

Diabetik Maküler Ödem Patofizyolojisi

Pathophysiology of Diabetic Macular Edema



YARD. DOÇ. DR. GÜNHAL ŞATIRTAV

Dr. Şatırtav, 1977 yılında İstanbul'da doğmuştur. İlköğrenimini Rauf Orbay İlkokulu-Ankara, ortaöğrenimini Mad River Middle School / Ohio / ABD'de tamamlamış, 1991-1994 yılları arasında Ankara Atatürk Anadolu Lisesi'nden sonra 1994 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İngilizce bölümüne başlamış ve 2000 yılında mezun olmuştur. 2001-2005 yılları arasında aynı fakültede Göz Hastalıkları ihtisasını tamamlamıştır. Sırasıyla; Özel Kudret Göz Hastanesi / Ankara (2005-2010), Özel Maya Göz Hastalıkları Merkezi / Ankara (2010-2012) çalışmış, 2011 yılında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Yardımcı Doçent olarak çalışmaya başlamış olu, halen görevine devam etmektedir.

Dr. Şatırtav'ın 18 adet uluslararası, 5 adet ulusal yayını, kongrelerde sunulmuş 15'i uluslararası olmak üzere 32 adet bildirisi bulunmaktadır.

Correspondence: M.D. Assistant Professor, Gunhan SATIRTAV
Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine, Department of
Ophthalmology, Konya / TURKEY

Phone: +90 532 788 50 68

E-mail: gunhal@gmail.com

ÖZ

Diabetik maküler ödem (DMÖ), diabetes mellituslu hastalarda görme kaybının önemli bir sebebidir. DMÖ patofizyolojisi, hipergliseminin neden olduğu vasküler olaylara ve sonrasında ödemin kronikleşmesine neden olabilecek doku hasarına yol açan birbiriyle keşif ve ilişkili yollar ile açıklanabilir. Makrosellüler olarak, DMÖ'nün kısmen hidrostatik ve onkotik basınçtaki değişimler ve dengesizliklerden ve yüzey geriliminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Anjiyojenik faktör ekspresyonu, inflamasyon ve oksidatif stres mikrovasküler yolların ana etmenlerini oluşturur. Farklı moleküller arasındaki etkileşimler, sinyaller ve geri bildirim mekanizmaları çok karmaşıktır ve halen tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Hiperglisemi ve hipoksi nedeniyle stimüle edilmiş olan bu moleküler mediatörler, makrosellüler faktörlerle birlikte endotel hasarına, geçirgenliğin artmasına ve lökostaza neden olmaktadır. Bunların sonucunda da makülada ödem geliştiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, maküler ödem, patofizyoloji, vasküler endotelial büyüme faktörü, inflamasyon.

ABSTRACT

Diabetic macular edema (DME) is an important cause of vision loss in patients with diabetes mellitus. The pathophysiology of DME can be described as a process whereby hyperglycaemia leads to overlapping and inter-related pathways that play a role not only in the initial vascular events, but also in the events that cause the edema to become chronic. On a macrocellular level, DME is believed to be in part caused by alterations in hydrostatic and oncotic pressures and shear stress. Angiogenic factor expression, inflammation and oxidative stress constitute the key components of microvascular pathways. The interactions, signaling events and feedback loops between the various molecules are complicated and are not completely understood. These molecular mediators, acting in conjunction with macrocellular factors, which are all stimulated in part by the hyperglycaemia and hypoxia, can have a direct endothelial effect leading to hyperpermeability, disruption of vascular endothelial cell junctions, and leukostasis. Macular edema is thought to be caused as a result of these consequences.

Key Words: Diabetes mellitus, macular edema, pathophysiology, vascular endothelial growth factor, inflammation.

GİRİŞ

Diabetes mellitusta (DM) görme azalmasının en sık nedeni diabetik maküler ödemdir (DMÖ).^{1,2} Maküler ödem, diabetik retinopatinin herhangi bir evresinde gelişebilir fakat diabetin süresi uzadıkça ve diabetik retinopatinin evresi ilerledikçe görülme sıklığı artar.³ Popülasyon tabanlı bir çalışma olan Diabetik Retinopatinin Wisconsin Epidemiyolojik Çalışması'nda (Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy) hipergliseminin diabetik maküler ödem gelişmesindeki rolü üzerinde durulmuştur. Bu çalışmada 10 yıl içinde DMÖ gelişme riski tip I diabetik hastalarda %20.1, insuline bağımlı olmayan tip 2 diabetiklerde %13.9, insuline bağımlı tip 2 diabetiklerde %25.4 olarak rapor edilmiştir.⁴ Maküler ödem sınıflandırılması, farklı görüntüleme yöntemlerinin geliştirilmesi ile zaman içinde değişikliğe uğramıştır. Erken Tedavi Diabetik Retinopati Çalışmasında (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study- ETDRS), maküla merkezine bir disk çapı uzaklıkta bulunan retinal kalınlaşma veya sert eksuda bulunması durumunda maküler ödem klinik olarak önemli kabul edilirken, Global Diabetik Retinopati Projesi'nde, maküla merkezinin tutulumunun derecesine bağlı olarak hafif, orta ve şiddetli DMÖ kavramları tanımlanmıştır.^{5,6} DM hastalarında gelişen DMÖ, kalıcı görme kaybına neden olabileceğinden, patofizyolojisinin anlaşılması, bu komplikasyonun engellenmesi ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır. Bu derlemede DMÖ oluşumu ve ilerlemesine neden olan faktörler ve diabetin neden olduğu makro ve mikrovasküler değişiklikler tanımlanacaktır.

GENEL BİLGİLER

Neden Maküla?

Diabette genel olarak mikrovasküler bir hasar söz konusudur ve tüm retinada damarlarda sızıntı görülür. Fakat retinada özellikle makülanın, ödem gelişimine neden olan predispozan histolojik ve metabolik özellikleri vardır;

- Yüksek hücre yoğunluğu,
- Yüksek metabolik aktivite,
- Henle liflerinin foveadan periferde yatay uzanması,
- Dış pleksiform tabakadaki hücreler arası bağların zayıf olması ve ekstrasvasküler sıvı için rezervuar görevi görmesi,
- Santral avasküler zonun bulunması nedeniyle sıvı emiliminin az olması.

Normal Retinal Dolaşım ve Kan Retina Bariyeri

Retina tüm vücuttaki dokuların arasında en yüksek oksijen ihtiyacı olan dokudur ve iki farklı dolaşım ile beslenir. Retinanın iç 2/3' ü retinal damarlarla, dış 1/3'ü koroidal dolaşım ile beslenir. İç kan retina bariyeri retina dolaşımın çeperinde bulunan endotel, bunu çevreleyen perisit ve astrositlerden oluşur. Dış kan retina bariyeri retina pigment epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlar ile oluşturulur. Retinal dolaşımda arterler, prekapiller arteriollere ayrılır. Bu seviyeye kadar damar çepherini düz kas hücreleri çevreler ve otonomik sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Fakat kapiller dolaşım seviyesinde düz kasların yerini perisitler alır ve bu kademedeki akım hızı otoregülasyon ile değişir. Normal şartlarda kapiller damarlar ve venüller retinaya sıvı geçişinin primer yeridir. Bölgesel metabolik ihtiyaca ve ortamdaki oksijen ve karbon dioksit parsiyel basınçlarına göre kapiller dolaşım azalabilir. Diabetin erken dönemlerinde iç kan retina bariyerinde hasar başlar. Bu da kapiller ve venüllerden olan ekstraselüller alana sıvı geçişinin artmasıyla makülada sıvının birikimine neden olur.

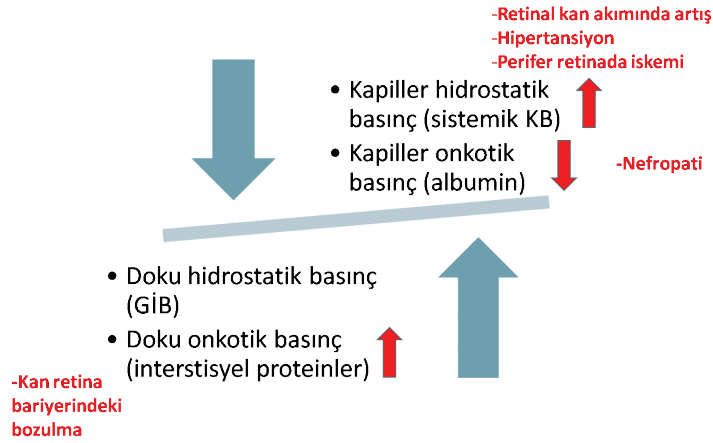
PATOFİZYOLOJİ

Diabetin maküler ödem oluşumundaki rolü ve bunu başlatan faktörler için birçok patofizyolojik mekanizma öne sürülmüştür. Fakat yüksek kan glukoz seviyesinin kan retina bariyerinde yaptığı hasarın kesin mekanizması halen tam olarak ortaya konmuş değildir. Anjiyojenik, inflamatuvar faktörler ve oksidatif stresi içeren birkaç yolağın birlikte rol aldığı düşünülmektedir.

Diabetin Makrovasküler Etkileri

Retina dahil olmak üzere tüm dokularda kapiller yatakta damar içine ve damar dışına hareket, damar içindeki ve ekstraselüller alandaki hidrostatik ve onkotik basınçlara bağımlıdır. Starling yasasına göre onkotik ve hidrostatik basınçlar farkı eşit olduğunda denge sağlanır. Retina söz konusu olduğunda, kapiller hidrostatik basınç pratikte sistemik kan basıncı ile, onkotik basınç da kan proteinlerinin yoğunluğunu oluşturan serum albumin miktarı ile ilişkilidir.

Doku hidrostatik basıncı göz içi basıncına eşittir ve doku onkotik basıncı interstisyel protein içeriğine bağımlıdır. Diabette bu dengeyi birkaç faktör bozar.



Sistemik hipertansiyon nedeniyle transluminal hidrostatik basınç artışı ve kan retina bariyerinin bozulmasından dolayı doku onkotik basıncın artması sonucu retinada ödem gelişir. Buna ilaveten hastanın yine diabete bağlı nefropatisi varsa, serum albumin seviyesinde azalma da serum onkotik basıncını düşürerek ödem gelişimine katkıda bulunur⁷ (Grafik). Plazma glukoz seviyesinde artış olmasının oküler kan akımını artırdığını gösteren hayvan modelleri bulunmaktadır. İnsanlarda yapılan çalışmalarda da plazma glukoz seviyesindeki akut yükselmelerin oküler kan akımını artırdığı gösterilmiştir. Artmış trombosit agregasyonu, azalmış eritrosit deformabilitesi, bu artmış oküler akım ile birleştiğinde damar çeperinde ve endotel hücrelerinde yüzey gerilimini artırmaktadır. Buna bağlı vazoaaktif ve inflamatuvar faktörlerin salınması patolojiye moleküler düzeyde katkıda bulunmaktadır.^{8,9}

Diabetin Mikrovasküler Etkileri

Diabetik retinopatinin en erken ve en özellikli bulgusu perisit kaybıdır. Cogan ve arkadaşları tripsin boyanma metodu ile retina damarlanmasında histolojik olarak perisit hücrelerinin kapiller kenarda içi boş olarak görünen hayalet hücreler olduğunu göstermişlerdir.¹⁰ Perisitler kontraktıl özelliği olan hücrelerdir. Perisitlerin kaybı venöz boncuklanmaya ve kan retina bariyerinin bozulmasına neden olur. Perisit kaybı histolojik olarak gösterilebilen ilk bulgu olmasına rağmen, klinik olarak diabetik retinopatinin muayenede ve fundus florescein anjiyografide ilk görülebilen bulgusu mikroanevrizmalardır.

Perisitler endotel hücreleri üzerinde antiproliferatif bir etki gösterirler ve bunların kaybı hipersellüler mikroanevrizma oluşumuna neden olur. Burada endotel ve perisitlerin apoptozunun da asellüler mikroanevrizmaların oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca perisit kaybı kapiller duvarda destek ve tonusun kaybına neden olduğu için zayıf olan noktalardan genişleme görülür ve bu da fokal dilatasyonlara neden olarak mikroanevrizmaların oluşumuna katkıda bulunur.¹¹ Diabetik retinopatinin diğer bir bulgusu kapiller bazal membranda kalınlaşma olması ve hücre dışı matriks elemanlarının birikiminin olmasıdır. Bu değişikliklerin olması anormal otoregülasyon da dahil olmak üzere retinal hemodinamik dengelerin bozulmasına katkıda bulunuyor gözükmektedir. Normal sağlıklı koşullarda endotel hücreleri arasında sıkı bağlar yer alırlar ve intravasküler içerik için bariyer görevi görürler. Bu bağlar birçok intersellüler protein ihtiva ederler. Okludin, klaudin ve zonula okludens-1 (ZO-1) proteinleri bariyer fonksiyonunun çoğundan sorumludur. Diabette bu proteinlerin sentezi etkilenir ve bu da hücrelerarası bağların zayıflamasına neden olur. Diabette mikrovasküler dolaşıma olan bu etkisi sonucunda iç ve dış kan retina bariyerinde bozulma gelişir.

Diabetin Biyokimyasal Etkileri

Hipergliseminin diabetik retinopatideki mikrovasküler hasar mekanizmasını açıklamak için 4 teori öne sürülmüştür. Bunlar;

- Poliyol yolu aktivasyonu (Aldoz redüktaz yolu)
- İleri glikozilasyon son ürünlerin (AGE) oluşumu
- Protein kinaz C (PKC) aktivasyonu
- Heksozamin yolu aktivasyonu

Yakın zamana kadar bu dört yolun birbirinden bağımsız olarak diabetik retinopatinin vasküler hasarına neden olduğu düşünülmekteydi. Fakat bu dört yolun mitokondride süperoksit oluşumunu artırarak etki ettiği gösterildi ve artmış süperoksit oluşumunun diabetik retinopati mekanizmasının birleşik teorisinde merkez rolü üstlendiği düşünülmektedir.¹²

Büyüme Faktörleri ve İnflamasyon

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) embriyolojik vaskülogenezi ve patolojik anjiyogenezi düzenleyen bir büyüme faktörüdür.

Retinada pek çok hücre tarafından salgılanabilir. Bunlar arasında Müller hücreleri ve RPE hücrelerinin retinadaki VEGF düzeyinden sorumlu ana kaynaklar olduğu düşünülmektedir. Normal insan retinasında VEGF bu hücreler tarafından çok düşük seviyede salgılanır ve oküler sıvılardaki VEGF düzeyleri ölçülemeyecek derecede azdır. Endotel hücresi ise ana hedef hücredir. Bunu da endotel hücre migrasyonu, proliferasyonu ve sağ kalımını sağlayarak gerçekleştirir.

VEGF ailesinin içinde oküler anjiyogenez ve vasküler geçirgenlik üzerine en kritik etkiye VEGF-A'nın sahip olduğu gösterilmiştir. VEGF-A'nın 9 farklı isoformundan oküler hastalıklarda en büyük rolü VEGF-A165 üstlenir. VEGF'nin 2 farklı tirozin kinaz özelliği olan reseptörü bulunmaktadır. VEGFR'nin anjiyogenez sinyalini ileten ana VEGF reseptörü olduğuna inanılmaktadır.^{12,13}

VEGF'nin, DMÖ oluşumuna katkı yapmasını sağlayan özellikleri, anjiyogenezin uyarılması sonucu neovaskülarizasyon gelişmesi ve sıkı bağları olmayan endotel hücre proliferasyonu ile birlikte sızdıran damarların oluşturulmasıdır.¹⁴ Bunların yanında, ICAM-1 ve VCAM-2 seviyelerinin artışına neden olarak proinflamatuvar bir etki gösterir ve lökosit kemotaksisini ve lökosit adhezyonunu uyarır.

Normal şartlarda iç kan retina bariyerinde moleküllerin ve proteinlerin geçişine kısıtlı olarak izin verilmektedir, bu da hücreler arası boşluktan ki bu da daha önce gösterildiği gibi sıkı bağlar tarafından sınırlandırılır ve hücre membranlarından transsellüler olarak gerçekleşir.

VEGF'nin ortamda bulunmasıyla iki yoldan da sıvı ve büyük moleküllerin geçişi artar. Parasellüler yol, sıkı bağlarda bulunan proteinlerin fosforilasyonu ve endotel hücrelerinde kalsiyum salınımıyla vazodilatasyon yolu ile artar. Transsellüler geçiş de vezikülo-vaküoler organellerin ve transendotelial por oluşumu ile büyük moleküllerin hücre içinde damar dışına taşınmasını sağlayarak artış gösterir.^{14,15}

Son zamanlarda tedavi hedeflerinin arasında yerini alan VEGF ailesinin son üyesi olan Plasental Büyüme Faktörü (PIGF), ilk olarak plasentadan izole edilmiştir. VEGFR1 üzerinden etki eder ve in vitro olarak retina pigment epitelyum hücreleri arası sıkı bağları bozarak permeabilitesini artırır ve maküler ödeme neden olur.¹³

Sistemik inflamatuvar faktörler	Vitreus/ aköz sıvı inflamatuvar faktörler
IL-1 β , IL-6, IL-8	IL-6, IL-8, IL-10
TNF- α	TNF- α
VEGF	VEGF
CRP	MCP-1
Selektinler	Lipopolisakkarid bağlayıcı protein
ICAM-1	CD14
VCAM-1	
MCP-1	

Dokuda hipoksi bulunması ve insülin PIGF sentezini uyarır ve bu da subretinal sıvı birikimine ve retinal ödemde artışa neden olur.¹⁶ DMÖ ve DM patogenezinde inflamasyonun rolünün olduğunu gösteren pekçok ipucu vardır. Diabette inflamasyonun klasik bulguları olan tumor, rubor, calor ve dolor özellikleri bulunmuyor olsa da düşük dereceli kronik bir inflamatuvar cevabın olduğu düşünülmektedir. Klinik olarak kortikosteroidlerin intravitreal uygulanmasından sonra diabetik maküler ödemde gerileme olduğu ve görme artışının sağlandığı birçok çalışma tarafından gösterilmiştir. Kortikosteroidlerin maküler ödemi geriletmede etkin olan rolün tam olarak mekanizması açıklanmamış olsa da DM'de inflamatuvar komponentin olduğu hipotezini desteklemektedir. Kan retina bariyerinin normal şartlarda lökositlerin geçişine izin vermediği bilinmektedir. DM'de lökositler toksik süperoksit radikalleri ve proteolitik enzimler salgılayarak hem endotel hücreleri arası bağları zayıflatırlar, hem de matriks proteinlerinin denatüre olmasına neden olurlar. Bu yolla vasküler permeabilitede artış izlenir. DM'nin erken evrelerinde olan düşük dereceli KRB bozukluğunda bile lökostataz sorumlu tutulmuştur. Ayrıca lökositler daha rigid yapıdadırlar ve endotel ile çok sıkı bağlanırlar. Rigid hale gelen eritrositler ve trombositler ile birlikte vasküler okluzyona neden olurlar. Bu da fokal retinal iskemi veya hipoksiye neden olur ki, bu da inflamatuvar cevabın artmasına ve daha fazla sayıda inflamatuvar hücre göçüne neden olarak, bir kısır döngü ile hasarı artırır.¹⁷⁻¹⁹

Tablo'da sayılan inflamatuvar faktörlerden sol kolonda yer alan inflamatuvar medyatörlerin DM'de periferik kanda arttığı, sağ kolondakilerin de vitreus ve aköz hüümörde arttığı gösterilmiştir. Tüm bu medyatörler yüksek ihtimalle diabetik retinopati'de birlikte rol almaktadır. Bu medyatörlerden özellikle maküler ödem ile ilişkisi en fazla gösterilmiş olanlar tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), İnterlökin-6 (IL-6) ve intersellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1)'dir. TNF- α proinflamatuvar bir sitokindir ve etkisinin lökostazı artırarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. VEGF ve ICAM-1 seviyeleriyle ilişkilidir ve VEGF, TNF- α düzeyini artırdığı gibi, TNF- α 'da VEGF düzeyinin artmasına neden olur.²⁰ ICAM-1 lökositlerin endotele adhezyonu için gerekli olan intrasellüler bir moleküldür. ICAM seviyelerinin VEGF ve ileri glikozilasyon ürünleri ile arttığı gösterilmiştir. Etkisini lökostaza yardımcı olarak gösterir ve maküler ödeme neden olur.²¹

IL-6 da maküler ödemle ilişkili bir sitokindir ve VEGF ekspresyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir. Vasküler permeabilitede artışa neden olarak makülada ödem oluşturur.^{22,23}

Diğer Faktörler

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ileri glikozilasyon ürünleri, reaktif oksijen ve hipergliseminin direkt etkileri ile ortamda artış gösteren bir sitokindir. Normalde ekstrasellüler matriks yapılanması, tamiri ve anjiyogenezde rol oynar. Yapısal ve hücre içi proteinlerin degradasyonu ile etki gösterir. Bu etkisi ve ayrıca okludin gibi endotelial sıkı bağlarda bulunan proteinleri etkileyerek vasküler permeabilitede artışa neden olur.²⁴

Göz dokularında karbonik anhidraz (KA) enzimin tip 1 ve tip 2 formları gösterilmiştir. Tip 1, koroid endotelinde, tip 2 ise Müller hücre ve RPE içerisinde bulunmaktadır.²⁵ Tip 1 KA'nın vasküler permeabilitede artışa neden olduğu gösterilmiştir ve bu artış VEGF'in neden olduğu permeabilite artışına eşit düzeydedir.

Maküler ödeme neden olan diğer hastalıklarda karbonik anhidraz inhibitörleri tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Kistoid maküler ödemde asetazolamidin RPE'de KA'yı inhibe ederek iyonik transportun polaritesini değiştirdiği, intraretinal sıvının böylece RPE üzerinden emildiği ve bu mekanizmayla maküler ödemde gerilemeye neden olduğu düşünülmektedir.

Fakat DMÖ hastaları karbonik anhidraz inhibitörlerine çok iyi cevap vermezler. Bunun nedeni olarak da, RPE hücrelerinin DM'ye bağlı disfonksiyonu veya ileri derecede hasar görmüş endotelden sızan sıvının RPE tarafından (fonksiyonel de olsa) emilim yetersizliğinden kaynaklandığı hipotezi öne sürülmüştür.^{26,27} Diabetik retinopatinin ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde hipertansiyonun önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Anjiyotensin-II (Ag-II) VEGF salınımı ve buna bağlı vasküler geçirgenliği artırır. Ag-II'nin perisitler üzerine olan etkisi de bilinmektedir ve perisitleri göçü, hipertrofisi ve endotel ile olan bağlarının zayıflamasına neden olduğu gösterilmiştir. Anjiyotensin konverting enzim (ACE) reseptörlerinin endotel, koroid ve perisitler üzerinde bulunduğu bilinmektedir. ACE inhibitörlerinin sistemik kan basıncının düşmesine neden olmasının yanında retinal kan akımını endotel üzerine bulunan ACE reseptörleri ile etkilediği gösterilmiştir. ACE inhibitörleri, Tip I DM'de DR oluşumunu azaltır fakat progresyonu ve Tip II DM'de DR oluşumunu etkilemez. Bu da ACE inhibitörlerinin ancak erken diabette DR oluşumunu etkilediği fakat ileri DR'de süreci etkilemediğini düşündürmüştür.^{22,28,29}

Vitreusun Rolü

Diabetik hastalarda vitreus korteksinde ileri glikozilasyon ürünlerinin birikimi sonucu kollajen liflerde çapraz bağların artmasıyla ve laminin ve fibronektin artışıyla birlikte internal limitan membran (İLM) ile yapışıklık artmaktadır. Bu nedenle vitreus jel likefiye olsa bile vitreus korteksi İLM'ye sıkı bağlı olarak kalmaktadır. Ayrıca, arka vitreus dekolmanı gelişse bile bu dekolman komplet bir dekolman olmamaktadır. Bu da fokal olarak vitreomaküler çekintilere yolaçabilir veya oluşan boşluklar hücre çoğalması için potansiyel alan olarak görev yapabilir. Yapılan çalışmalarda kortikal vitreusun vitrektomi ile uzaklaştırılmasıyla DMÖ'in gerilediği gösterilmiştir. Vitreus korteksinin makülaya oksijen geçişi için bariyer oluşturduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla vitrektominin maküler ödem üzerine olan iyileştirici etkisinin bir nedeninin de makülaya ulaşan oksijen miktarının artması olduğu düşünülmektedir. Ayrıca vitreus içine salgılanan VEGF'nin daha çok vitreus korteksinde depolandığı ve vitreus korteksinin bunun için bir rezervuar görevi gördüğü gösterilmiştir.³⁰⁻³³

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Williams R. Epidemiology of diabetic retinopathy and macular edema: a systematic review. *Eye* 2004;18:963-83.
2. Lopes de Faria JM, Jalkh AE, et al. Diabetic macular oedema: risk factors and concomitants. *Acta Ophthalmol Scand* 1999;77:170-5.
3. Ferris FL. Macular edema: a complication of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol* 1984;28:452-61.
4. Klein R. Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology* 1995;105:1801-15.
5. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study R. Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group. *Arch Ophthalmol* 1985;103:1796-806.
6. Wilkinson CP, Ferris FL, 3rd & Klein RE. Global diabetic retinopathy project group: proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003;110:1677-82.
7. Steward, MW. Pathophysiology of diabetic retinopathy. In: Browning DJ, Diabetic retinopathy: evidence based management. Springer Science and Business Media, Heidelberg, London 2010;8-11.
8. Bursell SE, Clermont AC, Kinsley BT. Retinal blood flow changes in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and no diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:886-97.
9. Grunwald JE, DuPont J & Riva CE. Retinal haemodynamics in patients with early diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol* 1996;80: 327-31.
10. Cogan KG, Kuwabara T. Comparison of retinal and cerebral vasculature in trypsin digest preparations. *Br J Ophthalmol* 1984;68:10-2.
11. Ciulla TA, Amador AG & Zinman B. Diabetic retinopathy and diabetic macular oedema: pathophysiology, screening, and novel therapies. *Diabetes Care* 2003;26:2653-64.
12. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414:813-820. Takahashi H & Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)* 2005;109:227-41.
13. Otrrock ZK, Makarem JA & Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family and ligands and receptors: review. *Blood Cells Mol Dis* 2007;38:258-68.
14. Dvorak AM & Feng D. The vesiculo-vacuolar organelle (VVO): a new endothelial cell permeability organelle. *J Histochem Cytochem* 2007;49:419-32.
15. Hofman P, Blaauwgeers HG, Tolentino MJ et al. VEGF-A induced hyperpermeability of blood-retinal barrier endothelium in vivo is predominantly associated with pinocytotic vesicular transport and not with formation of fenestrations. *Vascular endothelial growth factor-A. Curr Eye Res* 2000;21: 637-45.
16. Miyamoto N, de Kozak J, 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: 461-70.
17. Miyamoto K, Hiroshiba N, Tsujikawa A & Ogura Y. In vivo demonstration of increased leucocyte entrapment in retinal microcirculation of diabetic rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2190-4.
18. Schroder S, Palinski W & Schmid-Schonbein GW. Activated monocytes and granulocytes, capillary non-perfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 1991;139:81-100.
19. Vineros SA, Xiao WH, Shen J et al. TNF- α is critical for ischaemia-induced leukostasis, but not retinal neovascularization nor VEGF-induced leakage. *J Neuroimmunol* 2007;182:73-9.
20. Penfold PL, Wen L, Madigan MC et al. Modulation of permeability and adhesion molecule expression by human choroidal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:3125-30.
21. Meleth AD, Agroń E, Chan CC et al. Serum inflammatory markers in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46: 4295-301.
22. Funatsu H, Yamashita H, Ikeda T et al. Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular oedema. *Ophthalmology* 2003;110:1690-6.
23. Funatsu H, Yamashita H, Sakata K et al. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor and intercellular adhesion molecule 1 are related to diabetic macular oedema. *Ophthalmology* 2005;112: 806-16.
24. Giebel SJ, Menicucci G, McGuire PG et al. Matrix metalloproteinases in early diabetic retinopathy and their role in alteration of the blood-retinal barrier. *Lab Invest* 2005;85:597-607.
25. Wistrand PJ, Schenholm M & Lonnerholm G. Carbonic anhydrase isoenzymes CA I and CA II in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:419-28.
26. Gao BB, Clermont A, Rook S et al. Extracellular carbonic anhydrase mediates haemorrhagic retinal and cerebral vascular permeability through prekallikrein activation. *Nat Med* 2007;13:181-8.
27. Marmor MF. Hypothesis concerning carbonic anhydrase treatment of cystoid macular oedema: example with epiretinal membrane. *Arch Ophthalmol* 1990;108:1524-5.
28. Gilbert RE, 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: 1360-7.
29. Chaturvedi N, Porta M, Klein R, et al. DIRECT Programme Study Group Effect of candesartan on prevention (DIRECT-Prevent 1) and progression (DIRECT-Protect 1) of retinopathy in type 1 diabetes: randomised, placebo-controlled trials. *Lancet* 2008;372:1394-1402.
30. Harbour JW, Smiddy WE, Flynn HWJ, et al. Vitrectomy for diabetic macular edema associated with a thickened and taut posterior hyaloid membrane. *Am J Ophthalmol* 1996;121:405-13.
31. Tachi N, Ogino N. Vitrectomy for diffuse macular edema in cases of diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1996;8:258-60.
32. Lopes de Faria JM, Jalkh AE, et al. Diabetic macular edema: risk factors and concomitants. *Acta Ophthalmol Scand* 1999;77:170-5.
33. Nasrallah FP, Alex JE, Francis Van Coppenolle F, et al. The role of the vitreous in diabetic macular edema. *Ophthalmology* 1988;95:1335-9.