

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Οι μοριακοί και κυτταρικοί μηχανισμοί στα πρώιμα στάδια της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας

Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ) παραμένει η κύρια αιτία τύφλωσης στα άτομα με διαβήτη ηλικίας 40–70 ετών. Η παθογένεια της ΔΑ είναι ένα πραγματικό και ακόμη αναπάντητο ερώτημα. Τα πρωταρχικά στάδια εμφάνισης της νόσου περιλαμβάνουν αλλαγές στα νευρικά στρώματα του αμφιβληστροειδούς, που προηγούνται των αγγειακών αλλαγών, οι οποίες επί του παρόντος ορίζουν τη ΔΑ. Αυτό έχει προκαλέσει αυξημένο ενδιαφέρον για τη μοριακή και την κυτταρική παθογένεια του νευροεκφυλισμού που εμπλέκεται στη ΔΑ. Οι δραστικές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) έχουν αναγνωριστεί ως ένας μηχανισμός πρώιμου νευροεκφυλισμού που σχετίζεται με τη ΔΑ. Οι φωτοϋποδοχείς είναι μια γνωστή πηγή αυτών των επιβλαβών υποπροϊόντων. Ομοίως, τα αυξημένα επίπεδα των ανώριμων νευροτροφικών παραγόντων έχουν επίσης εμπλακεί στο μονοπάτι της βιωσιμότητας των νευρώνων. Επίσης, τα αποπτωτικά μονοπάτια των νευρώνων και των νευρογλοιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς στο πλαίσιο της ΔΑ είναι ιδιαίτερα σημαντικά. Η αποσαφήνιση των εμπλεκόμενων κασπασών και των μοριακών μονοπατιών στα οποία εμπλέκεται κάθε κυτταρικός τύπος προσφέρει τη δυνατότητα πιθανών θεραπευτικών παρεμβάσεων. Σε κυτταρικό επίπεδο, μελέτες έχουν δείξει ότι η καταστροφή των γλοιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς συμβάλλει στον νευροεκφυλισμό σε ΔΑ. Τέλος, οι νευρώνες του αμφιβληστροειδούς δεν μπορούν να διαχωριστούν πλήρως από το αγγείο. Η περαιτέρω έρευνα για τον πρώιμο νευροεκφυλισμό στη ΔΑ παρέχει τη δυνατότητα για την εύρεση και τη στόχευση των πρώιμων αλλαγών στον αμφιβληστροειδή των ατόμων με διαβήτη πριν από τις ανιχνεύσιμες αγγειακές αλλαγές.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι επιπλοκές του σακχαρώδους διαβήτη (ΣΔ) περιλαμβάνουν τη μακροαγγειοπάθεια (στεφανιαία νόσος, περιφερική αρτηριοπάθεια και αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια) και τη μικροαγγειοπάθεια (διαβητική νεφροπάθεια, νευροπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια).¹ Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ) παραμένει μια ευρέως διαδεδομένη επιπλοκή του ΣΔ και επηρεάζει το 34,6% των ανθρώπων με ΣΔ τύπου 2, περίπου 415 εκατομμυρίων ατόμων με διαβήτη παγκοσμίως.²

Η ΔΑ είναι μια κύρια, γνωστή αιτία τύφλωσης με αυξανόμενη τάση στον εργαζόμενο πληθυσμό.^{3–5} Επηρεάζει σχεδόν το 80% των ασθενών με διαβήτη μετά από 10 έτη εξέλιξης της νόσου, ποσοστό που αυξάνεται στο 90% μετά από 20 έτη.⁶ Η ΔΑ μπορεί επίσης να οδηγήσει σε βραχυ-

πρόθεσμες αλλαγές στη φυσιολογική λειτουργία και στη δομή του αμφιβληστροειδούς,⁷ ενώ η υπέρταση επηρεάζει τους μοριακούς μηχανισμούς μετάδοσης των πληροφοριών του αμφιβληστροειδούς σε μακροπρόθεσμη βάση. Εξ αιτίας αυτού, ο αυστηρός έλεγχος της αρτηριακής πίεσης είναι ένας ουσιαστικός παράγοντας για την πρόληψη των σοβαρών επιπλοκών.⁸

Το διαβητικό οίδημα της ωχράς κηλίδας (ΔΟΩ) είναι η κύρια αιτία απώλειας της όρασης σε άτομα με διαβήτη και υπολογίζεται ότι επηρεάζει περίπου 21 από τα 93 εκατομμύρια άτομα με ΔΑ παγκοσμίως.⁹ Το ΔΟΩ οφείλεται στη διάσπαση του έσω και του έξω αιματοαμφιβληστροειδικού φραγμού (ΑΑΦ), η οποία με τη σειρά της οφείλεται σε μια σειρά μεταβολικών αλλαγών που προκαλούνται λόγω της υπεργλυκαιμίας.¹⁰ Η διάσπαση του ΑΑΦ οδηγεί σε αυξημένη διαβατότητα των αγγείων, οπότε το οίδημα στην

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2025, 42(1):29–41
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2025, 42(1):29–41

**Ι.Α. Αναστασίου,
Ε. Ρέμπελου,
Κ.Ν. Τεντολούρης,
Ε. Αποστολοπούλου,
Ν. Τεντολούρης**

*1η Προπαιδευτική Παθολογική
Κλινική και Ειδική Νοσολογία, Γενικό
Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό», Ιατρική
Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα*

The molecular and cellular
mechanisms in the early stages
of diabetic retinopathy

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρητηρίου

Απόπτωση
Αμφιβληστροειδής χιτώννας
Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια
Νευροεκφυλισμός
Οξειδωτικό stress

Υποβλήθηκε 10.1.2024

Εγκρίθηκε 27.1.2024

ωχρά κηλίδα εμφανίζεται ως συσώρευση υγρού στην έσω και στην έξω δικτυωτή στοιβάδα του αμφιβληστροειδούς, καθώς και στον ενδοαμφιβληστροειδικό χώρο.¹¹ Η διάγνωση τίθεται με τη βιομικροσκόπηση, ενώ κλασικές μέθοδοι απεικόνισης του ΔΟΩ θεωρούνται η έγχρωμη φωτογραφία βυθού, η φλουροαγγειογραφία (ΦΑ) και η κλασική οπτική τομογραφία συνοχής (optical coherence tomography, OCT).¹² Ωστόσο, με τις εν λόγω μεθόδους δεν είναι δυνατή η λεπτομερής απεικόνιση της μικροκυκλοφορίας στην περιοχή της ωχράς, καθώς και ο συνδυασμός απεικόνισης των δομικών και των τριχοειδικών αλλαγών που συμβαίνουν στον αμφιβληστροειδή λόγω της παρουσίας του οιδήματος.¹³ Η OCT-αγγειογραφία (OCT-angio) είναι μια νέα απεικονιστική τεχνική για την καταγραφή των αγγείων του αμφιβληστροειδούς χωρίς να γίνεται χρήση σκιαγραφικής ουσίας.¹⁴ Με την OCT-angio επιτυγχάνεται λεπτομερής απεικόνιση του αγγειακού δικτύου του αμφιβληστροειδούς και της ανάγγειας ωχρικής ζώνης. Παρέχεται η δυνατότητα τρισδιάστατης και τμηματικής απεικόνισης των αγγειακών δομών του αμφιβληστροειδούς, ενώ είναι δυνατός ο συνδυασμός παροχής δομικών και λειτουργικών πληροφοριών (έλεγχος ταυτόχρονα κλασικών λήψεων OCT και αγγειογραφίας).¹⁴⁻¹⁶ Η απεικόνιση της αμφιβληστροειδικής και της χοριοειδικής κυκλοφορίας με τη χρήση της OCT-angio έχει εξελιχθεί τα τελευταία 10 έτη. Η απεικόνιση των αλλοιώσεων της ΔΑ έχει μελετηθεί εκτενώς. Λιγότερες αναλογικά μελέτες αντιστοιχούν στην παρατήρηση και στην καταγραφή των αλλαγών που προκύπτουν στον αμφιβληστροειδή λόγω της ύπαρξης του ΔΟΩ.¹⁴⁻¹⁶

2. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΥΣ ΧΙΤΩΝΑ

Ο οφθαλμός αποτελεί ένα από τα πλέον πολύπλοκα όργανα του ανθρώπου και προσφέρει την πολύτιμη αίσθηση της όρασης. Συλλέγει το φως από τον ορατό κόσμο γύρω μας και τον μετατρέπει σε νευρικό ερέθισμα, το οποίο μεταδίδεται από το οπτικό νεύρο στον εγκέφαλο. Ο οφθαλμός αποτελείται από τρεις χιτώνες που τον περιβάλλουν.¹⁷ Ο κάθε ένας από αυτούς παρουσιάζει διαφορετικό τύπο ιστού και εξυπηρετεί τις διαφορετικές λειτουργίες και ανάγκες του οφθαλμού. Ο εσωτερικός χιτώνας αποτελείται από τον αμφιβληστροειδή χιτώνα με το μελάγχρουν επιθήλιό του. Ο αμφιβληστροειδής συνιστά τον νευροαισθητήριο ιστό του εσωτερικού χιτώνα του οφθαλμού και εντοπίζεται μεταξύ του υαλώδους σώματος και του χοριοειδούς. Ο χοριοειδής χιτώνας είναι μια λεπτή ροδοκόκκινη μεμβράνη που έχει μεγαλύτερο πάχος (0,5 mm) στην περιοχή του οπτικού δίσκου οπίσθια και ακολούθως το πάχος του μειώνεται προοδευτικά προς την περιφέρειά του φθάνοντας στο

0,1 mm στην περιοχή της πριονωτής (ora serata), όπου συνεχίζει με το ακτινωτό σώμα και το επιθήλιο της ίριδας. Ο αμφιβληστροειδής έχει την ικανότητα να μετατρέπει τη φωτεινή ενέργεια σε νευρικό ερέθισμα και να επιτυγχάνει με αυτόν τον τρόπο τη δημιουργία της εικόνας στο επίπεδο του εγκεφάλου. Θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως ο πλέον σημαντικός χιτώνας του οφθαλμού καθώς είναι σε θέση να επεξεργάζεται ενδεχομένως >70% των συνολικών αισθητηριακών ερεθισμάτων που δέχεται καθημερινά ο εγκέφαλός μας από το εξωτερικό περιβάλλον. Έτσι, ο αμφιβληστροειδής αποτελεί μέρος του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) και στην πραγματικότητα θεωρείται ιστός προέκτασης του εγκεφάλου. Ο αμφιβληστροειδής λειτουργεί ως δέκτης της εσωτερικής ακτινοβολίας (φως) που εισχωρεί από τα διάφανα μέσα στον οφθαλμό, όπου τη συλλέγει, την επεξεργάζεται και τη μετατρέπει σε οπτική πληροφορία πριν τη διαβίβασε με μορφή νευρικών ώσεων στον εγκέφαλο μέσω της οπτικής οδού. Μεταξύ των άλλων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αρχική επεξεργασία των χρωμάτων και βελτιστοποιεί την αντίθεση της εικόνας, ενώ παράλληλα έχει την ικανότητα να ανιχνεύει την κίνηση και να προσαρμόζει την όραση στο σκοτάδι.¹⁷

2.1. Οι νευρώνες του αμφιβληστροειδούς

Ο αμφιβληστροειδής περιέχει στο εσωτερικό του διαφορετικούς τύπους νευρώνων: (α) Τα δίπολα κύτταρα, γνωστά και ως πρώτης τάξης νευρώνες της οπτικής οδού,¹⁷ αποτελούνται από δένδριτες που συνδέονται με τους φωτοϋποδοχείς και τα οριζόντια κύτταρα και από νευράξονες οι οποίοι συνδέονται με γαγγλιακά και αμακρόιμα κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά μεταφέρουν την οπτική πληροφορία από τους φωτοϋποδοχείς στα οριζόντια κύτταρα και δέχονται αναδραστικές επαφές από τα αμακρόιμα. Υπάρχουν 11 διαφορετικοί τύποι δίπολων κυττάρων, από τους οποίους οι 10 συνδέονται με κωνία και μόλις ένας με ραβδία και ως βασικό νευροδιαβιβαστή έχουν τη γλουταμάτη. (β) Τα γαγγλιακά κύτταρα συνιστούν τον δεύτερο στην τάξη νευρώνα της οπτικής οδού. Περιέχουν έναν νευράξονα και έναν ή περισσότερους δένδριτες. Εμφανίζουν μια στοιβάδα στην περιφέρεια αλλά οι στοιβάδες τους αυξάνονται όσο πλησιάζουν προς την ωχρά, ενώ απουσιάζουν εντελώς από το κεντρικό βοθρίο. Οι νευράξονες οδεύουν παράλληλα στην έσω επιφάνεια του αμφιβληστροειδούς και αποτελούν τη στοιβάδα νευρικών ινών (retinal nerve fiber layer, RNFL) που σχηματίζουν το οπτικό νεύρο. Οι ίνες τους είναι αμύελες για να μη δημιουργούν τυφλό σημείο. (γ) Τα οριζόντια κύτταρα μεταβιβάζουν την πληροφορία σε οριζόντιες κατευθύνσεις. Αποτελούνται από έναν νευράξονα και αρκετούς βραχείς δένδριτες, που συνδέονται με τα δίπολα κύτταρα, με φωτοϋποδοχείς αλλά και μεταξύ

τους με άλλα δίπολα κύτταρα οριζόντια. Η σύνδεσή τους γίνεται με μηχανισμούς αναδραστικούς, κυρίως αρνητικούς ανασταλτικούς. (δ) Τα αμακρόινα κύτταρα διαθέτουν μια προσεκβολή και ευρύ κυτταρικό σώμα. Συνδέονται σε δίκτυο με δίπολα, γαγγλιακά, αλλά και μεταξύ τους με άλλα αμακρόινα και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην τελική διαμόρφωση της πληροφορίας και της μετάδοσής της στα γαγγλιακά κύτταρα. (ε) Τους διαδίκτυους νευρώνες, που εντοπίζονται μεταξύ των αμακρόινων κυττάρων και οι προσεκβολές τους εκτείνονται προς τις δύο δικτυωτές στοιβάδες. Φαίνεται και αυτά να δρουν αναδραστικά με κατεύθυνση από τις έσω προς τις έξω στοιβάδες. (στ) Τα νευρογλοιακά κύτταρα, που χωρίζονται με τη σειρά τους: (i) Στα κύτταρα του Müller, μεγάλα υποστηρικτικά κύτταρα που εκτείνονται σε όλο το πάχος του αμφιβληστροειδούς και έχουν μεταβολικές ιδιότητες (περιέχουν γλυκογόνο και ρυθμίζουν το pH της εξωκυτταρικής ουσίας) και των οποίων οι προσεκβολές συμβάλλουν στον σχηματισμό της έσω αφοριστικής μεμβράνης. (ii) Στα αστροκύτταρα, που περιορίζονται στην RNFL στοιβάδα και περιβάλλουν τις νευρικές ίνες και τα αμφιβληστροειδικά τριχοειδή. (iii) Στα μικρογαγγλιακά, δηλαδή τα φαγοκύτταρα που αυξάνονται σε περιπτώσεις φλεγμονής ή τραύματος του αμφιβληστροειδούς.¹⁷

2.2. Βασικές αρχές μεταβολισμού του αμφιβληστροειδούς

Ο αμφιβληστροειδής χρειάζεται ενέργεια προκειμένου να εξυπηρετήσει τις διάφορες μεταβολικές του δραστηριότητες.¹⁷⁻¹⁹ Η πλέον σημαντική του δραστηριότητα (φωτοχημική-βιοηλεκτρική) είναι η πρόσληψη, η μετατροπή και η μετάδοση της οπτικής πληροφορίας με τη μορφή νευρικών ώσεων στον εγκέφαλο. Επί πλέον δραστηριότητες συνιστούν η σύνθεση των κυτταρικών συστατικών, η σύνθεση των νευροδιαβιβαστών, η ανανέωση του εξωτερικού τμήματος των φωτοϋποδοχέων με τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης από τα κύτταρα του μελάγχρου επιθηλίου, αλλά και η ανασύνθεση της οπτικής πορφύρας (φωτοχρωστικών). Η κύρια πηγή ενέργειας που χρησιμοποιεί για να εξυπηρετήσει όλες τις παραπάνω δραστηριότητες του είναι ο μεταβολισμός της γλυκόζης. Τα κύτταρα Müller αποτελούν τη βασική αποθήκη ενέργειας γλυκογόνου για τον μεταβολισμό και την απαιτούμενη ενέργεια του αμφιβληστροειδούς.¹⁷⁻¹⁹

3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΤΡΕΧΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ

Η ΔΑ ιστορικά θεωρείτο ως μια αγγειακή πάθηση λόγω των αγγειακών ανωμαλιών που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της εξέλιξης της νόσου. Στα πρώιμα στάδια της

κλινικά σημαντικής ΔΑ, αγγειακές ανωμαλίες, όπως μικροανευρύσματα και αιμορραγίες, εμφανίζονται στον αμφιβληστροειδή και κυρίως στην ωχρά κηλίδα.²⁰

Στο αρχικό αυτό στάδιο ο ασθενής είναι τις περισσότερες φορές οπτικά ασυμπτωματικός και η συγκεκριμένη αμφιβληστροειδοπάθεια καλείται μη παραγωγική ΔΑ (non proliferative diabetic retinopathy, NPDR). Τα μεταγενέστερα στάδια της ΔΑ διακρίνονται από την παρουσία νεοαγγείωσης, είτε πρόκειται για νεοαγγείωση της γωνίας, της ίριδας, του δίσκου ή κάποιου άλλου σημείου. Η κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται ως παραγωγική ΔΑ (proliferative diabetic retinopathy, PDR). Ο πολλαπλασιασμός των νεοαγγείων συχνά ανιχνεύεται από την παρουσία διαρροής της φλουροσκεΐνης στην αγγειογραφία ή την εμφάνιση αιμορραγίας του υαλοειδούς. Σε κάθε στάδιο της ΔΑ η αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα μπορεί να προκαλέσει ΔΟΩ, με αποτέλεσμα σοβαρή μείωση της οπτικής οξύτητας. Όταν ανιχνεύεται ενεργός πολλαπλασιασμός, συστήνεται η θεραπεία με αντισώματα κατά του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (anti-vascular endothelial growth factor, anti-VEGF). Η ενδοϋαλοειδική anti-VEGF θεραπεία χρησιμοποιείται επίσης για τη μείωση του οιδήματος της ωχράς κηλίδας, εάν αυτό προκαλεί πρόβλημα στην όραση. Η θεραπεία πραγματοποιείται σε διάστημα 4-8 εβδομάδων. Μελέτες έχουν αναλύσει λεπτομερώς τους μηχανισμούς με τους οποίους η χρόνια υπεργλυκαιμία οδηγεί στην αγγειοπάθεια του αμφιβληστροειδούς, περιλαμβανομένων των ρόλων της απορρύθμισης των ενδοθηλιακών κυττάρων, της μείωσης της αιμάτωσης του αμφιβληστροειδούς και του σχηματισμού των ακυτταρικών τριχοειδών αγγείων, με αποτέλεσμα τη μη φυσιολογική αγγειογένεση. Ωστόσο, σύμφωνα με πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υπάρχει μια αυξανόμενη σημασία του νευροεκφυλισμού στην παθοφυσιολογία της ΔΑ. Οι μηχανισμοί νευροεκφυλισμού διαφέρουν από την αγγειοπάθεια. Οι απεικονιστικές μελέτες του οφθαλμού με τη χρήση OCT σε άτομα με διαβήτη δείχνουν ότι οι δομικές νευρογενείς αλλαγές είναι παρούσες πριν από την εμφάνιση της ΔΑ, γεγονός που οδηγεί τους ερευνητές να πιστεύουν ότι ο νευροεκφυλισμός πιθανόν να προηγείται των αγγειακών ανωμαλιών. Έχουν εκπονηθεί αρκετές μελέτες σε άτομα με διαβήτη, οι οποίες διερευνούν πού ακριβώς συμβαίνει αυτός ο νευροεκφυλισμός και τι κοινό μπορεί να εντοπιστεί. Σε μια μελέτη οι ερευνητές συνέκριναν εικόνες OCT από άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (ΣΔΤ1) με ΔΑ, άτομα με ΣΔΤ1 χωρίς ΔΑ και μια ομάδα ελέγχου. Το πάχος του αμφιβληστροειδούς μεταξύ των ατόμων με ΣΔΤ1, τόσο με ΔΑ όσο και χωρίς, ήταν σημαντικά διαφορετικό από την ομάδα ελέγχου. Συγκεκριμένα, οι διαφορές εντοπίστηκαν στο στρώμα των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς και στο στρώμα των γαγγλιακών κυττάρων.²⁰ Επομένως, η

απόπτωση των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς πιστεύεται ότι είναι μια από τις αρχικές ανωμαλίες στον αμφιβληστροειδή των ατόμων με διαβήτη και προηγείται της αγγειοπάθειας.²⁷ Ομοίως, σε μια άλλη μελέτη όπου αναλύθηκαν OCT εικόνες ατόμων με διαβήτη χωρίς διάγνωση ΔΑ σε σύγκριση με μια ομάδα ελέγχου, διαπιστώθηκε ότι τα άτομα με διαβήτη είχαν σημαντική λέπτυνση του στρώματος των φωτοϋποδοχέων.²² Πολλαπλές μελέτες περιγράφουν λεπτομερώς τις σχέσεις των μορίων σηματοδότησης μέσω των οποίων, στον αμφιβληστροειδή των ατόμων με ΔΑ, προκαλείται βλάβη στους νευρώνες και στα νευρογλοιακά κύτταρα και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή VEGF και επακόλουθη μικροαγγειακή βλάβη.²³ Παράγοντες νευροεκφυλισμού, όπως οι δραστικές ROS, τα τελικά προϊόντα γλυκοζυλίωσης (advanced glycation end products, AGEs) και οι φλεγμονώδεις παράγοντες, έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν παράγοντες διάσπασης του αιματικού φραγμού του αμφιβληστροειδούς.²⁴ Ωστόσο, λόγω των αυξανόμενων στοιχείων που υποδεικνύουν τον νευροεκφυλισμό ως το πρώτο σημείο της ΔΑ, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να γίνει κατανοητή η δράση των μηχανισμών του νευροεκφυλισμού προκειμένου να τεθεί αποτελεσματικά η διάγνωση της ΔΑ από τα πρώτα στάδια εμφάνισης της νόσου. Η τρέχουσα θεραπεία για τη ΔΑ μπορεί να στοχεύσει μόνο στη μη φυσιολογική αγγειογένεση στο τελικό στάδιο της νόσου.²⁴

Επί πλέον, τα προληπτικά μέτρα πριν από την εμφάνιση της ΔΑ με επίκεντρο τον καλό γλυκαιμικό έλεγχο έχει αποδειχθεί ότι είναι αναποτελεσματικά στην ανάρθρωση της εξέλιξης του νευροεκφυλισμού στη ΔΑ και η νόσος έχει δείξει ότι εξελίσσεται και σε άτομα με προδιαβήτη.²⁴⁻²⁶ Η κατανόηση των μηχανισμών που προκαλούν τον νευροεκφυλισμό στη ΔΑ θα επιτρέψει τη θεραπευτική παρέμβαση για την πρόληψη της εμφάνισης της αγγειακής παθολογίας, η οποία παραμένει η κύρια αιτία απώλειας της όρασης σε άτομα με ΔΑ. Ο στόχος του παρόντος άρθρου ανασκόπησης είναι η ερμηνεία των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στον νευρωνικό εκφυλισμό στη ΔΑ.

4. ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΝΕΥΡΩΝΙΚΗΣ ΕΚΦΥΛΙΣΗΣ

4.1. Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία

Οι ROS έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στον νευροεκφυλισμό του αμφιβληστροειδούς στο πλαίσιο του ΣΔ σε μελέτες που έχουν διενεργηθεί σε ζωικά μοντέλα και σε ανθρώπους.²⁷⁻²⁹ Ο ιστός του αμφιβληστροειδούς έχει διπλή παροχή αίματος και μπορεί να καταναλώσει γρήγορα γλυκόζη και οξυγόνο.²⁹ Στην πραγματικότητα, ο αμφιβλη-

στροειδικός ιστός είναι ένας από τους πλέον μεταβολικά ενεργούς ανθρώπινους ιστούς.²⁹ Στον ΣΔ, η χρόνια υπεργλυκαιμία μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στον μεταβολισμό των κυττάρων του αμφιβληστροειδούς, αγγειακή απόφραξη και ισχαιμική υποξία, οδηγώντας στην ανάπτυξη της ΔΑ.³⁰ Ως εκ τούτου, η χρόνια υπεργλυκαιμία και η υποξία πιστεύεται ότι είναι οι βασικοί παράγοντες στην ανάπτυξη της ΔΑ.³⁰ Το οξειδωτικό stress που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία έχει δείχθει ότι προκαλεί απόπτωση των νευρωνικών κυττάρων.^{31,32} Η εξασθένηση της όρασης στην πρώιμη ΔΑ έχει συνδεθεί με τις επιδράσεις του οξειδωτικού stress.³³ Η υπεργλυκαιμία ενεργοποιεί πολλαπλά μονοπάτια που καταλήγουν στην παραγωγή των ROS.³³⁻³⁵

4.2. Τα τέσσερα ανεξάρτητα βιοχημικά μονοπάτια

Ο σύνδεσμος ανάμεσα στη χρόνια υπεργλυκαιμία και στην αγγειακή βλάβη έχει αποδοθεί σε τέσσερα ανεξάρτητα βιοχημικά μονοπάτια:³⁶⁻³⁸ (α) Αυξημένη δραστηριότητα του μονοπατιού της πολυόλης, (β) συσσώρευση AGEs, (γ) ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C (protein kinase C, PKC) και (δ) αυξημένη δραστηριότητα του μονοπατιού της εξοζαμίνης. Αυτά τα φαινομενικώς μη σχετιζόμενα μεταξύ τους μοριακά μονοπάτια έχουν έναν υποκείμενο κοινό μηχανισμό: την υπερπαραγωγή ριζών υπεροξειδίου από τη μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Οι μιτοχονδριακές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, μέσω ενεργοποίησης της πολυμεράσης της πολυ-ADP-ριβόζης, αναστέλλουν μερικώς το γλυκολυτικό ένζυμο αφυδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεϋδης, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση των γλυκολυτικών ενδιάμεσων προϊόντων, όπως της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεϋδης και της 6-φωσφορικής φρουκτόζης, τα οποία αποτελούν υποστρώματα για τα τέσσερα παραπάνω βιοχημικά μονοπάτια.³⁹ Παρόλο που η παραγωγή των ROS στον ΣΔ μέσω των συγκεκριμένων μηχανισμών δεν είναι ειδική για τα νευρωνικά κύτταρα, έχει βρεθεί ότι τα κύτταρα των φωτοϋποδοχέων είναι ο κύριος παραγωγός υπεροξειδίου στη ΔΑ λόγω του σχετικά μεγαλύτερου αριθμού μιτοχονδρίων που διαθέτουν. Επομένως, απαιτούνται υψηλότερα επίπεδα κατανάλωσης ATP και συνεπώς τα κύτταρα αυτά είναι τα πλέον ευάλωτα στο οξειδωτικό stress.³⁶⁻³⁸

Κατανοώντας τα βήματα κάθε μονοπατιού, μπορούν να δημιουργηθούν θεραπευτικά μόρια για την πρόληψη και την αντιμετώπιση της καταστροφής των κυττάρων μέσω των μηχανισμών αυτών, όπως για παράδειγμα ο αποκλεισμός των μονοπατιών πριν εμφανιστούν τα κλινικά σημεία της νόσου. Στο μονοπάτι της πολυόλης, η γλυκόζη μετατρέπεται σε σορβιτόλη και στη συνέχεια σε φρουκτόζη. Η εν λόγω διαδικασία απαιτεί τη χρήση της αφυδρογονάσης

της σορβιτόλης και της αναγωγής της αλδόζης, καθώς και αντίστοιχων συμπαράγοντων, του φωσφορικού δινουκλεοτιδίου νικοτιναμίδης αδενίνης (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) και του δινουκλεοτιδίου νικοτιναμίδης αδενίνης (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺). Σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας η οδός της πολυόλης είναι περισσότερο ενεργή, οδηγώντας σε μείωση του NADPH. Το NADPH χρησιμεύει επίσης ως συμπαράγοντας για την αναγέννηση της γλουταθειόνης, που δρα ως αντιοξειδωτικό ένζυμο και είναι ο κύριος αντιοξειδωτικός μηχανισμός του ΚΝΣ. Έτσι, σε καταστάσεις υπεργλυκαιμίας η ανοχή στις ROS μειώνεται λόγω έλλειψης επαρκούς ποσότητας αντιοξειδωτικών. Ωστόσο, η φρουκτόζη, το τελικό προϊόν της εν λόγω οδού, μπορεί να οξειδωθεί περαιτέρω. Αυτό επιτελείται από την αφυδρογονάση της σορβιτόλης, η οποία όμως είναι σπάνια σε ιστούς όπως ο αμφιβληστροειδής. Εξ αιτίας της έλλειψης του συγκεκριμένου ενζύμου τα κύτταρα του αμφιβληστροειδούς συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες σορβιτόλης. Η φρουκτόζη και η σορβιτόλη είναι δύσκολο να απομακρυνθούν από το κύτταρο και έτσι αυξάνεται η ενδοκυττάρια ωσμωτική πίεση και κατά συνέπεια προκαλείται κυτταρικό οίδημα και ρήξη.³⁶⁻³⁸ Επί πλέον, η αυξημένη παραγωγή NADH από NAD⁺ επίσης προάγει το κυτταρικό οίδημα και το μεταβολικό stress.⁴⁰ Επειδή η αναγωγή της αλδόζης μετατρέπει τη γλυκόζη σε σορβιτόλη και είναι το στάδιο περιορισμού του ρυθμού της και η άμεση αιτία της συσσώρευσης σορβιτόλης στα κύτταρα, αποτελεί έναν ιδιαίτερα περιζήτητο στόχο για πιθανή θεραπευτική παρέμβαση.⁴⁰⁻⁴² Οι αναστολείς της αναγωγής της αλδόζης (aldose reductase inhibitors, ARIs) δεν χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της ΔΑ, αλλά η επαλρεστάτη (epalrestat), που είναι επίσης αναστολέας της αναγωγής της αλδόζης, έχει λάβει έγκριση από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration, FDA) για τη θεραπεία της διαβητικής νευροπάθειας.⁴³ Αυτό σηματοδοτεί τη δυνατότητα για πιθανή μελλοντική συμβολή κάποιων ARIs στη θεραπεία της πρώιμης ΔΑ, πριν δημιουργηθούν μη αναστρέψιμες αλλαγές στον αμφιβληστροειδή. Σε μια μελέτη δοκιμάστηκε σε διαβητικούς αρουραίους ένας αναστολέας της αναγωγής της αλδόζης με υψηλή εκλεκτικότητα για την αλδόζη (ARI-809).⁴⁴ Στους διαβητικούς αρουραίους η θεραπεία με ARI-809 άρχισε έναν μήνα μετά την πρόκληση ΣΔ και συνεχίστηκε για 3 μήνες σε δόση που ανέστειλε την οδό της πολυόλης στον αμφιβληστροειδή τους χιτώνια. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν ότι το ARI-809 βελτίωσε την επιβίωση, ανέστειλε την ανάπτυξη καταρράκτη, ομαλοποίησε τα επίπεδα της σορβιτόλης και της φρουκτόζης του αμφιβληστροειδούς και προστάτευσε τον αμφιβληστροειδή από την απόπτωση των νευρώνων και τη νευρογλοιακή αντιδραστικότητα.⁴⁴ Σε συνθήκες

υπεργλυκαιμίας το μονοπάτι της εξοζαμίνης υπερενεργοποιείται, οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή γλυκοζαμίνης, που αποτελεί ένα ενδιάμεσο μονοπάτι της εξοζαμίνης.³⁶ Η γλυκοζαμίνη είναι τοξική για τα μιτοχόνδρια και διεγείρει την παραγωγή του H₂O₂, με αποτέλεσμα την περαιτέρω αύξηση του οξειδωτικού stress. Οι αυξημένες ROS εντός του κυττάρου ενδέχεται επίσης να ενεργοποιήσουν το μονοπάτι της εξοζαμίνης μειώνοντας τη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεϋδης, προκαλώντας την είσοδο γλυκολυτικών προϊόντων στο μονοπάτι της εξοζαμίνης. Οι αυξημένες ROS επίσης επάγουν την παραγωγή των AGEs. Στην οδό PKC, η παραγωγή διακυλογλυκερόλης και συνεπώς η ενεργοποίηση της PKC αυξάνεται λόγω της αυξημένης δραστηριότητας της γλυκόλυσης. Η PKC προάγει τη δράση της οξειδάσης του NADPH και επάγει την παραγωγή των ROS με τον εν λόγω μηχανισμό.³⁶ Η οξειδάση του NADPH είναι η κύρια παραγωγός των ROS στο κυτταρόπλασμα και έχει αποδειχθεί η παρουσία της ακόμη και πριν από την εμφάνιση της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας.⁴⁵ Οι αναστολείς της PKC, όπως η ruboxostaurin, είναι πιθανά θεραπευτικά μόρια τα οποία θα μπορούσαν να περιορίσουν τις ROS που παράγονται από αυτή την οδό.⁴⁶ Ωστόσο, δεν υπάρχουν εγκεκριμένοι αναστολείς PKC για τη θεραπεία της ΔΑ.

4.3. Νευροτροφικοί παράγοντες και ανισορροπίες στους νευροπροστατευτικούς παράγοντες

Οι νευροτροφικοί παράγοντες αποτελούν βιομόρια (μικρά πεπτιδία) που είναι απαραίτητα για την επιβίωση των νευρωνικών κυττάρων, την ανάπτυξη και τη διαφοροποίησή τους και ανήκουν σε μια μεγαλύτερη κατηγορία αυξητικών παραγόντων.⁴⁷⁻⁴⁹ Τα επίπεδα της νευροτροφίνης πρέπει να διατηρούνται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής για τη συνεχή επιβίωση των νευρώνων. Όλες οι νευροτροφίνες συντίθενται αρχικά σε ανώριμες μορφές και αργότερα τροποποιούνται από τις πρωτεάσες στην ώριμη μορφή τους. Οι ώριμες νευροτροφίνες αλληλεπιδρούν με έναν υποδοχέα της τυροσινικής κινάσης της τροπομυοσίνης, που τελικά σηματοδοτεί την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Οι προ-νευροτροφίνες μπορεί να αλληλεπιδράσουν με έναν υποδοχέα του παράγοντα νέκρωσης όγκου (tumor necrosis factor, TNF), τον p75NTR, και η σύνδεση αυτή θα σηματοδοτήσει τον κυτταρικό θάνατο. Στους υγιείς ιστούς, η αναλογία των προ-νευροτροφινών προς τις νευροτροφίνες διατηρείται σε μια ισορροπία που επιτρέπει την επαρκή επιβίωση των νευρικών κυττάρων. Σε περιόδους οξείας βλάβης, οι νευροτροφίνες εκκρίνονται και προάγουν την αναγέννηση των νευρικών κυττάρων. Ωστόσο, αυτή η φλεγμονή προκαλεί επίσης έκκριση προ-νευροτροφινών, που μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω

νευρωνική απόπτωση. Η χρόνια φλεγμονή, επομένως, μπορεί να έχει επιβλαβείς επιπτώσεις στους ιστούς των νευρικών κυττάρων.⁴⁷⁻⁴⁹

Στον αμφιβληστροειδή χιτώνα, τα κύτταρα Müller παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες και αυξητικούς παράγοντες, οι οποίοι είναι απαραίτητοι για τη συντήρηση των νευρώνων, περιλαμβανομένου του νευροτροφικού παράγοντα που προέρχεται από τον εγκέφαλο (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), του ακτινωτού νευροτροφικού παράγοντα (ciliary neurotrophic factor, CNTF), του βασικού αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών, του αυξητικού παράγοντα των νευρών (nerve growth factor, NGF), της νευροτροφίνης-3 (neurotrophin-3, NT-3), της νευροτροφίνης-4 (neurotrophin-4, NT-4), του νευροτροφικού παράγοντα που προέρχεται από τη νευρογλοιακή κυτταρική σειρά (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF), του ανασταλτικού παράγοντα της λευχαιμίας και του παράγοντα που προέρχεται από το μέλαγχρον επιθήλιο.⁴⁹ Από αυτούς, ο NGF είναι ο επαρκέστερος μελετημένος. Σε προηγούμενες μελέτες έχει δειχθεί σημαντική αύξηση των επιπέδων pro-NGF και μείωση των επιπέδων NGF στον αμφιβληστροειδή ατόμων με διαβήτη, καθώς και σε απομονωμένα κύτταρα Müller από τον αμφιβληστροειδή μετά από καλλιέργεια σε διαλύματα υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης.⁴⁸ Τα αυξημένα επίπεδα pro-NGF στον αμφιβληστροειδή έχει βρεθεί ότι ρυθμίζουν προς τα πάνω την έκφραση του p75NTR, καθώς και τα φλεγμονώδη μόρια, την ιντερλευκίνη 1β και τον πυρηνικό παράγοντα-κΒ στα κύτταρα Müller, προκαλώντας φλεγμονή και νέκρωση των φωτοϋποδοχέων. Συσώρευση pro-NGF έχει επίσης συσχετιστεί με την καταστολή του TrkA, του υποδοχέα του NGF. Μια πρόσφατη μελέτη σε ποντικούς έδειξε ότι όταν το pro-NGF υπερεκφράζεται υπάρχει αξιοσημείωτος νευροεκφυλισμός, που οδηγεί σε βλάβη.⁵⁰ Η αποκατάσταση της αναλογίας pro-NGF/NGF και η αναστολή της εν λόγω οδού κυτταρικού θανάτου προσφέρει τη δυνατότητα πρόληψης του αρχικού νευροεκφυλισμού που προηγείται της αγγειοπάθειας. Το 2022, οι ερευνητές μελέτησαν την επίδραση της χορήγησης NGF με οφθαλμικές σταγόνες σε διαβητικούς ποντικούς.⁵¹ Από τα αποτελέσματα της μελέτης φάνηκε ότι οι διαβητικοί ποντικοί στους οποίους χορηγήθηκαν οφθαλμικές σταγόνες NGF είχαν σημαντικά λιγότερο νευροεκφυλισμό σε σύγκριση με τους διαβητικούς ποντικούς που δεν έλαβαν τις οφθαλμικές σταγόνες NGF. Επίσης, λιγότερη αποπτωτική δραστηριότητα παρατηρήθηκε στην ομάδα που έλαβε τις σταγόνες, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η θεραπεία με NGF έχει τη δυνατότητα να αποκαταστήσει την ισορροπία της αναλογίας pro-NGF/NGF και να αντιστρέψει την αρνητική ρύθμιση του υποδοχέα TrkA.⁵¹ Έχει αποδειχθεί ωστόσο ότι η χορήγηση NGF προάγει την αγγειογένεση,⁵¹ γεγονός που

θα ήταν επιβλαβές σε άτομα με σοβαρή ΔΑ. Επομένως, απαιτείται περισσότερη έρευνα σχετικά με τις δυνατότητες του συγκεκριμένου φαρμάκου για την αναστροφή ή την καθυστέρηση της έναρξης της ΔΑ.

Το BDNF είναι μια άλλη νευροτροφίνη που παράγεται από τους νευρώνες και τα νευρογλοιακά κύτταρα και έχει καθοριστική δράση στην ανάπτυξη και στη λειτουργία των νευρώνων, καθώς και στη συναπτική πλαστικότητα και στη συναπτική λειτουργία.⁵² Έχει αποδειχθεί ότι τα άτομα με διαβήτη έχουν χαμηλό BDNF σε σύγκριση με τους μάρτυρες, γεγονός που σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και την αντίσταση στην ινσουλίνη.⁵³ Όπως το pro-NGF, έτσι και το pro-BDNF διεγείρει την απόπτωση των νευρωνικών κυττάρων, πιθανόν ενεργοποιώντας τα μονοπάτια που εξαρτώνται από την κασπάση-3.⁵³ Σε μια μελέτη οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το BDNF ήταν μειωμένο στον αμφιβληστροειδή των ατόμων με διαβήτη και η μείωση αυτή σχετιζόταν με πρώιμο νευροεκφυλισμό στη ΔΑ.³¹ Για να ελεγχθεί η πιθανή θεραπευτική ικανότητα του BDNF, οι ερευνητές μελέτησαν διαγονιδιακά ποντικούς με επαγόμενη από δοξουκυκλίνη έκφραση BDNF και διαπίστωσαν ότι η συνεχής ενεργοποίηση του BDNF είναι προστατευτική έναντι της απόπτωσης των φωτοϋποδοχέων από το οξειδωτικό stress.⁵⁴ Αυτό το αποτέλεσμα συγκρίθηκε με παλαιότερες μελέτες που δεν είχαν δείξει αξιοσημείωτη προστατευτική δράση από τακτικές ενδοϋαλώδεις ενέσεις BDNF για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.⁵⁵ Από τα εν λόγω πειράματα μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι η θεραπεία με BDNF για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα είναι ανεπαρκής για την επίτευξη μιας μόνιμης προστατευτικής δράσης.⁵⁴ Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τη διερεύνηση του ρόλου που διαδραματίζουν αυτές οι νευροτροφίνες στην παθογένεια της ΔΑ, ώστε να δημιουργηθεί ένα οφθαλμικό διάλυμα παρατεταμένης αποδέσμευσης ή ενσωμάτωσης του BDNF σε συνδυασμό με τους άλλους νευροπροστατευτικούς παράγοντες.

5. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΝΕΥΡΩΝΙΚΗΣ ΕΚΦΥΛΙΣΗΣ

5.1. Κασπάσες και αποπτωτική σηματοδότηση

Οι κασπάσες είναι κυτταρικά ένζυμα υπεύθυνα για την έναρξη του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.⁵⁶ Επίσης, οι κασπάσες προάγουν και τη φλεγμονή.⁵⁷ Ένας σημαντικός όγκος κυτταρικής έρευνας στη ΔΑ είναι αφιερωμένος στην κατανόηση της συμμετοχής των κασπασών στα εμπλεκόμενα αποπτωτικά μονοπάτια.⁵⁶ Σύμφωνα με τα ερευνητικά δεδομένα, τα προ-αποπτωτικά μέλη της οικογένειας Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) προκαλούν έναρξη της απόπτωσης μέσω του σχηματισμού πόρων στις

εξωτερικές μεμβράνες των μιτοχονδρίων και απελευθέρωσης του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα.⁵⁸⁻⁶¹ Τα περισσότερα μέλη της οικογένειας διαθέτουν καρβοξυτελικές υδροφοβικές μεμβρανο-προσφύομενες περιοχές που τους επιτρέπουν να εγκαθίστανται στις εξωτερικές μεμβράνες των μιτοχονδρίων. Τα περισσότερα μελετημένα προ-αποπτωτικά μέλη της οικογένειας είναι οι πρωτεΐνες Bax (BCL2 associated X, apoptosis regulator) και Bid (BH3 interacting domain death agonist). Η πρωτεΐνη Bax, η οποία είναι φυσιολογικά μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη, μετατοπίζεται προς τα μιτοχόνδρια μετά από έκθεση σε διάφορα αποπτωτικά ερεθίσματα ή stress. Διαπιστώθηκε ότι η Bax αλληλεπιδρά με μια πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων, σχηματίζοντας πόρους και απελευθερώνοντας με αυτόν τον τρόπο το κυτόχρωμα c. Δεν απαιτείται ενεργοποίηση των κασπασών ούτε για τη μετακίνηση της πρωτεΐνης ούτε για τον σχηματισμό πόρων. Σε αντίθεση με την πρωτεΐνη Bax, η πρωτεΐνη Bid απαιτεί πρωτεόλυση μέσω της κασπάσης 8 για την προ-αποπτωτική της λειτουργία. Μετά τη διάσπασή της, η πρωτεΐνη Bid μεταναστεύει από το κυτταρόπλασμα στα μιτοχόνδρια και απελευθερώνει το κυτόχρωμα c, αυξάνοντας εκλεκτικά τη διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης. Φαίνεται ότι μέσω της διάσπασης της Bid ενισχύονται τα καθοδικά εκτελεστικά γεγονότα της απόπτωσης που επάγεται μέσω των υποδοχέων θανάτου. Οι πρωτεΐνες Bcl-2 και Bcl-XL δεν αναστέλλουν τη διάσπαση της Bid μέσω της κασπάσης-8 ούτε τη μετατόπισή της στα μιτοχόνδρια, παρεμποδίζουν όμως την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c μέσω του Bid. Παρ' όλα αυτά, η απόπτωση εξελίσσεται μέχρι τέλους, καθώς υπάρχουν και άλλα εκτελεστικά βήματα που τίθενται σε λειτουργία μέσω άλλων κασπασών. Μια εναλλακτική υπόθεση υποστηρίζει ότι η οικογένεια των Bcl-2 πρωτεϊνών ρυθμίζει τη διαβάθμιση του ηλεκτρικού δυναμικού ($\Delta\psi_m$) διά μέσου της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης και κατ' επέκταση τον μιτοχονδριακό όγκο. Το άνοιγμα των μεγάλων καναλιών στην εσωτερική μεμβράνη επιτρέπει τη δίοδο μορίων <1,5 kDa, με συνέπεια τη διαταραχή του $\Delta\psi_m$. Αν και δεν έχει διευκρινιστεί η ακριβής σχέση μεταξύ της απώλειας του $\Delta\psi_m$ και της απελευθέρωσης του κυτοχρώματος c, φαίνεται ότι η απώλεια του $\Delta\psi_m$ οδηγεί σε διόγκωση των μιτοχονδρίων, ρήξη της εξωτερικής μεμβράνης και απελευθέρωση του κυτοχρώματος c. Αυτές οι αλλαγές στη διαπερατότητα της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης μπορεί να αποτελούν σημαντικό βήμα στην επαγωγή της απόπτωσης, η οποία ενδέχεται να ανασταλεί από αντι-αποπτωτικά μέλη της οικογένειας των Bcl-2 πρωτεϊνών. Η ικανότητα των μελών της οικογένειας των Bcl-2 πρωτεϊνών να ευνοούν ή να αναστέλλουν την ενεργοποίηση των κασπασών είναι ένα ακόμη σημαντικό στοιχείο του μηχανισμού δράσης τους. Χαρακτηριστικό

παράδειγμα συνιστά η Bcl-XL, που δεσμεύεται άμεσα με τον παράγοντα ενεργοποίησης αποπτωτικής πρωτεάσης (apoptotic protease activating factor, Araf) και παρεμποδίζει την ικανότητά του να ενεργοποιήσει την προκασπάση-9. Επίσης, η υπερέκφραση του Bcl-2 εμποδίζει την απόπτωση σε κύτταρα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις κυτταροπλασματικού κυτοχρώματος c, τα οποία επάγονται είτε μέσω παροδικής έκφρασης του Bax, είτε με άμεση έγχυση κυτοχρώματος c. Υπάρχουν δύο προτεινόμενα μοντέλα όσον αφορά στις σχέσεις μεταξύ της οικογένειας των Bcl-2 πρωτεϊνών, της απελευθέρωσης του κυτοχρώματος c και της εξαρτώμενης από τον Araf ενεργοποίησης των κασπασών κατά τη διάρκεια επαγωγής της απόπτωσης. Το πρώτο μοντέλο αφορά σε περιπτώσεις όπου –σε συνθήκες στέρησης παραγόντων επιβίωσης ή καταστροφής του γενετικού υλικού– οι πρωτεΐνες της Bcl-2 οικογένειας μπορούν είτε να επάγουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c και στη συνέχεια τη διαδοχική ενεργοποίηση του Araf της κασπάσης-9 και, τέλος, της κασπάσης-3, είτε να δεσμευτούν απ' ευθείας στον Araf, όπως η Bcl-XL, και στη συνέχεια να ακολουθήσει η διαδοχική ενεργοποίηση των κασπασών. Το δεύτερο είναι το “death cycle” μοντέλο, όπου μέσω θετικής επανατροφοδότησης η κασπάση-3 μπορεί να επαναπροδοτήσει την απελευθέρωση του κυτοχρώματος από τα μιτοχόνδρια.⁵⁸⁻⁶¹

Σε χρόνιες παθήσεις, όπως ο ΣΔ, οι εν λόγω οδοί ενδέχεται να μην είναι σε ισορροπία, οδηγώντας σε παθολογικές καταστάσεις.⁵⁷ Στην περίπτωση των νευροαμφιβληστροειδικών κυττάρων στην πρώιμη ΔΑ, πιστεύεται ότι η απόπτωση προκαλεί βλάβη στην όραση.⁶² Τα τρέχοντα στοιχεία δείχνουν ότι η νευρωνική απόπτωση στη ΔΑ συμβαίνει τόσο μέσω μηχανισμών εξαρτώμενων από τις κασπάσες όσο και μηχανισμών ανεξάρτητων από τις κασπάσες.⁶³ Η ηλεκτροφυσική εξέταση έδειξε ότι τα κύτταρα των φωτούποδοχέων και τα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς επηρεάζονται περισσότερο από την απόπτωση.⁶³ Σε μια μελέτη οι ερευνητές ανέλυσαν τους αμφιβληστροειδείς ατόμων με διαβήτη που είχαν αποβιώσει και βρήκαν αυξημένη έκφραση της κασπάσης 3, του Fas και της Bax στα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς.⁶⁴ Διαπιστώθηκε επίσης σε μια άλλη μελέτη ότι οι αμφιβληστροειδείς των ατόμων με διαβήτη παρουσίασαν *de novo* έκφραση BAD, σε αντίθεση με τους αμφιβληστροειδείς των μη διαβητικών ατόμων. Επομένως, φαίνεται ότι η ίδια η υπεργλυκαιμία προκαλεί άμεσα αυξημένη έκφραση των επιπέδων της BAD.⁶⁵ Σε μια μελέτη σε αρουραίους βρέθηκε ότι δύο μήνες μετά την εμφάνιση του ΣΔ δεν ανιχνεύτηκε παρουσία της κασπάσης-3 στον αμφιβληστροειδή.⁶⁶ Ωστόσο, μετά από 14 μήνες η δραστηριότητα της κασπάσης-3 ήταν παρούσα, όπως και η ιστοπαθολογία της ΔΑ. Στους διαβητικούς αρουραίους που

υποβλήθηκαν επίσης σε θεραπεία με ένα αντιοξειδωτικό μείγμα, τα επίπεδα της κασπάσης-3 παρέμειναν μηδενικά. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι σε μια παρατεταμένη περίοδο υπεργλυκαιμίας το οξειδωτικό stress είναι δευτερογενώς αυτό που ενεργοποιεί την εξαρτώμενη από την κασπάση απόπτωση των περικυττάρων του αμφιβληστροειδούς.⁶⁶ Σε άλλες σχετικές μελέτες υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της χρόνιας φλεγμονής που οφείλεται σε υπεργλυκαιμία και στη διεγερτική τοξικότητα του γλουταμικού στα νευρικά κύτταρα, που οδηγεί σε νευροεκφυλισμό όλου του νευρικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένου του αμφιβληστροειδούς.³⁸ Σε φυσιολογικές καταστάσεις, οι νευρώνες μπορούν να χρησιμοποιήσουν το γλουταμικό ως (διεγερτικό) νευροδιαβιβαστή.⁶⁷ Όταν το γλουταμικό μεταφέρεται στη σύναψη, μπορεί να λαμβάνεται από τα περιβάλλοντα κύτταρα, όπως τα αστροκύτταρα, για να ανακυκλωθεί στη συνέχεια χρησιμοποιώντας την αντλία Na^+/K^+ -ATPase. Διεγερτική τοξικότητα πιθανόν να εμφανιστεί όταν τα επίπεδα γλουταμικού που απελευθερώνεται από τους νευρώνες είναι εξαιρετικά υψηλά. Η διεγερτική τοξικότητα πυροδοτεί την απόπτωση των νευρώνων.⁶⁷ Σε άτομα με ΣΔ, στους φωτοϋποδοχείς και στα γαγγλιακά κύτταρα έχει βρεθεί αυξημένη έκφραση του παράγοντα που προκαλεί απόπτωση (apoptosis-inducing factor, AIF) και του κυτοχρώματος c.⁶⁷⁻⁶⁹ Ο AIF φυσιολογικά υπάρχει στη μιτοχονδριακή μεμβράνη, αλλά μπορεί να μετατοπιστεί στον πυρήνα παρουσία κυτταροτοξικών ερεθισμάτων, όπου προκαλεί κατακερματισμό του DNA.⁶⁸ Αυτός ο μηχανισμός δεν απαιτεί τις κασπάσες και φάνηκε ότι προκαλεί απόπτωση του νευρώνα του αμφιβληστροειδούς χωρίς ταυτόχρονη αύξηση της κασπάσης-3, που είναι η κασπάση τελεστής.⁶⁷⁻⁶⁹ Μια κύρια οδός στην οποία τα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς ατόμων με διαβήτη γίνονται αποπτωτικά είναι μέσω του εξωτερικού μονοπατιού σηματοδότησης θανατηφόρου συνδέτη.⁷⁰⁻⁷² Στο εν λόγω μονοπάτι, ένα κύτταρο όπως ένα γαγγλιακό κύτταρο αμφιβληστροειδούς, παρουσιάζει έναν διαμεμβρανικό υποδοχέα θανάτου στην κυτταρική του μεμβράνη με μια «περιοχή θανάτου» στην κυτοσολική πλευρά. Παραδείγματα υποδοχέων θανάτου που υπάρχουν στα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς περιλαμβάνουν τα CD69 και τον υποδοχέα TNF- α . Όταν ένα κύτταρο, όπως ένα T λεμφοκύτταρο, δεσμεύει τον συνδέτη Fas (FasL) ή ένα διαλυτό μόριο, όπως ο TNF- α , συνδέεται με τον αντίστοιχο υποδοχέα θανάτου στο κύτταρο, τον «τομέα θανάτου», και στρατολογεί μια συλλογή πρωτεϊνών που ονομάζεται «σύμπλεγμα σήματος που προκαλεί θάνατο». Το συγκεκριμένο σύμπλεγμα ενεργοποιεί την κασπάση-8, η οποία στη συνέχεια επιτρέπει στην ενδογενή αποπτωτική οδό να ολοκληρώσει τη διαδικασία.⁷⁰⁻⁷² Αυτός ο αποπτωτικός μηχανισμός έχει επίσης αποδειχθεί ότι εμφανίζεται στους νευρώνες του αμφιβληστροειδούς

ατόμων με διαβήτη, με επακόλουθη ενεργοποίηση της κασπάσης-3.⁷² Δεδομένης της παρουσίας αρκετών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων που έχουν ήδη εγκριθεί για αυτοάνοσες καταστάσεις, η αναστολή των εν λόγω αποπτωτικών μονοπατιών συνεχίζει να αποτελεί μια περιοχά ιδιαίτερου ερευνητικού ενδιαφέροντος.⁷³ Το μεγαλύτερο μέρος της τρέχουσας έρευνας έχει επικεντρωθεί στη χρήση φαρμάκων, όπως της ετανερσέπτης (etanercept), που είναι μια πρωτεΐνη σύντηξης η οποία περιλαμβάνει τον υποδοχέα TNF- α , για την επιβράδυνση της εξέλιξης της ΔΑ.⁷³⁻⁷⁵ Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι τα επίπεδα του TNF- α στον αμφιβληστροειδή είναι αυξημένα ακόμη και μία εβδομάδα μετά την εμφάνιση του ΣΔ. Σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς είναι γνωστό ότι διαθέτουν υποδοχείς θανάτου για τον TNF- α , πιστεύεται ότι ανοσοτροποποιητικά φάρμακα, όπως η ετανερσέπτη, μπορεί να συμβάλλουν στην πρόληψη του πρώιμου νευροεκφυλισμού που παρατηρείται στη ΔΑ. Πειραματικές μελέτες σε ανθρώπινους νευρώνες παρήγαγαν το ίδιο αποτέλεσμα.⁷³⁻⁷⁵ Μια μελέτη που χρησιμοποίησε νευρικά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς έδειξε ότι η χορήγηση ινσουλίνης στα κύτταρα του αμφιβληστροειδούς σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον είχε σημαντικά μειωμένο αριθμό κυττάρων στη φάση της απόπτωσης σε σύγκριση με εκείνα χωρίς χορήγηση ινσουλίνης.⁷⁶ Η συγκεκριμένη επίδραση εμφανίζεται λόγω των downstream επιδράσεων της δέσμευσης της ινσουλίνης στον υποδοχέα της ινσουλίνης, η οποία είναι άφθονη στον αμφιβληστροειδή και μπορεί να βρεθεί ειδικά στους νευρώνες του αμφιβληστροειδούς.⁷³⁻⁷⁶ Αυτή η σύνδεση προκαλεί την ενεργοποίηση του μονοπατιού της κινάσης 3-OH-φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PI3K/Akt) που φωσφορυλιώνει την κασπάση-9 και επομένως αναστέλλει την ενεργοποίηση της κασπάσης-3. Τα σχετικά αποτελέσματα υποδεικνύουν τη δυνατότητα της ινσουλίνης να λειτουργεί ως δυναμικό θεραπευτικό για την πρόληψη του νευροεκφυλισμού. Ωστόσο, στοιχεία δείχνουν ότι η χορήγηση ινσουλίνης σε υψηλές ποσότητες μπορεί να ενεργοποιήσει ξεχωριστές προ-αποπτωτικές οδούς.⁷³⁻⁷⁶ Ως εκ τούτου, περισσότερη έρευνα απαιτείται για τη διευκρίνιση του μηχανισμού.

6. ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΟΝ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΜΟ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΝΕΥΡΟΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ

Η εξέταση του νευροεκφυλισμού στη ΔΑ και οι μηχανισμοί του δεν μπορούν να διαχωριστούν πλήρως από την αντίστοιχη αγγειακή συμβολή. Καθώς περισσότερα στοιχεία έχουν έλθει στο φως, η ΔΑ θεωρείται πλέον μια νευροαγγειακή νόσος, όπως εκτιμάται μέσω του φακού της «νευροαγγειακής μονάδας» (neurovascular unit, NVU).⁷⁷

Η NVU περιγράφει το σύστημα στο οποίο λειτουργούν σε συνέργεια οι νευρώνες, τα αγγειακά κύτταρα και τα υποστηρικτικά νευρογλοιακά κύτταρα για τη διατήρηση της νευρωνικής ομοιόστασης και της σωστής λειτουργίας των αγγείων. Οι ανωμαλίες των αγγείων έχουν μελετηθεί εκτενώς στα μεταγενέστερα στάδια της ΔΑ. Ωστόσο, ορισμένα ευρήματα δείχνουν ότι ο αγγειακός τραυματισμός μπορεί να εντοπιστεί νωρίς στη ΔΑ, παράλληλα με τον νευροεκφυλισμό.⁷⁶⁻⁷⁸ Μερικά από τα πρώτα αξιολογούμενα συμπτώματα μικροαγγειοπάθειας στη ΔΑ είναι τα μικροανευρύσματα. Ωστόσο, πιθανόν να υπάρχει αγγειακή βλάβη με τη μορφή των ακυτταρικών τριχοειδών αγγείων πριν αυτή γίνει εμφανής κατά την εξέταση του βυθού. Τα πειραματόζωα έχουν βοηθήσει τους ερευνητές να κατανοήσουν καλύτερα το χρονοδιάγραμμα των μικροσκοπικών αλλαγών στον αμφιβληστροειδή μετά την εμφάνιση του ΣΔ. Σε μια μελέτη σε αρουραίους διαπιστώθηκε ότι τα κύτταρα Müller ενεργοποιήθηκαν περίπου 1,5 μήνα μετά την έναρξη του ΣΔ.⁷⁷ Η απόπτωση των περικυττάρων άρχισε 4 μήνες μετά την εμφάνιση του ΣΔ και στη συνέχεια, στους 6 μήνες άρχισαν να σχηματίζονται ακυτταρικά τριχοειδή αγγεία. Εν τω μεταξύ στους αρουραίους, το ηλεκτροαμφιβληστροειδογράφημα, που είναι η εξέταση της ηλεκτροφυσιολογίας των φωτοϋποδοχέων, έδειξε νευρωνική δυσλειτουργία 6 εβδομάδες περίπου μετά την εμφάνιση του ΣΔ. Αυτό υποδηλώνει μια πιθανή οδό στην οποία ο νευροεκφυλισμός μπορεί να συμβάλει στην έναρξη αγγειακών ανωμαλιών.⁷⁷ Το νευρωνικό stress από την υπεργλυκαιμία ενεργοποιεί τα νευρογλοιακά κύτταρα, τα οποία στη συνέχεια δημιουργούν φλεγμονή που προκαλεί αγγειακή βλάβη.^{79,80}

6.1. Παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου

Η κατανάλωση του οξειγόνου μεταβάλλεται με την ποσότητα του φωτός που εισέρχεται στον αμφιβληστροειδή και είναι μεγαλύτερη σε σκοτεινά περιβάλλοντα.⁸¹ Ωστόσο, τα αιμοφόρα αγγεία δεν ανταποκρίνονται άμεσα στο φως και επομένως εξαρτώνται από τα σήματα που έρχονται από τους νευρώνες και τα νευρογλοιακά κύτταρα για τη μεσολάβηση της νευροαγγειακής σύζευξης.⁷⁸ Για τον λόγο αυτόν το μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide, NO) είναι κρίσιμο για τον αγγειακό έλεγχο. Κάθε κύτταρο στον αμφιβληστροειδή είναι ικανό να παράγει NO.⁷⁸ Ωστόσο, οι ROS που παράγονται κατά τη ΔΑ καθιστούν το NO λιγότερο διαθέσιμο μέσω της αλληλεπίδρασης των ελευθέρων ριζών με το NO και την παραγωγή υπεροξειδωτικού,⁸² γεγονός που αποδεικνύεται από τα αυξημένα επίπεδα οξειδωτικών προϊόντων NO στον ορό ατόμων με ΣΔ.⁸²⁻⁸⁴ Αυξημένα επίπεδα οξειδωτικών προϊόντων NO οδηγούν σε μη φυσιολογική αγγειακή χαλάρωση και συμβάλλουν στη δημιουργία ενός νευροτοξικού περιβάλλοντος. Το NO

συντίθεται από τη συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (NOS). Στον αμφιβληστροειδή, το NOS υπάρχει σε τρεις διαφορετικές isoμορφές: επαγγώγιμα NOS (iNOS), ενδοθηλιακά NOS (eNOS) και νευρωνικά NOS (nNOS).⁸²⁻⁸⁴ Σε μια μελέτη, οι ερευνητές διερεύνησαν τον ρόλο του iNOS στα πρώιμα στάδια της ΔΑ σε knockout iNOS (iNOS^{-/-}) ποντικών με διαβήτη που προκλήθηκε με στρεπτοζοτοκίνη.⁸⁵ Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι ο αμφιβληστροειδής των διαβητικών ποντικών άγριου τύπου ήταν πιο λεπτός και είχαν αυξηθεί η συγκέντρωση NO, οι νιτρωμένες πρωτεΐνες, το υπεροξείδιο, η πρωτεΐνη eNOS και η λευκοστασία σε σύγκριση με τους μη διαβητικούς ποντικούς άγριου τύπου. Ομοίως, ο αριθμός των ακυτταρικών τριχοειδών αγγείων και των περικυττάρων «φαντασμάτων» αυξήθηκε στους αμφιβληστροειδείς διαβητικών ποντικών άγριου τύπου σε σύγκριση με εκείνους των μη διαβητικών. Όλες αυτές οι αλλαγές αναστάθηκαν σε διαβητικούς iNOS^{-/-} ποντικούς.⁸⁵ Με τη μελέτη των ρόλων κάθε isoτύπου NOS μπορεί να είναι ευκολότερο να κατανοηθούν οι παράγοντες κινδύνου για τη σοβαρή ΔΑ και τις πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις.⁸⁴

6.2. Λειτουργία του VEGF

Τα κύτταρα Müller που αναλύθηκαν παραπάνω είναι υπεύθυνα για τη νευροαγγειακή διατήρηση.⁸⁶⁻⁸⁸ Ένας από τους ρόλους των κυττάρων Müller στη νευροαγγειακή σύζευξη είναι η παραγωγή του VEGF. Ο VEGF είναι ένας ευρέως γνωστός μεταγραφικός παράγοντας για την αγγειογενετική του δράση. Η ενδοϋαλοειδική anti-VEGF θεραπεία στην περίπτωση παθήσεων του αμφιβληστροειδούς, όπως η νεοαγγειακή PDR,⁸⁶⁻⁸⁸ αναστέλλει αυτήν ακριβώς τη δραστηριότητα του VEGF. Ωστόσο, ο VEGF έχει μια δόσοεξαρτώμενη νευροτροφική επίδραση στους νευρώνες.⁸⁸ Σε χαμηλή συγκέντρωση ο VEGF έχει επιδείξει νευροπροστατευτική δράση στους νευρώνες του αμφιβληστροειδούς, αλλά σε υψηλές συγκεντρώσεις φαίνεται ότι είναι επιβλαβής.⁸⁸ Στον ΣΔ ο VEGF διατηρείται σε υψηλά επίπεδα και επομένως προκαλεί νευρωνική βλάβη.⁸⁹ Τα υψηλά επίπεδα του VEGF πιστεύεται ότι προάγουν την αποδόμηση των νευροπροστατευτικών BDNF και GDNF.⁸⁹ Έχει επίσης δειχθεί ότι ο VEGF πυροδοτεί αγγειακή διαρροή, νεοαγγείωση και αγγειακές βλάβες. Ωστόσο, ο νευροεκφυλισμός έχει επίσης αποδειχθεί ότι αυξάνεται όταν διαταράσσεται η σηματοδότηση του VEGF. Η σηματοδότηση του VEGF θεωρείται κρίσιμη για τη βιωσιμότητα των νευρογλοιακών κυττάρων Müller, η οποία μπορεί να βοηθήσει στη νευροπροστασία στην περίπτωση της ΔΑ. Οι εν λόγω αντικρουόμενες επιδράσεις καθιστούν αναγκαία τη στάθμιση των πλεονεκτημάτων και των μειονεκτημάτων της μακροχρόνιας anti-VEGF αγωγής. Ενώ είναι σημαντικός ο έλεγχος των βλαβών στα αγγεία που προκαλεί ο VEGF για την πρόληψη της μόνιμης απώλειας

όρασης, πολλοί ασθενείς που λαμβάνουν μακροχρόνια anti-VEGF θεραπεία έχουν εμφανίσει βραδεία μείωση της οπτικής οξύτητας με την πάροδο του χρόνου. Η θεωρία ότι οι ενέσεις anti-VEGF διακυβεύουν την ακεραιότητα του αμφιβληστροειδούς μακροπρόθεσμα δεν είναι ακόμα πλήρως τεκμηριωμένη. Ωστόσο, αυτή η πιθανή αρνητική έκβαση απαιτεί τη συνέχιση της έρευνας για ασφαλέστερες μακροπρόθεσμα θεραπείες.⁸⁹ Ο VEGF είναι γνωστό ότι εμφανίζει αντίστροφη (upstream) ρύθμιση σε συνθήκες αυξημένων επιπέδων ROS.⁹⁰ Η χρόνια υπεργλυκαιμία στα άτομα με ΣΔ συμβάλλει επίσης στην αύξηση των επιπέδων των ROS, οι οποίες φαίνεται ότι αντιστρατεύονται τις προστατευτικές επιδράσεις του VEGF στον αμφιβληστροειδή, ενώ προκαλούν και επιπλέον βλάβες. Δεδομένου ότι οι νευρώνες του αμφιβληστροειδούς είναι γνωστό ότι επηρεάζονται αρνητικά από υψηλά επίπεδα VEGF, αυτά τα σύνθετα αποτελέσματα που οφείλονται στις ROS καθιστούν τη νευρωνική βλάβη ιδιαίτερα καταστροφική.⁹⁰

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ΔΑ είναι μια από τις πλέον συχνές επιπλοκές του ΣΔ, στην οποία κάθε τύπος κυττάρου στον αμφιβληστροειδή χιτώνα επηρεάζεται ή καταστρέφεται, με αποτέλεσμα τη μη αναστρέψιμη απώλεια της όρασης. Αν και η ΔΑ κλασικά θεωρείται αγγειακή νόσος, τα τελευταία ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η ΔΑ μπορεί να χαρακτηριστεί ως νευροαγγειακή νόσος, στην οποία η νευρωνική βλάβη είναι παρούσα πολύ νωρίτερα από την αγγειακή παθολογία ή τις κλινικά εμφανείς ανωμαλίες. Αυτή η πολυπλο-

κότητα της παθογένεσης της ΔΑ παρέχει το έναυσμα για περαιτέρω μελέτη της παθοφυσιολογίας της. Αν και πολλά χαρακτηριστικά του νευροεκφυλισμού στην πρόιμη ΔΑ έχουν διερευνηθεί, η έρευνα πρέπει να συνεχιστεί για να αποσαφηνίσει τα κενά που υπάρχουν στην κατανόηση των επιπτώσεων των νευροτροφικών στον αμφιβληστροειδή των ατόμων με διαβήτη και στους ακριβείς μηχανισμούς με τους οποίους οι ROS συμβάλλουν και επιταχύνουν την απόπτωση των νευρώνων. Αυτοί οι μηχανισμοί είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη της εξέλιξης της ΔΑ και της απώλειας της όρασης. Επί του παρόντος, η θεραπεία για τη ΔΑ στοχεύει αποκλειστικά τα αγγειακά συμπτώματα, αλλά είναι αναποτελεσματική στην αναστολή της εξέλιξης της ΔΑ ή, ακόμα περισσότερο, στην αποτροπή της έναρξής της. Σήμερα πλέον γίνεται εκτεταμένη έρευνα για την εύρεση νέων θεραπευτικών πρωτοκόλλων για τη ΔΑ, ειδικά στα αρχικά της στάδια. Επειδή ο νευροεκφυλισμός αποτελεί ένα από τα πρώτα στάδια εμφάνισης της νόσου, έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τους ερευνητές να αποσαφηνιστούν πλήρως τα μονοπάτια που εμπλέκονται στα αρχικά αυτά στάδια. Επίσης, λόγω της άμεσης επίδρασης που έχουν οι νευρώνες του αμφιβληστροειδούς στο αγγειακό του δίκτυο, είναι πιθανόν η αναστολή του νευροεκφυλισμού να μπορεί να αποτρέψει την εμφάνιση της ΔΑ. Ως εκ τούτου, η κατανόηση του μηχανισμού του νευροεκφυλισμού αποτελεί ένα πεδίο συνεχιζόμενου ενδιαφέροντος. Με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα, μπορούμε να καταλήξουμε ότι η περαιτέρω κατανόηση των μοριακών και των κυτταρικών νευροεκφυλιστικών μηχανισμών της ΔΑ θα συμβάλλει πιθανώς στην ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών θεραπειών.

ABSTRACT

The molecular and cellular mechanisms in the early stages of diabetic retinopathy

I.A. ANASTASIOU, E. REBELOS, K.N. TENTOLOURIS, E. APOSTOLOPOULOU, N. TENTOLOURIS

First Department of Propedeutic Internal Medicine and Diabetes Center, "Laiko" General Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2025, 42(1):29–41

Diabetic retinopathy (DR) remains the leading cause of blindness in people with diabetes aged 40–70 years. The pathogenesis of DR is a real and still-unanswered question. The primary stages of disease onset concern the changes in the neural layers of the retina, which precede the vascular changes that currently define DR. This has led to a rise in interest in the cellular and molecular pathophysiology of the neurodegeneration associated with DR. Reactive oxygen species (ROS) are known to originate from photoreceptors. Additionally, increased levels of immature neurotrophic factors have also been implicated in the neuronal viability pathway. Moreover, the apoptotic pathways of retinal neurons and glial cells in the context of DR are also particularly important. Furthermore, in the context of DR, the apoptotic pathways of glial cells and retinal neurons are very significant. Therapeutic treatments may be possible if the caspases implicated and the molecular pathways involved in each cell type are clarified. At the cellular level, retinal glial cells are responsible for neuronal support and homeostasis; their disruption has been studied to be

involved in DR neurodegeneration. Finally, retinal neurons cannot be completely separated from the vasculature. Further research into early neurodegeneration in DR provides the potential to find and target early changes in the retina of people with diabetes before detectable vascular changes.

Key words: Apoptosis, Diabetic retinopathy, Neurodegeneration, Oxidative stress, Retina

Βιβλιογραφία

- FOWLER MJ. Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clin Diabetes* 2008, 26:77–82
- WONG TY, SABANAYAGAM C. Strategies to tackle the global burden of diabetic retinopathy: From epidemiology to artificial intelligence. *Ophthalmologica* 2020, 243:9–20
- KLEIN BEK. Overview of epidemiologic studies of diabetic retinopathy. *Ophthalmic Epidemiol* 2007, 14:179–183
- FONG DS, AIELLO L, GARDNER TW, KING GL, BLANKENSHIP G, CAVALLERANO JD ET AL. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2003, 26(Suppl 1):S99–S102
- THYLEFORS B, NÉGREL AD, PARARAJASEGARAM R, DADZIE KY. Global data on blindness. *Bull World Health Organ* 1995, 73:115–121
- KLEIN R, KLEIN BE, MOSS SE, DAVIS MD, DeMETS DL. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol* 1984, 102:527–532
- WOLTER JR. Diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1961, 51:1123–1141
- LIU L, QUANG ND, BANU R, KUMAR H, THAM YC, CHENG CY ET AL. Hypertension, blood pressure control and diabetic retinopathy in a large population-based study. *PLoS One* 2020, 15:e0229665
- YAU JWY, ROGERS SL, KAWASAKI R, LAMOUREUX EL, KOWALSKI JW, BEK T ET AL. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2012, 35:556–564
- ROMERO-AROCA P. Targeting the pathophysiology of diabetic macular edema. *Diabetes Care* 2010, 33:2484–2485
- ZHANG X, ZENG H, BAO S, WANG N, GILLIES MC. Diabetic macular edema: New concepts in patho-physiology and treatment. *Cell Biosci* 2014, 4:27
- MIDENA E, VUJOSEVIC S. Diagnosing and monitoring diabetic macular edema: Structural and functional tests. *Int Ophthalmol* 2015, 35:623–628
- DHIRACHAIKULPANICH D, CHANTHONGDEE K, ZHENG Y, BEARE NAV. A systematic review of OCT and OCT angiography in retinal vasculitis. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2023, 13:1
- DE CARLO TE, ROMANO A, WAHEED NK, DUKER JS. A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). *Int J Retina Vitreous* 2015, 1:5
- CHALAM KV, SAMBHAV K. Optical coherence tomography angiography in retinal diseases. *J Ophthalmic Vis Res* 2016, 11:84–92
- GREIG EC, DUKER JS, WAHEED NK. A practical guide to optical coherence tomography angiography interpretation. *Int J Retina Vitreous* 2020, 6:55
- GUPTA MP, HERZLICH AA, SAUERT, CHAN CC. Retinal anatomy and pathology. *Dev Ophthalmol* 2015, 55:7–17
- SINGH C. Metabolism and vascular retinopathies: Current perspectives and future directions. *Diagnostics (Basel)* 2022, 12:903
- KOVÁCS-VALASEK A, RÁKT, PÖSTYÉNI E, CSUTAK A, GÁBRIEL R. Three major causes of metabolic retinal degenerations and three ways to avoid them. *Int J Mol Sci* 2023, 24:8728
- YANG Z, TAN TE, SHAO Y, WONG TY, LI X. Classification of diabetic retinopathy: Past, present and future. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022, 13:1079217
- LECHNER J, O'LEARY OE, STITT AW. The pathology associated with diabetic retinopathy. *Vision Res* 2017, 139:7–14
- FERREIRA JT, ALVES M, DIAS-SANTOS A, COSTA L, SANTOS BO, CUNHA JP ET AL. Retinal neurodegeneration in diabetic patients without diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016, 57:6455–6460
- ROSSINO MG, DAL MONTE M, CASINI G. Relationships between neurodegeneration and vascular damage in diabetic retinopathy. *Front Neurosci* 2019, 13:1172
- MUC R, SARACEN A, GRABSKA-LIBEREK I. Associations of diabetic retinopathy with retinal neurodegeneration on the background of diabetes mellitus. Overview of recent medical studies with an assessment of the impact on healthcare systems. *Open Med (Wars)* 2018, 13:130–136
- STEM MS, GARDNER TW. Neurodegeneration in the pathogenesis of diabetic retinopathy: Molecular mechanisms and therapeutic implications. *Curr Med Chem* 2013, 20:3241–3250
- TOPRAK I, FENKCI SM, YAYLALI GF, MARTIN C, YAYLALI V. Early retinal neurodegeneration in preclinical diabetic retinopathy: A multifactorial investigation. *Eye (Lond)* 2020, 34:1100–1107
- EISMA JH, DULLE JE, FORT PE. Current knowledge on diabetic retinopathy from human donor tissues. *World J Diabetes* 2015, 6:312–320
- FERRINGTON DA, FISHER CR, KOWLURU RA. Mitochondrial defects drive degenerative retinal diseases. *Trends Mol Med* 2020, 26:105–118
- CAMPOCHIARO PA. Molecular pathogenesis of retinal and chorioidal vascular diseases. *Prog Retin Eye Res* 2015, 49:67–81
- MADSEN-BOUTERSE SA, KOWLURU RA. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Rev Endocr Metab Disord* 2008, 9:315–327
- OLA MS, NAWAZ MI, SIDDIQUEI MM, AL-AMRO S, EL-ASRAR AMA. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic retinopathy. *J Diabetes Complications* 2012, 26:56–64
- PAYNE AJ, KAJA S, NAUMCHUK Y, KUNJUKUNJU N, KOULEN P. Antioxidant drug therapy approaches for neuroprotection in chronic diseases of the retina. *Int J Mol Sci* 2014, 15:1865–1886
- SASAKI M, OZAWA Y, KURIHARA T, KUBOTA S, YUKI K, NODA K ET AL.

- Neurodegenerative influence of oxidative stress in the retina of a murine model of diabetes. *Diabetologia* 2010, 53:971–979
34. ANASTASIOU IA, TENTOLOURIS KN, LAMBADIARI V, ELEFThERiADOU I, TEKTONIDOU M, TENTOLOURIS N. Effects of advanced glycation end products via oxidative stress on beta cells: Insights from *in vitro* and *in vivo* studies and update on emerging therapies. *Mini Rev Med Chem* 2023, 23:2041–2052
 35. ANASTASIOU IA, ELEFThERiADOU I, TENTOLOURIS A, KOLIAKI C, KOSTA OA, TENTOLOURIS N. CDATA[the effect of oxidative stress and antioxidant therapies on pancreatic β -cell dysfunction: Results from *in vitro* and *in vivo* studies. *Curr Med Chem* 2021, 28:1328–1346
 36. KANG Q, YANG C. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biol* 2020, 37:101799
 37. MILLER DJ, CASCIO MA, ROSCA MG. Diabetic retinopathy: The role of mitochondria in the neural retina and microvascular disease. *Antioxidants (Basel)* 2020, 9:905
 38. KADŁUBOWSKA J, MALAGUARNERA L, WAŻ P, ZORENA K. Neurodegeneration and neuroinflammation in diabetic retinopathy: Potential approaches to delay neuronal loss. *Curr Neuropharmacol* 2016, 14:831–839
 39. IGHODARO OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother* 2018, 108:656–662
 40. WU MY, YANG GT, LAI TT, LI CJ. The oxidative stress and mitochondrial dysfunction during the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev* 2018, 2018:3420187
 41. THAKUR S, GUPTA SK, ALI V, SINGH P, VERMA M. Aldose reductase: A cause and a potential target for the treatment of diabetic complications. *Arch Pharm Res* 2021, 44:655–667
 42. JULIUS A, RENUKA RR, HOPPER W, RAGHU PB, RAJENDRAN S, SRINIVASAN S ET AL. Inhibition of aldose reductase by novel phytochemicals: A heuristic approach to treating diabetic retinopathy. *Evid Based Complement Alternat Med* 2022, 2022:9624118
 43. RAMIREZ MA, BORJA NL. Epalrestat: An aldose reductase inhibitor for the treatment of diabetic neuropathy. *Pharmacotherapy* 2008, 28:646–655
 44. SUN W, OATES PJ, COUTCHER JB, GERHARDINGER C, LORENZI M. A selective aldose reductase inhibitor of a new structural class prevents or reverses early retinal abnormalities in experimental diabetic retinopathy. *Diabetes* 2006, 55:2757–2762
 45. MENDONCA HR, CARPI-SANTOS R, DA COSTA CALAZA K, MARTINEZ AMB. Neuroinflammation and oxidative stress act in concert to promote neurodegeneration in the diabetic retina and optic nerve: Galectin-3 participation. *Neural Regen Res* 2020, 15:625–635
 46. AIELLO LP, CLERMONT A, ARORA V, DAVIS MD, SHEETZ MJ, BURSELL SE. Inhibition of PKC beta by oral administration of ruboxistaurin is well tolerated and ameliorates diabetes-induced retinal hemodynamic abnormalities in patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006, 47:86–92
 47. REICHARDT LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006, 361:1545–1564
 48. MOHAMED R, EL-REMESSY AB. Imbalance of the nerve growth factor and its precursor: Implication in diabetic retinopathy. *J Clin Exp Ophthalmol* 2015, 6:483
 49. KUMAR A, PANDEY RK, MILLER LJ, SINGH PK, KANWAR M. Müller glia in retinal innate immunity: A perspective on their roles in endophthalmitis. *Crit Rev Immunol* 2013, 33:119–135
 50. TIVERON C, FASULO L, CAPSONI S, MALERBA F, MARINELLI S, PAOLETTI F ET AL. ProNGF\NGF imbalance triggers learning and memory deficits, neurodegeneration and spontaneous epileptic-like discharges in transgenic mice. *Cell Death Differ* 2013, 20:1017–1030
 51. FICO E, ROSSO P, TRIACA V, SEGATTO M, LAMBIASE A, TIRASSA P. NGF prevents loss of Trka/VEGFR2 cells, and VEGF isoform dysregulation in the retina of adult diabetic rats. *Cells* 2022, 11:3246
 52. JINDAL V. Neurodegeneration as a primary change and role of neuroprotection in diabetic retinopathy. *Mol Neurobiol* 2015, 51:878–884
 53. BATHINA S, DAS UN. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Arch Med Sci* 2015, 11:1164–1178
 54. OKOYE G, ZIMMER J, SUNG J, GEHLBACH P, DEERING T, NAMBU H ET AL. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor preserves retinal function and slows cell death from rhodopsin mutation or oxidative damage. *J Neurosci* 2003, 23:4164–4172
 55. LaVAIL MM, YASUMURA D, MATTHES MT, LAU-VILLACORTA C, UNOKI K, SUNG CH ET AL. Protection of mouse photoreceptors by survival factors in retinal degenerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998, 39:592–602
 56. KUMAR S. Caspase function in programmed cell death. *Cell Death Differ* 2007, 14:32–43
 57. ADAMIEC-MROZCEK J, ZAJĄC-PYTRUS H, MISIUK-HOJŁO M. Caspase-dependent apoptosis of retinal ganglion cells during the development of diabetic retinopathy. *Adv Clin Exp Med* 2015, 24:531–535
 58. GREEN DR, LLAMBI F. Cell death signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2015, 7:a006080
 59. TSUJIMOTO Y. Role of Bcl-2 family proteins in apoptosis: Apoptosomes or mitochondria? *Genes Cells* 1998, 3:697–707
 60. HU Y, DING L, SPENCER DM, NÚÑEZ G. WD-40 repeat region regulates Apaf-1 self-association and procaspase-9 activation. *J Biol Chem* 1998, 273:33489–33494
 61. ELMORE S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007, 35:495–516
 62. BARBER AJ. Diabetic retinopathy: Recent advances towards understanding neurodegeneration and vision loss. *Sci China Life Sci* 2015, 58:541–549
 63. SANTIAGO AR, CRISTÓVÃO AJ, SANTOS PF, CARVALHO CM, AMBRÓSIO AF. High glucose induces caspase-independent cell death in retinal neural cells. *Neurobiol Dis* 2007, 25:464–472
 64. ABU-EL-ASRAR AM, DRALANDS L, MISSOTTEN L, AL-JADAAN IA, GEBOES K. Expression of apoptosis markers in the retinas of human subjects with diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004, 45:2760–2766
 65. ABU EL-ASRAR AM, DRALANDS L, MISSOTTEN L, GEBOES K. Expression of antiapoptotic and proapoptotic molecules in diabetic retinas. *Eye (Lond)* 2007, 21:238–245
 66. KOWLURU RA, KOPPOLU P. Diabetes-induced activation of caspase-3 in retina: Effect of antioxidant therapy. *Free Radic Res*

- 2002, 36:993–999
67. KINOSHITA PF, LEITE JA, ORELLANA AMA, VASCONCELOS AR, QUINTAS LEM, KAWAMOTO EM ET AL. The influence of Na(+), K(+)-AT-Pase on glutamate signaling in neurodegenerative diseases and senescence. *Front Physiol* 2016, 7:195
 68. ZONG L, LIANG Z. Apoptosis-inducing factor: A mitochondrial protein associated with metabolic diseases – a narrative review. *Cardiovasc Diagn Ther* 2023, 13:609–622
 69. KERN TS, BARBER AJ. Retinal ganglion cells in diabetes. *J Physiol* 2008, 586:4401–4408
 70. FEENSTRA DJ, YEGO EC, MOHR S. Modes of retinal cell death in diabetic retinopathy. *J Clin Exp Ophthalmol* 2013, 4:298
 71. GALLUZZI L, VITALE I, ABRAMS JM, ALNEMRI ES, BAEHRECKE EH, BLA-GOSKLONNY MV ET AL. Molecular definitions of cell death sub-routines: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ* 2012, 19:107–120
 72. VALVERDE AM, MIRANDA S, GARCÍA-RAMÍREZ M, GONZÁLEZ-RODRIGUEZ Á, HERNÁNDEZ C, SIMÓ R. Proapoptotic and survival signaling in the neuroretina at early stages of diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2013, 19:47–53
 73. JOUSSEN AM, POULAKI V, MITSIADES N, KIRCHHOF B, KOIZUMI K, DÖHMEN S ET AL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs prevent early diabetic retinopathy via TNF-alpha suppression. *FASEB J* 2002, 16:438–440
 74. YE Q, LIN YN, XIE MS, YAO YH, TANG SM, HUANG Y ET AL. Effects of etanercept on the apoptosis of ganglion cells and expression of Fas, TNF- α , caspase-8 in the retina of diabetic rats. *Int J Ophthalmol* 2019, 12:1083–1088
 75. SINCLAIR SH, SCHWARTZ SS. Diabetic retinopathy – an underdiagnosed and undertreated inflammatory, neuro-vascular complication of diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019, 10:843
 76. BARBER AJ, NAKAMURA M, WOLPERT EB, REITER CE, SEIGEL GM, ANTONETTI DA ET AL. Insulin rescues retinal neurons from apoptosis by a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-mediated mechanism that reduces the activation of caspase-3. *J Biol Chem* 2001, 276:32814–32821
 77. HAMMES HP. Diabetic retinopathy: Hyperglycaemia, oxidative stress and beyond. *Diabetologia* 2018, 61:29–38
 78. ABCOUWER SF, GARDNER TW. Diabetic retinopathy: Loss of neuroretinal adaptation to the diabetic metabolic environment. *Ann N Y Acad Sci* 2014, 1311:174–190
 79. JONSSON KB, FRYDKJAER-OLSEN U, GRAUSLUND J. Vascular changes and neurodegeneration in the early stages of diabetic retinopathy: Which comes first? *Ophthalmic Res* 2016, 56:1–9
 80. YU Y, CHEN H, SU SB. Neuroinflammatory responses in diabetic retinopathy. *J Neuroinflammation* 2015, 12:141
 81. KERN TS. Interrelationships between the retinal neuroglia and vasculature in diabetes. *Diabetes Metab J* 2014, 38:163–170
 82. CANTÓ A, OLIVART, ROMERO FJ, MIRANDA M. Nitrosative stress in retinal pathologies: Review. *Antioxidants (Basel)* 2019, 8:843
 83. GOLDSTEIN IM, OSTWALD P, ROTH S. Nitric oxide: A review of its role in retinal function and disease. *Vision Res* 1996, 36:2979–2994
 84. OPATRILOVA R, KUBATKA P, CAPRND A M, BÜSSELBERG D, KRASNIK V, VESELY P ET AL. Nitric oxide in the pathophysiology of retinopathy: Evidences from preclinical and clinical researches. *Acta Ophthalmol* 2018, 96:222–231
 85. ZHENG L, DU Y, MILLER C, GUBITOSI-KLUG RA, KERN TS, BALL S ET AL. Critical role of inducible nitric oxide synthase in degeneration of retinal capillaries in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2007, 50:1987–1996
 86. NIEVES BJ, D'AMORE PA, BRYAN BA. The function of vascular endothelial growth factor. *Biofactors* 2009, 35:332–337
 87. WANG JJ, ZHU M, LE YZ. Functions of Müller cell-derived vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *World J Diabetes* 2015, 6:726–733
 88. VECINO E, RODRIGUEZ FD, RUZAF A N, PEREIRO X, SHARMA SC. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. *Prog Retin Eye Res* 2016, 51:1–40
 89. LE YZ. VEGF production and signaling in Müller glia are critical to modulating vascular function and neuronal integrity in diabetic retinopathy and hypoxic retinal vascular diseases. *Vision Res* 2017, 139:108–114
 90. BEHL T, KOTWANI A. Exploring the various aspects of the pathological role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in diabetic retinopathy. *Pharmacol Res* 2015, 99:137–148

Corresponding author:

I.A. Anastasiou, First Department of Propedeutic Internal Medicine and Diabetes Center, “Laiko” General Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, 75 Mikras Asias street, 115 27 Athens, Greece
e-mail: anastasiouiwanna@gmail.com

.....