

**EL EPITELIO PIGMENTARIO
RETINIANO COMO COMPONENTE
DE LA BARRERA HEMATO-RETINIANA:
IMPLICACIÓN EN LA RETINOPATÍA
DIABÉTICA**

Stéphanie Thebault

Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla

Departamento de Neurobiología Celular y Molecular

Laboratorio de Endocrinología Molecular

El epitelio pigmentario retiniano como componente de la barrera hemoretiniana: implicación en la retinopatía diabética

Resumen :

La retina es una estructura compleja formada por varias capas, las cuales pueden dividirse funcionalmente en dos partes: una interna y una externa. La parte interna comprende la capa fotosensible de conos y bastones, y sus conexiones nerviosas que captan luz y la convierten en impulsos nerviosos eléctricos, los cuales son transmitidos mediante el nervio óptico. La parte externa incluye el epitelio pigmentario retiniano (EPR) y su lámina basal denominada membrana de Bruch, ambos mantienen la integridad de la barrera entre la coroides y la retina, también conocida como barrera hemato-retiniana externa. La coroides se encuentra entre la retina y la esclerótica y constituye la principal fuente de irrigación sanguínea de la mitad externa de la retina. El EPR está constituido de una monocapa polarizada de células hexagonales pigmentadas y su integridad es esencial para la visión, con funciones tan importantes como el transporte de nutrientes, iones y agua; la captación de la vitamina A circulante, su almacenamiento bajo su forma esterificada y su transformación en retinol, para después transferirla hacia los fotorreceptores; la eliminación del material de desecho acumulado al nivel de los fotorreceptores; la absorción de luz; la protección en contra de la fotooxidación y la secreción de factores esenciales para mantener la integridad estructural de la retina. Son muchos los padecimientos que afectan a la retina, sin embargo, la retinopatía diabética es la principal causa de ceguera a nivel mundial y ocupa en México el primer lugar de las complicaciones oculares entre los más de 10 millones de pacientes diabéticos. Si bien la retinopatía diabética proliferativa representa el mayor riesgo de ceguera en pacientes con diabetes de tipo 1 (forma juvenil), el edema macular diabético disminuye la agudeza visual en casi la totalidad de los pacientes con diabetes de tipo 2 (relacionado principalmente con alteraciones metabólicas). El edema macular se debe, principalmente, a un derrame vascular iniciado por la ruptura de la barrera hemato-retiniana. Aunque la gran mayoría de los estudios se han enfocado en estudiar el deterioro de la barrera hemato-retiniana interna y la capa fotosensible de la retina, actualmente se considera que como parte de la barrera hemato-retiniana externa, el EPR juega un papel crucial en dicho padecimiento. En el presente artículo, se revisarán las principales funciones fisiológicas del EPR, con un enfoque especial en las alteraciones sufridas por el EPR en el contexto de la retinopatía diabética.

Palabras clave: Epitelio pigmentario retiniano; diabetes; retinopatía diabética; barrera hemato-retiniana, edema macular diabético.

The retinal pigment epithelium as a blood-retinal barrier component: Involvement in diabetic retinopathy

Abstract :

The retina is a multilayer structure that can be functionally divided into an inner and an outer part. The inner part consists of the photosensitive rods and cones that receive light and the nerve connections that convert it into electrical impulses which are subsequently transmitted through the optic nerve. The outer part includes the retinal pigment epithelium (RPE) and its

basal lamina, the Bruch's membrane, which together form a barrier, known as the outer blood-retinal barrier, between the choroids and the retina. The choroid lies between the retina and the sclera and is the main source of blood to the outer half of the retina. The RPE is composed of a polarized monolayer of pigmented hexagonal cells, and its integrity is essential for vision. Its main functions include nutrient, ion, and water transport; uptake of circulating vitamin A, its storage as an ester, its conversion to retinol, and then its transfer to the photoreceptors; elimination of waste material accumulated at photoreceptors, light absorption, protection against photo-oxidation, and secretion of factors essential for maintaining the structural integrity of the retina. Diabetic retinopathy is the leading cause of blindness worldwide and is the most frequent diabetes-related ocular complications in Mexico. Whereas proliferative diabetic retinopathy is the most common sight-threatening lesion in patients with type 1 diabetes (juvenile form), diabetic macular edema is the primary cause of poor visual acuity in those with type 2 diabetes (related mainly to metabolic disorders). Diabetic macular edema is primarily due to vascular leakage caused by rupture of the blood-retinal barrier. Although most scientific studies focused on the disruption of the inner blood-retinal barrier, the EPR as a component of the outer blood-retinal barrier is now considered as an essential player in diabetic macular edema pathology. Here, we will describe the main physiological functions of the EPR and will also focus on the alterations of the RPE in the context of diabetic retinopathy.

Keywords: Retinal pigment epithelium; blood-retinal barrier; diabetes; diabetic retinopathy; diabetic macular edema.

Introducción

El epitelio pigmentario de la retina (EPR) es una monocapa de células pigmentadas situado entre la retina neural y la coroides. Por ser de origen neuroectodérmico, el EPR se considera como parte de la retina. El límite interno, también conocido como membrana apical, se interdigita con los segmentos externos de los fotorreceptores. El límite externo (o membrana basolateral) se enfrenta a la membrana de Bruch, la cual separa el EPR de los capilares fenestrados de la coroides (figura 1). El EPR y la membrana de Bruch forman la barrera hemato-retiniana externa. La barrera hemato-retiniana interna está constituida principalmente por las células endoteliales. La presencia de uniones estrechas entre las células del EPR y del endotelio vascular es esencial para el control estricto del transporte de líquidos y solutos a través de la barrera hemato-retiniana, así como para prevenir la entrada de moléculas tóxicas y componentes del plasma en la retina. Por lo tanto, el EPR como componente de la barrera hemato-retiniana es esencial para la integridad de la retina.[1]

Las principales funciones del EPR son las siguientes: 1) Transporte de nutrientes, iones y agua, 2) Absorción de luz y protección contra la fotooxidación, 3) Reciclaje del retinal, esencial para el ciclo visual; 4) Fagocitosis de los discos membranosos de los segmentos externos de los fotorreceptores; y 5) Secreción de varios factores esenciales para la integridad estructural de la retina. Aparte de estas funciones, el EPR estabiliza la concentración de iones en el espacio subretiniano, lo cual es crucial para el mantenimiento de la excitabilidad de los fotorreceptores. [1] El EPR está involucrado también en el privilegio inmune del ojo a través de la secreción de factores inmunosupresores en el interior de dicha estructura.[1] Así, resulta claro que el EPR es esencial para la función visual, y que alteraciones en cualquiera de sus funciones pueden

conducir a la degeneración de la retina y en la disminución de la agudeza visual, pudiendo inclusive llegar a la ceguera.

Son muchos los padecimientos que afectan a la retina. No obstante, la retinopatía diabética (RD) como complicación de la Diabetes Mellitus, sigue siendo la principal causa de ceguera en personas laboralmente activas a nivel mundial. [2] La RD puede presentarse en forma vasoproliferativa y/o como edema macular. La RD vasoproliferativa es la lesión oftalmológica más común en pacientes con diabetes de tipo 1 (forma juvenil), y se debe principalmente a la formación de nuevos vasos sanguíneos en la retina en respuesta a una hipoxia inducida por altos niveles de glucosa. Por otra parte, el edema macular diabético (EMD) es la principal causa de disminución de la agudeza visual en diabéticos de tipo 2, pudiendo llegar inclusive a producir pérdida de visión.[2] Es además una complicación que se detecta casi en la totalidad de los pacientes diabéticos tipo 2 con RD.[3] Cabe enfatizar que el 90 % de los diabéticos en México padecen de diabetes tipo 2, y que el tratamiento de primera elección son los enfoques no farmacológicos incluyendo la modificación de la dieta, el control de peso y el ejercicio regular. Resulta claro que debido a la alta prevalencia de diabetes tipo 2, el EMD es la principal causa de discapacidad visual en pacientes diabéticos.[2] El EMD se produce a partir de la degradación de la barrera hemato-retiniana que da lugar a la acumulación tanto de fluidos como de macromoléculas en la zona central de la retina responsable de la visión de alta resolución, que es la mácula. Si bien en teoría, la ruptura tanto de la barrera hemato-retiniana interna como externa o la disfunción del EPR podrían provocar edema macular. En el caso del EMD la mayor parte de las evidencias científicas apunta al compromiso de la barrera hemato-retiniana interna como la mayor responsable. Y aunque cada vez se evidencia más al EPR como un activo epitelio secretor, parece que esta importante función ha sido menos reconocida.

A continuación se revisarán las principales funciones fisiológicas del EPR, con un enfoque especial en las alteraciones sufridas por el EPR en el contexto de la retinopatía diabética.

Transporte transepitelial

El transporte a través del EPR es bidireccional: 1) Del espacio subretiniano hacia la coroides, el EPR transporta electrolitos y agua, y 2) De la sangre hacia los fotorreceptores, el EPR transporta glucosa y otros nutrientes.

Transporte de la sangre hacia los fotorreceptores

El EPR absorbe nutrientes como la glucosa, retinol, ácido ascórbico y ácidos grasos de la sangre y los entrega a los fotorreceptores.

Para el transporte de glucosa, el EPR contiene altas cantidades de transportadores de glucosa (GLUT), tanto en su membrana apical como basolateral. Ambos GLUT1 y GLUT3 son altamente expresados en el EPR.[4, 5] GLUT3 media el transporte basal de glucosa, mientras que GLUT1 es responsable del transporte de glucosa inducido en respuesta a diferentes demandas metabólicas.

Otra función importante del EPR es el transporte de retinol para garantizar el suministro

del retinal a los fotorreceptores. La mayor parte del retinal se intercambia entre el EPR y los fotorreceptores durante el ciclo visual en el que la forma todo-trans-retinol proviene de los fotorreceptores, se isomeriza a 11-cis-retinal en el EPR, y se entrega nuevamente a los fotorreceptores.[1]

La entrega de los ácidos grasos como el ácido docosahexaenoico a los fotorreceptores es otro transporte importante para la función visual.[6] El ácido docosahexaenoico es un ácido graso de tipo omega-3 que no puede ser sintetizado por el tejido nervioso, pero es indispensable para la estructura de las membranas de las neuronas y los fotorreceptores. El ácido docosahexaenoico se sintetiza en el hígado a partir de su precursor, el ácido linolénico, y es transportado en la sangre mediante lipoproteínas plasmáticas.[1] Además de su papel en la integridad funcional del EPR, el ácido docosahexaenoico es el precursor de la neuroprotectina D1, un docosatrieno que protege el EPR en contra del estrés oxidativo.[7]

Recientemente se demostró, utilizando una línea de células de EPR, que el incremento en los niveles de glucosa (hiperglucemia) regula a la baja GLUT-1 mediante la activación de la vía de Akt mediada por el estrés oxidativo.[8] Asimismo, el transporte de retinol puede ser alterado por una disminución de la producción de la proteína de unión a retinol intersticial (IRBP) en pacientes diabéticos (ver más abajo). Por último, en presencia de hiperglucemia también existe una alteración del transporte de ácido ascórbico, lo que limita la respuesta del EPR en contra del estrés oxidativo.[9] Hasta la fecha, no se han reportado efectos de la diabetes sobre el metabolismo del ácido docosahexaenoico.

Transporte de los fotorreceptores hacia la sangre

El EPR transporta iones y agua del espacio subretiniano (lado apical) hacia la sangre de la coroides (lado basolateral).[1] La bomba Na(+)/K(+)-ATPasa que se encuentra en la membrana apical del EPR proporciona la energía necesaria para el transporte transepitelial.[10]

Se produce una gran cantidad de agua en la retina, lo cual se debe principalmente a la alta actividad metabólica de las neuronas y los fotorreceptores. Por otra parte, la presión intraocular genera un movimiento constante de agua del cuerpo vítreo hacia la retina. Estos dos procesos hacen necesaria la eliminación constante del agua de la capa interna de la retina hacia los capilares de la coroides.[11] El agua presente dentro de la retina es transportada por las células gliales de Müller, mientras que el agua presente en el espacio subretiniano se elimina a través del EPR.[11] Este transporte transepitelial se debe principalmente a un transporte de Cl(-) y K(+).[11] De manera interesante, la eliminación constante del agua en el espacio subretiniano produce una fuerza de adherencia entre la retina y el EPR, la cual se pierde si se inhibe la bomba Na(+)/K(+)-ATPasa por ouabaína.[12]

Las uniones estrechas presentes entre cada célula del EPR establecen una barrera entre el espacio subretiniano y los capilares de la coroides.[13] Cabe destacar que la resistencia paracelular de esta barrera es 10 veces mayor a la resistencia transcelular, lo cual clasifica al EPR como un epitelio estrecho.[13] Por esta razón, el agua no puede atravesar el EPR por la vía paracelular y transita principalmente por la vía transcelular, a través de la acuaporina-1.[13, 14]

Recientemente se ha demostrado que altas concentraciones de glucosa plasmática disminuyen la concentración de bomba Na(+)/K(+)-ATPasa y reducen la permeabilidad del EPR [15]. Por lo tanto, la hiperglucemia podría alterar el transporte de agua desde el espacio subretiniano hacia los capilares de la coroides y, en consecuencia, podrían contribuir en el desarrollo de EMD. Sin embargo, hasta la fecha no se conocen los posibles efectos de la diabetes sobre la expresión y/o actividad de las acuaporinas en el EPR.

Absorción de la luz y protección en contra de la foto-oxidación

La retina es el único tejido neuronal que está expuesto directa y frecuentemente a la luz, lo cual favorece la oxidación de los lípidos que se vuelven extremadamente tóxicos para las células de la retina [16]. Además, la retina es el tejido que proporcionalmente consume más oxígeno, lo que genera una alta producción de especies reactivas del oxígeno. El EPR es esencial para contrarrestar el estrés oxidativo que ocurre en la retina, y lo hace a través de dos mecanismos. Primero, el EPR absorbe y filtra la luz. Para este propósito, el EPR contiene varios tipos de pigmentos incluyendo la melanina y la lipofuscina, los cuales absorben de manera específica diferentes longitudes de onda, particularmente las de alto riesgo [16]. Segundo, el EPR produce moléculas antioxidantes. Como antioxidantes enzimáticos, el EPR contiene altos niveles de la superóxido dismutasa y catalasa [16]. Como antioxidantes no enzimáticos, el EPR acumula carotenoides, como la luteína y la zeaxantina o el ascorbato (o vitamina C) [1]. Además, el glutatión y la melanina contribuyen de manera importante en la defensa contra los antioxidantes. Notablemente, la retinopatía diabética se caracteriza por una reducción en los niveles de moléculas antioxidantes como el glutatión, la superóxido dismutasa y el ácido ascórbico, lo cual promueva el daño retiniano inducido por el estrés oxidativo [17].

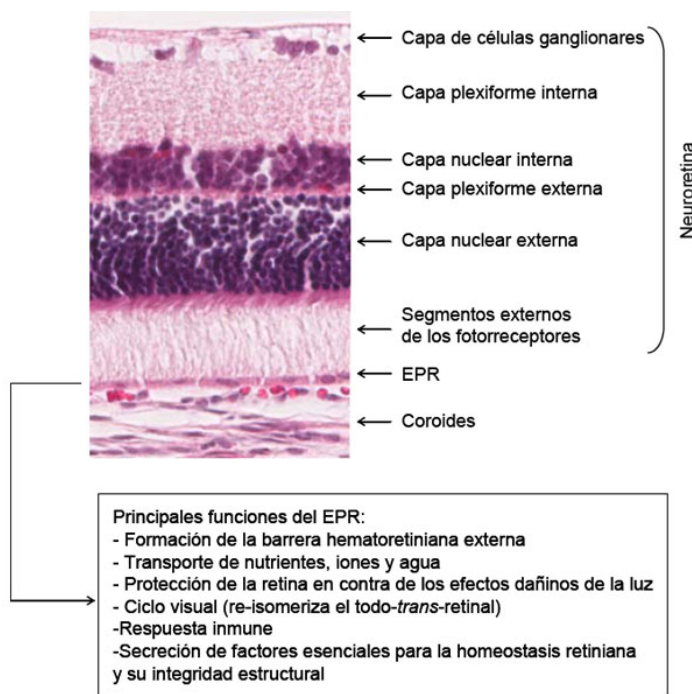


Figura 1: Sección de retina de ratona incluyendo a la capa del epitelio pigmentario retiniano (EPR). Se enlistan las principales funciones del EPR.

Ciclo visual

En los vertebrados, la visión se inicia y mantiene mediante la fotólisis y la regeneración, respectivamente, de pigmentos sensibles a la luz, los cuales están presentes en discos membranosos aislados de la membrana de los segmentos externos de los fotorreceptores. Este proceso cíclico depende del intercambio de retinoides entre los fotorreceptores y el EPR.

La transducción de la luz se inicia con la absorción de la luz por la rodopsina, que se compone de una proteína receptora acoplada a proteína G, la opsina, y el cromóforo 11-cis-retinal. [18] La absorción de la luz cambia la conformación de 11-cis-retinal en todo-trans-retinal. Los fotorreceptores no poseen la isomerasa cis-trans y, por lo tanto, el todo-trans-retinal se metaboliza en todo-trans-retinol y es transportado a el EPR. En el EPR, el retinol es reisomerizado por medio de la isomerasa cis-trans en 11-cis-retinal y entregado nuevamente a los fotorreceptores.

Existen numerosas evidencias de la participación de la proteína de unión a interfotorreceptores retinoides (IRBP) en el transporte de retinoides entre estos compartimentos celulares. IRBP es una glicoproteína sintetizada por los fotorreceptores y modificada en la matriz interfotorreceptora que llena el espacio subretiniano.[19] IRBP media la solubilización del retinal y retinol, que de otro modo son insolubles en agua, y dirige su transporte. Además de participar en el ciclo visual, IRBP es importante en el transporte de ácidos grasos y es esencial para el mantenimiento de los fotorreceptores.

Recientemente, se ha demostrado que una disminución en la producción de IRBP ocurre de manera temprana en la retina de pacientes diabéticos y se asocia a la neurodegeneración retiniana.[20]. Asimismo, el contenido en la proteína CRALBP (proteína de unión al retinaldehído celular), la cual también se encuentra relacionada con el metabolismo de retinoides, se ve aumentado en el EPR de sujetos diabéticos.[21]

Fagocitosis

Otra función del EPR en el mantenimiento de la excitabilidad de los fotorreceptores es la fagocitosis de los discos membranosos de los segmentos externos de los fotorreceptores. [1] Los fotorreceptores suelen estar expuestos a niveles constantes y/o altos de luz, lo cual conduce a la acumulación de proteínas y lípidos oxidados. Así, cada día, la concentración de sustancias foto-oxidadas aumenta dentro de los fotorreceptores. La transducción de la luz por los fotorreceptores depende del adecuado funcionamiento y la estructura de las proteínas, del retinal, y de las membranas celulares. Por lo tanto, para mantener la excitabilidad de los fotorreceptores, los segmentos externos de los mismos son sometidos a una renovación constante al reconstruirse nuevamente a partir de su base. La extremidad de los segmentos externos de los fotorreceptores contienen la mayor concentración de radicales libres, proteínas y lípidos foto-oxidados y se desprenden de los fotorreceptores. A través del desprendimiento coordinado de dichas extremidades y la formación de nuevas extremidades, los segmentos externos mantienen una longitud constante. Las extremidades desprendidas de los segmentos externos son fagocitados por el EPR, el cual los digiere y entrega de vuelta a los fotorreceptores moléculas esenciales, tales como el ácido docosahexaenoico y el retinal, para reconstruir sus segmentos externos sensibles a la luz.[22]

En la diabetes, se han descrito alteraciones a largo plazo en el proceso de fagocitosis, [23] lo cual sugiere que las células del EPR se podrían ver también afectadas. Sin embargo, estudios específicos quedan por realizarse.

Secreción

Se sabe que el EPR produce y secreta una variedad de factores de crecimiento, [24, 25] así como factores esenciales para el mantenimiento de la integridad estructural de la retina y la coroides.[26] Por lo tanto, el EPR produce moléculas que favorecen la supervivencia de los fotorreceptores y garantizan una estructura básica para la circulación óptima y suministro de nutrientes. El EPR es capaz de secretar el factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF), [27] el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) [1, 28, 29], los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF-1, FGF-2 y FGF-5) [1, 30], el factor de crecimiento transformante- β , [1, 31] el factor de crecimiento insulínico tipo I, [32] el factor de crecimiento neuronal (NGF), el factor de crecimiento derivado del cerebro, la neurotropina-3, el factor neurotrófico ciliar, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor de crecimiento derivado del epitelio de la lente, varios miembros de la familia de las interleucinas, quimiocinas, el factor de necrosis tumoral α , factores estimulantes de colonias, y diferentes tipos de inhibidores tisulares de metaloproteasas de matriz. [1] Entre estos factores, se consideran al PEDF y el VEGF como los más significativos.

PEDF

En el ojo sano, el EPR secreta PEDF, el cual contribuye en el mantenimiento de la retina y la estructura coriocapilar de dos maneras: actúa como un factor neuroprotector [33, 34] y como un factor antiangiogénico.[1, 28] En lo particular, el PEDF inhibe la proliferación de células endoteliales y estabiliza el endotelio de la estructura coriocapilar, participando en el desarrollo embrionario del ojo.[35, 36] En los ratones carentes de PEDF, se ha observado que la vascularización retiniana progresa con mayor rapidez y es más susceptible a la obliteración vascular mediada por la hiperoxia.[37]

VEGF

En condiciones fisiológicas, el EPR secreta bajas concentraciones de VEGF, [1, 38] lo cual impide la apoptosis de las células endoteliales y es esencial para mantener el endotelio coriocapilar intacto. [39] Además, el VEGF regula la permeabilidad vascular y por ende, la estabilización de las fenestraciones del endotelio.[40]

En el ojo sano, el PEDF se secreta en el lado apical del EPR, mientras que la secreción del VEGF se lleva a cabo en el lado basolateral. Por lo tanto, el PEDF actúa sobre las neuronas y los fotorreceptores mientras que la mayoría del VEGF secretado actúa sobre el endotelio de la coroides.[41, 42] Si bien se ha descrito que la sobreproducción de VEGF juega un papel esencial en el desarrollo de la RD proliferativa y que tanto el VEGF como las citocinas proinflamatorias participan en el desarrollo del EMD, el equilibrio entre factores proangiogénicos (VEGF) y antiangiogénicos (PEDF) resulta de suma importancia en el desarrollo de alteraciones retinianas asociadas con la diabetes. Al respecto, los productos finales de

la glicosilación avanzada aumentan la expresión del VEGF en el EPR.[38] Asimismo, se ha reportado una disminución de la expresión de PEDF en cultivos de células humanas de EPR tratadas con alta glucosa.[43] Por lo anterior, estrategias que consisten en bloquear al VEGF o estimular el PEDF, han sido propuestas como terapias posibles para la RD.

Conclusión

El EPR se encuentra en la interfaz entre la retina neural y la coroides, donde forma la barrera hemato-retiniana externa. Las células del EPR poseen uniones estrechas que retrasan la difusión transepitelial y subdividen la membrana plasmática en dos dominios funcionalmente distintos: la membrana apical, la cual se enfrenta a los fotorreceptores de la retina neural, y la membrana basolateral, el cual se enfrenta a los capilares fenestrados de la coroides.

Por ser pigmentado, el EPR absorbe la energía de la luz enfocada por la lente sobre la retina. Además, regula el transporte transepitelial a través de la distribución específica de múltiples bombas, canales y transportadores, ya sea de su lado apical o basolateral. El EPR transporta iones, agua y productos metabólicos finales del espacio subretiniano hacia la sangre y, de forma inversa, toma nutrientes tales como la glucosa, el retinol y los ácidos grasos de la sangre y los entrega a los fotorreceptores. Para mantener la excitabilidad de los fotorreceptores, el retinal está constantemente transportado desde los fotorreceptores al EPR, donde se re-isomeriza a 11 cis-retinal y es transportado de vuelta a los fotorreceptores. Esto es el componente clave del ciclo visual. Otra función que contribuye al mantenimiento de la excitabilidad de los fotorreceptores es la fagocitosis de sus segmentos externos, los cuales son digeridos y sustancias esenciales tales como el retinal son reciclados y devueltos a los fotorreceptores para la reconstrucción de los segmentos externos sensibles a la luz, a partir de la base de los fotorreceptores. Además, el EPR es capaz de secretar una variedad de factores de crecimiento, así como factores esenciales para el mantenimiento de la integridad estructural de la retina y la coroides. Por otra parte, la actividad secretora del EPR juega un papel importante en establecer el privilegio inmune del ojo mediante la secreción de factores inmunosupresores.

La mayoría de las investigaciones sobre la patogénesis de la RD se han concentrado en la retina neural, ya que es donde las lesiones clínicas se manifiestan. Sin embargo, el EPR es esencial para la sobrevivencia de la retina neural y, en consecuencia, para la función visual. En los últimos años, diversas anomalías, tanto en la estructura como en la función secretora del EPR se han encontrado en relación con la RD. Considerando lo anterior, el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para atenuar el deterioro del EPR se presenta como una opción promisoriosa.

Bibliografía

1. Strauss, O., The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev*, 2005. 85(3): p. 845-81.
2. Congdon, N.G., D.S. Friedman, and T. Lietman, Important causes of visual impairment in the world today. *Jama*, 2003. 290(15): p. 2057-60.
3. Tong, L., et al., Association of macular involvement with proliferative retinopathy in Type 2 diabetes. *Diabet Med*, 2001. 18(5): p. 388-94.
4. Ban, Y. and L.J. Rizzolo, Regulation of glucose transporters during development of the retinal

- pigment epithelium. *Brain Res Dev Brain Res*, 2000. 121(1): p. 89-95.
5. Senanayake, P., et al., Glucose utilization by the retinal pigment epithelium: evidence for rapid uptake and storage in glycogen, followed by glycogen utilization. *Exp Eye Res*, 2006. 83(2): p. 235-46.
 6. Bazan, N.G., W.C. Gordon, and E.B. Rodriguez de Turco, Docosahexaenoic acid uptake and metabolism in photoreceptors: retinal conservation by an efficient retinal pigment epithelial cell-mediated recycling process. *Adv Exp Med Biol*, 1992. 318: p. 295-306.
 7. Bazan, N.G., Neurotrophins induce neuroprotective signaling in the retinal pigment epithelial cell by activating the synthesis of the anti-inflammatory and anti-apoptotic neuroprotectin D1. *Adv Exp Med Biol*, 2008. 613: p. 39-44.
 8. Kim, D.I., et al., The involvement of phosphatidylinositol 3-kinase /Akt signaling in high glucose-induced downregulation of GLUT-1 expression in ARPE cells. *Life Sci*, 2007. 80(7): p. 626-32.
 9. Salceda, R. and C. Contreras-Cubas, Ascorbate uptake in normal and diabetic rat retina and retinal pigment epithelium. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2007. 146(1-2): p. 175-9.
 10. Marmorstein, A.D., The polarity of the retinal pigment epithelium. *Traffic*, 2001. 2(12): p. 867-72.
 11. Hamann, S., Molecular mechanisms of water transport in the eye. *Int Rev Cytol*, 2002. 215: p. 395-431.
 12. Frambach, D.A., et al., Precocious retinal adhesion is affected by furosemide and ouabain. *Curr Eye Res*, 1989. 8(6): p. 553-6.
 13. Erickson, K.K., J.M. Sundstrom, and D.A. Antonetti, Vascular permeability in ocular disease and the role of tight junctions. *Angiogenesis*, 2007. 10(2): p. 103-17.
 14. Verkman, A.S., J. Ruiz-Ederra, and M.H. Levin, Functions of aquaporins in the eye. *Prog Retin Eye Res*, 2008. 27(4): p. 420-33.
 15. Villarroel, M., et al., Effects of high glucose concentration on the barrier function and the expression of tight junction proteins in human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res*, 2009. 89(6): p. 913-20.
 16. Girotti, A.W. and T. Kriska, Role of lipid hydroperoxides in photo-oxidative stress signaling. *Antioxid Redox Signal*, 2004. 6(2): p. 301-10.
 17. Kanwar, M., et al., Oxidative damage in the retinal mitochondria of diabetic mice: possible protection by superoxide dismutase. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007. 48(8): p. 3805-11.
 18. Hargrave, P.A., Rhodopsin structure, function, and topography the Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001. 42(1): p. 3-9.
 19. Gonzalez-Fernandez, F., Interphotoreceptor retinoid-binding protein--an old gene for new eyes. *Vision Res*, 2003. 43(28): p. 3021-36.
 20. Garcia-Ramirez, M., et al., Proteomic analysis of human vitreous fluid by fluorescence-based difference gel electrophoresis (DIGE): a new strategy for identifying potential candidates in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia*, 2007. 50(6): p. 1294-303.
 21. Decanini, A., et al., Human retinal pigment epithelium proteome changes in early diabetes. *Diabetologia*, 2008. 51(6): p. 1051-61.
 22. Bok, D., The retinal pigment epithelium: a versatile partner in vision. *J Cell Sci Suppl*, 1993. 17: p. 189-95.
 23. Liu, B.F., et al., Low phagocytic activity of resident peritoneal macrophages in diabetic mice: relevance to the formation of advanced glycation end products. *Diabetes*, 1999. 48(10): p. 2074-82.

24. Simo, R., et al., Angiogenic and antiangiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Diabetes Rev*, 2006. 2(1): p. 71-98.
25. Inoue, T., et al., Media conditioned by retinal pigment epithelial cells suppress the canonical Wnt pathway. *Neurosci Lett*, 2007. 424(3): p. 190-3.
26. Witmer, A.N., et al., Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res*, 2003. 22(1): p. 1-29.
27. Dawson, D.W., et al., Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science*, 1999. 285(5425): p. 245-8.
28. Adamis, A.P., et al., Synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993. 193(2): p. 631-8.
29. Wirostko, B., T.Y. Wong, and R. Simo, Vascular endothelial growth factor and diabetic complications. *Prog Retin Eye Res*, 2008. 27(6): p. 608-21.
30. Sternfeld, M.D., et al., Cultured human retinal pigment epithelial cells express basic fibroblast growth factor and its receptor. *Curr Eye Res*, 1989. 8(10): p. 1029-37.
31. Kvant, A., Expression and secretion of transforming growth factor-beta in transformed and nontransformed retinal pigment epithelial cells. *Ophthalmic Res*, 1994. 26(6): p. 361-7.
32. Slomiany, M.G. and S.A. Rosenzweig, Autocrine effects of IGF-I-induced VEGF and IGFBP-3 secretion in retinal pigment epithelial cell line ARPE-19. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004. 287(3): p. C746-53.
33. Cao, W., et al., In vivo protection of photoreceptors from light damage by pigment epithelium-derived factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001. 42(7): p. 1646-52.
34. Ogata, N., et al., Pigment epithelium derived factor as a neuroprotective agent against ischemic retinal injury. *Curr Eye Res*, 2001. 22(4): p. 245-52.
35. Behling, K.C., E.M. Surace, and J. Bennett, Pigment epithelium-derived factor expression in the developing mouse eye. *Mol Vis*, 2002. 8: p. 449-54.
36. Jablonski, M.M., et al., Pigment epithelium-derived factor supports normal development of photoreceptor neurons and opsin expression after retinal pigment epithelium removal. *J Neurosci*, 2000. 20(19): p. 7149-57.
37. Huang, Q., et al., PEDF-deficient mice exhibit an enhanced rate of retinal vascular expansion and are more sensitive to hyperoxia-mediated vessel obliteration. *Exp Eye Res*, 2008. 87(3): p. 226-41.
38. Lu, M., et al., Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest*, 1998. 101(6): p. 1219-24.
39. Burns, M.S. and M.J. Hartz, The retinal pigment epithelium induces fenestration of endothelial cells in vivo. *Curr Eye Res*, 1992. 11(9): p. 863-73.
40. Roberts, W.G. and G.E. Palade, Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *J Cell Sci*, 1995. 108 (Pt 6): p. 2369-79.
41. Becerra, S.P., et al., Pigment epithelium-derived factor in the monkey retinal pigment epithelium and interphotoreceptor matrix: apical secretion and distribution. *Exp Eye Res*, 2004. 78(2): p. 223-34.
42. Blaauwgeers, H.G., et al., Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris. Evidence for a trophic paracrine relation. *Am J Pathol*, 1999. 155(2): p. 421-8.
43. Yao, Y., et al., [Downregulation of the pigment epithelium derived factor by hypoxia and

elevated glucose concentration in cultured human retinal pigment epithelial cells]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2003. 83(22): p. 1989-92.