

炎症在糖尿病视网膜病变中的作用

李秀¹, 刘畅²

引用:李秀,刘畅. 炎症在糖尿病视网膜病变中的作用. 国际眼科杂志 2021;21(8):1368-1372

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81900725);四川养老与老年健康协同创新中心招标项目(No.YLZBZ1812);四川省教育厅自然科学基金项目(No.18ZB0159);成都医学院科研基金项目(No.CYZYB20-15,CYZ16-08);四川省大学生创新创业训练计划项目(No.202013705087)

作者单位:(610500)中国四川省成都市,成都医学院¹人体解剖与组织胚胎学教研室 发育与再生四川省重点实验室;²基础医学院 四川养老与老年健康协同创新中心老年心血管疾病研究所

作者简介:李秀,硕士,讲师,研究方向:糖尿病及其并发症。

通讯作者:刘畅,博士,讲师,研究方向:糖尿病及其并发症. liuchang@cmc.edu.cn

收稿日期:2020-08-31 修回日期:2021-06-28

摘要

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病(DM)最常见的微血管慢性并发症之一,其发病机制复杂,一直是国内外的研究热点之一。神经退行性病变、炎症和血管交替的再生与损伤共同促进DR的发生发展。近年来,越来越多的证据表明,视网膜的慢性低度炎症是DR的一个关键因素,是DR更为早期的表现,然而确切的分子机制尚不完全清楚。本文就炎症在DR发病机制中的作用及干预机制进行综述。

关键词:炎症;糖尿病视网膜病变;作用

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.8.11

The role of retinal microglia in diabetic retinopathy

Xiu Li¹, Chang Liu²

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81900725); Collaborative Innovation Center of Sichuan for Elderly Care and Health, Chengdu Medical College (No. YLZBZ1812); Natural Foundation of the Education Department of Sichuan Province (No.18ZB0159); Natural Foundation of Chengdu Medical College (No.CYZYB20-15, CYZ16-08); Innovation and Undertaking Training Program for College Students of Sichuan Province (No.202013705087)

¹Department of Anatomy and Histology and Embryology; Development and Regeneration Key Lab of Sichuan Province;

²Department of Basic Medicine; Chengdu Medical College Institute of Geriatric Cardiovascular Disease, Chengdu 610500, Sichuan Province, China

Correspondence to: Chang Liu. Department of Basic Medicine; Chengdu Medical College Institute of Geriatric Cardiovascular

Disease, Chengdu 610500, Sichuan Province, China. liuchang@cmc.edu.cn

Received:2020-08-31 Accepted:2021-06-28

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the most common chronic microvascular complications of diabetes. Due to its complex pathogenesis, DR has been an extensively international investigated topic over the past few decades. Neurodegeneration, inflammation and vascular alternately regeneration and injury could promote pathogenesis of DR. Recently more and more evidence showed that DR retinal chronic low rate could be a key factor in DR, which is a more early manifestation of DR. However, the exact molecular mechanism of its inflammation is not still clear so far. In this article, we will review the role of inflammation and its intervention mechanism in DR.

• KEYWORDS: inflammation; diabetic retinopathy; role

Citation: Li X, Liu C. The role of retinal microglia in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2021;21(8):1368-1372

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)的一种常见的微血管并发症,也是全世界20~75岁人群视力损害致盲的主要原因^[1]。其基本病理改变是血-视网膜屏障(blood retinal barrier, BRB)的破坏和视网膜新生血管的形成。DR按疾病的进程分为非增殖性DR(non proliferative diabetic retinopathy, NPDR)和增殖性DR(proliferative diabetic retinopathy, PDR),NPDR视网膜出现微血管瘤、出血、渗出等表现,而PDR以形成新生血管为主要特点^[2]。虽然DR被认为是一种微血管疾病,但越来越多的证据支持视网膜慢性低度炎症和神经变性才是DR更为早期的表现,神经退行性病变、炎症和血管交替的再生与损伤共同促进DR的发生发展^[3]。本文就炎症在DR发病机制中的作用及干预机制进行综述。

1 DR中的炎症反应

炎症是机体对损伤或压力的非特异性反应,越来越多的证据表明,炎症是DR发展的关键因素^[4]。在DR发展过程中,视网膜血流量增加、白细胞异常淤滞、中性粒细胞和巨噬细胞浸润、补体和小胶质细胞活化、细胞因子上调、血管通透性增加和组织水肿、这些视网膜慢性炎症的病理表现在动物模型和DR患者中已被证实^[5-6]。此外,DR动物模型的研究证实,抑制或敲除促炎因子可抑制糖尿病诱导的视网膜血管和神经退行性病变^[7]。

糖尿病患者血清和眼组织(玻璃体和房水)中多种炎症细胞因子和趋化因子升高,在 NPDR 患者眼组织中发现多种炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 和单核细胞趋化因子(monocyte chemotactic protein, MCP-1)等增加,最近研究报道,在患有 NPDR 的糖尿病患者眼中,IL-8 和 TNF- α 的水平甚至比患有活动性 PDR 的患者更高^[8-9]。在缺血小鼠模型中,一些细胞因子如巨噬细胞炎症蛋白-1(MIP-1)、IL-1 和 IL-3 等这些炎症介质的增加先于新生血管的形成,被认为是早期糖尿病视网膜神经细胞死亡的原因,活化的小胶质细胞、内皮细胞、大胶质细胞甚至后来的神经元产生的这些细胞因子的增加,说明了这些炎症细胞因子导致的炎症反应在 DR 早期及整个 DR 发生发展中一直存在^[10]。目前还没有有效的生物标记物来监测 DR 的严重程度或有效地对患者进行分类,以便对治疗效果进行最佳评估,但最近有研究指出,随着 DR 从 NPDR 向 PDR 的发展,IL-6 水平与视网膜黄斑厚度呈正相关,同时玻璃体内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、IL-6 和 MCP-1 的浓度也会增加^[11]。以上提及的 DR 中各种炎症介质被激活后导致的炎症反应的信号路径目前尚不清楚。

2 炎症在 DR 神经变性中的作用

视网膜是中枢神经系统的一部分,视网膜神经主要由神经元及其周围的神经胶质细胞构成,参与光传导、调制和信号传递^[12]。其中,神经元由光感受器、双极细胞、无长突细胞和神经节细胞构成,DR 中神经元受损是最早发现的变化之一。在糖尿病视网膜神经节的动物模型中,神经元丢失最早在高血糖诱导后 5wk 开始,db/db 糖尿病小鼠从 8 周龄视网膜开始出现神经变性^[13-14]。

视网膜神经保护介质和促炎细胞因子的不平衡参与了 DR 中神经变性的发展。体外研究证明,高血糖诱导视网膜神经元及胶质细胞为促炎表型,视网膜中高血糖导致神经毒性因子,如谷氨酸、氧化应激、半胱氨酸蛋白酶(caspase-3)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)和氧化亚氮的产生,同时神经营养介质如神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、色素上皮衍生因子(pigment epithelial-derived factor, PEDF)、铁反应元件结合蛋白(iron reactive element binding protein, IRBP)和生长抑素下调,神经元中炎症转录因子 NF- κ B 也被激活,导致神经元功能障碍,引起神经变性^[15]。

最近的研究发现,糖尿病小鼠的光感受器细胞中炎症蛋白血管内皮细胞黏附分子-1(ICAM-1)、COX-2 和 iNOS 的 mRNA 和蛋白表达水平升高,在体外研究表明葡萄糖水平升高时,光感受器细胞释放的可溶性介质通过转化生长因子(TGF)激活酶和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NADP 氧化酶)信号调节可诱导白细胞和内皮细胞的 TNF- α 的表达,因此,光感受器细胞是糖尿病视网膜炎症蛋白的来源,释放的可溶性介质可导致导致视网膜内皮细胞死亡^[16-17]。

3 炎症在 DR 血-视网膜屏障破坏中的作用

BRB 具有血-脑屏障的特征,视网膜微血管及胶质细胞形成了紧密的 BRB,限制了毒素和病原体的进入,并通

过限制白细胞向周围组织的迁移使视网膜成为免疫特权组织。因此,任何可能导致 BRB 破裂的微血管损伤都是有害的。

PDR 患者视网膜以病理性新生血管生成、VEGF 升高,内皮细胞增殖,视网膜瘢痕和脱离为特征,新生血管比较脆弱,液体和蛋白质容易渗入,导致视网膜增厚,黄斑水肿(diabetic macular edema, DME),导致严重的视力损害。在 DR 微血管损伤和视网膜病变的发生发展过程中,多种炎症细胞因子和趋化因子诱导糖尿病视网膜微血管连接蛋白的紊乱和重新分布从而参与了 BRB 的分解,导致血浆通透性增加和外渗^[3,18]。内皮细胞极易受到细胞因子的影响,上调的促炎细胞因子可能通过与内皮细胞的结合直接诱导血管形成,也可能通过诱导内皮细胞产生促血管生成介质间接诱导血管形成,体外研究表明^[19],糖尿病相关的内皮损伤主要是由高糖引起的内皮细胞释放的细胞因子尤其是 IL-1 β 、TNF- α 和 IFN- γ 引起的,这些细胞因子可诱导内皮细胞衍生细胞因子 IL-8、MCP-1、VEGF 的表达。

视网膜缺血缺氧对内皮细胞有较强的刺激作用。最近有学者通过氧诱导性视网膜病变(oxygen-induced retinopathy, OIR)大鼠模型模仿人类 PDR 患者,该模型利用低氧生成新生血管和毛细血管非灌注,研究发现,与对照组相比 OIR 大鼠视网膜 NF- κ B 基因表达和 IL-6、TNF- α 蛋白表达显著增加。在 DR 的早期和后期,OIR 模型的研究有力地支持了血管改变和炎症之间的相互联系^[20]。细胞内葡萄糖过量不仅直接损伤神经元,还可提高 ICAM-1 的表达水平,激活关键的黏附途径,使白细胞及免疫细胞在血管表面积聚从而使得对血管膜的黏附性增加,并导致炎症细胞因子的上调并促进视网膜的炎症级联反应,使视网膜血管阻塞、缺血和 BRB 功能障碍^[19]。高血糖引起的内皮功能障碍,还导致细胞多糖-蛋白质复合物 Glycocalyx 脱落,继而介导白细胞黏附增加,降低 NO 的生物利用度,并增加活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和氧化应激。研究者发现,ROS 是连接高血糖和所有通路激活的靶点^[21],高血糖诱导晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)、ROS 和 NOS 的形成,从而激活 NF- κ B, NF- κ B 反过来会促进炎症细胞因子(如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)和趋化因子(如 CCL2、CCL5、CCL12)的表达,从而促使 DR 新生血管形成并增加血管通透性,导致 BRB 破裂。在 TNF- α 基因敲除的大鼠中,白细胞黏附和迁移显著减少, TNF- α 通过激活蛋白激酶 C, PKC 促进紧密连接蛋白-1(zonula occludens, ZO-1)下调,导致紧密连接组织改变并增加血管的通透性和 BRB 分解^[22]。IL-1 β 是一种多功能促炎细胞因子,促进白细胞的募集和组胺的释放,导致 BRB 的破坏^[23]。BRB 的渗漏允许血清蛋白,如循环细胞因子和趋化因子,以及高血糖和 AGEs 进入视网膜实质,从而有助于激活小胶质细胞和免疫细胞浸润到视网膜,因此, BRB 破坏也可增加神经毒性有助于神经变性。

以上研究提示:白细胞淤滞是 BRB 破坏、内皮细胞死亡的主要原因,因此,寻找导致白细胞黏附增加的内皮细胞表面变化因素可能是治疗 DR 的重要靶点,同时

白细胞淤滞与炎症的时间关系及确切机制有待进一步研究。

microRNA 在 DR 及其并发症的发生发展中发挥重要调控,可作为视网膜病变的生物标志物,靶基因 microRNAs 调控可促进玻璃体内大出血、蛋白渗漏、瘢痕形成及异常血管新生,最终导致纤维化和失明。目前,对视网膜 microRNA 和炎症反应的相关性研究较少,有研究报道^[24-25],microRNAs 可调控代谢性疾病炎症,参与视网膜病变巨噬细胞的激活和募集,并能够靶向调控 VEGF 的表达。IL-6 诱导转录激活因子 3 (STAT3) 信号传导,从而增加视网膜内皮通透性和血管通透性使 VEGF 表达失衡引起紧密连接蛋白-5 (ZO-5) 和闭锁蛋白-1 表达显著降低,进而造成血管通透性增加。miR-146a 在高糖条件下降低了 IL-6/STAT3/VEGF 的信号转导,并且该 microRNA 的过度表达减少了细胞凋亡,以上提示,microRNA 有望成为糖尿病及其并发症的新的治疗靶点,miR-146a 是 DR 中减少炎症和退化性变的潜在靶点。

4 炎症相关神经胶质细胞在 DR 中的作用

神经胶质细胞联系着视网膜神经元与血管系统,是神经元功能的关键调节器,主要包括小胶质细胞、Müller 细胞和星形胶质细胞,它们不仅提供结构支持,还通过吞噬碎片、调节新陈代谢、神经递质及营养因子的循环,参与维持视网膜的复杂稳态。DR 中炎症的最初迹象之一是胶质细胞和小胶质细胞的激活。传统观点认为,小胶质细胞是第一反应者,引发炎症反应,参与触发 Müller 细胞增生。

4.1 小胶质细胞在 DR 中的作用 小胶质细胞是中枢神经系统的免疫细胞,与神经元相互作用维持视网膜正常生长、免疫监视、突触修剪等。在高血糖、缺血缺氧等诱导下,小胶质细胞处于激活状态,正常情况下,小胶质细胞的活化具有保护作用,但激活失调可能导致其免疫反应性和迁移特性增强,并使促炎和抗炎性介质(如白细胞介素、细胞因子、趋化因子、一氧化氮和活性氧等)增加,参与视网膜的神经和血管损伤^[26]。体外研究表明^[13,24],激活的小胶质细胞有促炎(M1)和抗炎(M2)两种极化状态。因此,M2 极化状态认为可能是防治 DR 的治疗策略。

目前,DR 中小胶质细胞激活的确切机制尚不完全清楚。但在 DR 过程中,基因变异和遗传易感性调控小胶质细胞的反应^[27]。使用组织学技术对 NPDR 患者视网膜横截面观察,在视网膜的丛状层发现大量的小胶质细胞,在 PDR 患者的组织中,在缺血区域和新生血管周围发现成簇的小胶质细胞,并且总数有更显著的上升^[28]。在啮齿动物视网膜中,糖尿病诱导后 1mo 小胶质细胞开始活化,4mo 后小胶质细胞侵入内丛状层。14~16mo 后,发现小胶质细胞迁移到外核和感光层^[29]。因此,早期监测小胶质细胞的时间进程和动态是慢性神经变性的敏感预测因素。

DR 视网膜中的高血糖引起细胞内线粒体衍生物 ROS、超氧化物的异常产生,导致细胞氧自由基的生成增多,进而激活下游细胞内信号通路活化小胶质细胞,释放大促炎因子,如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、淋巴毒素、MIP-1、MMPs 等,促进局部炎症及神经元损伤^[26]。高血糖还能够诱导细胞 PKC 激活和 AGEs 的生成和堆积,另外细胞内增多的 ROS 作为第二信使激活细胞外信号调节激

酶(ERK) /p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和核因子 NF- κ B 信号通路,促进小胶质细胞激活从而表达更多炎症因子,导致炎症级联反应^[30]。因此,通过抑制炎症和调控细胞内 ROS 能调节小胶质细胞促炎症促损伤作用,可能成为治疗 DR 的新靶点。

4.2 Müller 细胞在 DR 病变中的作用 Müller 细胞位于视网膜内界膜与外界膜之间,是视网膜的主要胶质细胞类型,在视网膜代谢和 BRB 功能方面具有重要调控作用。因此,对视网膜环境的任何干扰都会影响 Müller 细胞,进而影响整个视网膜。

在糖尿病患者的玻璃体检测和体外研究证明,Müller 细胞是许多生长因子、细胞因子和趋化因子的重要来源^[31]。在 DR 中,高糖环境可以诱导 Müller 细胞分泌胶质细胞源性神经生长因子(glia cell derived neurotrophic factor, GDNF),抗氧化剂等对神经元具有保护作用。在长期慢性高糖环境下,异常活化的 Müller 细胞中胶质原纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)、VEGF 和 IL-1 β 等炎性介质的表达增加导致视网膜的谷氨酸盐代谢紊乱和离子平衡紊乱,导致视网膜神经元凋亡、血管通透性改变,新生血管生成,BRB 的破坏,而且 IL-1 β 也可刺激 Müller 细胞分泌 VEGF,进一步破坏 BRB^[32-33]。在 STZ 诱导的糖尿病 6mo 后 Müller 细胞的基因表达谱发现,在 78 个改变的基因中,三分之一与炎症有关,包括补体因子、VEGF、ICAM-1 和 IL-1 β 。这些细胞因子能够刺激 Müller 胶质细胞产生其他细胞因子,从而产生炎症放大效应^[34]。Müller 细胞通过趋化和黏附细胞接触增加了跨整个视网膜层的炎症反应,因此,了解视网膜内 Müller 细胞的功能并在 DR 中恢复这种功能可能成为开发治疗 DR 的有效疗法。

4.3 星形胶质细胞在 DR 中的作用 星形胶质细胞主要位于神经纤维层和神经节细胞层,为神经元提供能量底物,并调节营养因子和抗氧化剂的产生。视网膜的血管区域富含星形胶质细胞,而中央凹等无血管区不含星形胶质细胞。在 DR 中,星形胶质细胞激活后,改变其形态,增殖,迁移并可以上调各种基因编码细胞因子、趋化因子与补体的表达,参与小胶质细胞、单核巨噬细胞、T 细胞和树突状细胞的募集,增强炎症反应,参与破坏 BRB 的完整性,促进视网膜变性^[7]。

近年来研究发现,参与胶质细胞发育的生长因子在密切调节视网膜微环境中也起着关键作用,因此胶质细胞代谢的变化和随后视网膜神经元的损伤先于微血管损伤,这也是造成视网膜神经系统早期损害的原因^[35]。在 DR 早期,神经元和胶质细胞之间的通讯破坏,功能失调的神经胶质细胞的串扰,引发炎症级联反应,持续的炎症反应导致胶质细胞增生肥大,失去功能,最终形成抑制轴突再生和神经元存活的胶质瘢痕^[33]。以上研究表明,神经胶质细胞对炎症反应的调节可能是预防 DR 早期神经元损伤的重要靶点,以此为靶点的抗炎药也可能是预防糖尿病血管改变和神经元变性的新疗法。

5 炎症靶向治疗 DR

越来越多的证据表明炎症是 DR 的一个关键因素,是 DR 更为早期的表现,因此,抑制炎症成为 DR 治疗的新方

向。目前,DR 的治疗方案主要是视网膜光凝疗法、手术和玻璃体腔注射抗 VEGF 类固醇等药物,这些治疗干预措施都有显著的副作用,并且只对那些视力已经受损、神经变性已经发生的 DR 晚期患者有用^[36-37]。在临床试验的研究中发现,通过阻断炎症分子 IL-1 β 抗体对减轻糖尿病性 DME 有很好的效果,治疗后视网膜新生血管稳定但没有消退^[38];在 DME 患者进行的另一项临床试验发现,利用靶向 MCP-1、CCR2/CCR5 受体的口服抑制剂可以提高视力和降低视网膜中央厚度^[39];非甾体类抗炎药阿司匹林能够抑制环氧化酶 COX 介导的 ICAM-1 表达和白细胞淤积,显著减轻早期 DR 患者视网膜微动脉瘤的发展^[40];四环素类抗生素可以减少炎症因子和细胞毒性物质释放,抑制视网膜炎症及神经元损伤,减轻 DME、血管渗漏,神经性疼痛,改善糖尿病患者的视觉功能^[41]。最近,利用内皮细胞上的特异性整合素拮抗剂 Risuteganib 来触发白细胞黏附和浸润,能够使 DME 患者的视力持续提高^[42];血管紧张素-2 是血管生成的重要调节因子,能够促进单核细胞的黏附和炎症,使用酪氨酸激酶 Tie-2 激活剂联合抗 VEGF 治疗能够显著提高 DME 患者的视力^[43];通过动物实验研究发现,低水平激光治疗能有效抑制 STZ 诱导的糖尿病大鼠超氧化物生成、白细胞减少和 ICAM-1 表达的增加,从而导致神经节细胞死亡的显著减少^[44]。最近研究报道,N-3 多不饱和脂肪酸通过抑制视网膜血管炎症损伤,增强内皮细胞的修复能力来预防 DR,这与它们从 M1 到 M2 表型的小胶质细胞极化的能力有关^[45]。因此,增加 M2 型小胶质细胞比例可能逆转 DR 的病理过程,达到治愈 DR 的目的。因此,通过鉴定不同类型小胶质细胞的活化标志或分泌因子以及极化状态具有潜在的早期诊断和治疗价值,但小胶质细胞活化标志和表达分泌物缺乏特异性,目前国内外对此尚无定论,这也是未来研究发展的方向和难点。

6 总结与展望

随着研究的不断深入,人们逐步发现 DR 中视网膜的所有主要细胞类型都发生了改变,近年来的临床和实验室研究证实,炎症在早期 DR 的发展中起着关键作用,并且贯穿 DR 的全过程,糖尿病环境下,视网膜的内皮细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞、Müller 细胞和神经元相互作用,引起炎症细胞因子表达增加并促进视网膜的炎症级联反应。因此,通过精准靶向调控炎症反应的以上相关因素是解决视网膜血管改变和神经元变性的新疗法,为了更好地了解 DR 患者眼部炎症的确切分子机制,仍需进行研究。

参考文献

- Romero-Aroca P, de la Riva-Fernandez S, Valls-Mateu A, et al. Changes observed in diabetic retinopathy: eight-year follow-up of a Spanish population. *Br J Ophthalmol* 2016;100(10):1366-1371
- 中华医学学会糖尿病学分会视网膜病变学组. 糖尿病视网膜病变防治专家共识. *中华糖尿病杂志* 2018;10(4):241-247
- Stitt AW, Curtis TM, Chen M, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res* 2016; 51: 156-186
- Sasongko MB, Wong TY, Jenkins AJ, et al. Circulating markers of inflammation and endothelial function, and their relationship to diabetic retinopathy. *Diabet Med* 2015;32(5):686-691

- Vujosevic S, Micera A, Bini S, et al. Proteome analysis of retinal Glia cells-related inflammatory cytokines in the aqueous humour of diabetic patients. *Acta Ophthalmol* 2016;94(1):56-64
- Cardona SM, Mendiola AS, Yang YC, et al. Disruption of fractalkine signaling leads to microglial activation and neuronal damage in the diabetic Retina. *ASN Neuro* 2015;7(5):175909141560820
- Vallejo S, Palacios E, Romacho T, et al. The interleukin-1 receptor antagonist anakinra improves endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol* 2014;13:158
- Boss JD, Singh PK, Pandya HK, et al. Assessment of neurotrophins and inflammatory mediators in vitreous of patients with diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(12):5594-5603
- Vujosevic S, Micera A, Bini S, et al. Aqueous humor biomarkers of Müller cell activation in diabetic eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(6):3913-3918
- Wu HL, Hwang DK, Song XD, et al. Association between aqueous cytokines and diabetic retinopathy stage. *J Ophthalmol* 2017; 2017:9402198
- Rusnak S, Vrzalova J, Sobotova M, et al. The measurement of intraocular biomarkers in various stages of proliferative diabetic retinopathy using multiplex xMAP technology. *J Ophthalmol* 2015; 2015:424783
- Madeira MH, Boia R, Santos PF, et al. Contribution of microglia-mediated neuroinflammation to retinal degenerative diseases. *Mediators Inflamm* 2015;2015:673090
- Arroba AI, Alcalde-Estevéz E, García-Ramírez M, et al. Modulation of microglia polarization dynamics during diabetic retinopathy in db/db mice. *Biochim Biophys Acta* 2016;1862(9):1663-1674
- Bogdanov P, Corraliza L, Villena JA, et al. The db/db mouse: a useful model for the study of diabetic retinal neurodegeneration. *PLoS One* 2014;9(5):e97302
- Simó R, Hernández C. Novel approaches for treating diabetic retinopathy based on recent pathogenic evidence. *Prog Retin Eye Res* 2015;48:160-180
- Kern TS, Berkowitz BA. Photoreceptors in diabetic retinopathy. *J Diabetes Investig* 2015;6(4):371-380
- Tonade D, Liu HT, Kern TS. Photoreceptor cells produce inflammatory mediators that contribute to endothelial cell death in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(10):4264-4271
- Das A, Stroud S, Mehta A, et al. New treatments for diabetic retinopathy. *Diabetes Obes Metab* 2015;17(3):219-230
- Stitt AW, Jenkins AJ, Cooper ME. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Expert Opin Investig Drugs* 2002;11(9):1205-1223
- Cai M, Zhang XD, Li YY, et al. Toll-like receptor 3 activation drives the inflammatory response in oxygen-induced retinopathy in rats. *Br J Ophthalmol* 2015;99(1):125-132
- Rübsam A, Parikh S, Fort PE. Role of Inflammation in Diabetic Retinopathy. *Int J Mol Sci* 2018;19(4):942
- Dong N, Chang L, Wang B, et al. Retinal neuronal Mep-1-induced by AGEs Stimulates TNF- α expression in rat microglia Via P38, ERK, and Nf- κ B Pathways. *Mol Vis* 2014;20:616-628
- Ildefonso CJ, Jaime H, Rahman MM, et al. Gene delivery of a viral anti-inflammatory protein to combat ocular inflammation. *Hum Gene Ther* 2015;26(1):59-68
- Yun JH, Park SW, Kim KJ, et al. Endothelial STAT3 activation increases vascular leakage through downregulating tight junction proteins: implications for diabetic retinopathy. *J Cell Physiol* 2017; 232(5): 1123-1134
- Ye EA, Steinle JJ. miR-146a suppresses STAT3/VEGF pathways and

reduces apoptosis through IL-6 signaling in primary human retinal microvascular endothelial cells in high glucose conditions. *Vision Res* 2017;139:15-22

26 Grigsby JG, Cardona SM, Pouw CE, et al. The role of microglia in diabetic retinopathy. *J Ophthalmol* 2014;2014:705783

27 Sorrentino FS, Allkabs M, Salsini G, et al. 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

28 Karlstetter M, Scholz R, Rutar M, et al. Retinal microglia: just bystander or target for therapy? *Prog Retin Eye Res* 2015;45:30-57

29 Yu Y, Chen H, Su SB. Neuroinflammatory responses in diabetic retinopathy. *J Neuroinflammation* 2015;12:141

30 Swaroop S, Sengupta N, Suryawanshi AR, et al. HSP60 plays a regulatory role in IL-1 β -induced microglial inflammation via TLR4-p38 MAPK axis. *J Neuroinflammation* 2016;13:27

31 Eastlake K, Banerjee PJ, Angbohang A, et al. Müller Glia as an important source of cytokines and inflammatory factors present in the gliotic Retina during proliferative vitreoretinopathy. *Glia* 2016;64(4):495-506

32 Midena E, Pilotto E. Emerging Insights into Pathogenesis. *Dev Ophthalmol* 2017;60:16-27

33 Roy S, Amin S, Roy S. Retinal fibrosis in diabetic retinopathy. *Exp Eye Res* 2016;142:71-75

34 Liu XF, Ye F, Xiong HB, et al. IL-1 β upregulates IL-8 production in human Müller cells through activation of the p38 MAPK and ERK1/2 signaling pathways. *Inflammation* 2014;37(5):1486-1495

35 Fu SH, Dong SQ, Zhu ML, et al. Müller Glia are a major cellular source of survival signals for retinal neurons in diabetes. *Diabetes* 2015;64(10):3554-3563

36 Li L, Heiduschka P, Alex AF, et al. Behaviour of CD11b-positive cells in an animal model of laser-induced choroidal neovascularisation.

Ophthalmologica 2017;237(1):29-41

37 Regillo CD, Callanan DG, Do DV, et al. Use of corticosteroids in the treatment of patients with diabetic macular edema who have a suboptimal response to anti-VEGF; recommendations of an expert panel. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2017;48(4):291-301

38 Stahel M, Becker M, Graf N, et al. Systemic interleukin 1 β inhibition in proliferative diabetic retinopathy: a prospective open-label study using canakinumab. *Retina* 2016;36(2):385-391

39 Gale JD, Berger B, Gilbert S, et al. A CCR2/5 inhibitor, PF-04634817, is inferior to monthly ranibizumab in the treatment of diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(6):2659-2669

40 Eizayaga FX, Belon P, Desplat V, et al. Effects of ultra-low-dose aspirin in thrombosis and haemorrhage. *Homeopathy* 2019;108(3):158-168

41 Santa-Cecilia FV, Socias B, Ouidja MO, et al. Doxycycline suppresses microglial activation by inhibiting the p38 MAPK and NF-kB signaling pathways. *Neurotox Res* 2016;29(4):447-459

42 Shaw LT, Mackin A, Shah R, et al. Risuteganib—a novel integrin inhibitor for the treatment of non-exudative (dry) age-related macular degeneration and diabetic macular edema. *Expert Opin Investig Drugs* 2020;29(6):547-554

43 The Time-2b Study: A Study of AKB-9778, a Novel Tie 2 Activator, in Patients with Non-Proliferative Diabetic Retinopathy (NPDR) (Time-2b). Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03197870> (accessed on 30 October 2017)

44 Tang J, Herda AA, Kern TS. Photobiomodulation in the treatment of patients with non-center-involving diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol* 2014;98(8):1013-1015

45 Serini S, Calviello G. Reduction of oxidative/nitrosative stress in brain and its involvement in the neuroprotective effect of n-3 PUFA in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2016;13(2):123-134