



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE BIOMEDICHE

Coordinatore del Corso: Prof. Andrea Fausto Piana

**CURRICULUM IN MEDICINA DI GENERE DELL'UOMO DELLA DONNA E DEL
BAMBINO**

Responsabile di Curriculum: Prof. Giampiero Capobianco

XXIX CICLO

Differenze di sesso-genere nella Retinopatia Diabetica

Coordinatore:

Prof. Andrea Fausto Piana

Tutor:

Prof. Giampiero Capobianco

Cotutor:

Dott. Giancarlo Tonolo

Tesi di dottorato di:

Dott.ssa Sara Cherchi

Anno Accademico 2015 – 2016

Sommario

ABSTRACT	3
INTRODUZIONE	4
Il diabete mellito	7
Epidemiologia della retinopatia diabetica	9
Storia naturale e classificazione della retinopatia diabetica.....	11
Meccanismi patogenetici della retinopatia.....	21
Anatomia patologica della retinopatia diabetica.....	22
Iperglicemia e disfunzione endoteliale retinica	23
Metabolismo e disfunzione endoteliale retinica.....	26
Alterazioni della neuroretina	31
Differenze di sesso-genere nel diabete.....	32
Differenze di sesso-genere nella retinopatia diabetica	33
SCOPO DELLA TESI.....	36
MATERIALI E METODI.....	37
Retinografia.....	37
Approvazione del Comitato etico.....	40
Pazienti.....	40
Analisi dei dati.....	43
DISCUSSIONE.....	53
CONCLUSIONI.....	57
BIBLIOGRAFIA.....	58

ABSTRACT

Aim and background: Diabetic retinopathy (DR) is one of the main causes of visual loss in individuals aged 20-64 years old. Some evidence indicate clear sex gender differences in diabetes: renal disease progresses at a faster rate in females compared with males and women benefit less from treatment than men do, while studies focused on sex-gender differences in diabetic retinopathy do not give clear indications. The aim of my study was to investigate sex gender difference in DR.

Methods: During the period 2015-2016 we performed 3573 (2159 males, 1414 females) retinographies in type 2 diabetic patients referring to our outpatient clinic. Each imagine was independently evaluate by an experienced diabetologist and one oculist. In case of disagreement, patient was examined under mydriasis. Patients were classified as having: a)No DR (NRD), b) non proliferative DR (RDNP), c) pre-proliferative and proliferative DR (RDPP), e) maculopathy (MAC). Each patient had full clinical and laboratory data in the database.

Results: The two groups were homogeneous for age, diabetes duration, BMI, glicometabolic and lipidic assess, kidney function and ACEI use. In general 75,2 % were NRD, 17,2% RDNP, 3,4% RDPP and 4,2% MAC without sex gender differences.

Conclusion: Our study shows: a)No sex gender differences in the different classes of DR for any of the analyzed parameters , b)Retinography allows to exclude DR in 75,2% of our patients avoiding the more expensive oculist assessment.

INTRODUZIONE

E' ormai ben noto che la salute è fortemente influenzata dalle condizioni di vita (stili di vita) e dall'ambiente in cui una persona vive; queste influenze sono chiamate determinanti della salute e fra essi vi è certamente il genere. Storicamente, il termine "*genere*" deriva dal latino *genus* ed esprime il senso della Provenienza. Infatti, anche la divisione per *gentes* della società nell'antica Roma partiva dai comizi curiati costituiti *ex generibus hominum*, secondo quanto riportato da Gellio: "*Cum ex generibus hominum suffragium feratur*". Mentre il plurale *genera* è collegato alla radice del participio passato *genitus* da *-gignere*, nel senso di generare ed al greco *génos genous*, plurale *-géne*, che esprime ancor più il senso dell'origine, della provenienza, della progenie, della parentela, della famiglia, ma anche dell'universalità, degli uomini e delle donne, ben oltre il concetto di maschio e femmina. Dalla prima metà del XIV secolo agli anni Cinquanta-Settanta del secolo scorso, il termine *genere* è stato usato come sinonimo di sesso fino a quando Robert Stoller, (uno psicanalista), e John Money, (un endocrinologo), lo distinsero nettamente dal sesso parlando di "*identità di genere*". Questo per superare la contraddizione fra un sesso biologico e l'affermazione di un'identità sessuale derivata dalle aspettative sociali relative a quel determinato sesso (1). Da allora, il termine *genere* è sempre stato più utilizzato *per indicare l'influenza della società e della cultura*, mentre il termine *sesso* è stato usato *per indicare le differenze biologiche fra maschio e femmina*. I due termini, almeno nelle scienze sociali, sono addirittura diventati dicotomici (2). Tale dicotomia sottolinea che *il genere si modifica in funzione delle culture variando nel tempo e nello spazio* (si pensi al concetto di bellezza femminile nel corso dei secoli, o quello che, attualmente, esso significa nel mondo arabo od occidentale), *mentre il sesso è apparentemente invariabile*. Ma, come già sostenevano Money e Tucker (1975) e come poi

confermato grazie al diffondersi degli studi epigenetici, *“il sesso può non essere invariabile essendo soggetto a costanti modificazioni e aggiustamenti nel corso della vita”*. Per cui, come ben ipotizzava Gayle Rubin (1975), siamo di fronte a un *“sex-gender system”* ed è quindi necessario cessare di usare il dato biologico (sesso) in maniera pretestuosa per edificare un sistema binario dove la mascolinità prevaleva sulla femminilità (3). Tuttavia, il pensiero femminista, in un periodo storico dove si sosteneva, ad esempio, che le donne erano inadatte a guidare gli aerei perché una volta al mese erano emotivamente instabili (4), per superare il concetto deterministico *“biology is destiny”*, privilegia il genere sul sesso. Arrivando talvolta anche ad usarlo al posto di donna, tanto che si arriva a considerare *“il genere”* come genere femminile e quindi a commettere l’errore di perdere il maschile. Nelle scienze biomediche, spesso i due termini (sesso – genere) sono stati usati come sinonimi prevalendo il genere sul sesso, anche perché esso appariva politicamente più corretto. Tutto ciò ha prodotto una grande confusione e quindi *dobbiamo riaffermare con forza che quando parliamo di sesso-genere dobbiamo necessariamente intendere, almeno, il maschile ed il femminile. La medicina di sesso-genere quindi non è la medicina della donna ma la medicina degli uomini e delle donne*. Storicamente, le *donne* sono state considerate *“piccoli uomini”* con la sola esclusione degli organi deputati alla riproduzione tanto che si è parlato di *“Bikini Medicine”*. Se le donne sono state neglette e considerate simili all’uomo, altre categorie come gli omosessuali sono stati di fatto ignorati, tranne che per le malattie sessualmente trasmesse; così facendo *si è creata una medicina androcentrica focalizzata soprattutto, se non esclusivamente, sull’uomo caucasico giovane* (5). Ciò ha fatto sì che i *golden standard* per i criteri di normalità siano stati ottenuti con misurazioni effettuate, nella maggior parte dei casi, sull’uomo maschio caucasico. Perciò i *panel* di esperti e i comitati internazionali hanno estrapolato alla donna e ad altre minoranze i valori ottenuti in tale tipo di uomo

commettendo così un errore metodologico. Ciò ha inevitabilmente condotto a una medicina meno basata sull'evidenza nelle donne e per le altre minoranze. Le differenze sono numerose e significative. Ad esempio, le donne vivono più a lungo avendosi una prevalenza di donne fra gli anziani (6; 7). *Gap* che, nei paesi più industrializzati, si sta restringendo (8). La più lunga aspettativa di vita delle donne sembra dipendere sia da fattori biologici e sociali vedi l'adozione di stili di vita più salubri come un minor consumo di alcol e tabacco (9). E' stato, infatti, calcolato che in Europa il fumo potrebbe essere responsabile dal 10 al 60% del *gender gap* (10). Tuttavia, nel mondo animale, la più lunga aspettativa di vita è di solito appannaggio del sesso-genere che è omogametico (XX) verso quello non omogametico (XY) (10; 11) indicando anche l'importanza dei fattori genetici. La maggiore longevità della donna tuttavia si accompagna a una peggiore salute rispetto all'uomo (*paradosso donna*). Infatti, sopra i 65 anni, una percentuale maggiore di donne ha tre o più malattie croniche rispetto agli uomini. Inoltre, le donne soffrono di maggiore disabilità (12); nel nostro Paese, la disabilità femminile è doppia rispetto a quella maschile, come netta è la prevalenza delle donne nelle patologie psichiatriche, muscolo scheletriche ed in alcune patologie autoimmuni (6; 7). Ciò, associato alla più lunga aspettativa di vita della donna, fa sì che le donne anziane vivranno un periodo di solitudine, di malattia e di povertà (13).

Il diabete mellito

Il diabete mellito (DM) comprende una serie di alterazioni del metabolismo che condividono il fenotipo dell'iperglicemia, causati a seconda del tipo di diabete da difetti della secrezione insulinica, dell'azione insulinica sui tessuti periferici o da entrambi i meccanismi (14). Esistono differenti tipi di diabete mellito, causati tutti da una variabile interazione fra fattori genetici, ambientali e di stile di vita. La maggior parte delle tipologie di diabete può essere ricondotta a due grandi categorie: diabete mellito di tipo 1 (DM1) e di tipo 2 (DM2). Il tipo 1 rappresenta il 5-10 % di tutti i casi di diabete mellito, ed è causato dalla distruzione immuno-mediata delle beta cellule del pancreas, con una riduzione in termini assoluti della secrezione insulinica (15); il tipo 2 invece comprende all'incirca il 90 % di tutti i tipi di diabete mellito ed ha una eziopatogenesi decisamente più complessa, caratterizzata da una ridotta azione insulinica sui tessuti (insulinoresistenza) e da un difetto relativo di secrezione insulinica (16). Le manifestazioni di un DM2 conclamato vedono quindi un continuum patogenetico che parte da una iniziale insulinoresistenza compensata da una ipersecrezione pancreaticata di insulina, arrivando ad una fase terminale in cui questa aumentata secrezione non riesce più a compensare l'insulinoresistenza, giungendo quindi ad uno stadio di deficit insulinico assoluto (16). A causa del costante incremento nella popolazione occidentale di obesità ed errati stili di vita, le proiezioni dell'OMS prevedono il raddoppio dei casi di diabete mellito in Europa entro il 2025 (17). La prevalenza mondiale di malattia nel 2000 era stimata essere del 2.8%, mentre le proiezioni per il 2030 prevedono di raggiungere una prevalenza mondiale intorno al 4.4% (17). Sempre l'OMS stima che vi siano circa 171 milioni di persone affette dalla malattia nel mondo in tutte le fasce di età e che nel 2030 si arriverà a 366 milioni di malati (17); inoltre è stato stimato che la metà dei malati diabetici non è a conoscenza della propria malattia (17). Il diabete mellito ha e continuerà ad avere in futuro

un impatto enorme in termini di costi sociali diretti ed indiretti, in quanto gravato da complicanze acute (ipoglicemia, chetoacidosi) e croniche (a carico di occhi, reni, sistema nervoso, apparato cardiocircolatorio, arti inferiori) che sono frequenti, invalidanti e spesso causa di morte (FIG.1). Ne conseguono costi diretti (ospedalizzazione, farmaci, indagini di laboratorio e strumentali) ed indiretti (assenteismo dal lavoro, morti premature, mancato guadagno) estremamente alti e probabilmente sottostimati; a questo riguardo basti pensare al fatto che spesso i costi legati alle complicanze croniche di malattia sono imputati alle specifiche patologie d'organo piuttosto che alla malattia che ne è stata la causa.



FIG.1 - DM e sue principali complicanze croniche.

Epidemiologia della retinopatia diabetica

La retinopatia si colloca fra le complicanze croniche di tipo microangiopatico del Diabete Mellito. Non è però l'unica conseguenza oftalmologica della malattia, poiché il Diabete è associato anche all'insorgenza di glaucoma e cataratta. Nell'ambito delle complicanze microangiopatiche, la retinopatia si colloca al primo posto come frequenza. La retinopatia diabetica rimane ancora oggi nei paesi industrializzati la più importante causa di cecità nell'adulto in età lavorativa, con tutte le nefaste conseguenze in termini di disabilità fisica e sociale per il malato, e in termini di costi sociali per la comunità (18). Uno studio del 1994 ha messo in risalto le correlazioni fra insorgenza di retinopatia diabetica proliferante e condizioni economiche del malato, dimostrando chiaramente le conseguenze della malattia in termini di licenziamento e di difficoltà d'inserimento nel mondo del lavoro; per le donne è stato inoltre dimostrato un aumentato rischio di divorzio nei quattro anni successivi alla perdita della vista (19). I costi sociali della retinopatia diabetica sono molto alti; negli Stati Uniti è stato stimato agli inizi degli anni Novanta che un adulto diabetico (età inferiore ai 65 anni) affetto da cecità costi allo stato all'incirca 12.000 dollari l'anno, senza includere i costi aggiuntivi legati alla perdita di produttività del malato e alla sua riabilitazione (18). Le stesse considerazioni possono essere fatte per gli altri paesi industrializzati, tra cui l'Italia, e non ci sono indicazioni per pensare che il problema sia destinato a risolversi nel corso degli anni, viste le proiezioni dell'OMS. Pochi sono gli studi fatti per quanto riguarda gli aspetti epidemiologici della malattia e il suo impatto fra le cause di cecità; fra questi il Wisconsin Epidemiology Study of Diabetic Retinopathy (WESDR) (20) è probabilmente lo studio più esteso e completo che sia stato mai fatto al riguardo. Si tratta di uno studio trasversale di tipo osservazionale (fatto quindi sull'esame fisico del paziente piuttosto che sulle statistiche correnti) svoltosi a partire dal 1980 fino al 1998; in un primo lavoro sono stati presi in esame

2366 pazienti diabetici di tipo 1 e di tipo 2 fra il 1980 e il 1982, con una prevalenza di retinopatia diabetica del 71 % per i pazienti di tipo 1 e del 39% per quelli di tipo 2. Nel gruppo dei pazienti con diabete di tipo 1 sono stati inoltre stimati i casi di retinopatia proliferante e di edema maculare clinicamente significativo, le cui prevalenze sono state rispettivamente del 23% e del 14%. Lo stesso gruppo di studio ha valutato nel 1998 tutti quei pazienti con diagnosi di Diabete di tipo 1 e tipo 2 da almeno 15 anni: nel primo gruppo sono stati osservati segni di retinopatia diabetica back-ground nel 97% dei pazienti, mentre circa il 37% dei pazienti presentava segni di retinopatia proliferante; nel secondo gruppo (diabete tipo 2) invece l'80% presentava segni di retinopatia back-ground e solo il 10% di retinopatia proliferante (19). L'EURODIAB (20) è, invece, un grosso studio multicentrico europeo che ha preso in considerazione trasversalmente 3250 pazienti diabetici di tipo 1 nel 1990, riportando valori di prevalenza più bassa: rispettivamente 35.9% per la retinopatia non proliferante e 10.3% per quella di tipo proliferante; inoltre la prevalenza di retinopatia non proliferante era pari all'82% per pazienti con almeno 20 anni di durata della malattia, mentre per la forma proliferante questa era stimata al 37% per una durata di malattia di almeno 30 anni. Si stima che negli Stati Uniti la retinopatia diabetica sia responsabile di severo difetto della vista nell'86% dei pazienti con Diabete di tipo 1 e nel 33% di quelli con Diabete di tipo 2, che il diabete sia responsabile ogni anno della registrazione, come ciechi, di almeno 5000 nuovi malati (21),(22) e che ogni anno circa 250.000 pazienti diabetici siano destinati ad una significativa riduzione dell'acuità visiva (17). Per quanto riguarda la situazione in Italia i dati a disposizione sono ancora più scarsi, anche a causa dell'assenza di un registro nazionale per cecità da diabete. Studi condotti in singole aree geografiche concordano nell'affermare che le complicanze oculari del diabete rappresentino la più comune causa di cecità in età lavorativa anche in Italia, e che la retinopatia diabetica sia in assoluto la seconda causa di

cecità nella popolazione generale, preceduta dalla cataratta e seguita dalla miopia. La maggior parte di questi studi si basa su dati provenienti dagli Archivi degli uffici per il rilascio delle pensioni d'invalidità civile, che possono tuttavia essere imperfetti per il rischio di sottostima dei risultati, in quanto spesso vengono esclusi da questi registri portatori di cecità parziale (residuo visivo inferiore a 1/20 nell'occhio migliore), egualmente invalidante. Porta e collaboratori hanno stimato l'impatto della retinopatia nella sola provincia di Torino, concludendo che il deficit visivo nel diabetico è per l'80-90% imputabile alla retinopatia, e che l'incidenza di cecità secondaria a diabete si aggira intorno ai 2 casi/100.000 abitanti/anno (23).

Storia naturale e classificazione della retinopatia diabetica

Da sempre l'esame del fundus oculi è considerato un validissimo elemento clinico e diagnostico nell'approccio al paziente con malattie internistiche, nella FIG.2 è possibile visualizzare un fundus oculi normale. Naturalmente, ciò che è possibile visualizzare del microcircolo retinico è costituito dai vasi arteriosi e venosi che originano dal disco ottico e dai loro rami periferici, mentre non abbiamo visione dei capillari, i quali sono troppo piccoli per una visione diretta; questi tuttavia nel loro insieme conferiscono alla retina il tradizionale colore rosso, ed è possibile visualizzare i danni che il diabete comporta a loro carico.

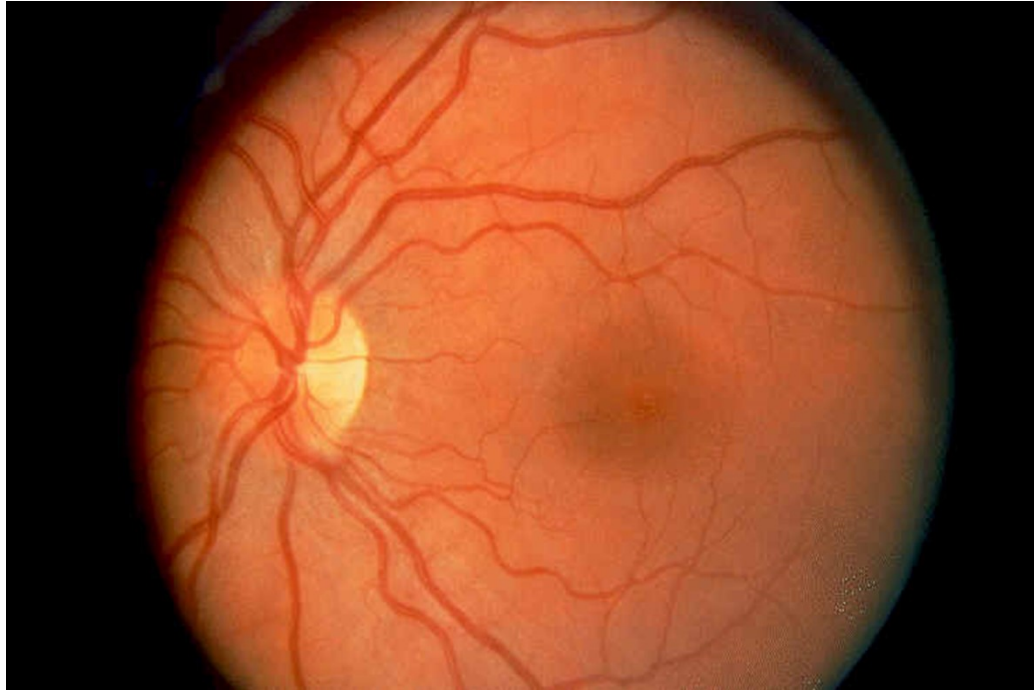


FIG.2 Fundus normale

La retinopatia diabetica può essere classificata in vari modi. La prima classificazione introdotta fu la Airlie House Classification, risalente agli anni '60, piuttosto complessa e caratterizzata da numerosi stadi di malattia. Successivamente sono state introdotte altre classificazioni, tra cui la EURODIAB CLASSIFICATION nell'ambito dell' EURODIAB IDDM Complications Study, che consente una classificazione in gradi della malattia in modo più semplice e standardizzato. Tradizionalmente la retinopatia diabetica (RD) viene suddivisa in retinopatia non proliferante (FIG.3, 4, 5, 6, 7)(lieve, moderata e severa) e retinopatia proliferante. Gli autori anglosassoni riconoscono, inoltre, una retinopatia avanzata (Advanced Diabetic Eye Disease). La RD non proliferante o back-ground è caratterizzata dalla presenza all'Oftalmoscopia di microaneurismi, emorragie a chiazza, essudati duri e noduli cotonosi.



FIG.3 RD non proliferante lieve: microaneurismi



FIG 4.RD non proliferante lieve micro emorragie

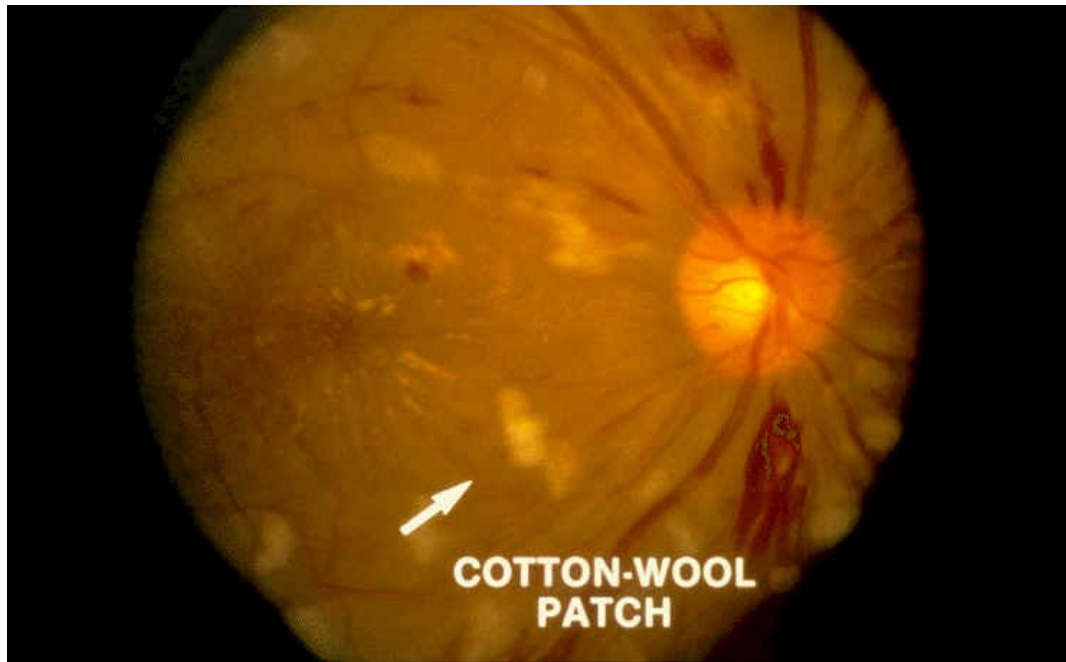


FIG 5.RD non proliferante essudati



FIG. 6 RD non proliferante moderata (microaneurismi, microemorragie ed essudati)



FIG. 7 RD non proliferante grave o preproliferante

I microaneurismi appaiono all'osservatore come piccoli puntini rossi in risalto rispetto allo sfondo rosso retinico e corrispondono a dilatazioni sacciformi dei capillari, espressione di un indebolimento della parete di questi ultimi. Si tratta in assoluto dei segni più precoci di malattia. Le emorragie "a chiazza" danno segno di sé con lesioni rosse più grandi e a margini abbastanza regolari e rotondeggianti; originano dalla rottura di capillari situati nello strato più profondo della retina, che corrisponde allo strato dei neuroni di connessione disposti in modo verticale, motivo per il quale la raccolta ematica assume un contorno rotondeggiante. Questo tipo d'emorragie sono un segno tipico del diabete a livello retinico, così come le emorragie retiniche "a fiamma" lo sono per l'ipertensione arteriosa, interessando in questo caso lo strato retinico più superficiale in cui le fibre nervose sono disposte a formare una rete orizzontale. Gli essudati duri consistono in lesioni giallastre a margini ben definiti nella retina, e sono il risultato di una aumentata permeabilità capillare, con passaggio di plasma e proteine nell'interstizio. I noduli cotonosi appaiono, infine, come piccole aree retiniche di colore pallido e a margini sfumati, da cui deriva l'aggettivo "cotonosi". Corrispondono al rigonfiamento edematoso delle fibre nervose dato da una condizione di ischemia (occlusione dei capillari).

Ciò che caratterizza la maggiore o minore gravità della RD non proliferante è dato dalla quantità e dall'estensione delle suddette lesioni. Nella forma preproliferante troviamo numerosi microaneurismi ed estese emorragie profonde sui quattro quadranti della retina; a questo si associano anomalie venose (anse, evidenti irregolarità di calibro) e dilatazione dei piccoli vasi che vengono indicate con la sigla inglese IRMA (anomalie microvascolari intraretiniche). Quando compaiono questi segni il paziente è a rischio di sviluppare una forma di retinopatia proliferante. La Retinopatia proliferante (FIG. 8, 9, 10, 13) si caratterizza

per la presenza di neovasi a partenza dalle vene del disco ottico o dalla parte periferica della retina. Questi neovasi sono molto fragili e tendono a sanguinare facilmente, dando luogo ad emorragie preretiniche.

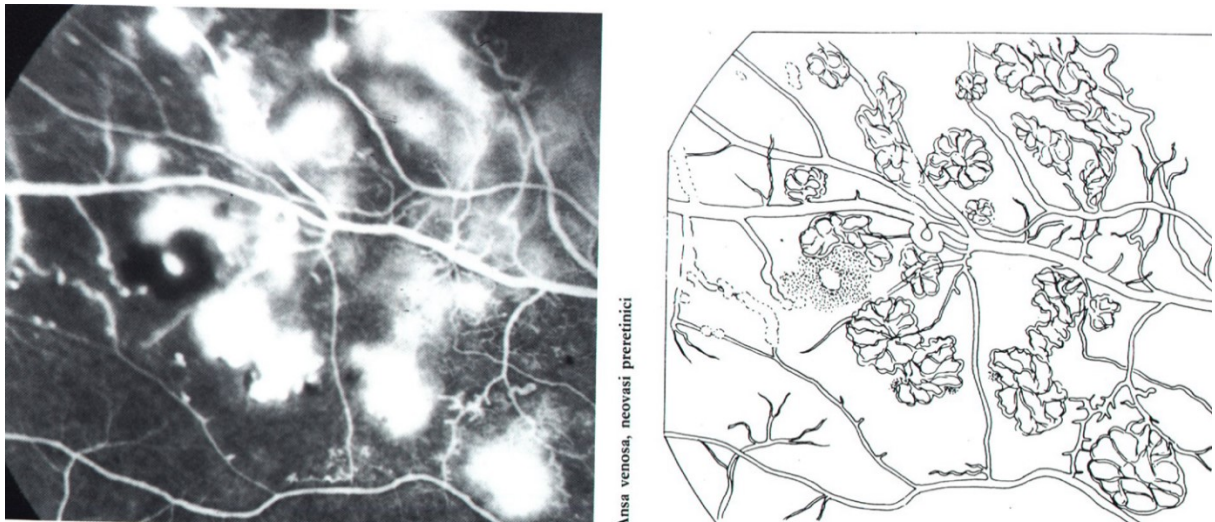


FIG. 8 Retinopatia Diabetica proliferante



FIG. 9 Retinopatia Diabetica proliferante

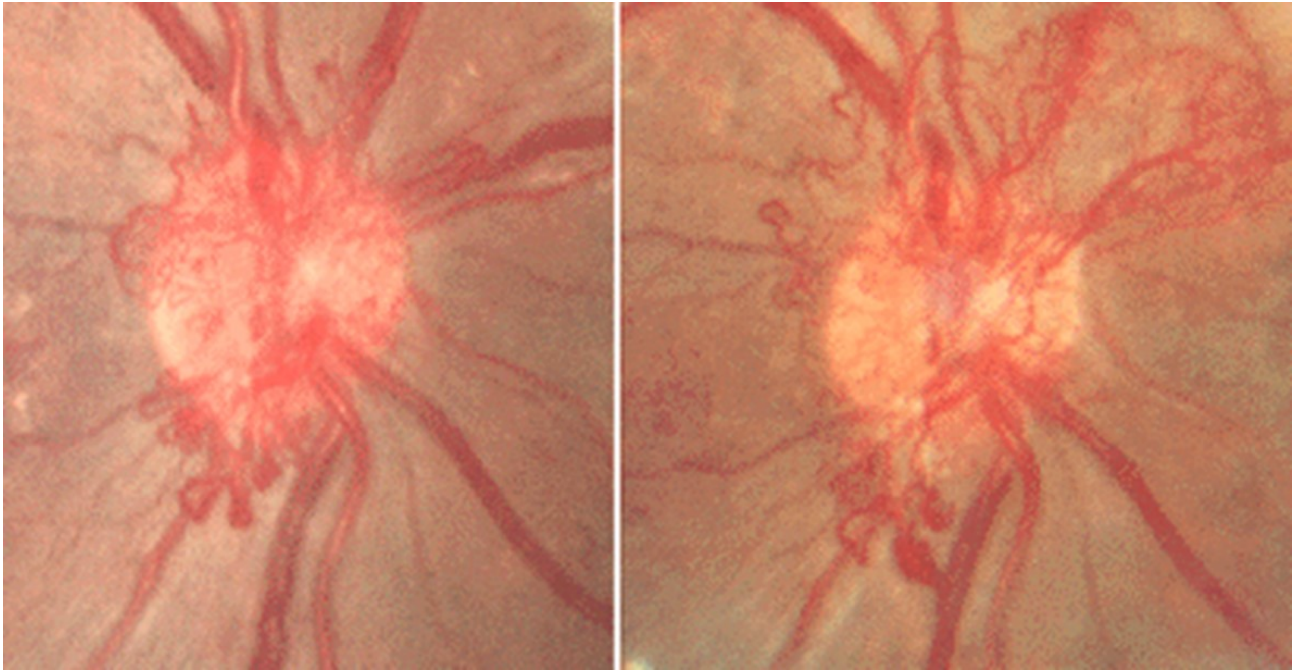


FIG. 10 Neovascolarizzazione a partire dal nervo ottico

La neoangiogenesi (FIG. 11) è considerata una risposta incongrua ad una condizione di ischemia, riconducibile alla obliterazione dei capillari retinici. I neovasi e le emorragie (FIG. 12) sono seguiti dallo sviluppo di tralci fibrosi che per effetto della trazione esercitata sulla retina ne possono provocare il distacco, con perdita permanente del visus.

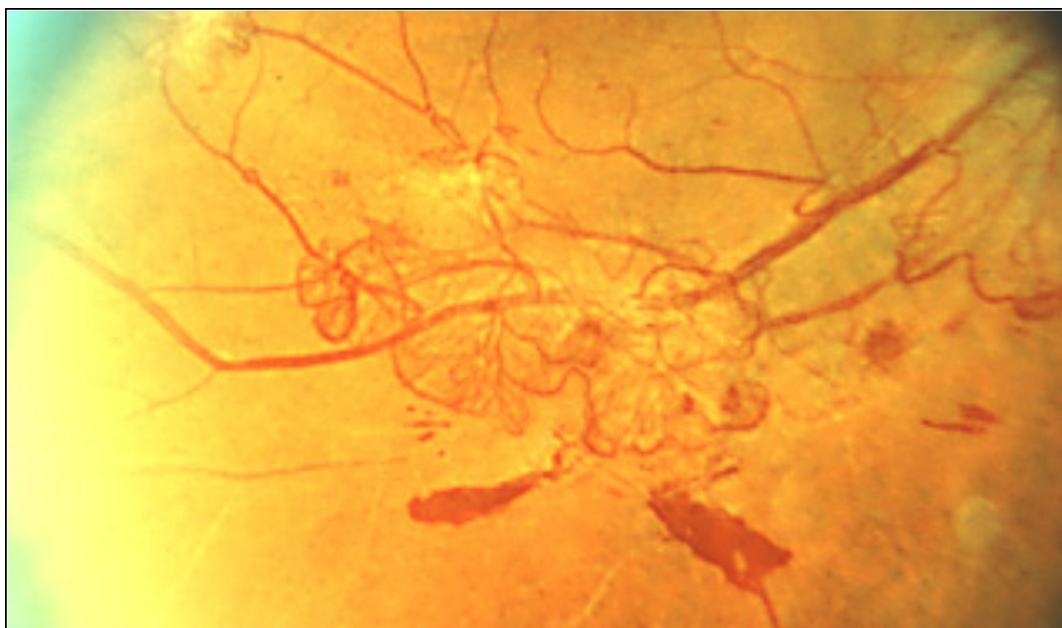


FIG. 11 Neovascolarizzazione periferica

Il distacco retinico, che così si configura, porta allo stadio terminale della retinopatia, chiamato dagli autori anglosassoni Advanced Diabetic Eye Disease. In questo stadio finale di malattia l'abnorme neoangiogenesi raggiunge il segmento anteriore dell'occhio ed in particolare l'iride (rubeosi iridea), causando un grave glaucoma neovascolare. La maculopatia è definita dalla presenza di lesioni retiniche nella regione maculare, di tipo edematoso e/o ischemico, con conseguente grave compromissione della acuità visiva e della percezione dei colori. Si tratta della più frequente causa di cecità nel diabetico. E' stato identificato un quadro a maggior rischio di perdita della vista, definito come Edema Maculare clinicamente significativo, caratterizzato da:

- ispessimento edematoso della retina entro 500 micrometri dal centro della macula.
- essudati duri localizzati entro 500 micrometri dal centro della macula, associati a segni di

ispessimento retinico.

- Aree di ispessimento di retina ampie almeno un diametro papillare a distanza pari o inferiore ad un diametro papillare dal centro della macula.

Per diagnosticare l'edema maculare è necessario l'esame stereoscopico del fundus oculi mediante lampada a fessura, ma è possibile sospettarlo anche con l'utilizzo della retinografia.



FIG. 12 Emorragia vitreale iniziale

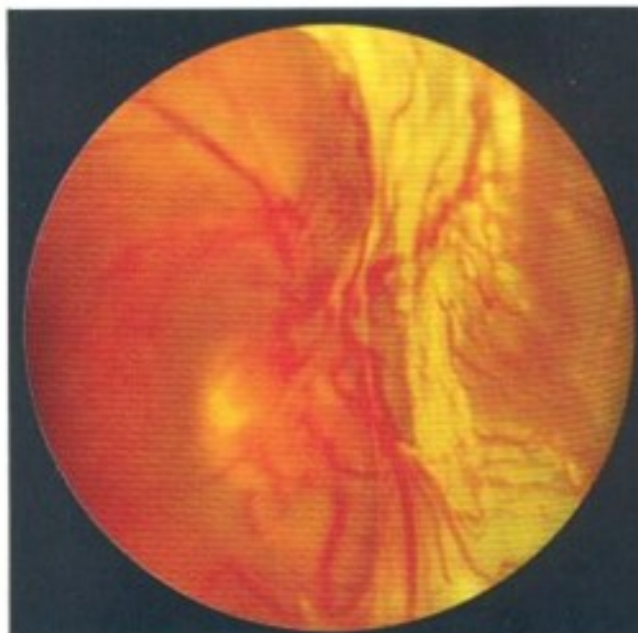


FIG. 13 Retinopatia Diabetica proliferante avanzata

Meccanismi patogenetici della retinopatia

Sebbene molti sforzi siano stati compiuti nel tentativo di appurare la patogenesi della retinopatia diabetica, ad oggi l'unico elemento certo è rappresentato dal fatto che l'iperglicemia cronica risulta l'unico *primum movens* nello sviluppo della complicanza. Molti sono ancora i punti da chiarire riguardo a come la suddetta iperglicemia porti a disfunzione endoteliale e quindi a danno vasale. Il Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) ha chiaramente dimostrato il ruolo preponderante del compenso metabolico nello sviluppo e nella progressione della retinopatia in pazienti affetti da diabete mellito tipo 1, indicando l'iperglicemia come chiara causa di microangiopatia (24). Sempre a tale proposito l'Oslo Study del 1992 ha dimostrato, grazie ad uno studio longitudinale a 7 anni, che i pazienti con emoglobina glicosilata più elevata erano a maggior rischio di deterioramento marcato della

retina, identificando anche un valore soglia di emoglobina glicosilata (pari a 8%) al di sopra del quale fosse molto probabile lo sviluppo di retinopatia (25). Infine il UKPDS nel 1998 ha dimostrato come anche nel Diabete di tipo 2 valga lo stesso tipo di considerazione, dimostrando chiaramente che incidenza e gravità della retinopatia sono minori in pazienti con più stretto controllo glico-metabolico rispetto a quelli con controllo non ottimale (26). Tuttavia la pratica clinica dimostra che in molti pazienti con controlli glicemici altalenanti vi sia comunque una progressione nella retinopatia, portando alcuni autori ad ipotizzare un fenomeno di “memoria metabolica” a livello del microcircolo (27). Inoltre in certi pazienti è documentabile lo sviluppo della retinopatia nonostante uno stretto controllo glico-metabolico fin dall’inizio di malattia, suggerendo così che l’iperglicemia cronica possa non essere l’unico determinante nello sviluppo delle complicanze, ma che piuttosto questa si intersechi con altri fattori, anche di ordine genetico.

Anatomia patologica della retinopatia diabetica

Analizzando retine di soggetti diabetici deceduti, è emerso che le alterazioni istologiche cui va incontro il microcircolo retinico sono rappresentate da aumentata permeabilità vascolare con rottura della membrana emato-retinica, ispessimento della membrana basale capillare, occlusione capillare mediata da piastrine e leucociti, perdita di periciti e cellule muscolari lisce, incrementato turn over delle cellule endoteliali con perdita finale di queste ultime (FIG.14). E’ stato appurato che i periciti rappresentano elementi cellulari particolarmente vulnerabili nel diabete e che la perdita dei periciti avviene nelle fasi precoci della retinopatia, ipotizzando quindi un ruolo primario di questi assieme alle cellule endoteliali. Infatti, la perdita di periciti e cellule endoteliali comporta la presenza di capillari acellulari. Aree

retiniche in cui prevalgono tali capillari risultano scarsamente perfuse, dando luogo ad aree ischemiche e conseguente rilascio di fattori di crescita che favoriscono la neoangiogenesi e l'aumentata permeabilità nel microcircolo(28).

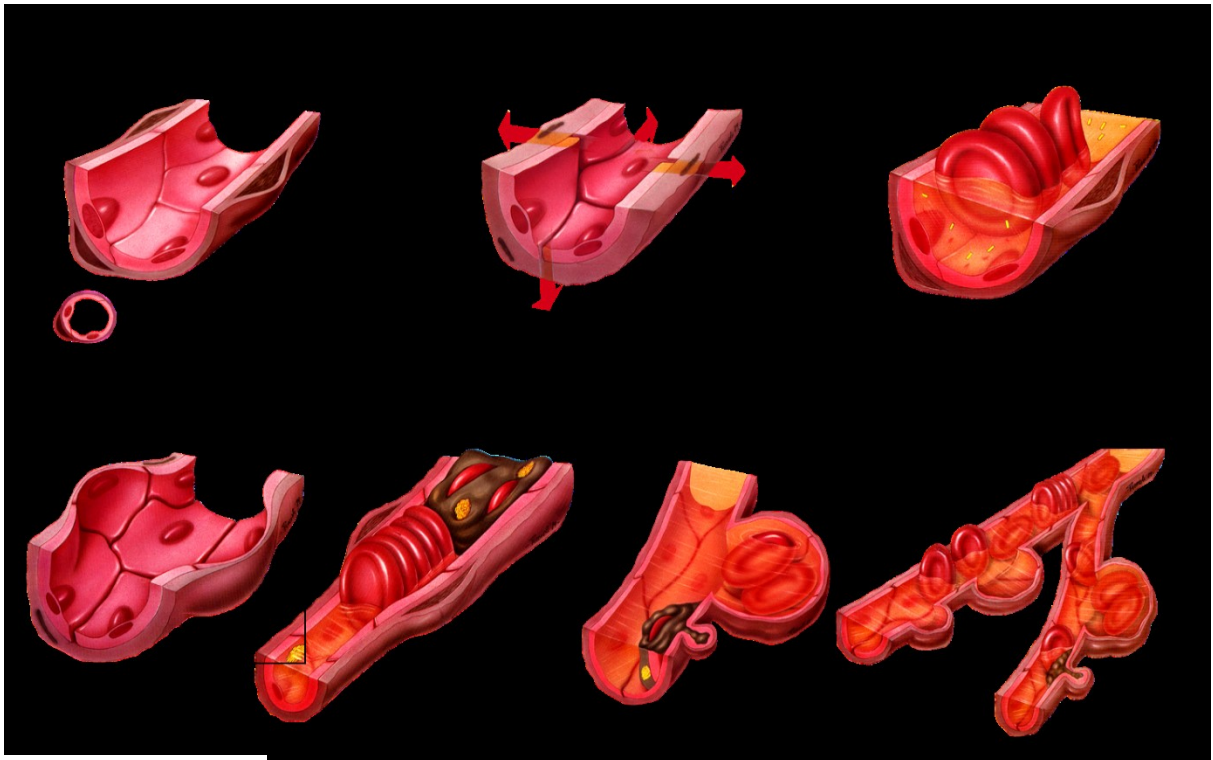


FIG.14 Anatomia patologica dei vasi retinici

Iperglicemia e disfunzione endoteliale retinica

E' ormai appurato che il denominatore comune delle complicanze microvascolari del diabete sta nella cosiddetta disfunzione endoteliale, seppure con effetti diversi sulla base della sede vascolare interessata. Fino ad inizio anni '80 l'endotelio era visto esclusivamente come un monostrato di cellule inerti con la sola funzione di supporto meccanico. Successivamente è stato dimostrato che in realtà alle cellule endoteliali compete anche un ruolo attivo biosintetico, la cui funzione risulta essenziale nella fisiopatologia cardiovascolare. Sono stati quindi individuati una serie di mediatori chimici di origine endoteliale essenziali ai fini

dell'omeostasi cardiovascolare. Accanto alla funzione biosintetica è stato inoltre visto come le cellule endoteliali possiedono sul versante luminale strutture recettoriali, ed è stato così identificato il cosiddetto endothelial surface layer, con compiti di regolazione dei rapporti fra sangue e vasi, fra cui trasporto di nutrienti, coagulazione e fibrinolisi, interazione con leucociti e piastrine, angiogenesi (29).

Mediatori chimici di disfunzione endoteliale. In letteratura (28) fra i vari mediatori chimici di disfunzione dell'endotelio molta attenzione è stata riservata a VEGF (FIG.15). Si tratta di una proteina con dimostrato effetto mitogeno sulle cellule endoteliali vascolari. VEGF inoltre è in grado di aumentare la permeabilità vascolare (da cui l'originale nome di "vascular permeability factor"). Questo fattore di crescita è essenziale nello sviluppo del circolo vascolare durante la vita fetale e alla nascita l'espressione di VEGF subisce una drastica riduzione; tuttavia è stato dimostrato che alcuni elementi cellulari continuano ad esprimere costitutivamente una piccola quota di VEGF anche dopo la nascita, fra cui cellule della neuroretina, dello strato corioideo e dell'epitelio pigmentato retinico. Valori incrementati circa 20 volte superiori al normale di VEGF sono stati rilevati nell'umor vitreo di pazienti sottoposti a vitrectomia a causa di retinopatia diabetica proliferante. A conferma di ciò in animali da esperimento sono state iniettate endo vitreo dosi di VEGF esogeno, osservando successivamente segni riconducibili a neovascolarizzazione a livello retinico ed irideo. Sempre in modelli animali iniezioni di specifici anticorpi anti-VEGF nel corpo vitreo hanno dato chiari segni di prevenzione della neoangiogenesi a livello retinico. E' ormai appurato che l'espressione di VEGF è decisamente incrementata in corso di ipossia tissutale, a livello di retina come di altri tessuti, confermando quindi il ruolo di VEGF nella genesi della retinopatia diabetica proliferante, ma non solo: aumentati valori di VEGF sono stati rinvenuti anche in

fasi iniziali di retinopatia senza segni di neoangiogenesi. Infine studi recenti (30) hanno riferito una incrementata espressione di VEGF a livello di neuroni retinici (mediante tecniche immunistochemiche) in pazienti senza alcun segno di retinopatia, supportando l'ipotesi che la retinopatia diabetica non sia riconducibile esclusivamente ad alterazioni microangiopatiche, ma anche a primitive disfunzioni della neuroretina. In virtù di quanto osservato, risulta promettente l'impiego di anticorpi anti-VEGF nella cura della retinopatia diabetica umana, sebbene non manchino inconvenienti per un impiego di questi (28): il loro uso sistemico potrebbe ostacolare lo sviluppo di circoli collaterali a livello di gamba e a livello coronario, penalizzando così potenziali buoni risultati a livello retinico, ed inoltre una somministrazione locale (endovitrea) di tali farmaci non è esente da rischi. Promettente appare anche l'impiego di farmaci in grado di esercitare un blocco a livello dei recettori VEGF, fra i quali VEGFR-1 e VEGFR-2 che sono anch'essi risultati maggiormente espressi in retine di soggetti diabetici. Nonostante queste evidenze preliminari ancora non sono stati avviati trials clinici in questa direzione, a differenza del campo oncologico, dove inibitori di VEGFR-2 sono stati impiegati dimostrando una certa efficacia terapeutica (28). Fra i mediatori chimici di perdita della funzione endoteliale un ruolo importante è stato attribuito anche a TGF-beta. Da studi in vitro (31) si evince come questo sia in grado di stimolare la proliferazione endoteliale e come alte concentrazioni di glucosio siano in grado di indurre sull'endotelio retinico un'aumentata espressione di TGF-beta e del relativo recettore (32). Inoltre, è stato osservato un ruolo sempre di TGF-beta sulla sintesi di altri fattori di crescita responsabili della sintesi di matrice extracellulare a livello retinico (33), potendo così mediare l'aumento di spessore della membrana basale dei capillari osservato nella retinopatia diabetica e favorire quindi l'occlusione vascolare.

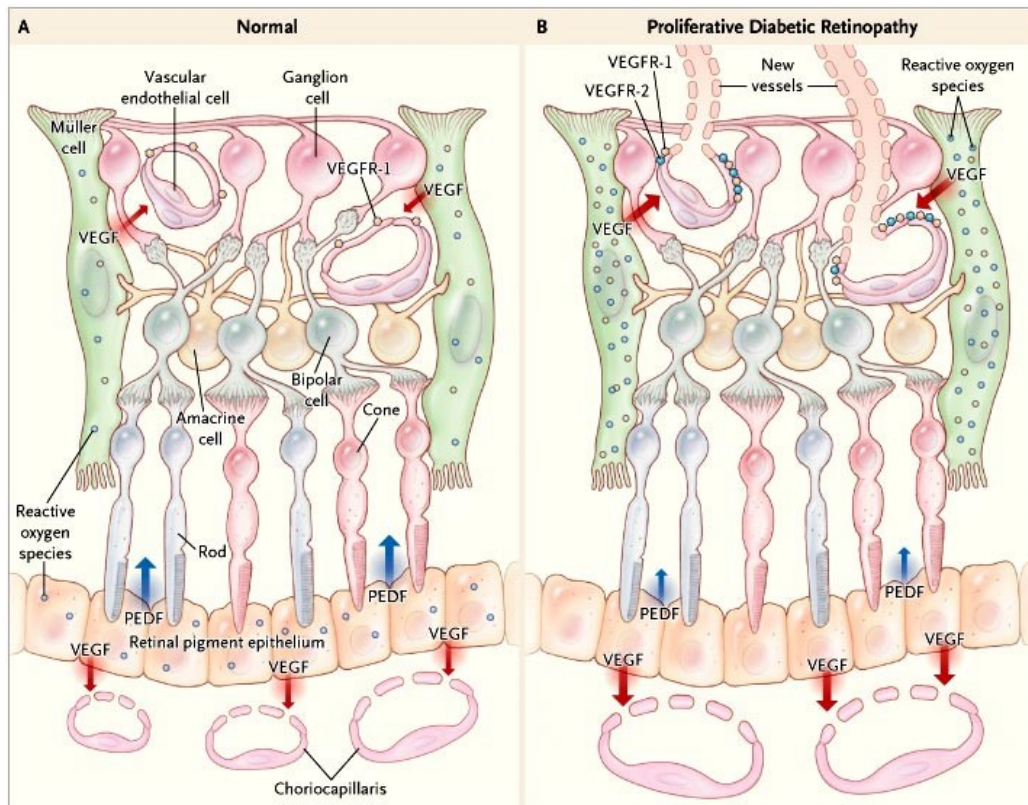


FIG.15 Nella parte A della figura è visualizzata una retina normale, mentre nella parte B è raffigurata una retina di un paziente con retinopatia proliferante. VEGF ed i suoi recettori di membrana a livello retinico, VEGFR-1 e VEGFR-2, potrebbero avere rilevanza nella patogenesi della retinopatia diabetica.

Metabolismo e disfunzione endoteliale retinica

Il meccanismo esatto per cui da una condizione di elevata glicemia nel tempo si giunga alla suddetta disfunzione endoteliale nel microcircolo retinico ancora non è ben conosciuto. Vari studi ipotizzano che l'ambiente metabolico caratteristico del diabete crei anomalie biochimiche a carico del metabolismo cellulare retinico, e che queste alterazioni solo in un secondo momento portino a disfunzione endoteliale e quindi a microangiopatia. Resta

ancora molto da capire riguardo a queste vie metaboliche anomale attivate maggiormente in corso di diabete e responsabili di possibili danni cellulari.

La via dei polioli. Recenti pubblicazioni (34) sono tornate a mettere in risalto la via dei polioli come possibile meccanismo di alterazione della omeostasi cellulare. La via dei polioli è una via biochimica che entra in gioco quando i livelli di glucosio intracellulari sono elevati, e l'Aldoso reduttasi è l'enzima chiave di tale via, in quanto riduce il glucosio a sorbitolo sfruttando NADPH come cofattore. Il sorbitolo è successivamente ridotto a fruttosio dall'enzima sorbitolo deidrogenasi, che sfrutta NAD⁺ come cofattore. Le conseguenze di una eccessiva attivazione di questa via sono molteplici. Per prima cosa il sorbitolo, essendo fortemente idrofilo, si accumula nella cellula creando una condizione di stress osmotico per la cellula stessa. Oltre a ciò, il fruttosio prodotto dalla via dei polioli è successivamente convertito in fruttosio-3-fosfato e 3-deossiglucosone: entrambi i composti risultano essere forti agenti glicosilanti, entrando in gioco nella formazione di AGEs (vedi dopo). Infine il consumo di NADPH e NAD⁺ comporta da un lato un difetto nella produzione cellulare di agenti che proteggano la cellula da stress ossidativo, come il GSH, dall'altro un alterazione del rapporto NAD⁺/NADH con formazione di specie reattive ossidanti dannose per la cellula, portando ad una condizione chiamata "pseudo ipossia". Questa situazione innesca a sua volta una cascata di eventi che porta a danni cellulari irreversibili (34). Partendo da queste osservazioni sono partiti una serie di studi per valutare l'effetto in modelli animali di specifici farmaci inibitori della Aldoso reduttasi sulla retinopatia diabetica, con risultati contrastanti (35, 36). L'aumentata espressione dell'enzima su cellule nervose in retine umane di diabetici spinge comunque ad approfondire le ricerche in questo campo (37). E' stato inoltre individuato il gene che codifica per la Aldoso reduttasi sul cromosoma n°7, suggerendo che

mutazioni a livello del sito promotore di tale gene possano essere coinvolte nella patogenesi della retinopatia diabetica (38). E' stata infatti dimostrata in pazienti diabetici cileni di tipo 2 una progressione nove volte più veloce di retinopatia in presenza di uno specifico allele (allele Z-2), suggerendo un ruolo importante del gene come fattore di rischio nello sviluppo di retinopatia diabetica (39). Sempre per quanto riguarda l'allele Z-2, da studi in vitro su cellule retiniche umane è stata dimostrata una up-regulation dell'enzima in ambiente iperglicemico (40).

L'infiammazione cronica. Un altro meccanismo preso in considerazione di recente vede un ruolo dell'infiammazione cronica all'origine delle complicanze del diabete e quindi anche della retinopatia. Infatti molti dei mediatori chimici dell'infiammazione sono stati rilevati in concentrazioni più elevate della norma in retine animali, umane ed in colture di cellule retiniche incubate con alte concentrazioni di glucosio (41). In modelli animali è stata anche dimostrata una maggiore capacità di adesione endoteliale dei leucociti, con una maggiore espressione di ICAM-1 e altre molecole di adesione proinfiammatorie. Sempre in modelli animali sono state rinvenute alterazioni piastriniche responsabili della formazione di microtrombi, che possono contribuire a generare occlusione dei capillari retinici. Tramite tecniche di DNA-binding è stata documentata una sovra espressione di NF-kb anche a livello dei nuclei di cellule endoteliali e periciti (NF-Kb è noto per essere fortemente implicato nello sviluppo dei processi infiammatori) (41). Sebbene nell'uomo il nesso fra infiammazione e retinopatia diabetica sia meno chiaro che nel modello animale, anche in studi condotti su retine umane sono stati rinvenuti livelli più elevati del normale di citochine come IL-1, TNFalfa e Caspasi-1(41), tanto da spingere i ricercatori a testare l'aspirina in vari trials clinici come possibile farmaco in grado di prevenire la progressione di retinopatia nel diabetico,

con risultati non del tutto chiari (41): mentre il DAMAD trial ha fornito risultati incoraggianti grazie a rallentamento dell'incremento di microaneurismi nel fundus oculi (42), l'ETDS trial non ha rilevato alcun impatto positivo della terapia sullo sviluppo della retinopatia (43). Il mancato effetto dell'aspirina sulla retinopatia potrebbe essere attribuito al fatto che nell'ETDS trial siano stati arruolati pazienti con stadi avanzati di retinopatia diabetica e che siano state usate dosi troppo basse di farmaco (41).

Lo stress ossidativo. Grande attenzione viene riservata all'incrementato stress ossidativo come possibile meccanismo di danno cellulare nel diabete. Sappiamo come l'ossigeno sia essenziale per il corretto mantenimento del metabolismo aerobio della cellula, e come l'omeostasi cellulare sia garantita da un fine equilibrio fra formazione ed eliminazione di specie reattive dell'ossigeno. Lo stress ossidativo non è altro che l'alterazione di questo equilibrio, vale a dire l'incrementata produzione di specie reattive dell'ossigeno e/o la ridotta disponibilità di sistemi enzimatici di difesa da queste. Alla base di molte malattie umane, fra cui diabete mellito e malattia di Alzheimer, si pensa che vi sia una condizione di partenza caratterizzata da stress ossidativo a carico delle cellule, e che tale tipo di stress comporti a lungo andare danni irreversibili per la cellula stessa, riconducibili ad alterazioni di macromolecole come DNA, proteine, lipidi e glucidi (44).

La retina ha il più alto up-take di ossigeno fra tutti i tessuti umani, e ciò la rende particolarmente suscettibile allo stress di tipo ossidativo, per cui è stato ipotizzato un nesso casuale di questo con l'iperglicemia cronica. Inoltre studi su modelli animali hanno ipotizzato che alla base del fenomeno della "memoria metabolica" in precedenza citato vi sia l'accumulo nelle cellule di specie reattive dell'ossigeno non più rimovibili che rendono così vano il ripristino di un ottimale controllo glicemico dopo un periodo in cui tale controllo non

è stato ottimale. A conferma di quanto detto fino ad ora, nelle retine di ratti resi diabetici sono stati osservati da un lato elevati livelli di Superossidi e di Perossido di idrogeno, dall'altro bassi livelli di sistemi enzimatici difensivi, fra cui il GSH. L'ipotesi è quindi che il meccanismo dello stress ossidativo innescato dall'iperglicemia, oltre che causare direttamente un effetto citopatico sulla cellula, possa perpetuare un circolo vizioso andando ad attivare altre vie metaboliche di per sé dannose per la cellula, come la già citata via dei polioli, l'attivazione della via della PKC oppure incrementare l'espressione di fattori di crescita vascolari come il VEGF che sono cruciali nello sviluppo della microangiopatia. Accanto a questo, è stato inoltre ipotizzato che un incremento delle specie reattive dell'ossigeno, possa innescare uno stimolo infiammatorio cronico andando ad aumentare l'espressione di NF-kb, NO, Prostaglandine ed altri mediatori pro infiammatori, oltre che favorire l'attivazione dell'apoptosi a livello di periciti e cellule endoteliali. Un altro meccanismo per spiegare il danno perpetuato dallo stress ossidativo sulle cellule è la eccessiva produzione dei cosiddetti AGEs. Gli AGEs non sono altro che prodotti finali di glicosilazione non enzimatica irreversibile innescati dall'abbondanza di zuccheri nel sangue, i quali si legano covalentemente per via non enzimatica con gli amino gruppi di proteine e lipidi, dando luogo alla formazione di basi di Schiff e prodotti di Amadori, responsabili a loro volta del danno strutturale e funzionale di molte macromolecole cellulari. L'iperglicemia non farebbe altro che facilitare queste reazioni a livello di periciti e cellule endoteliali, e si ipotizza che nel corso di queste reazioni biochimiche di per sé dannose possano anche essere prodotte ulteriori specie reattive dell'ossigeno, amplificando così il danno a livello endoteliale nella retina così come in altri distretti vascolari (44).

Ruolo di PCK. Infine un'altra via biochimica che nella retinopatia diabetica potrebbe essere

fondamentale come chiave patogenetica è la cascata di reazioni attivate dalla PKC, che fa da trasduttore di segnale chimico per molti ormoni e citochine. Alti livelli di glucosio nelle cellule retiniche incrementano da un lato il livello di specie reattive, mentre dall'altro portano ad una aumentata disponibilità di Diacilglicerolo nell'ambiente cellulare, così da incrementare l'attività della PKC (45). Una anomala attivazione della PKC potrebbe essere alla base di tutta una serie di conseguenze a livello di microcircolo retinico, fra cui: aumentata permeabilità vascolare, ridotto flusso vasale, up-regulation di VEGF e altri fattori di crescita neoangiogenetici, apoptosi a livello endoteliale (46).

Alterazioni della neuroretina

Negli ultimi anni sono emersi nuovi elementi che fanno ipotizzare come la retinopatia diabetica non sia caratterizzata solo da alterazioni a livello vascolare, ma come entrino in gioco anche disfunzioni primitive a carico della neuroretina, in particolare a livello di neuroni e cellule gliali, e come queste alterazioni possano essere considerate il primo step nello sviluppo della retinopatia ancora prima dello sviluppo di lesioni vascolari (30). In modelli animali di ratti resi diabetici sono stati osservati segni istologici di neuro degenerazione retinica, in particolare apoptosi neuronale e ridotto spessore retinico, associati a riduzione nel numero di cellule gangliari (47). Nell'uomo da studi effettuati con elettroretinogramma sono emerse alterazioni significative a carico dei potenziali di oscillazione ben prima della manifestazione di danno vascolare locale, suggerendo quindi anche nella retina umana alterazioni che possano essere riconducibili a danno neuronale (48). L'osservazione sarebbe rafforzata dalla evidenza clinica di disturbi dell'adattamento alla visione notturna e della discriminazione cromatica in pazienti diabetici in fasi precoci di retinopatia diabetica (49). In questa chiave di lettura la retinopatia diabetica sarebbe considerata quindi non tanto una

malattia del microcircolo, quanto piuttosto una malattia ad eziologia multifattoriale ancora più complessa (30). Infine l'osservazione che neuroni e cellule gliali della retina esprimano recettori specifici per fattori di crescita vascolari (fra cui VEGF) depone a favore di un ruolo della disfunzione retinica nello sviluppo del danno vasale (50). Quello che resta ancora da capire è se queste alterazioni neuro retiniche siano indipendenti dalla microangiopatia o se piuttosto siano una manifestazione precoce di questa (30).

Differenze di sesso-genere nel diabete

Il genere è considerato come l'espressione sociale che trasforma una femmina in donna e un maschio in uomo, mentre il sesso è l'insieme degli aspetti biologici dell'essere femmina o maschio. Dato che è difficile suddividere le interazioni tra sesso e genere, in accordo con diversi autori, (5) preferisco qui utilizzare la dizione sesso-genere. In effetti le differenze e le disuguaglianze nello stato di salute spesso derivano da differenze biologiche (sesso) e sociali-culturali (genere) variamente intrecciate tra loro.

Le donne diabetiche presentano più alto rischio di mortalità cardiovascolare soprattutto in periodo post-menopausale (51, 52) e la mortalità e disabilità dopo un primo evento cardiovascolare risulta maggiore rispetto agli uomini. Ci sono evidenze che dimostrano che le donne ricevono meno cure mediche per quanto riguarda complicazioni cardiovascolari anche in presenza di diabete. Le ragioni della maggiore incidenza di complicanze cardiovascolari nelle donne diabetiche, sono fino ad oggi non del tutto comprese e molti sono i fattori che potrebbero spiegare tale effetto di sesso-genere. Diversi studi pubblicati dimostrano, che: primo, le donne vengono più tardi e in condizioni cliniche peggiori alla

diagnosi del diabete. In secondo luogo, hanno un'obesità più grave al momento della diagnosi e raggiungono molto meno i target indicati dalle linee guida per quanto riguarda il controllo metabolico, lipidemico e della pressione sanguigna, (53, 54).

Terzo, hanno una probabilità minore di ricevere tutte le misure diagnostiche e terapeutiche della loro controparte maschile diabetica, anche se è noto che la mortalità dopo un primo evento cardiovascolare è più elevata nelle donne diabetiche (55, 56). Inoltre, la terapia anti-aggregante e i farmaci ipotensivi sembrano essere meno efficaci nelle donne diabetiche, mentre gli effetti collaterali degli agenti ipoglicemizzanti sembrano essere più frequenti nelle donne (57, 58).

Per quanto riguarda le complicanze microvascolari del diabete, gli studi incentrati sulle differenze di sesso-genere sono pochi sia a livello preclinico che clinico, principalmente a causa dei limiti ben noti dei criteri di inclusione dei pazienti nel corso dei trials, ma anche a causa della difficoltà di interpretare le interazioni tra genetica e ambiente.

Sarebbero necessarie sperimentazioni su larga scala incentrate sul trattamento farmacologico delle complicanze micro-macrovascolari, per valutare le differenze dei trattamenti in funzione del sesso-genere. La mancata comprensione dell'esatto meccanismo di avvio della malattia, è la causa del parziale fallimento del controllo delle complicanze microvascolari nel diabete e questo è anche vero per la medicina sesso-genere orientata.

Differenze di sesso-genere nella retinopatia diabetica

La retinopatia diabetica (DR) è una delle principali cause di perdita visiva nei soggetti di età compresa tra i 20 e 64 anni (59). Nel corso degli ultimi decenni, un certo numero di studi

clinici ha confermato che un attento controllo della glicemia e della pressione può ridurre il rischio di retinopatia diabetica e ritardare la sua progressione.

Anche se in misura minore rispetto ad altre complicanze del diabete, anche la retinopatia diabetica mostra differenze di sesso-genere. Il sesso maschile è, infatti, considerato un fattore di rischio per la retinopatia diabetica insieme con un più alto livello di HbA1c, durata del diabete e maggiore pressione sistolica (60). Nonostante il rischio apparentemente più elevato osservato tra i maschi, tuttavia, gli studi recenti hanno messo in discussione questa differenza di sesso e genere e diversi risultati controversi sono disponibili in letteratura. In una vecchia review epidemiologica sono stati segnalate correlazioni significative tra retinopatia diabetica e genere (61). Più recentemente è stata descritta un più alta prevalenza della retinopatia tra le donne (62, 63), anche se con la constatazione che la retinopatia era più gravi negli uomini (64, 65). Altri studi suggeriscono al contrario, che le donne diabetiche hanno retinopatia più grave con una maggiore probabilità di disabilità visiva (66). Recentemente uno studio clinico longitudinale retrospettivo che includeva pazienti giapponesi con diabete mellito di tipo 2 ha dimostrato che le femmine mostrano una più significativa prevalenza di retinopatia diabetica proliferativa al basale e che il genere femminile è un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo della retinopatia diabetica (67). Inoltre, oltre a questa controversia, è generalmente convenuto che la retinopatia diabetica progredisce durante la gravidanza (68, 69), e che è aggravata dalla somministrazione di ormoni sessuali, seguito da un ritorno alle condizioni basali dopo la sospensione della terapia (70), il che suggerisce l'influenza degli ormoni sessuali nella modulazione del danno retinico nel diabete. Non si possono escludere, tuttavia, le ulteriori variabili confondenti che possono giocare un ruolo nel modulare le differenze di sesso-

genere nella patogenesi della retinopatia diabetica. E' stato precedentemente dimostrato che i contraccettivi orale possono influenzare la coagulazione del sangue inducendo diversi cambiamenti nei marcatori ematologici e marcatori plasmatici, modificando i livelli ormonali, la funzione endoteliale, indici di infiammazione e alcuni parametri dello stato redox (71) i quali a loro volta possono influenzare la progressione della retinopatia diabetica in sinergia con la durata del diabete e scarso controllo della glicemia. Infine, analogamente a quanto accade con nefropatia diabetica, quando il diabete tipo 1 viene diagnosticata oltre 9 anni di età, il rischio di retinopatia proliferativa è significativamente più alta nei maschi (72). Con la scoperta di nuove terapie per la retinopatia diabetica e il sue complicanze, il monitoraggio dei nuovi dati epidemiologici diventa sempre più importante per valutare l'impatto e l'efficacia di queste terapie da un prospettiva di sesso-genere.

SCOPO DELLA TESI

Il presente lavoro è stato, pertanto, intrapreso al fine di studiare e valutare le differenze di sesso-genere nella retinopatia diabetica.

MATERIALI E METODI

Retinografia

Il presente lavoro ha previsto l'esecuzione della retinografia non midriatica per poter effettuare la fotografia del fondo oculare ai pazienti afferenti alla Struttura Complessa di Diabetologia e Malattie metaboliche della ATS Sardegna-ASSL Olbia. La retinografia è un esame oculistico che dà la possibilità di fotografare il segmento posteriore dell'occhio. La fotografia a colori del fundus o retinografia è utile dal punto di vista clinico e per lo screening in quanto fornisce una documentazione permanente della retinopatia osservata alla oftalmoscopia; risulta pertanto essenziale quando si debbano fare confronti nel tempo delle condizioni del fondo oculare e discutere degli effetti del trattamento. La retinografia viene eseguita tramite uno strumento che viene chiamato retinografo che altro non è che una particolare telecamera. Oggi grazie alla moderna tecnologia i retinografi sono in grado di acquisire fotografie a colori digitali ad alta risoluzione che possono essere stampate o archiviate su dischetti. Nel nostro lavoro abbiamo usato il retinografo COBRA HD (FIG. 16, 17) che è l'innovativa FUNDUS CAMERA digitale non-midriatica che integra tutte le funzioni necessarie per un rapido screening delle condizioni della retina. Utilizzando un innovativo sistema ottico, COBRA HD è in grado di fornire immagini di alta qualità del fondo oculare. Progettata con un design ergonomico Cobra fornisce una visione chiara e dettagliata dell'intera immagine del fondo oculare con un reale campo di visione di 60°. Il sistema offre immagini retiniche con una esposizione minima del flash permettendo una acquisizione rapida e dettagliata del fondo ed al contempo rendendo minimo il disagio del paziente. Cobra condivide l'uso del sensore CCD ad alta risoluzione (5 MegaPixel) per l'allineamento del paziente (con illuminazione IR) e per la cattura dell'immagine retinica (con un flash di

luce bianca). La connessione firewire al pc permette un rapido e semplice trasferimento delle immagini. I dati vengono salvati in un database grazie al software Phoenix in configurazione Stand-Alone o in configurazione di rete. E' inoltre possibile attivare una connessione DICOM per il trasferimento di immagini ad un server compatibile. Le immagini acquisite tramite questa apparecchiatura che non richiede la midriasi farmacologica quindi non presenta i problemi relativi alla valutazione del tono oculare prima della dilatazione e i tempi di attesa, sono state analizzate indipendentemente da un diabetologo da un oculista e sono stati così identificati eventuali pazienti a rischio. Solo in caso di discordanza tra il parere del diabetologo e quello dell'oculista i pazienti venivano sottoposti ad ulteriori indagini diagnostiche (esecuzione di Fluorangiografia, ecc.). La classificazione della retinopatia diabetica è stata effettuata usando la EURODIAB CLASSIFICATION.



FIG.16 Retinografo COBRA HD



FIG.17 Retinografo COBRA HD in uso presso la Struttura Complessa di Diabetologia e Malattie del Metabolismo Olbia

Approvazione del Comitato etico

Lo studio è stato approvato dal Comitato di Etico ASL 1 Sassari nel gennaio 2015.

Pazienti

Tra Gennaio 2015 e settembre 2016 sono stati arruolati tutti i pazienti con diagnosi di Diabete Mellito tipo 2, che dopo aver firmato il consenso informato hanno eseguito la retinografia a condizione che fossero disponibili esami ematologici nella cartella elettronica del centro e che frequentassero con buona compliance lo stesso. Di tutti i pazienti erano quindi disponibili età, durata diabete, BMI (Body Mass Index), compenso metabolico glicemico (HbA1c), colesterolo LDL, funzionalità renale (creatinina), pressione arteriosa e utilizzo di ACE inibitori. I soggetti dopo aver eseguito la retinografia, se questa risultava negativa per retinopatia diabetica, venivano classificati come non retinopatia diabetica (NRD). Se presentavano lesioni retiniche all'esame standard venivano classificati come retinopatia diabetica non proliferante (RDNP) o retinopatia diabetica proliferante (RDPP) o come maculopatia (MAC). In alcuni casi per una migliore definizione del quadro e la visualizzazione della periferia venivano eseguite più immagini con ricostruzione computerizzata del fundus oculi (FIG.18) ed eventualmente, in caso di dubbio, veniva eseguita una valutazione completa oculistica e/o una fluoroangiografica (FIG.19) per la determinazione del grado di retinopatia diabetica.

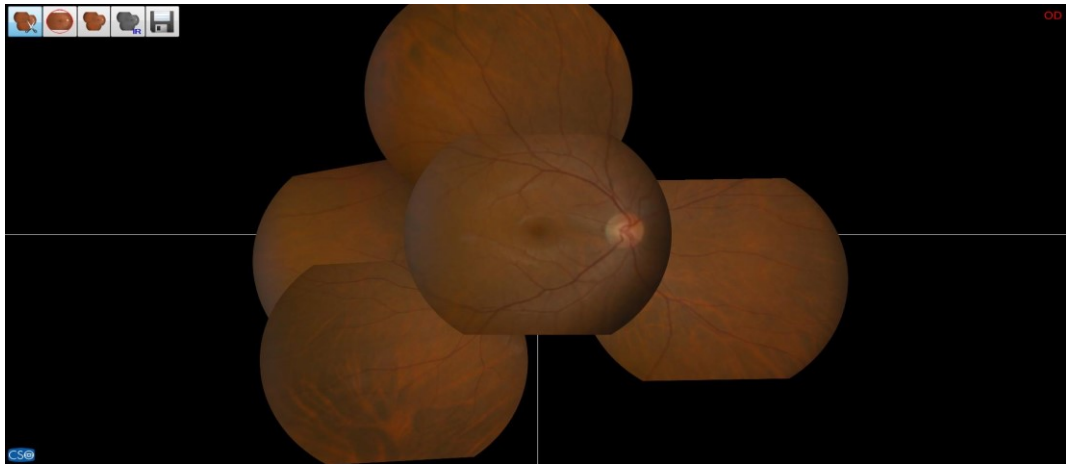


FIG.18 Immagine ricostruita del fundus con 5 campi in un paziente dello studio



FIG.19 Immagine fluorangiografica del fundus oculare con 4 campi ricostruiti al computer in un paziente con pregresso trattamento laser.

Con la retinografia è anche possibile determinare la presenza di edema della macula, evento che richiede intervento immediato oculistico per preservare il visus (in questo caso in OS).

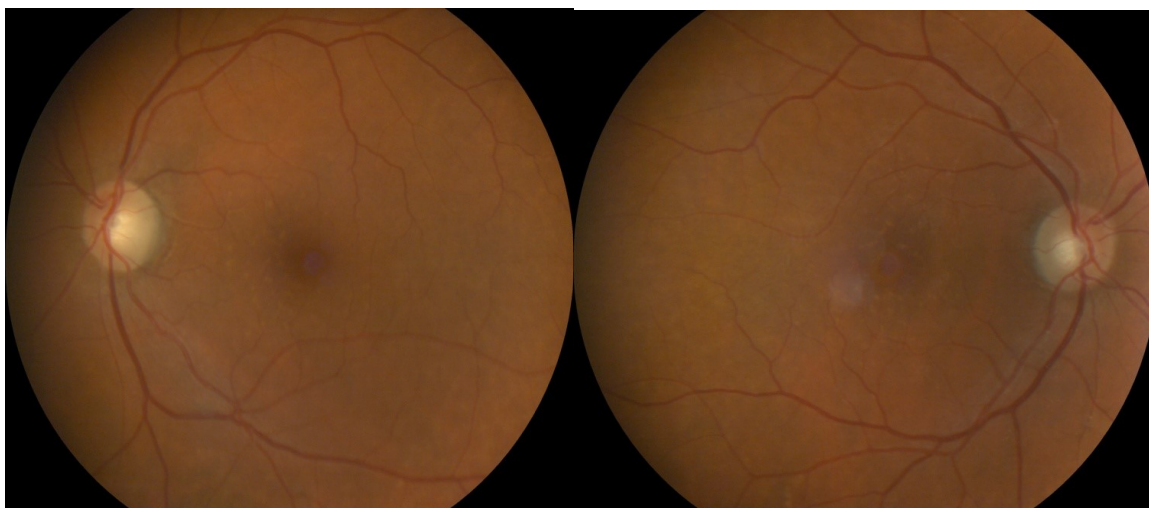


Fig. 20 A sinistra OS, a destra OD.

Analisi dei dati

L'analisi statistica è stata eseguita con il pacchetto statistico SPSS (versione 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). I dati sono espressi come media e deviazione standard (SD), e in numeri con percentuali. Le variabili sono state paragonate usando lo Student T-test, il Mann-Whitney U test o il Chi-square test quando appropriato. Data l'assoluta somiglianza nei due gruppi di uomini e donne per le variabili considerate non è stato eseguito l'analisi multivariata.

Per la valutazione dei numerosi test indipendenti è stata applicata la correzione di Bonferroni. La significatività statistica è stata identificata come valore di $p < 0.05$.

RISULTATI

Abbiamo arruolato 4002 pazienti diabetici con diagnosi di diabete tipo 2 da più di 5 anni e in cui fossero disponibili tutti i dati clinici, in 3573 di questi le immagini ottenute erano di qualità sufficiente per una corretta valutazione: 2159 maschi (60,4%) e 1414 femmine (39,6%). Un dato importante è che i due gruppi sono omogenei per quanto riguarda l'età, la durata di diabete e il BMI (**Tab.1**). Inoltre, i pazienti di questo studio non presentando differenze significative nei parametri biochimici, in particolare, compenso metabolico glicemico, assetto lipidico e funzionalità renale, (**Tab.2**), in grado di influenzare lo sviluppo e la progressione della retinopatia diabetica. Anche i trattamenti farmacologici in atto e in particolare l'utilizzo di ACE inibitori, (noti per gli effetti di protezione nello sviluppo della retinopatia diabetica), erano comparabili, (**Tab.3**). Nella **Tab.4** sono riportati i pazienti suddivisi per sesso in base alla stadiazione della retinopatia diabetica: nessuna differenza di sesso appare nelle diverse classi di retinopatia diabetica, le cui prevalenze sono in accordo con i dati di prevalenza a livello italiano (retinopatia diabetica non proliferante 17,2%, retinopatia diabetica proliferante 3,4% e maculopatia 4,2%).

Da notare che 2686 pazienti non presentavano segni retinografici di retinopatia diabetica. Dalla **Tab.5** alla **Tab.8** sono indicati l'età, la durata di diabete, il BMI e i principali parametri biochimici divisi per sesso per ogni categoria: non retinopatia NRD, retinopatia non proliferante RDNP, retinopatia proliferante RDPP e maculopatia MAC, nessuna differenza significativa è evidente tra i due sessi.

TABELLE

Tab.1

Principali caratteristiche dei pazienti arruolati nello studio distinti in maschi e femmine

	N	%	Età	BMI	Durata Diabete (anni)
Maschi	2159	60,4	69 ± 9	30±3,8	12 ± 7
Femmine	1414	39,6	71 ± 9	29,6±4,8	13 ± 7
Totale Pazienti	3573	100,0	70 ± 9	29.8 ± 4.3	12,5 ± 7

Tab 2

Valori dei principali parametri biochimico-clinici suddivisi in maschi e femmine

Parametro	Maschi	Femmine
HbA1c (%)	6.9 ± 0.9	7.2 ± 1
Colesterolo totale (mg/dl)	162 ± 27.7	173.5 ± 28.6
Colesterolo HDL (mg/dl)	45.0 ± 9.3	51.6 ± 10.7
Colesterolo LDL (mg/dl)	95.2 ± 23.6	99.9 ± 24.3
Trigliceridi (mg/dl)	113.6 ± 44.2	113.9 ± 41.5
Creatinina (μmol/l)	89 ± 23	76 ± 20

Tab.3

Percentuale di utilizzo di Dieta, ipoglicemizzanti orali (OHA), insulina + ipoglicemizzanti orali (OHA+I) e insulina basal bolus (I), PAOS, percentuale di trattamento con farmaci antipertensivi (OAA) e tra questi utilizzo inibitori enzima di conversione (ACEI) o sartani (ARB), utilizzo ipolipemizzanti e tra questi di statine nei due gruppi di pazienti.

Terapia	Maschi	Femmine
Dieta (%)	6.5	5.8
OHA (%)	61.9	59.3
OHA+I(%)	12.7	15.2
I (%)	18.9	19.7
PAOS	137.8±16.5	138,9± 9.7
OAA (%)	62	59
Di cui utilizzo ACEI o ARB (%)	51.8	52,4
Utilizzo ipolipemizzanti (%)	48	48
Di cui utilizzo statine (%)	94.1	92.5

p maschi vs femmine ns

Tab. 4

Prevalenze di Non Retinopatia Diabetica (NRD), Retinopatia Diabetica Non Proliferante (RDNP), Retinopatia Diabetica Preproliferante e Proliferante (RDPP) e Maculopatia (MAC) nella popolazione totale (3573 pazienti) e dopo suddivisione in maschi e femmine.

	NRD	RDNP	RDPP	MAC
Maschi	1606 (74,4%)	380(17,6%)	81(3,8%)	90 (4,2%)
Femmine	1080 (76,4%)	236 (16,7%)	40 (2,8%)	61 (4,2%)
Totale	2686 (75.2%)	616 (17.2%)	121 (3.4%)	151 (4.2%)
test chi 2 : p maschi vs femmine				
p=	0.19(ns)	0.51(ns)	0.16(ns)	0.23(ns)

Tab.5

BMI (Body Mass Index), età, durata del diabete e i diversi parametri biochimico-clinici suddivise in maschi (M) e femmine (F) per la classe Non Retinopatia Diabetica (NRD)

NRD		BMI	Età (anni)	Durata Diabete (anni)	HbA1c (%)	Colesterolo totale (mg/ml)	Colesterolo HDL (mg/ml)	Colesterolo LDL (mg/ml)	Trigliceridi (mg/ml)	Creatinina (μ mol/l)
M	1606	29 \pm 4	68 \pm 9	10 \pm 5	6.9 \pm 0.9	163 \pm 28	45 \pm 9	95 \pm 24	115 \pm 43	86 \pm 12
F	1080	30 \pm 5	69 \pm 9	10 \pm 5	7.0 \pm 0.9	175 \pm 28	52 \pm 11	101 \pm 24	114 \pm 41	74 \pm 17

P= ns maschi vs femmine

Tab.6

BMI(Body Mass Index), età, durata del diabete e i diversi parametri biochimico-clinici suddivise in maschi (M) e femmine (F) per la classe Retinopatia Diabetica Non Proliferante (RDNP).

RDNP	BMI	Età (anni)	Durata Diabete (anni)	HbA1c (%)	Colesterolo totale (mg/ml)	Colesterolo HDL (mg/ml)	Colesterolo LDL (mg/ml)	Trigliceridi (mg/ml)	Creatinina (μmol/l)	
M	380	29 \pm 4	74 \pm 8	17 \pm 8	7.3 \pm 1	163 \pm 28	46 \pm 9	96 \pm 24	111 \pm 42	96 \pm 28
F	236	31 \pm 6	75 \pm 8	20 \pm 9	8 \pm 1.6	169 \pm 29	51 \pm 11	96 \pm 24	111 \pm 41	83 \pm 27

P= ns maschi vs femmine

Tab.7

BMI (Body Mass Index), età, durata del diabete e i diversi parametri biochimico-clinici suddivise in maschi (M) e femmine (F) per la classe Retinopatia Diabetica Proliferante e Proliferante (RDPP)

RDPP	BMI	Età (anni)	Durata Diabete (anni)	HbA1c (%)	Colesterolo totale (mg/ml)	Colesterolo HDL (mg/ml)	Colesterolo LDL (mg/ml)	Trigliceridi (mg/ml)	Creatinina (μ mol/l)	
M	81	32.6 \pm 7	73 \pm 8	22 \pm 10	7.4 \pm 1	156 \pm 29	42 \pm 8	91 \pm 21	108 \pm 38	104 \pm 32
F	40	31.5 \pm 5	73 \pm 8	22 \pm 10	7.8 \pm 1	161 \pm 30	49 \pm 11	93 \pm 23	119 \pm 54	92 \pm 36

P=ns maschi vs femmine

Tab.8

BMI (Body Mass Index), età, durata del diabete e i diversi parametri biochimico-clinici suddivise in maschi (M) e femmine (F) per la classe Maculopatia (MAC).

MAC	BMI	Età (anni)	HbA1c (%)	Durata Diabete (anni)	Colesterolo totale (mg/ml)	Colesterolo HDL (mg/ml)	Colesterolo (mg/ml)	LDL	Trigliceridi (mg/ml)	Creatinina (μmol/l)
M	90	28.8 ± 3	77 ± 7	7.4 ± 1	20 ± 10	163 ± 25	47 ± 12	92 ± 20	102 ± 39	101 ± 28
F	61	30.3 ± 5	80 ± 8	7.5 ± 1	26 ± 10	174 ± 33	51 ± 10	95 ± 20	115 ± 37	93 ± 32

P=ns maschi vs femmine

DISCUSSIONE

L'attenzione per le problematiche di sesso-genere nel diabete non è ancora ampiamente condivisa, mentre lo dovrebbe essere in quanto esistono differenze rilevanti. Per esempio, nel periodo dal 1971 a 2000 la mortalità per diabete si è ridotta negli uomini mentre nelle donne è raddoppiata, per quanto riguarda, sia la mortalità totale che quella cardiovascolare (73). Le donne ricevono di solito un trattamento farmacologico meno intensivo di quanto viene offerto al sesso maschile anche dopo un evento acuto come l'infarto miocardico, e anche nel controllo metabolico del diabete, minore attenzione viene posta al sesso femminile. Di conseguenza è importante sia effettuare studi preclinici che clinici orientati alle differenze di sesso-genere e anche approfondire la consapevolezza delle differenze a livello del sistema sanitario e degli operatori sanitari. Riguardo la retinopatia diabetica la possibile presenza di differenze di sesso-genere non è ancora ben chiara. Vi sono studi che indicano che sia più frequente nel sesso maschile (74, 75). In questi due studi però l'identificazione del sesso maschile come determinante dello sviluppo di retinopatia diabetica è stata fatta su un campione relativamente piccolo (126-1000 pazienti) con diversi gradi di compenso metabolico, diversa durata diabete, pressione arteriosa e etnia. In tal modo l'estrapolazione del sesso maschile come determinante nello sviluppo di retinopatia diabetica è stata effettuata con correzioni statistiche che portano alla conclusione, (matematica), che il sesso è un fattore indipendente per lo sviluppo del diabete. Recentemente uno studio sulla popolazione cinese su un campione vasto di pazienti (circa 13.000) non ha evidenziato differenze di genere, ma l'etnia asiatica è diversa dalla caucasica e in quello studio sull'etnia Nord la prevalenza di retinopatia è maggiore rispetto a quella del SUD (76). E' quindi necessario valutare nella popolazione caucasica la possibile interferenza delle differenze di sesso-genere nello sviluppo di retinopatia diabetica.

La numerosità di questo studio è buona, i pazienti sono stati arruolati dopo almeno 5 anni di malattia nota, (nei primi 5 anni la comparsa di retinopatia è estremamente rara), e i pazienti dei due sessi non presentavano differenze significative per quanto riguarda sia i dati antropometrici che biochimici, che di trattamento farmacologico, (età, durata diabete, BMI, compenso metabolico glicemico espresso come HbA1c, colesterolo LDL, funzionalità renale come creatinina, pressione arteriosa e utilizzo di ACE inibitori). In questo studio abbiamo, quindi, le condizioni ideali per valutare se la differenza di sesso-genere può influire nello sviluppo di retinopatia diabetica indipendente da altri parametri, essendo il sesso-genere l'unica variabile in discussione. La apparente sproporzione tra maschi (60,4%) e femmine (39,6%) nel nostro studio ricalca quella nota a livello italiano tra i pazienti che frequentano le diabetologie. Dagli Annali AMD, (Associazione Medici Diabetologi), risulta che dei 415.294 pazienti diabetici tipo 2 provenienti da 236 servizi di diabetologia i maschi sono il 57,7% e le femmine 42,3% (77). Quindi, nonostante i criteri di inclusione abbiano portato a escludere tutti i pazienti con durata nota di diabete inferiore a 5 anni e quelli che non avevano i dati clinici nella cartella elettronica, la prevalenza di maschi e femmine, ricalca la prevalenza delle differenze di genere della popolazione diabetica italiana. La prevalenza di retinopatia diabetica a livello italiano è riportata in modo frammentario non esistendo registri per la retinopatia che comunque rimane nel diabetico, una delle maggiori cause di cecità legale. In uno studio veneto la prevalenza di retinopatia diabetica su un campione di più di 1300 pazienti era del 26,2 % (78), dati simili alla prevalenza da noi rilevata nel nostro campione di 3573 pazienti (24,8%) tramite la retinografia non midriatica. L'accesso alla vista oculistica per la visione midriatica del fundus oculare non è universalmente di accesso a tutti i pazienti e in ogni caso ha un costo relativamente elevato. L'utilizzo del retinografo non midriatico è una procedura oramai riconosciuta per l'identificazione dei pazienti con retinopatia diabetica con una sensibilità di più del 85%, venendo indicata come lo standard per le procedure di screening particolarmente

quando è collegata con la telemedicina.

Le differenze di genere nell'ambito delle malattie cardiovascolari sono molte. La più evidente – di ordine epidemiologico – è che una donna con diabete ha un rischio maggiore di infarto (3-5 volte) e di cardiovasculopatia (3 volte) rispetto a una donna non diabetica di pari età e peso, mentre nell'uomo con diabete il rischio aumenta “solo” di due volte. Anche gli esiti dell'infarto del miocardio sono più spesso infausti nelle donne, con una mortalità a 30 giorni dall'evento acuto più elevata (79). In Europa nel 2010 sono morte per infarto o ictus cerebrale 336.000 donne fra i 20 e i 79 anni contro 297.000 uomini. Le donne presentano anche un pattern diverso di malattia renale diabetica (nefropatia diabetica,) infatti, tendono a sviluppare insufficienza renale cronica senza avere microalbuminuria, mentre nel sesso maschile la micro/macroalbuminuria è più frequente e spesso precede l'insufficienza renale cronica (studio RIACE) (80). Nella valutazione delle differenze di sesso genere, bisogna anche sempre considerare se gli altri parametri differiscono tra i due sessi, dato che un peggiore compenso metabolico in uno dei due sessi potrebbe spiegare la maggiore frequenza di complicanze. In effetti, sempre in riferimento al parametro per eccellenza del controllo metabolico, i risultati raccolti negli Annali AMD mostrano che il compenso glicometabolico ottimale ($HbA1c \leq 7,0\%$), viene raggiunto in meno della metà della popolazione assistita, e che nel genere femminile la percentuale è inferiore rispetto al genere maschile (41,7% vs 45,5%). Se prendiamo in esame la distribuzione per classi di HbA1c, qualsiasi sia il valore preso come riferimento, superiore a 8% o superiore a 9%, la quota di soggetti scompensati è sempre a svantaggio delle donne (rispettivamente 29,1% vs 26,9% e 13,4% vs 12,8%). Altro parametro in grado di influenzare il compenso glicometabolico è il BMI che in genere nelle vare casistiche risulta costantemente superiore nelle donne in tutte le classi di HbA1c. L'obesità è un noto fattore di rischio cardiovascolare indipendente, oltre a essere un fattore di rischio indipendente per tumori

gastrointestinali, al seno e all'utero. Un altro dato che potrebbe spiegare perché il sesso femminile è gravato da una maggiore prevalenza di malattie cardiovascolari e renali nella popolazione diabetica è che anche il colesterolo LDL e la pressione arteriosa tendono a essere più elevati nelle donne diabetiche. Questo può spiegare, in parte, l'aumentato rischio cardiovascolare nelle donne diabetiche; in particolare può giustificare la mancata protezione del sesso femminile nei confronti del rischio di infarto, che si osserva nella popolazione non diabetica. Inoltre, questi due parametri (colesterolo LDL e pressione arteriosa) hanno un loro preciso ruolo nello sviluppo di retinopatia diabetica. E' chiaro che, se analizziamo una popolazione che ha un compenso metabolico peggiore, una pressione arteriosa più elevata, fattori che rispecchiano un trattamento farmacologico diverso, si possono evidenziare differenze di sesso-genere che non esistono per l'evento finale considerato, (nel nostro caso la retinopatia diabetica), ma per i fattori che concorrono allo sviluppo della stessa.

Date queste differenze di sesso-genere negli outcome intermedi la selezione di un campione di pazienti ben accoppiati per tutte le variabili note in grado di influenzare la comparsa di retinopatia diabetica, rende più diretta l'analisi delle eventuali differenze di sesso-genere. Nella nostra popolazione non ci sono differenze di sesso-genere per quanto riguarda il BMI e il compenso metabolico glicemico (HbA1c), l'assetto lipidico, la pressione arteriosa o il trattamento farmacologico. Questa uguaglianza che rispecchia l'attenzione data nel nostro centro diabetologico al trattamento farmacologico e al raggiungimento dei target in maniera paritaria nei due sessi, permette di analizzare in maniera analitica, senza fattori confondenti, le differenze di sesso – genere nelle complicanze del diabete.

CONCLUSIONI

Nel nostro campione numerosamente robusto e fortemente omogeneo per tutti i parametri in grado di condizionare lo sviluppo di retinopatia diabetica, non emergono differenze significative tra i due sessi per quanto riguarda la retinopatia diabetica, indicando che la stessa attenzione deve essere posta a questa complicanza indipendentemente dal sesso.

In sintesi i due risultati più importanti che emergono da questo studio sono:

- a) Non esistono differenze di sesso-genere nello sviluppo della retinopatia diabetica se i due generi vengono paragonati in soggetti equivalenti per durata di diabete, compenso metabolico, pressione arteriosa, trattamento farmacologico per il diabete, l'ipertensione e la dislipidemia.
- b) L'utilizzo della retinografia ha permesso di escludere la presenza di retinopatia diabetica nel 75,2% dei pazienti senza sottoporli alla più costosa procedura della visita oculistica con un risparmio sia in termini monetari che di tempo che la specialistica oculistica può impiegare, per la riduzione delle liste di attesa per l'esecuzione di esami di più alto livello come l'OCT, la fluorangiografia e il trattamento laser della retinopatia diabetica.

Per ora, ciò che la comunità diabetologica può fare a fronte di questi risultati è intensificare il trattamento fino a ottenere i target desiderati per i maggiori fattori di rischio cardiovascolari soprattutto nelle donne, verificando che non ci sia un'autoriduzione delle terapie o abbandoni ingiustificati.

BIBLIOGRAFIA

1. Money J, Tucker P (1975). *Sexual Signatures on Being a Man or a Woman*. London: Little Brown & Co.
2. Argyrous G, Stilwell F (2003). *Economics as a Social Science: Readings in Political Economy*, second ed. Pluto Press.
3. Rubin G (1975). *The Traffic in Women: Notes on the 'Political Economy' of Sex*. In Reiter, R. (eds). *Toward an Anthropology of Women*. New York: Monthly Review Press.
4. Rogers L (1999). *Sexing the Brain*. New York: Columbia University Press.
5. Marino M, Masella R, Bulzoni P, Campesi I, Malorni W, Franconi F (2011). *Nutrition and human health from a sex-gender perspective*. *Mol Aspect Med*; 32; 1-70.
6. O.N.Da (2008). *La salute della donna – Proposte, strategie, provvedimenti per migliorarla*. Libro verde. Milano: Franco Angeli.
7. O.N.Da (2009). *La salute della donna. Stato di salute e assistenza nelle regioni italiane*, Libro bianco. Milano: Franco Angeli.
8. Franconi F, Cantelli Forti G. *Manuale di Medicina Sesso-Genere*. Bononia University Press (2013)
9. McCartney G, Mahmood L, Leyland AH, Batty GD, Hunt K (2011). *Contribution of smoking-related and alcohol-related deaths to the gender gap in mortality: evidence from 30 European countries*. *Tob Control*; 20: 166-168.
10. Liker A, Szekely T (2005). *Mortality costs of sexual selection and parental care in natural populations of birds*. *Evolution*; 59: 890-897.

11. Christensen K, Orstavik KH, Vaupel JW (2001). The X chromosome and the female survival advantage: an example of the intersection between genetics, epidemiology and demography. *Ann N Y Acad Sci*; 954: 175-183.
12. Oksuzyan A, Petersen I, Stovring H, Bingley P, Vaupel JW, Christensen K (2009). The male-female health-survival paradox: a survey and register study of the impact of sexspecific selection and information bias. *Ann Epidemiol*; 19: 504-511
13. Rapporto del CNEL (2009). Il lavoro che cambia. Roma.
14. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*.2007;30(suppl 1):S42-S47.
15. Stumvoll M,Goldstein BJ,van Haeften TW.Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005;365:1333-1346.
16. Wild S et al. Global prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care* 27:1047-1053,2004.
17. Porta M,Bandello F. Diabetic retinopathy. A clinical update. *Diabetologia*(2002) 45:1617-1634.
18. Klein R,Klein BEK,Jensen SC,Moss SE.The relation of socioeconomic factors to the incidence of proliferative diabetic retinopathy and loss of vision.*Ophthalmology*(1994) 101:68-76.
19. Klein R,Klein BEK,Moss SE.Prevalence of diabetes mellitus in Southern Wisconsin.*Am J Epidemiol*(1984)119:54-61.
20. Stephenson J,Fuller JH and the EURODIAB IDDM Complications Study Group (1994). Microvascular and acute complications in IDDM patients:the EURODIAB complications

study. *Diabetologia* 37:278-285.

21. Herman WH, Teutsch SM, Sepe SJ, Sinnock P, Klein R. An approach to the prevention of blindness in diabetes. *Diabetes care* (1983)6:608-613.

22. American Diabetes Association. (1997) Position Statement Screening for diabetic retinopathy. *Diabetes care* 20 (Suppl.1):S28-S30.

23. Porta M, Tomalino MG, Santoro F, et al. (1995) Diabetic retinopathy as a cause of blindness in the province of Turin, North-West Italy, in 1967-1991. *Diab Med* 12:355-361.

24. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: the effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 329:977-986, 1993.

25. O. Bringham-Hansen, K. Dahl-Jorgensen, L. Svandik, K. F. Hanssen. Blood glucose concentrations and progression of diabetic retinopathy: the 7-years results of the Oslo study. *BMJ* 1992;304(6818):19-22.

26. UK prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-53.

27. Renu A, Kowluru, Mamta Kanwar, Alexander Kennedy. Metabolic memory phenomenon and accumulation of peroxynitrite in retinal capillaries. *Experimental Diabetes Research* vol 2007, article ID 21976.

28. Robert N. Frank, M.D. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2004 350:48-58.

29. Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. The endothelial surface layer. *Pflügers Arch* 2000;440:653-

666.

30. E.L.Fletcher,J.A.Phipps,J.L.Wilkinson-Berka.Dysfunction of retinal neurons and glia during diabetes.Clin Exp Optom 2005;88:3:132-145.

31. Shepro D,Morel NML.Pericyte physiology.FASEB J 7:1031-1038,1993.

32. Pascal MM,Forrester JV,Knott RM.Glucose-mediated regulation of TGF-beta and TGF-beta receptors in human retinal endothelia cells.Curr Eye Res.19:162-170,1999.

33. Roy S,Maiello M,Lorenzi M.Increased expression of basement membrane collagen in human diabetic retinopathy.J Clin Invest 93:438-442,1994.

34. M.Lorenzi.The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient. Review Article. Experimental Diabetes Research,Vol2007,Article ID 61038.

35. P.F.Kador,Y.Akagi,Y.Takahashi,H.Ikebe,M.Wyman,J.H.Kinoshita.Prevention of retinal vessel changes associated with diabetic retinopathy in galactose-fed dogs by aldose reductase inhibitors.Archives of Ophthalmology,vol.108,no.9,1301-1309,1990.

36. R.L.Engermann,T.S Kern.Aldose reductase inhibition fails to prevent retinopathy in diabetic and galactosemic dogs.Diabetes,42:820-825,1993.

37. M.Mizutani,C.Gerhadinger,M.Lorenzi.Muller cell changes in human diabetic retinopathy.Diabetes;47:445-449,1998.

38. A.G Demaine.Polymorphisms of the aldose reductase gene and susceptibility to diabetic microvascular complications.Current Medicinal Chemistry;15:1389-1398,2003.

39. Olmos P,Futers S,Acosta AM et al. Z-2 polymorphism of the aldose reductase gene and fast

progression of retinopathy in Chilean type2 diabetics.Diabetes research and clinical practice 47:169-176,2000.

40. Z.Dangher,Y.S Park,V.Asnaghi,T.Hoehn,C.Gerhandiger,M.Lorenzi.Studies of rat and human retinas predict a role for the polyol pathway in human diabetic retinopathy.Diabetes;53:2404-2411,2004.

41. T.S.Kern.Contributions of inflammatory processes to the development of the early stages of diabetic retinopathy.Experimental diabetes research.Vol2007;Article ID 95103.

42. C.Baudoin,P.Passa,P.Sharp,E.Kohner.Effects of aspirin alone and aspirine plus dipyridamole in early diabetic retinopathy:a multicenter randomized controlled clinical trial.Diabetes,38:491-498,1989.

43. Early Treatment Diabetic Retinopathy Research Group. Effects of aspirine treatment on diabetic retinopathy. Ophthalmol;98:757-765,1991.

44. R.A.Kowluru, Pooi-See Chan.Oxidative stress and diabetic retinopathy. Review article. Experimental Diabetes Research. Vol2007,Article ID 43603.

45. Idris I,Gray S,Donnelly R.Protein Kinase C activation:isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes.Diabetologia 44:659-673,2001.

46. Daisuke K,King GL.Protein Kinase C and development of diabetic complications.Diabetes 47:859-866,1998.

47. Barber AJ,Lieth E,Khin SA,Antonetti DA,Buchanan AG,Gardner TW.Neuronal apoptosis in the retina during experimental and human diabetes.J Clin Invest.1998;102:783-791.

48. Bui BV,Armitage JA,Tolcos M,Cooper ME,Vingris AJ.ACE inhibition salvages the visual loss

caused by diabetes. *Diabetologia* 2003;46:401-408.

49. Ewing FM, Deary IJ, Strachan MW, Frier BM. Seeing beyond retinopathy in diabetes: electrophysiological and psychophysical abnormalities and alterations in vision. *Endocr Rev* 1998;19:462-476.

50. Amin RH, Frank RN, Kennedy A, Elliot D, Puklin JE, Abrams GW. Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with non-proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:36-47.

51. Hu G. Gender difference in all-cause and cardiovascular mortality related to hyperglycaemia and newly-diagnosed diabetes. *Diabetologia*. 2003;46(5):608-17.

52. Regensteiner JG, Golden S, Huebschmann AG *et al.* Sex Differences in the Cardiovascular Consequences of Diabetes Mellitus: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2015;132(25):2424-47

53. Rossi MC, Cristofaro MR, Gentile S *et al.* Sex disparities in the quality of diabetes care: biological and cultural factors may play a different role for different outcomes: a cross-sectional observational study from the AMD Annals initiative. *Diabetes Care*. 2013;36(10):3162-8.

54. Howard BV, Cowan LD, Go O *et al.* Adverse effects of diabetes on multiple cardiovascular disease risk factors in women. The Strong Heart Study. *Diabetes Care*. 1998;21(8):1258-65.

55. Barrett-Connor E, Ferrara A. Isolated postchallenge hyperglycemia and the risk of fatal cardiovascular disease in older women and men. The Rancho Bernardo Study. *Diabetes Care*. 1998;21(8):1236-9.

56. Policardo L, Seghieri G, Francesconi P *et al.* Gender difference in diabetes-associated risk of

- first-ever and recurrent ischemic stroke. *J Diabetes Complications*. 2015;29(5):713-7.
57. Lewis EJ, Hunsicker LG, Rodby RA. A clinical trial in type 2 diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(4 Suppl 1):S191-4.
58. Walker EA, Molitch M, Kramer MK *et al*. Adherence to preventive medications: predictors and outcomes in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care*. 2006;29(9):1997-2002.
59. Zhang X, Saaddine JB, Chou CF *et al*. Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005-2008. *Jama*. 2010;304(6):649-
60. Schanzlin DJ, Jay WH, Fritz KJ, Tripathi RC, Gonen B. Hemoglobin A1 and diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*.1979;88(6):1032-8.
61. Pirart J. [Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4,400 patients observed between 1947 and 1973 (author's transl)]. *Diabete Metab*. 1977;3(2):97-107.
62. Constable IJ, Knuiman MW, Welborn TA *et al*. Assessing the risk of diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1984;97(1):53-61.
63. West KM, Ahuja MM, Bennett PH *et al*. Interrelationships of microangiopathy, plasma glucose and other risk factors in 3583 diabetic patients: a multinational study. *Diabetologia*. 1982;22(6):412-20.
64. Pradeepa R, Anitha B, Mohan V, Ganesan A, Rema M. Risk factors for diabetic retinopathy in a South Indian Type 2 diabetic population--the Chennai Urban Rural Epidemiology Study (CURES) Eye Study 4. *Diabet Med*. 2008;25(5):536-42.
65. Rani PK, Raman R, Chandrakantan A *et al*. Risk factors for diabetic retinopathy in self-reported

rural population with diabetes. *J Postgrad Med.* 2009;55(2):92-6.

66. Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Phys Ther.* 2008;88(11):1254-64.

67. Kajiwara A, Miyagawa H, Saruwatari J *et al.* Gender differences in the incidence and progression of diabetic retinopathy among Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: a clinic-based retrospective longitudinal study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103(3):e7-10.

68. Jervell J, Moe N, Skjaeraasen J, Blystad W, Egge K. Diabetes mellitus and pregnancy--management and results at Rikshospitalet, Oslo, 1970-1977. *Diabetologia.* 1979;16(3):151-5.

69. Moloney JB, Drury MI. The effect of pregnancy on the natural course of diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 1982;93(6):745-56.

70. Ogawa K, Okamoto N, Saito Y *et al.* A case of diabetic retinopathy that progressed with sex hormone administration. *Folia Ophthalmol Jpn.* 1993;44:1338-42.

71. Campesi I, Sanna M, Zinellu A *et al.* Oral contraceptives modify DNA methylation and monocyte-derived macrophage function. *Biol Sex Differ.* 2012;3:4.

72. Harjutsalo V, Maric C, Forsblom C *et al.* Sex-related differences in the long-term risk of microvascular complications by age at onset of type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2011;54(8):1992-9.

73. Franconi F, Campesi I, Occhioni S, Tonolo G Sex-gender differences in diabetes vascular complications and treatment. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2012 Jun;12(2):179-96.

74. Kashani AH¹, Zimmer-Galler IE, Shah SM, Dustin L, Do DV, Elliott D, Haller JA, Nguyen QD. Retinal thickness analysis by race, gender, and age using Stratus OCT *Am J Ophthalmol.* 2010

Mar;149(3):496-502.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2009.09.025. Epub 2009 Dec 30.;

75. Zhang X1, Saaddine JB, Chou CF, Cotch MF, Cheng YJ, Geiss LS, Gregg EW, Albright AL, Klein BE, Klein R, Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005-2008. JAMA. 2010 Aug 11;304(6):649-56. doi: 10.1001/jama.2010.1111.).

76. Liu Y1, Song Y1, Tao L2, Qiu W1, Lv H1, Jiang X1, Zhang M1, Li X1. Prevalence of diabetic retinopathy among 13473 patients with diabetes mellitus in China: a cross-sectional epidemiological survey in six provinces BMJ Open. 2017 Jan 9;7(1):e013199. doi: 10.1136/bmjopen-2016-013199.

77. Le Monografie degli annali AMD2011

<http://www.aemmedi.it/files/pdf/Annali%20genere%20web.pdf>

78. T. Segato, E. Midena, F. Grigoletto et al., "The epidemiology and prevalence of diabetic retinopathy in the Veneto region of North East Italy. Veneto Group for Diabetic Retinopathy," Diabetic Medicine, vol. 8, pp. S11–S16, 1991

79. Alexander KP et al., Acute coronary care in the elderly, part I: Non-ST-segment-elevation acute coronary syndromes: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology: in collaboration with the Society of Geriatric Cardiology. Circulation, 2007;115;2549

80. Penno G, Solini A, Bonora E, Fondelli C, Orsi E, Zerbini G, Trevisan R, Vedovato M, Gruden G, Laviola L, Nicolucci A, Pugliese G; Renal Insufficiency And Cardiovascular Events (RIACE) study, group. Gender differences in cardiovascular disease risk factors, treatments and complications in patients with type 2 diabetes: the RIACE Italian multicentre study.

J Intern Med. 2013 Aug;274(2):176-91. doi: 10.1111/joim.12073.