний маркер нефропатії, а й незалежний фактор ризику серцево-судинних захворювань, також пов'язана з ендотеліальною дисфункцією [351].

З фізіологічної точки зору інсулін відіграє важливу роль у підтримці кровоносних судин через активацію NO, отриманого з ендотелію. Інсулін збільшує продукцію ендотеліального NO за допомогою швидких посттрансляційних механізмів, які опосередковуються сигнальним шляхом PI3K/протеїнкінази B (Akt) [352] або повільно за рахунок збільшення процесу транскрипції. У станах резистентності до інсуліну шлях PI3K/Akt вибірково пригнічується, але інший основний шлях передачі сигналів інсуліну, MAPK, не пригнічується [353].

Цю селективну резистентність до інсуліну було виявлено в скелетних м'язах, а також у судинній системі та міокарді щурів Zucker з ожирінням [354], які є моделями інсулінорезистентності на тваринах.

Ймовірно, це кілька механізмів індукції селективної резистентності до інсуліну на шляху PI3K/Akt. Ми повідомляли, що активність PI3K пригнічується активацією PKC в ендотеліальних клітинах [354] і судинних тканинах щурів Zucker з ожирінням.

Окрім того, ми виявили, що RBX може покращити передачу сигналів інсуліну при виробленні NO в судинній системі та міокарді щурів Zucker.

Інсулін стимулює не тільки вироблення NO ендотеліальними клітинами, але й експресію eNOS. Миші зі специфічним нокаутом інсулінового рецептора ендотеліальних клітин судин (VENIRKO) показали, що експресія eNOS в аорті була знижена на 62%.

Таким чином, інсулінова регуляція NO може бути важливим фактором для судинного гомеостазу, який знижується при діабеті або резистентності до інсуліну.

Оскільки інтенсивне лікування глікемії в клінічних випробуваннях з використанням інсуліну може затримати прогресування ретинопатії та інших мікросудинних патологій у пацієнтів з діабетом 1 типу, втрата прямої вазотропної дії інсуліну може збільшити ризики розвитку захворювання сітківки у пацієнтів з діабетом 1 типу2. Нещодавно ми виявили, що інсулін може пригнічувати індукований окислювальним стресом апоптоз перицитів сітківки через індукцію гемеоксигенази1 (HO1), яка є репрезентативним посередником антиоксидантів і цитопротекторів проти різних стимулів стресу, включаючи оксиданти в судинних тканинах.

Крім того, ми показали, що інсулін індукує експресію HO?1 через шлях PI3K/Akt, але не через шлях MAPK. Таким чином, інсулін може проявляти судинні захисні ефекти через виробництво NO або індукцію HO?1. Таким чином, порушення дії інсуліну в судинній тканині може сприяти розвитку діабетичних судинних ускладнень.

PDGFB необхідний для залучення стінкових клітин, таких як перицити, до кровоносних судин.

PDGFB чи PDGFR миші з дефіцитом демонструють втрату перицитів сітківки, що нагадує ранні зміни DR.

Втрата перицитів відома як ознака ДР людини і може бути причинно залучена до її патогенезу.

Ці дослідження на тваринах припускають, що дефіцит PDGFB може спровокувати розвиток ДР. Проте, як це не парадоксально, було показано, що експресія PDGFB підвищується в тканинах сітківки щурів з діабетом [355].

Нещодавно ми виявили, що гіперглікемія стійко активує PKC і p38 MAPK для збільшення домену гомології Src2, що містить фосфатазу?1 (SHP1), і призводить до PDGFR дефосфорилювання та зменшення нижнього потоку, що призводить до апоптозу перицитів і безклітинних капілярів у діабетичній сітківці. Цікаво, що ми спостерігали, що підвищена PKC а ацелюлярні капіляри не були оборотними при лікуванні інсуліном, яке досягало нормоглікемії [356, 357].

Ці дані показали, що гіперглікемія може викликати апоптоз перицитів двома шляхами. Одним з них є активація NFB окисним стресом.

По-друге, активація SHP?1 пригнічує важливі дії PDGF щодо виживання в перицитах.

Ці дані показують, що PDGFB відіграє важливу роль для виживання перицитів як фактор захисту судин сітківки. Стійкість до PDGFB існує в сітківці при діабеті і може бути важливим фактором розвитку ДР.

## Резюме ключових моментів

Згідно із законом Старлінга, зміни гідростатичного та онкотичного тиску, що впливають на капіляри сітківки (наприклад, системна гіпертензія, ниркова недостатність, гіпоальбумінемія), посилюють діабетичний набряк сітківки.

Спричинена гіперглікемією активація чотирьох біохімічних шляхів (збільшення потоку поліолів, активація протеїнкінази С, передові кінцеві продукти глікації, посилення потоку гексозаміну) пояснює багато змін, що призводять до діабетичної ретинопатії.

Уніфікована теорія діабетичної ретинопатії стверджує, що внутрішньоочне утворення активних форм кисню (АФК) сприяє подальшим патологічним біохімічним змінам.

Порушення гематогенного бар'єру може бути наслідком пошкодження щільного з'єднання або трансцелюлярних змін.

Втрата перицитів з компенсаторним синтезом і відкладенням позаклітинних білків характеризує ранню діабетичну ретинопатію.

Проліферативна діабетична ретинопатія може бути пов'язана з дисбалансом ангіогенних і антиангіогенних факторів; однак підвищені рівні VEGF тісно корелюють з розвитком неоваскуляризації.

Апоптоз судинних клітин сітківки та утворення перицитів-привидів призводять до ацелюлярних капілярів, гіпоксії через відсутність перфузії сітківки та подальшої проліферативної ретинопатії.

Індукований діабетом TNF-α є важливою причиною втрати мікросудинних клітин. FOXO1, вилчастий транскрипційний фактор, який регулює загибель клітин, стимулюється TNF-a. Інгібування FOXO1 за допомогою RNAi зменшує апоптоз клітин і загибель мікросудинних клітин як in vitro, так і in vivo у щурів з діабетом 1 і 2 типу.

Гіперглікемія підвищує рівень білка FOXO1 і РНК в ендотеліальних клітинах капілярів сітківки. Ці фактори різко підвищують рівень генів, які модулюють поведінку ендотеліальних клітин, включаючи ангіогенез і ремоделювання судин.

Оклюзія капілярів сітківки, що виникає в результаті, призводить до часткової відсутності перфузії з подальшою гіпоксією внутрішніх 2/3 сітківки. Стабілізація фактора, індукованого гіпоксією (HIF-1a), призводить до виробництва VEGF. Рівні VEGF у склоподібному тілі вищі в ПДР, ніж у BDR і тимчасово пов'язані з розвитком неоваскуляризації. На додаток до VEGF інші фактори росту, такі як інсуліноподібний фактор росту I (IGF-1), фактор росту гепатоцитів (HGF), основний фактор росту фібробластів (b-FGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), прозапальний цитокіни та ангіопоетини беруть участь у патогенезі ПДР.

Також у сітківці та склоподібному тілі є антиангіогенні фактори, такі як фактор пігментного епітелію (PEDF), трансформуючий фактор росту бета (TGF-b), тромбоспондин (TSP) і соматостатин. Вважається, що неоваскуляризація є результатом дисбалансу ангіогенних і антиангіогенних факторів [344].

Отже, діабетична ретинопатія є найпоширенішим мікросудинним ускладненням у хворих на цукровий діабет, з вищою частотою у людей з цукровим діабетом 1 типу порівняно з цукровим діабетом 2 типу.

Відповідно до зростання поширеності діабету в розвинених країнах і країнах, що розвиваються, ДР є основною причиною втрати зору в усьому світі серед працюючих дорослих середнього віку.

Залежно від наявності чи відсутності неоваскуляризації сітківки ДР можна клінічно класифікувати на непроліферативну (НПДР) і проліферативну (ПДР) форми.

В очах із ПДР аномальна неоваскуляризація після ішемії сітківки спричиняє небезпечний для зору крововилив у склоподібне тіло та тракційне відшарування сітківки. Крім того, діабетичний макулярний набряк (ДМН)

впливає на центральний зір на будь-якій стадії ДР. Серед популяцій діабетиків оцінена поширеність будь-якої форми ДР становить 34,6% (93 мільйони в усьому світі), а поширеність ПДР і ДМН становить 6,96% і 6,81% відповідно.

Основним фактором ризику ДР є стійка гіперглікемія, але також були залучені гіпертонія, дисліпідемія та вагітність.

Примітно, що у деяких груп діабетиків не розвивається ДР, незважаючи на ці системні фактори ризику, тоді як хороший глікемічний контроль може не обов'язково усунути ризик ДР протягом життя.

Ці моделі вказують на те, що додаткові фактори, такі як генетична сприйнятливість, беруть участь у ініціації та прогресуванні ДР. Таким чином, часто важко передбачити ризик ДР в окремих пацієнтів з діабетом.

За останнє десятиліття фармакологічна терапія з використанням антиваскулярних ендотеліальних факторів росту (VEGF) і кортикостероїдів різко змінила клінічне лікування ДР.

Однак через їх обмежену ефективність і потенційні побічні ефекти всебічне розуміння патофізіології ДР вкрай необхідно для розробки нових ліків. У цьому огляді ми узагальнюємо поточні знання та нові концепції патофізіології ДР, отримані в клініці та фундаментальних дослідженнях, і представляємо перспективи розробки нових ліків.

А також, що цукровий діабет викликає подібні мікросудинні аномалії в судинній системі сітківки, ниркових клубочках і vasa vasorum. На ранніх стадіях діабету хронічна гіперглікемія призводить до змін кровотоку та підвищення проникності судин. Це характеризується зниженням активності судинорозширювальних засобів, таких як оксид азоту, і одночасного підвищення активності вазоконстрикторів, таких як ангіотензин II і ендотелін-1, з вивільненням цитокінів, що підвищують проникність судин, таких як VEGF. Виникаючі аномалії позаклітинного матриксу, як якісні, так і кількісні, сприяють необоротному збільшенню проникності судин. Втрата мікросудинних клітин відбувається через запрограмовану клітинну смерть, надмірне виробництво білків позаклітинного матриксу та відкладення

періодичної кислоти-Шифф-позитивних білків, індукованих факторами росту, такими як TGF-b, що згодом призводить до прогресуючої оклюзії капілярів.

Гіперглікемія знижує вироблення ендотеліальних і нейрональних клітинних трофічних факторів, що призводить до набряку, ішемії та неоваскуляризації, викликаної гіпоксією.

Атеросклероз у пацієнтів без діабету починається з ендотеліальної дисфункції, [44] тоді як у діабетиків це, здається, включає резистентність до інсуліну внаслідок гіперглікемії.

## Майбутні напрямки

Покращене розуміння біохімічного складу та патологічних змін щільних з’єднань дозволить визначити нові терапевтичні цілі для запобігання руйнуванню гематоретинального бар’єру.

Дослідження патогенезу та лікування інших хоріоретинальних судинних захворювань дозволить адаптувати нові методи лікування діабетичної ретинопатії, як це вже сталося з кортикостероїдами та препаратами проти VEGF.

Подальше вдосконалення уніфікованої теорії діабетичної ретинопатії дозволить визначити ключові субстрати та ферменти, що дозволить розробити ліки для запобігання виникненню та прогресуванню ретинопатії.

Недавні випробування ліків, спрямованих на чотири окремі біохімічні шляхи, дали невтішні результати. Майбутні дослідження вивчатимуть стратегію онкології з кількома лікарськими засобами, одночасно націлюючись на кілька біохімічних шляхів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ


1. Abcouwer S.F. Muller cell-microglia cAФKs talk drives neuroinflammation in diabetic retinopathy. Diabetes. 2017; 66:261–263. doi: 10.2337/dbi16-0047.

2. Abell RG. The permeability of blood capillary sprouts and newly formed blood capillaries as compared to that of older capillaries. Am J Physiol. 1946; 147:231-241.

3. Abu-El-Asrar A.M., Dralands L., Missotten L., Al-Jadaan I.A., Geboes K. Expression of apoptosis markers in the retinas of human subjects with diabetes. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2004; 45:2760–2766. doi: 10.1167/iovs.03-1392.

4. Adamis A.P., Miller J.W., Bernal M.T., D'Amico D.J., Folkman J., Yeo T.K., Yeo K.T. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. Am. J. Ophthalmol. 1994; 118:445–450. doi: 10.1016/S0002-9394(14)75794-0.

5. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol. 1994; 118:445-450.

6. Aguilera G, Kiss A. Regulation of the hypothalamic- pituitary-adrenal axis and vasopressin secretion. Role of angiotensin II. Adv Exp Med Biol. 1996;396: 105-112.

7. Ahmad FK, He Z, King GL. Molecular targets of diabetic cardiovascular complications. Curr Drug Targets 2005; 6: 487–494

8. Ahn JD, Morishita R, Kaneda Y, et al. Transcription factor decoy for activator protein 1 (AP 1) inhibits high glucose and angiotensin II induced type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI 1) gene expression in cultured human vascular smooth muscle cells. Diabetologia 2001; 44: 713–720

9. Aiello L, Avery R, Arrigg P, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. N Engl J Med. 1994; 331:1480-1487. doi: 10.1056/NEJM199412013312203.

10. Aiello LP DCCT/EDIC Research Group. Diabetic retinopathy and other ocular findings in the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. Diabetes Care. 2014; 37:17–23.

11. Aiello LP, Bursell SE, Clermont A, et al. Vascular endothelial growth factor induced retinal permeability is mediated by protein kinase C in vivo and suppressed by an orally effective beta isoform selective inhibitor. Diabetes 1997; 46: 1473–1480

12. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet derived growth factors in physiology and medicine. Genes Dev 2008; 22: 1276–1312

13. Antcliff RJ, Marshall J. The pathogenesis of edema in diabetic maculopathy. Semin Ophthalmol. 1999; 14:223-232.

14. Antonetti D.A., Barber A.J., Hollinger L.A., Wolpert E.B., Gardner T.W. Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occludin and zonula occluden 1. A potential mechanism for vascular permeability in diabetic retinopathy and tumors. J. Biol. Chem. 1999; 274:23463–23467. doi: 10.1074/jbc.274.33.23463.

15. Antonetti DA, Barber AJ, Khin S, et al. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occludin content: vascular endothelial growth factor decreases occludin in retinal endothelial cells. Penn State Retina Research Group. Diabetes. 1998; 47:1953-1959.

16. Arend O, Remky A, Harris A, et al. Macular microcirculation in cystoid maculopathy of diabetic patients [see comments]. Br J Ophthalmol. 1995;79: 628-632.

17. Arevalo JF, Maia M, Flynn HW, Jr, Saravia M, Avery RL, Wu L, Eid Farah M, Pieramici DJ, Berrocal MH, Sanchez JG. Tractional retinal detachment following intravitreal bevacizumab (Avastin) in patients with severe proliferative diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol. 2008; 92:213–216.

18. arkkainan MJ, Makinen T, Alitalo K. Lymphatic endothelium: a new frontier of metastasis research. Nat Cell Biol. 2002;4: E2-E5.

19. Armulik A, Genove G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. Dev Cell. 2011; 21:193–215.

20. Aso Y, Inukai T, Takemura Y. Mechanisms of elevation of serum and urinary concentrations of soluble thrombomodulin in diabetic patients: possible application as a marker for vascular endothelial injury. Metabolism 1998; 47: 362–365

21. Augustin HG, Koh GY, Thurston G, Alitalo K. Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin-Tie system. Nat Rev Mol Cell Biol. 2009; 10:165–177.

22. Ayo SH, Radnik R, Garoni JA, Troyer DA, Kreisberg JI. High glucose increases diacylglycerol mass and activates protein kinase C in mesangial cell cultures. Am J Physiol 1991; 261(4 Pt 2): F571–F577

23. Bainbridge JW, Mistry A, De Alwis M, et al. Inhibition of retinal neovascularization by gene transfer of soluble VEGF receptor sFlt-1. Gene Ther. 2002; 9:320-326.

24. Bakris GL, Bank AJ, Kass DA, Neutel JM, Preston RA, Oparil S. Advanced glycation end product cAΦKs link breakers. A novel approach to cardiovascular pathologies related to the aging process. Am J Hypertens 2004; 17(12 Pt 2): 23S–30S

25. Barber A.J., Lieth E., Khin S.A., Antonetti D.A., Buchanan A.G., Gardner T.W. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. J. Clin. Investig. 1998; 102:783–791. doi: 10.1172/JCI2425.

26. Barber AJ, Baccouche B. Neurodegeneration in diabetic retinopathy: potential for novel therapies. Vision Res. 2017; 139:82–92

27. Barouch F.C., Miyamoto K., Allport J.R., Fujita K., Bursell S.E., Aiello L.P., Luscinskas F.W., Adamis A.P. Integrin-mediated neutrophil adhesion and retinal leukostasis in diabetes. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2000;41: 1153–1158.

28. Basta G, Lazzerini G, Massaro M, et al. Advanced glycation end products activate endothelium through signal transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses. Circulation 2002; 105: 816–822

29. Bates DO, Curry FE. Vascular endothelial growth factor increases hydraulic conductivity of isolated perfused microvessels. Am J Physiol. 1996;271:H2520-H2528.

30. Bates DO, Hillman NJ, Williams B, et al. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. J Anat. 2002;200: 581-597.

31. Bates DO. The chronic effect of vascular endothelial growth factor on individually perfused frog mesenteric microvessels. J Physiol. 1998;513: 225-233.

32. Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Garrett LA, Creager MA. Inhibition of protein kinase Cbeta prevents impaired endothelium dependent vasodilation caused by hyperglycemia in humans. Circ Res 2002; 90: 107–111

33. Bedard K, Krause KH. The NOX family of АФК generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Physiol Rev 2007; 87: 245–313

34. Bek T. Diameter changes of retinal vessels in diabetic retinopathy. Curr. Diabetes Rep. 2017; 17:82. doi: 10.1007/s11892-017-0909-9.

35. Beltramo E., Porta M. Pericyte loss in diabetic retinopathy: Mechanisms and consequences. Curr. Med. Chem. 2013; 20:3218–3225. doi: 10.2174/09298673113209990022.

36. Benjamin LE. Glucose, VEGF-A, and diabetic complications. Am JPathol. 2001; 158:1181-1184.

37. Bensaoula T, Ottlecz A. Biochemical and ultrastruc- tural studies in the neural retina and retinal pigment epithelium of STZ-diabetic rats: effect of captopril. J Ocular Pharmacol Ther. 2001; 17:573-586.

38. Berg TJ, Bangstad HJ, Torjesen PA, Osterby R, Bucala R, Hanssen KF. Advanced glycation end products in serum predict changes in the kidney morphology of patients with insulin dependent diabetes mellitus. Metabolism 1997; 46: 661–665

39. Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M, et al. Diabetes associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor kappaB. Diabetes 2001; 50: 2792–2808

40. Bolinger MT, Antonetti DA. Moving past anti-VEGF: novel therapies for treating diabetic retinopathy. Int J Mol Sci. 2016; 17:E1498.

41. Bolton SJ, Anthony DC, Perry VH. Loss of the tight junction proteins occludin and zonula occludens-1 from cerebral vascular endothelium during neutrophil- induced blood-brain barrier breakdown in vivo. NeuAΦKcience. 1998; 86:1245-1257.

42. Bolton WK, Cattran DC, Williams ME, et al. Randomized trial of an inhibitor of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. Am J Nephrol. 2004;24: 32-40.

43. Boss J.D., Singh P.K., Pandya H.K., Tosi J., Kim C., Tewari A., Juzych M.S., Abrams G.W., Kumar A. Assessment of neurotrophins and inflammatory mediators in vitreous of patients with diabetic retinopathy. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2017; 58:5594–5603. doi: 10.1167/iovs.17-21973.

44. Boulton M, Foreman D, Williams G, McLeod D. VEGF localisation in diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol 1998; 82: 561–568

45. Bresnick GH, Davis MD, Myers FL, de Venecia G. Clinicopathologic correlations in diabetic retinopathy. II. Clinical and histologic appearances of retinal capillary microaneurysms. Arch Ophthalmol 1977; 95: 1215–1220

46. Brezniceanu ML, Liu F, Wei CC, et al. Catalase overexpression attenuates angiotensinogen expression and apoptosis in diabetic mice. Kidney Int 2007; 71: 912–923

47. Brooks HL Jr., Caballero S Jr., Newell CK, et al. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor 1 in patients with diabetic retinopathy and cystoid macular edema before and after intraocular injection of triamcinolone. Arch Ophthalmol. 2004; 122:1801-1807.

48. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature. 2001; 414:813-820.

49. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. Diabetes. 2005; 54:1615–1625. doi: 10.2337/diabetes.54.6.1615.

50. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T, Cerami A, Vlassara H. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90: 6434–6438

51. Bucala R, Mitchell R, Arnold K, Innerarity T, Vlassara H, Cerami A. Identification of the major site of apolipoprotein B modification by advanced glycosylation end products blocking uptake by the low density lipoprotein receptor. J Biol Chem 1995; 270: 10828–10832

52. Bucciarelli LG, Wendt T, Qu W, et al. RAGE blockade stabilizes established atheAΦKcleAΦKis in diabetic apolipoprotein E null mice. Circulation 2002; 106: 2827–2835

53. Buse MG. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. Am J Physiol Endocrinol Metab 2006; 290: E1–E8

54. Cameron NE, Leonard MB, AΦKs IS, Whiting PH. The effects of sorbinil on peripheral nerve conduction velocity, polyol concentrations and morphology in the streptozotocin diabetic rat. Diabetologia 1986; 29: 168–174

55. Campochiaro PA, Aiello LP, AΦKenfeld PJ. Anti-vascular endothelial growth factor agents in the treatment of retinal disease: from bench to bedside. Ophthalmology. 2016;123:S78–S88.

56. Campochiaro PA, Khanani A, Singer M, Patel S, Boyer D, Dugel P, Kherani S, Withers B, Gambino L, Peters K, Brigell M TIME-2 Study Group. Enhanced benefit in diabetic macular edema from AKB-9778 Tie2 activation combined with vascular endothelial growth factor suppression. Ophthalmology. 2016;123:1722–1730.

57. Candido R, Forbes JM, Thomas MC, et al. A breaker of advanced glycation end products attenuates diabetes induced myocardial structural changes. Circ Res 2003; 92: 785–792

58. Charonis AS, Reger LA, Dege JE, et al. Laminin alterations after in vitro nonenzymatic glucosylation. Diabetes. 1990;39:807-814.

59. Chaturvedi N, Sjolie AK, Stephenson JM, et al. Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normo- tensive people with type 1 diabetes. The EUCLID study group. EURODIAB controlled trial of Lisinopril in insulin-dependent diabetes mellitus. Lancet. 1998;351:28-31.

60. Chen YQ, Su M, Walia RR, Hao Q, Covington JW, Vaughan DE. Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor 1 promoter by glucose in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem 1998; 273: 8225–8231

61. Chibber R., Ben-Mahmud B.M., Coppini D., Christ E., Kohner E.M. Activity of the glycosylating enzyme, core 2 GlcNAc (beta1,6)

62. transferase, is higher in polymorphonuclear leukocytes from diabetic patients compared with age-matched control subjects: Relevance to capillary occlusion in diabetic retinopathy. Diabetes. 2000;49:1724–1730. doi: 10.2337/diabetes.49.10.1724.

63. Chinen I, Shimabukuro M, Yamakawa K, et al. Vascular lipotoxicity: endothelial dysfunction via fatty acid induced reactive oxygen species overproduction in obese Zucker diabetic fatty rats. Endocrinology 2007; 148: 160–165

64. Christinger HW, Fuh G, de Vos AM, Wiesmann C. The crystal structure of placental growth factor in complex with domain 2 of vascular endothelial growth factor receptor-1. J Biol Chem. 2004;279:10382-10388.

65. Chung SS, Ho EC, Lam KS, Chung SK. Contribution of polyol pathway to diabetes induced oxidative stress. J Am Soc Nephrol 2003; 14(8 Suppl 3): S233–S236

66. Clarke H, Marano CW, Peralta Soler A, Mullin JM. Modification of tight junction function by protein kinase C isoforms. Adv Drug Deliv Rev. 2000;41:283-301.

67. Cogan DG, Toussaint D, Kuwabara T. Retinal vascular patterns. IV. Diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol 1961; 66: 366–378

68. Craven PA, Davidson CM, DeRubertis FR. Increase in diacylglycerol mass in isolated glomeruli by glucose from de novo synthesis of glycerolipids. Diabetes 1990; 39: 667–674

69. Craven PA, Studer RK, Felder J, et al. Nitric oxide inhibition of transforming growth factor-beta and collagen synthesis in mesangial cells. Diabetes. 1997;46:671-681.

70. Culman J, Hohle S, Qadri F, et al. Angiotensin as neuromodulator/neurotransmitter in central control of body fluid and electrolyte homeostasis. Clin Exp Hyper- tens. 1995;17:281-293.

71. Cunha-Vaz J, Faria de Abreu JR, Campos AJ. Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes. Br J Ophthalmol. 1975;59:649-656.

72. Cusi K, Maezono K, Osman A, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3 kinase and MAP kinase mediated signaling in human muscle. J Clin Invest 2000; 105: 311–320

73. Daruich A, Matet A, Moulin A, Kowalczuk L, Nicolas M, Sellam A, Rothschild PR, Omri S, Gelize E, Jonet L, Delaunay K, De Kozak Y, Berdugo M, Zhao M, Crisanti P, Behar-Cohen F. Mechanisms of macular edema: beyond the surface. Prog Retin Eye Res. 2018;63:20–68.

74. Das A, McGuire PG, Rangasamy S. Diabetic macular edema: pathophysiology and novel therapeutic targets. Ophthalmology. 2015;122:1375–1394.

75. Das Evcimen N, King GL. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. Pharmacol Res 2007; 55: 498–510

76. David J. Browning Diabetic Retinopathy. Evidence-Based Management. Springer 2010

77. Davis S, Aldrich TH, Jones PF, Acheson A, Compton DL, Jain V, Ryan TE, Bruno J, Radziejewski C, Maisonpierre PC, Yancopoulos GD. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning. Cell. 1996;87:1161–1169.

78. Degenhardt TP, Thorpe SR, Baynes JW. Chemical modification of proteins by methylglyoxal. Cell Mol Biol. 1998;44:1139-1145.

79. Dejana E, Spagnuolo R, Bazzoni G. Interendothelial junctions and their role in the control of angiogenesis, vascular permeability and leukocyte transmigration. Thromb Haemost. 2001;86:308-315.

80. Di Carlo SE, Peduto L. The perivascular origin of pathological fibroblasts. J Clin Invest. 2018;128:54–63.

81. Diaz Flores M, Ibanez Hernandez MA, Galvan RE, et al. Glucose 6 phosphate dehydrogenase activity and NADPH/NADP+ ratio in liver and pancreas are dependent on the severity of hyperglycemia in rat. Life Sci 2006; 78: 2601–2607

82. Dlugosz JA, Munk S, Ispanovic E, Goldberg HJ, Whiteside CI. Mesangial cell filamentous actin disassembly and hypocontractility in high glucose are mediated by PKC zeta. Am J Physiol Renal Physiol 2002; 282: F151–F163

83. Dowling JE, Boycott BB. Organization of the primate retina - electron micAΦKcopy. Proc R Soc Ser B. 1966;166: 80-111.

84. Du XL, Edelstein D, Dimmeler S, Ju Q, Sui C, Brownlee M. Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. J Clin Invest 2001; 108: 1341–1348

85. Du XL, Edelstein D, AΦKsetti L, et al. Hyperglycemia- induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97: 12222-12226.

86. Ebnet K, Suzuki A, Ohno S, Vestweber D. Junctional adhesion molecules (JAMs): more molecules with dual functions J Cell Sci. 2004;117:19-29.

87. Ehlers JP, Wang K, Singh RP, Babiuch AS, Schachat AP, Yuan A, Reese JL, Stiegel L, Srivastava SK. A pAΦKpective randomized comparative dosing trial of ranibizumab in bevacizumab-resistant diabetic macular edema: the REACT study. Ophthalmol Retina. 2018;2:217–224.

88. Ejaz S., Chekarova I., Ejaz A., Sohail A., Lim C.W. Importance of pericytes and mechanisms of pericyte loss during diabetes retinopathy. Diabetes Obes. Metab. 2008;10:53–63. doi: 10.1111/j.1463-1326.2007.00795.x.

89. el Khoury J, Thomas CA, Loike JD, Hickman SE, Cao L, Silverstein SC. Macrophages adhere to glucose modified basement membrane collagen IV via their scavenger receptors. J Biol Chem 1994; 269: 10197–10200

90. El Osta A, Brasacchio D, Yao D, et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. J Exp Med 2008; 205: 2409–2417

91. Enge M, Bjarnegard M, Gerhardt H, et al. Endothelium specific platelet derived growth factor B ablation mimics diabetic retinopathy. EMBO J 2002; 21: 4307–4316

92. Engerman RL, Kern TS, Larson ME. Nerve conduction and aldose reductase inhibition during 5 years of diabetes or galactosaemia in dogs. Diabetologia 1994; 37: 141–144

93. Fanning AS, Ma TY, Anderson JM. Isolation and functional characterization of the actin binding region in the tight junction protein ZO-1. FASEB J. 2002;16:1835-1837.

94. Federoff HJ, Lawrence D, Brownlee M. Nonenzymatic glycosylation of laminin and the laminin peptide CIK- VAVS inhibits neurite outgrowth. Diabetes. 1993;42: 590-513.

95. Feener EP, Xia P, Inoguchi T, Shiba T, Kunisaki M, King GL. Role of protein kinase C in glucose and angiotensin II induced plasminogen activator inhibitor expression. Contrib Nephrol 1996; 118: 180–187

96. Felinski EA, Antonetti DA. Glucocorticoid regulation of endothelial cell tight junction gene expression: novel treatments for diabetic retinopathy. CurrEyeRes. 2005; 30:949-957.

97. Ferrara N, Adamis AP. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. Nat Rev Drug Discov. 2016;15:385–403.

98. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. Kidney Int. 1999;56:794-814.

99. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. Endocrin Rev. 2004; 25:581-611.

100. Fine BS, Brucker AJ. Macular edema and cystoid macular edema. Am J Ophthalmol. 1981;92:466-481.

101. Forbes JM, Thallas V, Thomas MC, et al. The breakdown of preexisting advanced glycation end products is associated with reduced renal fibAΦKis in experimental diabetes. FASEB J 2003; 17: 1762–1764

102. Forbes JM, Yee LT, Thallas V, et al. Advanced glycation end product interventions reduce diabetes accelerated atheAΦKcleAΦKis. Diabetes 2004; 53: 1813–1823

103. Friedrichs P, Schlotterer A, Sticht C, Kolibabka M, Wohlfart P, Dietrich A, Linn T, Molema G, Hammes HP. Hyperglycaemic memory affects the neurovascular unit of the retina in a diabetic mouse model. Diabetologia. 2017;60:1354–1358.

104. Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:2604-2609.

105. Fukushima I, McLeod DS, Lutty GA. Intrachoroidal microvascular abnormality: a previously unrecognized form of choroidal neovascularization. Am J Ophthalmol. 1997;124:473-487.

106. Fukushima Y, Okada M, Kataoka H, Hirashima M, Yoshida Y, Mann F, Gomi F, Nishida K, Nishikawa S, Uemura A. Sema3E-PlexinD1 signaling selectively suppresses disoriented angiogenesis in ischemic retinopathy in mice. J Clin Invest. 2011;121:1974–1985.

107. Funatsu H, Yamashita H, Ikeda T, et al. Angiotensin II and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol. 2002;86:311-315.

108. Funatsu H, Yamashita H, Ikeda T, et al. Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. Ophthalmology. 2003;110:1690-1696.

109. Gardner TW, Lieth E, Khin SA, et al. Astrocytes increase barrier properties and ZO-1 expression in retinal vascular endothelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1997;38:2423-2427.

110. Gass JDM, Anderson DR, Davis EB. A clinical, fluorescein angiographic, and electron micAΦKcopic correlation of cystoid macular edema. Am J Ophthalmol. 1985; 100:82-86.

111. Gaudry M, Bregerie O, Andrieu V, et al. Intracellular pool of vascular endothelial growth factor in human neutrophils. Blood. 1997;90:4153-4161.

112. Gehlbach P, Demetriades AM, Yamamoto S, et al. Periocular gene transfer of sFlt-1 suppresses ocular neovascularization and VEGF-induced breakdown of the blood-retinal barrier. Hum Gene Ther. 2003;14:129-141.

113. Geraldes P, Hiraoka Yamamoto J, Matsumoto M, et al. Activation of PKC delta and SHP 1 by hyperglycemia causes vascular cell apoptosis and diabetic retinopathy. Nat Med 2009; 15: 1298–1306

114. Geraldes P, Yagi K, Ohshiro Y, et al. Selective regulation of heme oxygenase 1 expression and function by insulin through IRS1/phosphoinositide 3 kinase/Akt 2 pathway. J Biol Chem 2008; 283: 34327–34336

115. Gerber HP, Condorelli F, Park J, Ferrara N. Differential transcriptional regulation of the two VEGF receptor genes, Flt-1, but not Flk-a/KDR, is up-regulated by hypoxia. JBiolChem. 1997;272:23659-23667.

116. Gerhardt H, Golding M, Fruttiger M, Ruhrberg C, Lundkvist A, Abramsson A, Jeltsch M, Mitchell C, Alitalo K, Shima D, Betsholtz C. VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. J Cell Biol. 2003;161:1163–1177.

117. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res. 2010; 107:1058–1070.

118. Giardino I, Edelstein D, Brownlee M. BCL-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation endproducts in bovine endothelial cells. J Clin Invest. 1996; 97:1422-1428.

119. Giardino I, Edelstein D, Brownlee M. Nonenzymatic glycosylation in vitro and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity. A model for intracellular glycosylation in diabetes. J Clin Invest 1994; 94: 110–117

120. Giebel SJ, Menicucci G, McGuire PG, Das A. Matrix metalloproteinases in early diabetic retinopathy and their role in alteration of the blood-retinal barrier. Lab Invest. 2005; 85:597-607.

121. Gilbert RD, Kelly DJ, Cox AJ, et al. Angiotensin converting enzyme inhibition reduces retinal overexpression of vascular endothelial growth factor and hyperpermeability in experimental diabetes. Diabetologia. 2000; 43:1360-1367.

122. Gillies MC, Su T, Stayl J, et al. Effect of high glucose on permeability on retinal capillary endothelium in vitro. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1997;38:635-642.

123. Go M, Sekiguchi K, Nomura H, Kikkawa U, Nishizuka Y. Further studies on the specificity of diacylglycerol for protein kinase C activation. Biochem Biophys Res Commun 1987; 144: 598–605

124. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. Circulation 2006; 114: 597–605

125. Guigliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. Diabetes Care. 1996; 19:257-267.

126. Hafer Macko CE, Ivey FM, Gyure KA, Sorkin JD, Macko RF. Thrombomodulin deficiency in human diabetic nerve microvasculature. Diabetes 2002; 51: 1957–1963

127. Haitoglou CS, Tsilibary EC, Brownlee M, Charonis AS. Altered cellular interactions between endothelial cells and nonenzymatically glucosylated laminin/type IV collagen. J Biol Chem 1992; 267: 12404–12407

128. Hammes HP, Lin J, Bretzel RG, Brownlee M, Breier G. Upregulation of the vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor system in experimental background diabetic retinopathy of the rat. Diabetes 1998; 47: 401–406

129. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. Proc Natl Acad Sci U S A 1991; 88: 11555–11558

130. Hammes HP, Wellensiek B, Kloting I, Sickel E, Bretzel RG, Brownlee M. The relationship of glycaemic level to advanced glycation end product (AGE) accumulation and retinal pathology in the spontaneous diabetic hamster. Diabetologia 1998; 41: 165–170

131. Han I, Kudlow JE. Reduced O glycosylation of Sp1 is associated with increased proteasome susceptibility. Mol Cell Biol 1997; 17: 2550–2558

132. Harja E, Chang JS, Lu Y, et al. Mice deficient in PKCbeta and apolipoprotein E display decreased atheAΦKcleAΦKis. FASEB J 2009; 23: 1081–1091

133. Hart GW. Dynamic O-linked glycosylation of nuclear and cytoskeletal proteins. Annu Rev Biochem. 1997;66: 315-335.

134. He Z, King GL. Microvascular complications of diabetes. Endocrinol Metab Clin North Am 2004; 33: 215–238, xi–xii.

135. He Z, Opland DM, Way KJ, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression and vascularization in the myocardium

by insulin receptor and PI3K/Akt pathways in insulin resistance and ischemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006; 26: 787–793

136. Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, Noda T, Shibuya M. Flt-1 lacking the tyAΦKine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:9349–9354.

137. Holz FG, Dugel PU, Weissgerber G, Hamilton R, Silva R, Bandello F, Larsen M, Weichselberger A, Wenzel A, Schmidt A, Escher D, Sararols L, Souied E. Single-chain antibody fragment VEGF inhibitor rth258 for neovascular age-related macular degeneration: a randomized controlled study. Ophthalmology. 2016;123:1080–1089.

138. Horie K, Miyata T, Maeda K, et al. Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy. J Clin Invest. 1997;100:2995-3004.

139. Hotta N, Toyota T, Matsuoka K, et al. Clinical efficacy of fidarestat, a novel aldose reductase inhibitor, for diabetic peripheral neuropathy: a 52 week multicenter placebo controlled double blind parallel group study. Diabetes Care 2001; 24: 1776–1782

140. Hseuh WA, Law RE. Cardiovascular risk continuum: implications of insulin resistance and diabetes. Am J Med. 1998;105:4S-14S.

141. Huang H., He J., Johnson D., Wei Y., Liu Y., Wang S., Lutty G.A., Duh E.J., Semba R.D. Deletion of placental growth factor prevents diabetic retinopathy and is associated with Akt activation and HIF1alpha-VEGF pathway inhibition. Diabetes. 2015;64:200–212. doi: 10.2337/db14-0016.

142. Huijberts MSP, Wolffenbuttel BH, Boudier HA, et al. Aminoguanidine treatment increases elasticity and decreases fluid filtration of large arteries from diabetic rats. J Clin Invest. 1993;92:1407-1411.

143. Huttunen HJ, Fages C, Rauvala H. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) mediated neurite outgrowth and activation of

NF kappaB require the cytoplasmic domain of the receptor but different downstream signaling pathways. J Biol Chem 1999; 274: 19919–19924

144. Inoguchi T, Battan R, Handler E, Sportsman JR, Heath W, King GL. Preferential elevation of protein kinase C isoform beta II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. Proc Natl Acad Sci U S A 1992; 89: 11059–11063

145. Inoguchi T, Li P, Umeda F, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. Diabetes 2000; 49: 1939–1945

146. Isermann B, Vinnikov IA, Madhusudhan T, et al. Activated protein C protects against diabetic nephropathy by inhibiting endothelial and podocyte apoptosis. Nat Med 2007; 13: 1349–1358

147. Ishii H, Jirousek MR, Koya D, et al. Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor. Science. 1996;272:728-731.

148. Ito M, Oliverio MI, Mannon PJ, et al. Regulation of blood pressure by the type 1A angiotensin II receptor gene. Proc Natl Acad Sci USA. 1995;92:3521-3525.

149. Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, et al. Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O2-regulated prolyl hydroxylation. Science. 2001;292:468-472.

150. James LR, Fantus IG, Goldberg H, Ly H, Scholey JW. Overexpression of GFAT activates PAI 1 promoter in mesangial cells. Am J Physiol Renal Physiol 2000; 279: F718–F727

151. Jiang ZY, Lin YW, Clemont A, et al. Characterization of selective resistance to insulin signaling in the vasculature of obese Zucker (fa/fa) rats. J Clin Invest 1999; 104: 447–457

152. Jones CW, Cunha-Vaz J, Zweig KO, Stein M. Kinetic vitreous fluorophotometry in experimental diabetes. Arch Ophthalmol. 1979;97:1941-1943.

153. Joussen A.M., Poulaki V., Le M.L., Koizumi K., Esser C., Janicki H., Schraermeyer U., Kociok N., Fauser S., Kirchhof B., et al. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. FASEB J. 2004;18:1450–1452. doi: 10.1096/fj.03-1476fje.

154. Joussen A.M., Poulaki V., Mitsiades N., Cai W.Y., Suzuma I., Pak J., Ju S.T., Rook S.L., Esser P., Mitsiades C.S., et al. Suppression of Fas-FasL-induced endothelial cell apoptosis prevents diabetic blood-retinal barrier breakdown in a model of streptozotocin-induced diabetes. FASEB J. 2003;17:76–78. doi: 10.1096/fj.02-0157fje.

155. Kador PF, Akagi Y, Takahashi Y, Ikebe H, Wyman M, Kinoshita JH. Prevention of retinal vessel changes associated with diabetic retinopathy in galactose fed dogs by aldose reductase inhibitors. Arch Ophthalmol 1990; 108: 1301–1309

156. Kasza M., Meleg J., Vardai J., Nagy B., Jr., Szalai E., Damjanovich J., Csutak A., Ujhelyi B., Nagy V. Plasma E-selectin levels can play a role in the development of diabetic retinopathy. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 2017;255:25–30. doi: 10.1007/s00417-016-3411-1.

157. Kato H, Suzuki H, Tajima S, et al. Angiotensin II stimulates collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. J Hypertens. 1991;9:17-22.

158. Kawamura H, Kobayashi M, Li Q, et al. Effects of angiotensin II on the pericyte-containing microvasculature of the rat retina. JPhysiol. 2004;561:671-683.

159. Keough RJ, Dunlop ME, Larkins RG. Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C, and phospholipase A2 activation. Metabolism. 1997;46:41-47.

160. Kim H, Sasaki T, Maeda K, Koya D, Kashiwagi A, Yasuda H. Protein kinase Cbeta selective inhibitor LY333531 attenuates diabetic hyperalgesia through ameliorating cGMP level of dorsal root ganglion neurons. Diabetes 2003; 52: 2102–2109

161. Kim J, Oh WJ, Gaiano N, Yoshida Y, Gu C. Semaphorin 3E-Plexin-D1 signaling regulates VEGF function in developmental angiogenesis via a feedback mechanism. Genes Dev. 2011;25:1399–1411.

162. Kim M, Allen B, Korhonen EA, Nitschke M, Yang HW, Baluk P, Saharinen P, Alitalo K, Daly C, Thurston G, McDonald DM. Opposing actions of angiopoietin-2 on Tie2 signaling and FOXO1 activation. J Clin Invest. 2016;126:3511–3525.

163. Kitada M, Koya D, Sugimoto T, et al. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C beta activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy. Diabetes 2003; 52: 2603–2614

164. Kiuchi-Saichin Y, Gotoh S, Furuse M, et al. Differential expression patterns of claudins, tight junction membrane proteins, in mouse nephron segments. J Am Soc Nephrol. 2002;13:875-886.

165. Klaassen I, van Geest RJ, Kuiper EJ, van Noorden CJ, Schlingemann RO. The role of CTGF in diabetic retinopathy. Exp Eye Res. 2015;133:37–48.

166. Klaassen I, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions. Prog Retin Eye Res. 2013;34:19–48.

167. Koch S, Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012;2:a006502.

168. Koleva-Georgieva D.N., Sivkova N.P., Terzieva D. Serum inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and VEGF have influence on the development of diabetic retinopathy. Folia Med. 2011;53:44–50.

169. Konishi H, Tanaka M, Takemura Y, et al. Activation of protein kinase C by tyAΦKine phosphorylation in response to H2O2. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94: 11233–11237

170. Korhonen EA, Lampinen A, Giri H, Anisimov A, Kim M, Allen B, Fang S, D'Amico G, Sipila TJ, Lohela M, Strandin T, Vaheri A, Yl - Herttuala S, Koh GY, McDonald DM, Alitalo K, Saharinen P. Tie1 controls angiopoietin function in vascular remodeling and inflammation. J Clin Invest. 2016;126:3495–3510.

171. Kowluru R.A., Koppolu P. Diabetes-induced activation of caspase-3 in retina: Effect of antioxidant therapy. Free Radic. Res. 2002;36:993–999. doi: 10.1080/1071576021000006572.

172. Koya D, Haneda M, Nakagawa H, et al. Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC beta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes. FASEB J 2000; 14: 439–447

173. Koya D, Jirousek MR, Lin YW, Ishii H, Kuboki K, King GL. Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor beta, extracellular matrix components, and pAΦKtanoids in the glomeruli of diabetic rats. J Clin Invest 1997; 100: 115–126

174. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. Diabetes. 1998;47: 859-866.

175. Kuboki K, Jiang ZY, Takahara N, et al. Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo: a specific vascular action of insulin. Circulation 2000; 101: 676–681

176. Kunisaki M, Bursell SE, Umeda F, Nawata H, King GL. Normalization of diacylglycerol protein kinase C activation by vitamin E in aorta of diabetic rats and cultured rat smooth muscle cells exposed to elevated glucose levels. Diabetes 1994; 43: 1372–1377

177. Kurihara T, Westenskow PD, Bravo S, Aguilar E, Friedlander M. Targeted deletion of VEGFA in adult mice induces vision loss. J Clin Invest. 2012;122:4213–4217.

178. Kuroki T, Inoguchi T, Umeda F, Nawata H. Effect of eicosapentaenoic acid on glucose induced diacylglycerol synthesis in cultured bovine aortic endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1998; 247: 473–477

179. Kusuhara S., Y.Fukushima, S. Ogura, N. Inoue, A. Uemura. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy: The Old and the New. Diabetes Metab J. 2018 Oct; 42(5): 364–376. Published online 2018 Oct 22. doi: 10.4093/dmj.2018.0182. PMCID: PMC6202564. PMID: 30362302

180. Kuwabara T, Cogan DG. Retinal vascular patterns. VII. Acellular change. Invest Ophthalmol 1965; 4: 1049–1064

181. Kwon SH, Shin JP, Kim IT, Park DH. Aqueous levels of angiopoietin-like 4 and semaphorin 3E correlate with nonperfusion area and macular volume in diabetic retinopathy. Ophthalmology. 2015;122:968–975.

182. Langham ME, Grebe R, Hopkins S, et al. Choroidal blood flow in diabetic retinopathy. Exp Eye Res. 1991; 52:167-173.

183. Lanigan LP. Impaired autoregulation of the retinal vasculature and microalbuminuria in diabetes mellitus. Eye. 1990;4:174-180.

184. Lassila M, Seah KK, Allen TJ, et al. Accelerated nephropathy in diabetic apolipoprotein e knockout mouse: role of advanced glycation end products. J Am Soc Nephrol 2004; 15: 2125–2138

185. Lee EA, Seo JY, Jiang Z, et al. Reactive oxygen species mediate high glucose induced plasminogen activator inhibitor 1 upregulation in mesangial cells and in diabetic kidney. Kidney Int 2005; 67: 1762–1771

186. Leinonen J, Lehtimaki T, Toyokuni S, et al. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in patients with non insulin dependent diabetes mellitus. FEBS Lett 1997; 417: 150–152

187. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. Science. 1989;246:1306–1309.

188. Li J., Wang J.J., Yu Q., Chen K., Mahadev K., Zhang S.X. Inhibition of reactive oxygen species by Lovastatin downregulates vascular endothelial growth factor expression and ameliorates blood-retinal barrier breakdown in db/db mice: Role of nadph oxidase 4. Diabetes. 2010;59:1528–1538. doi: 10.2337/db09-1057.

189. Limb G.A., Hickman-Casey J., Hollifield R.D., Chignell A.H. Vascular adhesion molecules in vitreous from eyes with proliferative diabetic retinopathy. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 1999;40:2453–2457.

190. Lindahl P, Johansson BR, Leveen P, Betsholtz C. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF B deficient mice. Science 1997; 277: 242–245

191. Liu H, Ren JG, Cooper WL, et al. Identification of the antivasopermeability effect of pigment epithelium- derived factor and its active site. Proc Natl Acad Sci. 2004;101:6605-6610.

192. Lonn E, Yusuf S, Hoogwerf B, et al. Effects of vitamin E on cardiovascular and microvascular outcomes in high risk patients with diabetes: results of the HOPE study and MICRO HOPE substudy. Diabetes Care 2002; 25: 1919–1927

193. Lu M, Kuroki M, Amano S, et al. Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. J Clin Invest. 1998;101:1219-1224.

194. Lu M, Perez VL, Ma N, et al. VEGF increases retinal vascular ICAM-1 expression in vivo. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1999;40:1808-1812.

195. Lucis AJ. AtheAΦKcleAΦKis. Nature. 2000;407:233-241.

196. Lupo G., Motta C., Giurdanella G., Anfuso C.D., Alberghina M., Drago F., Salomone S., Bucolo C. Role of phospholipases A2 in diabetic

retinopathy: In vitro and in vivo studies. Biochem. Pharmacol. 2013;86:1603–1613. doi: 10.1016/j.bcp.2013.09.008.

197. Maha Coucha,Sally L. Elshaer,Wael S. Eldahshan, Barbara A. Mysona,Azza B. El-Remessy. Molecular Mechanisms of Diabetic Retinopathy: Potential Therapeutic Targets. Middle East Afr J Ophthalmol. 2015 Apr-Jun; 22(2): 135–144. doi: 10.4103/0974-9233.154386

198. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, Compton D, McClain J, Aldrich TH, Papadopoulos N, Daly TJ, Davis S, Sato TN, Yancopoulos GD. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. Science. 1997;277:55–60.

199. Matsuoka K, Sakamoto N, Akanuma Y, et al. A long term effect of epalrestat on motor conduction velocity of diabetic patients: ARI Diabetes Complications Trial (ADCT). Diabetes Res Clin Pract 2007; 77(Suppl 1): S263–S268

200. Matter K, Balda MS. Occludin and the functions of tight junctions. Int Rev Cytol. 1999;186:117-146.

201. Mauer SM, Steffes MW, Azar S, Brown DM. Effects of sorbinil on glomerular structure and function in long term diabetic rats. Diabetes 1989; 38: 839–846

202. Mesquita J, Castro-de-Sousa JP, Vaz-Pereira S, Neves A, Passarinha LA, Tomaz CT. Vascular endothelial growth factors and placenta growth factor in retinal vasculopathies: current research and future perspectives. Cytokine Growth Factor Rev. 2018;39:102–115.

203. Mezzetti A, Cipollone F, Cuccurullo F. Oxidative stress and cardiovascular complications in diabetes: isopAΦKtanes as new markers on an old paradigm. Cardiovasc Res 2000; 47: 475–488

204. Miller JW, Adamis AP, Aiello LP. Vascular endothelial growth factor in ocular neovascularization and proliferative diabetic retinopathy. Diabetes Metab Rev. 1997;13: 37-50.

205. Miller JW, Le Couter J, Strauss EC, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor a in intraocular vascular disease. Ophthalmology. 2013;120:106–114.

206. Miyamoto K, Khosrof S, Bursell SE, et al. Prevention of leukostasis and vascular leakage in streptozotocin- induced diabetic retinopathy via intercellular adhesion molecule-1 inhibition. Proc Natl Acad Sci USA. 1999; 96:10836-10841.

207. Miyamoto K., HiAΦKhiba N., Tsujikawa A., Ogura Y. In vivo demonstration of increased leukocyte entrapment in retinal microcirculation of diabetic rats. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 1998;39:2190–2194.

208. Miyamoto K., Khosrof S., Bursell S.E., Rohan R., Murata T., Clermont A.C., Aiello L.P., Ogura Y., Adamis A.P. Prevention of leukostasis and vascular leakage in streptozotocin-induced diabetic retinopathy via intercellular adhesion molecule-1 inhibition. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999;96:10836–10841. doi: 10.1073/pnas.96.19.10836.

209. Miyamoto N, de Kozak Y, Jeanny JC, et al. Placental growth factor-1 and epithelial haemato-retinal barrier breakdown: potential implication in the pathogenesis of diabetic retinopathy. Diabetologia. 2007;50: 461-470.

210. Mizutani M, Kern TS, Lorenzi M. Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy. J Clin Invest. 1996;97:2883-2890.

211. Mogensen CE, Keane WF, Bennett PH, et al. Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria. Lancet 1995; 346: 1080–1084

212. Montagnani M, Chen H, Barr VA, Quon MJ. Insulin stimulated activation of eNOS is independent of Ca2+ but requires phosphorylation by Akt at Ser(1179). J Biol Chem 2001; 276: 30392–30398

213. Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. Blood 2007; 109: 3161–3172

214. Munehiro Kitada, Zhaoyun Zhang, Akira Mima, George L King.Molecular mechanisms of diabetic vascular complications. J Diabetes Investig. 2010 Jun 1; 1(3): 77–89. Published online 2010 Mar 22. doi: 10.1111/j.2040-1124.2010.00018.x

215. Murakami M, Iwai S, Hiratsuka S, Yamauchi M, Nakamura K, Iwakura Y, Shibuya M. Signaling of vascular endothelial growth factor receptor-1 tyAΦKine kinase promotes rheumatoid arthritis through activation of monocytes/macrophages. Blood. 2006;108:1849–1856.

216. Nagai N, Izumi-Nagai K, Oike Y, et al. Suppression of diabetes-induced retinal inflammation by blocking the angiotensinIItype 1 receptor or its downstream nuclear factor-kB pathway. Invest Oph Vis Sci. 2007;48: 4342-4350.

217. Nagai N, Noda K, Urano T, et al. Selective suppression of pathologic, but not physiologic, retinal neovascularization by blocking the angiotensin II type 1 receptor. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005;46:1078-1084.

218. Nakamura J, Kato K, Hamada Y, et al. A protein kinase C beta selective inhibitor ameliorates neural dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats. Diabetes 1999; 48: 2090–2095

219. Naruse K, Rask Madsen C, Takahara N, et al. Activation of vascular protein kinase C beta inhibits Akt dependent endothelial nitric oxide synthase function in obesity associated insulin resistance. Diabetes 2006; 55: 691–698

220. Naruse K., Nakamura J., Hamada Y., Nakayama M., Chaya S., Komori T., Kato K., Kasuya Y., Miwa K., Hotta N. Aldose reductase inhibition prevents glucose-induced apoptosis in cultured bovine retinal microvascular pericytes. Exp. Eye Res. 2000;71:309–315. doi: 10.1006/exer.2000.0882.

221. Newsholme P, Haber EP, Hirabara SM, et al. Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non mitochondrial АФК production and activity. J Physiol 2007;583(Pt 1): 9–24

222. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. Nature 2000; 404: 787–790

223. Nishizuka Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. Science 1992; 258: 607–614

224. Nitta T, Hata M, Gotoh S, et al. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5 deficient mice. J Cell Biol. 2003;161:653-660.

225. Ogura S, Kurata K, Hattori Y, Takase H, Ishiguro-Oonuma T, Hwang Y, Ahn S, Park I, Ikeda W, Kusuhara S, Fukushima Y, Nara H, Sakai H, Fujiwara T, Matsushita J, Ema M, Hirashima M, Minami T, Shibuya M, Takakura N, Kim P, Miyata T, Ogura Y, Uemura A. Sustained inflammation after pericyte depletion induces irreversible blood-retina barrier breakdown. JCI Insight. 2017;2:e90905.

226. Oh H, Takagi H, Suzuma K, Otani A, Matsumura M, Honda Y. Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively up-regulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells. J Biol Chem. 1999;274:15732–15739.

227. Ohno-Matsui K, Yoshida T, Uetama T, et al. Vascular endothelial growth factor upregulates pigment epithelium- derived factor expression via VEGFR-1 in human retinal pigment epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun. 2003;303:962-967.

228. Ohshiro Y, Ma RC, Yasuda Y, et al. Reduction of diabetes induced oxidative stress, fibrotic cytokine expression, and renal dysfunction in protein kinase Cbeta null mice. Diabetes 2006; 55: 3112–3120

229. Oshima Y, Oshima S, Nambu H, et al. Increased expression of VEGF in retinal pigmented epithelial cells is not sufficient to cause choroidal neovascularization. J Cell Physiol. 2004;201:393-400.

230. Otani A, Takagi H, Oh H, et al. Angiotensin II induces expression of the Tie2 receptor ligand, angiopoietin-2, in bovine retinal endothelial cells. Diabetes. 2001;50:867-875.

231. Otani A, Takagi H, Suzuma K, Honda Y. Angiotensin II potentiates endothelial growth factor-induced angiogenic activity in retinal microcapillary endothelial cells. Circ Res. 1998;82:619-628.

232. Ozaki H, Hayashi H, Vinores SA, et al. Intravitreal sustained release of VEGF causes retinal neovascularization in rabbits and breakdown of the blood-retinal barrier in rabbits and primates. Exp Eye Res. 1997; 64:505-517.

233. Papadopoulos KP, Kelley RK, Tolcher AW, Razak AR, Van Loon K, Patnaik A, Bedard PL, Alfaro AA, Beeram M, Adriaens L, Brownstein CM, Lowy I, Kostic A, Trail PA, Gao B, DiCioccio AT, Siu LL. A phase I first-in-human study of nesvacumab (REGN910), a fully human anti-angiopoietin-2 (Ang2) monoclonal antibody, in patients with advanced solid tumors. Clin Cancer Res. 2016;22:1348–1355.

234. Park DY, Lee J, Kim J, Kim K, Hong S, Han S, Kubota Y, Augustin HG, Ding L, Kim JW, Kim H, He Y, Adams RH, Koh GY. Plastic roles of pericytes in the blood-retinal barrier. Nat Commun. 2017;8:15296.

235. Park JY, Takahara N, Gabriele A, et al. Induction of endothelin 1 expression by glucose: an effect of protein kinase C activation. Diabetes 2000; 49: 1239–1248

236. Patel J.I., Hykin P.G., Gregor Z.J., Boulton M., Cree I.A. Angiopoietin concentrations in diabetic retinopathy. Br. J. Ophthalmol. 2005;89:480–483. doi: 10.1136/bjo.2004.049940.

237. Paul SA, Simons JW, Mabjeesh NJ. HIF at the cAΦKsroads between ischemia and carcinogenesis. J Cell Physiol. 2004;200:20-30.

238. Pieper GM, Riaz ul H. Activation of nuclear factor kappaB in cultured endothelial cells by increased glucose concentration: prevention by calphostin C. J Cardiovasc Pharmacol 1997; 30: 528–532

239. PKC DRS Study Group . The effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with moderately severe to very severe nonproliferative diabetic retinopathy: initial results of the Protein Kinase C beta Inhibitor Diabetic Retinopathy Study (PKC DRS) multicenter randomized clinical trial. Diabetes 2005; 54: 2188–2197

240. Podesta F., Romeo G., Liu W.H., Krajewski S., Reed J.C., Gerhardinger C., Lorenzi M. Bax is increased in the retina of diabetic subjects and is associated with pericyte apoptosis in vivo and in vitro. Am. J. Pathol. 2000;156:1025–1032. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64970-X.

241. Pollock SC, Miller NR. The retinal nerve fiber layer. Int Ophthalmol Clin. 1986;26:201-221.

242. Portilla D, Dai G, Peters JM, et al. Etomoxir-induced PPARalpha-modulated enzymes protect during acute renal failure. Am J Physiol Renal Physiol. 2000;278: F667-F675.

243. Poulaki V, Qin W, Joussen AM, et al. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1alpha and VEGF. J Clin Invest. 2002;109:805-815.

244. Rangasamy S., McGuire P.G., Franco Nitta C., Monickaraj F., Oruganti S.R., Das A. Chemokine mediated monocyte trafficking into the retina: Role of inflammation in alteration of the blood-retinal barrier in diabetic retinopathy. PLoS ONE. 2014;9:e108508. doi: 10.1371/journal.pone.0108508.

245. Rangasamy S., Srinivasan R., Maestas J., McGuire P.G., Das A. A potential role for angiopoietin 2 in the regulation of the blood-retinal barrier in diabetic retinopathy. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011;52:3784–3791. doi: 10.1167/iovs.10-6386.

246. Rask Madsen C, King GL. Mechanisms of Disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2007; 3: 46–56

247. Reddy MA, Zhang E, Natarajan R. Epigenetic mechanisms in diabetic complications and metabolic memory. Diabetologia. 2015;58:443–455.

248. Regula JT, Lundh von Leithner P, Foxton R, Barathi VA, Cheung CM, Bo Tun SB, Wey YS, Iwata D, Dostalek M, Moelleken J, Stubenrauch KG, Nogoceke E, WiДМHr G, Strassburger P, Koss MJ, Klein C, Shima DT, Hartmann G. Targeting key angiogenic pathways with a bispecific CAΦKsMAb optimized for neovascular eye diseases. EMBO Mol Med. 2016;8:1265–1288.

249. Robison WG Jr, Nagata M, Tillis TN, Laver N, Kinoshita JH. Aldose reductase and pericyte endothelial cell contacts in retina and optic nerve. Invest Ophthalmol Vis Sci 1989; 30: 2293–2299

250. Romeo G., Liu W.H., Asnaghi V., Kern T.S., Lorenzi M. Activation of nuclear factor-kappaB induced by diabetes and high glucose regulates a proapoptotic program in retinal pericytes. Diabetes. 2002;51:2241–2248. doi: 10.2337/diabetes.51.7.2241.

251. Roos MD, Su K, Baker JR, Kudlow JE. O glycosylation of an Sp1 derived peptide blocks known Sp1 protein interactions. Mol Cell Biol 1997; 17: 6472–6480

252. AΦKca MG, Mustata TG, Kinter MT, et al. Glycation of mitochondrial proteins from diabetic rat kidney is associated with excess superoxide formation. Am J Physiol Renal Physiol 2005; 289: F420–F430

253. Rousseau S., Houle F., Landry J., Huot J. p38 MAP kinase activation by vascular endothelial growth factor mediates actin reorganization and cell migration in human endothelial cells. Oncogene. 1997;15:2169–2177. doi: 10.1038/sj.onc.1201380.

254. Rubsam A, Parikh S, Fort PE. Role of inflammation in diabetic retinopathy. Int J Mol Sci. 2018;19:E942.

255. Ruiz C, Alegria A, Barbera R, Farre R, Lagarda MJ. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with type 1 diabetes mellitus. Scand J Clin Lab Invest 1999; 59: 99–105

256. Safran M, Kaelin WG Jr. HIF hydroxylation and the mammalian oxygen-sensing pathway. J Clin Invest. 2003; 779-783.

257. Saharinen P, Eklund L, Alitalo K. Therapeutic targeting of the angiopoietin-TIE pathway. Nat Rev Drug Discov. 2017;16:635–661.

258. Saint-Geniez M, Kurihara T, Sekiyama E, Maldonado AE, D'Amore PA. An essential role for RPE-derived soluble VEGF in the maintenance of the choriocapillaris. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009;106:18751–18756.

259. Saint-Geniez M, Maharaj AS, Walshe TE, Tucker BA, Sekiyama E, Kurihara T, Darland DC, Young MJ, D'Amore PA. Endogenous VEGF is required for visual function: evidence for a survival role on muller cells and photoreceptors. PLoS One. 2008;3:e3554.

260. Saishin Y, Saishin Y, Takahashi K, et al. VEGF- TRAP(R1R2) suppresses choroidal neovascularization and VEGF-induced breakdown of the blood-retinal barrier. J CellPhysiol. 2003;195:241-248.

261. Sakaguchi T, Yan SF, Yan SD, et al. Central role of RAGE dependent neointimal expansion in arterial restenosis. J Clin Invest 2003; 111: 959–972

262. Santos AR, Ribeiro L, Bandello F, Lattanzio R, Egan C, Frydkjaer-Olsen U, Garcia-Arumi J, Gibson J, Grauslund J, Harding SP, Lang GE, Massin P, Midena E, Scanlon P, Aldington SJ, Simao S, Schwartz C, Ponsati B, Porta M, Costa MA, Hernandez C, Cunha-Vaz J, Simo R European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR) Functional and structural findings of neurodegeneration in

early stages of diabetic retinopathy: cAΦKs-sectional analyses of baseline data of the EUROCONDOR project. Diabetes. 2017;66:2503–2510.

263. Sasaki M., Ozawa Y., Kurihara T., Kubota S., Yuki K., Noda K., Kobayashi S., Ishida S., Tsubota K. Neurodegenerative influence of oxidative stress in the retina of a murine model of diabetes. Diabetologia. 2010;53:971–979. doi: 10.1007/s00125-009-1655-6.

264. Schmetterer L, Salomon A, Rheinberger A, et al. Fundus pulsation measurements in diabetic retinopathy. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. 1997;235:283-287.

265. Schmidt AM, Hori O, Chen JX, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM 1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. J Clin Invest 1995; 96: 1395–1403

266. Schmidt AM, Stern DM. RAGE: a new target for the prevention and treatment of the vascular and inflammatory complications of diabetes. Trends Endocrinol Metab 2000; 11: 368–375

267. Schoefl GI. Studies on inflammation. III. Growing capillaries: their structure and permeability. Virchows Arch Pathol Anat. 1963;337:97-141.

268. Schroder S., Palinski W., Schmid-Schonbein G.W. Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. Am. J. Pathol. 1991;139:81–100.

269. Schroedl C, McClintock DS, Budinger GR, Chandel NS. Hypoxic but not anoxic stabilization of HIF- 1alpha requires mitochondrial reactive oxygen species. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2002;283: L922-L931.

270. Scott JA, King GL. Oxidative stress and antioxidant treatment in diabetes. Ann N Y Acad Sci 2004; 1031: 204–213

271. Selvam S, Kumar T, Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. Prog Retin Eye Res. 2018;63:1–19.

272. Semenza G. Signal transduction to hypoxia-inducible factor 1. Biochem Pharmacol. 2002;64:993-998.

273. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. Science. 1983;219:983–985.

274. Sheetz MJ, King GL. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. JAMA 2002; 288: 2579–2588

275. Shen J, Frye M, Lee BL, Reinardy JL, McClung JM, Ding K, Kojima M, Xia H, Seidel C, Lima e Silva R, Dong A, Hackett SF, Wang J, Howard BW, Vestweber D, Kontos CD, Peters KG, Campochiaro PA. Targeting VE-PTP activates TIE2 and stabilizes the ocular vasculature. J Clin Invest. 2014;124:4564–4576.

276. Sher Zaman Safi, Rajes Qvist, Selva Kumar, Kalaivani Batumalaie, Ikram Shah Bin Ismail. Molecular Mechanisms of Diabetic Retinopathy, General Preventive Strategies, and Novel Therapeutic Targets. Biomed Res Int. 2014; 2014: 801269. Published online 2014 Jul 6. doi: 10.1155/2014/801269. PMCID: PMC4106080. PMID: 25105142

277. Shiba T, Inoguchi T, Sportsman JR, Heath WF, Bursell S, King GL. Correlation of diacylglycerol level and protein kinase C activity in rat retina to retinal circulation. Am J Physiol 1993; 265(5 Pt 1): E783–E793

278. Shu DY, Lovicu FJ. Myofibroblast transdifferentiation: the dark force in ocular wound healing and fibAΦKis. Prog Retin Eye Res. 2017;60:44–65.

279. Simo R, Carrasco E, Garcia-Ramirez M, Hernandez C. Angiogenic and antiangiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy. Curr Diabetes Rev. 2006;2: 71-98

280. Simo R, Hernandez C European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR) Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. Trends Endocrinol Metab. 2014;25:23–33.

281. Simo R, Hernandez C. Intravitreous anti VEGF for diabetic retinopathy: hopes and fears for a new therapeutic strategy. Diabetologia 2008; 51: 1574–1580

282. Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. Nat Rev Mol Cell Biol. 2016;17:611–625.

283. Sinclair SH. Macular retinal capillary hemodynamics in diabetic patients. Ophthalmology. 1991;98:1580-1586.

284. Smith LE, Wesolowski E, McLellan A, Kostyk SK, D'Amato R, Sullivan R, D'Amore PA. Oxygen-induced retinopathy in the mouse. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1994;35:101–111.

285. Smith RT, Lee CM, Charles HC, et al. Quantification of diabetic macular edema. Arch Ophthalmol. 1987;105: 218-222.

286. Sohn E.H., van Dijk H.W., Jiao C., Kok P.H., Jeong W., Demirkaya N., Garmager A., Wit F., Kucukevcilioglu M., van Velthoven M.E., et al. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2016;113:E2655–E2664. doi: 10.1073/pnas.1522014113.

287. Solomon SD, Chew E, Duh EJ, Sobrin L, Sun JK, VanderBeek BL, Wykoff CC, Gardner TW. Diabetic retinopathy: a position statement by the American Diabetes Association. Diabetes Care. 2017;40:412–418.

288. Sorbinil Retinopathy Trial Research Group . A randomized trial of sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol 1990; 108: 1234–1244

289. Sorrentino F.S., Allkabes M., Salsini G., Bonifazzi C., Perri P. The importance of glial cells in the homeostasis of the retinal

microenvironment and their pivotal role in the course of diabetic retinopathy. Life Sci. 2016;162:54–59. doi: 10.1016/j.lfs.2016.08.001.

290. Soulis-Liparota T, Cooper M, Papazoglou D, et al. Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion, and tissue fluorescence in streptozocin-induced diabetic rat. Diabetes. 1991;40: 1328-1334.

291. Spanel-Borowski K, Mayerhofer A. Formation and regression of capillary sprouts in corpora lutea of immature superstimulated golden hamsters. Acta Anat (Basel). 1987;128:227-235.

292. Stasek JE Jr., Patterson CE, Garcia JG. Protein kinase C phosphorylates caldesmon77 and vimentin and enhances albumin permeability acAΦKs cultured bovine pulmonary artery endothelial cell monolayers. J Cell Physiol. 1992;153:62-75.

293. Steinberg SF. Structural basis of protein kinase C isoform function. Physiol Rev 2008; 88: 1341–1378

294. Stevenson BR, Keon BH. The tight junction: morphology to molecules. Annu Rev Cell Dev Biol. 1998;14:89-109.

295. Stitt AW, Li YM, Gardiner TA, et al. Advanced glycation end products (AGEs) co-localize with AGE receptors in the retinal vasculature of diabetic and of AGE- infused rats. Am J Pathol. 1997;150:523-528.

296. Studer RK, Craven PA, DeRubertis FR. Role for protein kinase C in the mediation of increased fibronectin accumulation by mesangial cells grown in high glucose medium. Diabetes 1993; 42: 118–126

297. Suzuki D, Miyata T, Saotome N, et al. Immunohistochemical evidence for an increased oxidative stress and carbonyl modification of proteins in diabetic glomerular lesions. J Am Soc Nephrol 1999; 10: 822–832

298. Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, et al. Inflammation and angiotensin II. Int J Biochem Cell Biol. 2003; 35:881-900.

299. Suzuki Y., Nakazawa M., Suzuki K., Yamazaki H., Miyagawa Y. Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in

diabetic retinopathy and central retinal vein occlusion. Jpn. J. Ophthalmol. 2011;55:256–263. doi: 10.1007/s10384-011-0004-8.

300. Suzuma K, Naruse K, Suzuma I, et al. Vascular endothelial growth factor induces expression of connective tissue growth factor via KDR, Flt1, and phosphatidylinositol 3 kinase akt dependent pathways in retinal vascular cells. J Biol Chem 2000; 275: 40725–40731

301. Suzuma K, Takahara N, Suzuma I, et al. Characterization of protein kinase C beta isoform's action on retinoblastoma protein phosphorylation, vascular endothelial growth factor induced endothelial cell proliferation, and retinal neovascularization. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 721–726

302. Tamura K, Nyui N, Tamura N, et al. Mechanism of angiotensin II-mediated regulation of fibronectin gene in rat vascular smooth muscle cells. J Biol Chem. 1998; 273:26487-26496.

303. Tanaka S, Avigad G, Brodsky B, Eikenberry EF. Glycation induces expansion of the molecular packing of collagen. J Mol Biol 1988; 203: 495–505

304. Tanji N, Markowitz GS, Fu C, et al. Expression of advanced glycation end products and their cellular receptor RAGE in diabetic nephropathy and nondiabetic renal disease. J Am Soc Nephrol 2000; 11: 1656–1666

305. Tesfamariam B. Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. Free Radic Biol Med 1994; 16: 383–391

306. Thornalley PJ. The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life. Biochem J. 1990;269: 1-11.

307. Tien T., Zhang J., Muto T., Kim D., Sarthy V.P., Roy S. High glucose induces mitochondrial dysfunction in retinal muller cells: Implications for diabetic retinopathy. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2017;58:2915–2921. doi: 10.1167/iovs.16-21355.

308. Tobe T, Ortega S, Luna JD, et al. Targeted disruption of the FGF2 gene does not prevent choroidal neovascularization in a murine model. Am J Path. 1998; 153:1641-1646.

309. Tolentino MJ, Miller JW, Gragoudas ES, Jakobiec FA, Flynn E, Chatzistefanou K, Ferrara N, Adamis AP. Intravitreous injections of vascular endothelial growth factor produce retinal ischemia and microangiopathy in an adult primate. Ophthalmology. 1996;103:1820–1828.

310. Tso MO. Pathological study of cystoid macular oedema. Trans OSUK. 1980;100:408-413.

311. Tso MO. Pathology of cystoid macular edema. Ophthalmology. 1982;89:902-915.

312. Tuttle KR. Protein kinase C beta inhibition for diabetic kidney disease. Diabetes Res Clin Pract 2008; 82(Suppl 1): S70–S74

313. Uemura A, Kusuhara S, Katsuta H, Nishikawa S. Angiogenesis in the mouse retina: a model system for experimental manipulation. Exp Cell Res. 2006;312:676–683.

314. Uemura A, Kusuhara S, Wiegand SJ, Yu RT, Nishikawa S. Tlx acts as a proangiogenic switch by regulating extracellular assembly of fibronectin matrices in retinal astrocytes. J Clin Invest. 2006;116:369–377.

315. Uemura A, Ogawa M, Hirashima M, Fujiwara T, Koyama S, Takagi H, Honda Y, Wiegand SJ, Yancopoulos GD, Nishikawa S. Recombinant angiopoietin-1 restores higher-order architecture of growing blood vessels in mice in the absence of mural cells. J Clin Invest. 2002;110:1619–1628.

316. Uemura A. Pharmacologic management of diabetic retinopathy. J Biochem. 2018;163:3–9.

317. Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, et al. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88: 4673–4676

318. Van Dijk H.W., Kok P.H., Garvin M., Sonka M., Devries J.H., Michels R.P., van Velthoven M.E., Schlingemann R.O., Verbraak F.D., Abramoff M.D. Selective loss of inner retinal layer thickness in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2009;50:3404–3409. doi: 10.1167/iovs.08-3143.

319. Vicent D, Ilany J, Kondo T, et al. The role of endothelial insulin signaling in the regulation of vascular tone and insulin resistance. J Clin Invest 2003; 111: 1373–1380

320. Vinores SA, Van Niel E, Swerrdloff IL, et al. Electron micAΦKcopic immunocytochemical evidence for the mechanism of blood-retinal barrier breakdown in galactosemic rats and its association with aldose reductase expression and inhibition. Exp Eye Res. 1993; 57:723-735.

321. Vlassara H, Li YM, Imani F, et al. Identification of galectin 3 as a high affinity binding protein for advanced glycation end products (AGE): a new member of the AGE receptor complex. Mol Med 1995; 1: 634–646

322. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxiainducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension. Proc Natl Acad Sci. 1995;92:5510-5514.

323. Wang W, Dentler WL, Borchardt RT. VEGF increases BMED monolayer permeability by affecting occludin expression and tight junction assembly. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2001;280:H434-H440.

324. Watanabe D, Suzuma K, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Kurimoto M, Murakami T, Kimura T, Takagi H. Vitreous levels of angiopoietin 2 and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol. 2005;139:476–481.

325. Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. Am J Physiol Endocrinol Metab 2001; 280: E685–E694

326. Way KJ, Isshiki K, Suzuma K, et al. Expression of connective tissue growth factor is increased in injured myocardium associated with protein kinase C beta2 activation and diabetes. Diabetes 2002; 51: 2709–2718

327. Wei Wang. Diabetic Retinopathy Pathophysiology and Treatments. Int. J. Mol. Sci. 2018 Jun; 19(6): 1816. Published online 2018 Jun 20. doi: 10.3390/ijms19061816. PMCID: PMC6032159. PMID: 29925789

328. Weigert C, Brodbeck K, Sawadogo M, Haring HU, Schleicher ED. Upstream stimulatory factor (USF) proteins induce human TGF beta1 gene activation via the glucose response element 1013/ 1002 in mesangial cells: up regulation of USF activity by the hexosamine biosynthetic pathway. J Biol Chem 2004; 279: 15908–15915

329. Weinberger D, Fink-Cohen S, Gaton DD, et al. Non-retinovascular leakage in diabetic maculopathy. Br J Ophthalmol. 1995;79:728-731.

330. Weiner CM, Booth G, Semenza GL. In vivo expression of mRNAs encoding hypoxia-inducible factor 1. Bio- chem Biophys Res Commun. 1996;225:485-488.

331. Wells-Knecht KJ, Zyzak DV, Litchfield JE, et al. Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxi- dative modification of proteins by glucose. Biochemistry. 1995;34:3702-3709.

332. Wendt TM, Tanji N, Guo J, et al. RAGE drives the development of glomeruloscleAΦKis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. Am J Pathol 2003; 162: 1123–1137

333. Wilkinson-Berka J. Angiotensin and diabetic retinopathy. Int J Biochem Cell Biol. 2006;38:752-765.

334. Will JC, Ford ES, Bowman BA. Serum vitamin C concentrations and diabetes: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. Am J Clin Nutr 1999; 70: 49–52

335. Williams B, Gallacher B, Patel H, Orme C. Glucose- induced protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. Diabetes. 1997;46:1497-1503.

336. Williamson JR, Chang K, Frangos M, et al. Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. Diabetes. 1993;42:801-813.

337. Wong TY, Sun J, Kawasaki R, Ruamviboonsuk P, Gupta N, Lansingh VC, Maia M, Mathenge W, Moreker S, Muqit MMK, Resnikoff S, Verdaguer J, Zhao P, Ferris F, Aiello LP, Taylor HR. Guidelines on diabetic eye care: the International Council of Ophthalmology Recommendations for screening, follow-up, referral, and treatment based on resource settings. Ophthalmology. 2018;125:1608–1622.

338. Wu HM, Huang Q, Yuan Y, Granger HJ. VEGF induces NO-dependent hyperpermeability in coronary venules. Am J Physiol. 1996;271:H2735-H2739.

339. Wykoff CC. Impact of intravitreal pharmacotherapies including antivascular endothelial growth factor and corticosteroid agents on diabetic retinopathy. Curr Opin Ophthalmol. 2017;28:213–218.

340. Xia P, Aiello LP, Ishii H, et al. Characterization of vascular endothelial growth factor's effect on the activation of protein kinase C, its isoforms, and endothelial cell growth. J Clin Invest. 1996;98:2018-2026.

341. Xu J, Zou MH. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction. Circulation 2009; 120: 1266–1286

342. Xu Y, Osborne BW, Stanton RC. Diabetes causes inhibition of glucose 6 phosphate dehydrogenase via activation of PKA, which contributes to oxidative stress in rat kidney cortex. Am J Physiol 2005; 289: F1040–F1047

343. Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL, Brownlee M. Hyperglycemia potentiates collagen-induced platelet activation through mitochondrial superoxide overproduction. Diabetes. 2001;50:1491-1494.

344. Yamamoto Y, Kato I, Doi T, et al. Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE overexpressing mice. J Clin Invest 2001; 108: 261–268

345. Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, et al. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. J Biol Chem 1994; 269: 9889–9897

346. Yang X, Su K, Roos MD, Chang Q, Paterson AJ, Kudlow JE. O linkage of N acetylglucosamine to Sp1 activation domain inhibits its transcriptional capability. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98: 6611–6616

347. Yao D, Taguchi T, Matsumura T, Pestell R, Edelstein D, Giardino I, Suske G, Rabbani N, Thornalley PJ, Sarthy VP, Hammes HP, Brownlee M. High glucose increases angiopoietin-2 transcription in

microvascular endothelial cells through methylglyoxal modification of mSin3A. J Biol Chem. 2007;282:31038–31045.

348. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, Chen SJ, Dekker JM, Fletcher A, Grauslund J, Haffner S, Hamman RF, Ikram MK, Kayama T, Klein BE, Klein R, Krishnaiah S, Mayurasakorn K, O'Hare JP, Orchard TJ, Porta M, Rema M, Roy MS, Sharma T, Shaw J, Taylor H, Tielsch JM, Varma R, Wang JJ, Wang N, West S, Xu L, Yasuda M, Zhang X, Mitchell P, Wong TY Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. Diabetes Care. 2012;35:556–564.

349. Yerneni KK, Bai W, Khan BV, et al. Hyperglycemia- induced activation of nuclear transcription factor kap- paB in vascular smooth muscle cells. Diabetes. 1999;48: 855-864.

350. Yokota T, Ma RC, Park JY, et al. Role of protein kinase C on the expression of platelet derived growth factor and endothelin 1 in the retina of diabetic rats and cultured retinal capillary pericytes. Diabetes 2003; 52: 838–845

351. Yue DK, Hanwell MA, Satchell PM, Turtle JR. The effect of aldose reductase inhibition on motor nerve conduction velocity in diabetic rats. Diabetes 1982; 31: 789–794

352. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high risk patients. The Heart

Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. N Engl J Med 2000; 342: 154–160

353. Yuuki T., Kanda T., Kimura Y., Kotajima N., Tamura J., Kobayashi I., Kishi S. Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. J. Diabetes Its Complicat. 2001;15:257–259. doi: 10.1016/S1056-8727(01)00155-6.

354. Zachary I, Gliki G. Signaling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. Cardiovasc Res. 2001;49:568-581.

355. Zhang J-Z. Captopril inhibits capillary degeneration the early stages of diabetic retinopathy. Curr Eye Res. 2007;32:883-889.

356. Zhang SX, Wang JJ, Gao G, et al. Pigment epithelium- derived factor downregulates vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and inhibits VEGF- VEGF receptor 2 binding in diabetic retinopathy. J Mol Endocrinol. 2006;37:1-12.

357. Zhang Z, Apse K, Pang J, Stanton RC. High glucose inhibits glucose 6 phosphate dehydrogenase via cAMP in aortic endothelial cells. J Biol Chem 2000; 275: 40042–40047

358. Zhou Z, Wang K, Penn MS, et al. Receptor for AGE (RAGE) mediates neointimal formation in response to arterial injury. Circulation 2003; 107: 2238–2243