

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: ENDOCRINOLOGIA
MESTRADO E DOUTORADO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**FATORES GENÉTICOS E NÃO GENÉTICOS EM FORMAS AVANÇADAS DE RETINOPATIA DIABÉTICA
EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2**

Maria Cristina Boelter

Orientadora: Profa. Dra. Mirela Jobim de Azevedo

Co-Orientador: Prof. Dr. Jacó Lavinsky

Porto Alegre, novembro de 2002.

AGRADECIMENTOS

Para o desenvolvimento de um trabalho científico são muitas as pessoas envolvidas, de uma maneira ou de outra. Meu agradecimento a todas.

À minha orientadora, Profa. Dra. Mirela Jobim de Azevedo por além da orientação e disponibilidade nas horas difíceis, o exemplo de que é possível conciliar medicina, pesquisa e docência sem perder de vista a família e a vida pessoal.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Jacó Lavinsky, pela orientação em oftalmologia que recebo desde os tempos da graduação.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação e do Laboratório de Biologia Molecular do Serviço de Endocrinologia do HCPA pela parceria. Aos funcionários do Ambulatório de Oftalmologia do HCPA, pela ajuda nas mais diversas situações.

A meus pais e irmãos, pelo apoio desde sempre.

A Sydnei, companheiro de todas as horas, todo o meu amor.

“Educar é ameaçar o estabelecido. Sempre. É viver as perplexidades das mutações, conviver honradamente com angústias e incertezas, ir dormir cravados de dúvidas, mas ter sensibilidade para distinguir o que muda e o que é apenas efêmero, o que é permanente e o que é retardatário”.

Artur da Távola

* Esta Dissertação de Mestrado segue um formato onde são apresentados dois manuscritos independentes sobre o tema da Dissertação. O primeiro vem sob a forma de revisão geral e crítica da literatura, já tendo sido enviado e aceito para publicação em revista nacional (Arquivos Brasileiros de Oftalmologia). Já o segundo manuscrito representa o trabalho de pesquisa propriamente dito, em língua portuguesa, e em forma de artigo a ser enviado para revista de circulação internacional.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	iii
LISTA DE QUADROS E TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
I - INTRODUÇÃO	1
1. Aspectos gerais da retinopatia diabética.....	1
2. Patogênese.....	1
3. Curso clínico e classificação	4
4. Fatores de risco.....	7
Fatores de risco não genéticos.....	8
Fatores de risco relacionados diretamente ao DM.....	8
Tempo de DM.....	8
Controle glicêmico.....	9
Nefropatia diabética.....	11
Fatores de risco não diretamente relacionados ao DM	12
Hipertensão arterial sistêmica	12
Dislipidemia	14
Doença cardiovascular.....	15
Obesidade.....	16
Gestação e puberdade.....	17
Fatores de risco ambientais	18
Fatores de risco oculares	19

Fatores de risco genéticos	20
5. Conclusão	22
6. Referências Bibliográficas	26
II - JUSTIFICATIVA	40
III - OBJETIVO	41
IV - FATORES GENÉTICOS E NÃO GENÉTICOS EM FORMAS AVANÇADAS DE RETINOPATIA DIABÉTICA EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2	
Sinopse.....	43
Abstract.....	45
Introdução.....	47
Pacientes e Métodos	49
Resultados	53
Discussão	56
Conclusão.....	59
Referências Bibliográficas	66
V – ANEXO 1: Avaliação Oftalmológica	75

LISTA DE ABREVIATURAS

AAO	“American Academy of Ophthalmology”
BMI	“Body Mass Index”
DCCT	“Diabetes Control and Complications Trial”
DM	Diabete Melito
DR	“Diabetic Retinopathy”
DRS	“Diabetes Retinopathy Study”
DRVS	“Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study”
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EDIC	“Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications”
ES	“Effect-size”
ENNP1	Ectonucleotídeo Pirofosfatase/fosfodiesterase 1
ETDRS	“Early Treatment Diabetic Retinopathy Study”
EUA	Excreção Urinária de Albumina
FABP2	Proteína Intestinal Ligadora de Ácidos Graxos
FCEV	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HbA1c	Glicohemoglobina
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina-1
IMC	Índice de Massa Corporal
IRMAS	Alterações Microvasculares Intra-Retinianas
OR	“Odds Ratio”
OMS	Organização Mundial da Saúde

PAI-1	Inibidor da Ativação do Plasminogênio
PCR	Reação de Polimerase em Cadeia
PDGF	Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas
RAGE	Receptor para Produtos Finais de Glicação Avançada
RD	Retinopatia Diabética
RR	Risco Relativo
TEP	Tamanho de Efeito Padronizado
VEGF	“Vascular Endothelial Growth Factor”
WESRD	“Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy”
UKPDS	“United Kingdom Prospective Diabetes Study”

LISTA DE QUADROS E TABELAS

	Pág.
I – INTRODUÇÃO	
Quadro 1: Acompanhamento de pacientes portadores de DM segundo classificação da RD...	23
IV - FATORES GENÉTICOS E NÃO GENÉTICOS EM FORMAS AVANÇADAS DE RETINOPATIA DIABÉTICA EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2.	
Tabela 1: Características clínicas dos pacientes com DM tipo 2.	60
Tabela 2: Características laboratoriais dos pacientes com DM tipo 2.	61
Tabela 3: Distribuição dos genótipos dos polimorfismos do ENNP1 e FABP ₂ , em pacientes com DM tipo 2.	62
Tabela 4: Regressão logística múltipla. Variável dependente: presença de RD avançada (pacientes com DM tipo 2 normo-, micro- e macroalbuminúricos).	63
Tabela 5: Regressão logística múltipla. Variável dependente: presença de RD avançada (pacientes com DM tipo 2 normo- e microalbuminúricos).....	64

LISTA DE FIGURAS

Pág.

I - INTRODUÇÃO

Figura 1: Esquema do capilar retiniano.24

Figura 2: Hemorragias retinianas25

**IV - FATORES GENÉTICOS E NÃO GENÉTICOS EM FORMAS AVANÇADAS DE
RETINOPATIA DIABÉTICA EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2.**

Figura 1: Proporção de nefropatia nos pacientes portadores de RD avançada.65

SINOPSE

Introdução: A retinopatia diabética (RD) é a principal causa de novos casos de cegueira entre norte-americanos em idade produtiva. Existe uma associação entre RD e as outras complicações microvasculares do diabetes melito. A associação da RD com a fase inicial da nefropatia, a microalbuminúria, não está esclarecida em pacientes com diabetes melito (DM) tipo 2. Polimorfismos de genes (ENNP1; FABP2) relacionados à resistência insulínica, entre outros, poderiam estar associados à RD.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar fatores genéticos e não genéticos associados à RD avançada em pacientes com DM tipo 2.

Métodos: Neste estudo caso-controle foram incluídos pacientes DM tipo 2 submetidos à avaliação clínica, laboratorial e oftalmológica. Foi realizada oftalmoscopia binocular indireta sob midríase e obtidas retinografias coloridas em 7 campos padronizados. Foram classificados como casos os pacientes portadores de RD avançada (formas graves de RD não proliferativa e RD proliferativa) e como controles os pacientes sem RD avançada (fundoscopia normal, e outras formas de RD). Foram estudados os polimorfismos K121Q do gene ENNP1 e A54T do gene FABP2. Na análise estatística foram utilizados testes paramétricos e não paramétricos conforme indicado. Foi realizada análise de regressão logística múltipla para avaliar fatores associados à RD avançada. O nível de significância adotado foi de 0,05%.

Resultados: Foram avaliados 240 pacientes com DM tipo 2 com $60,6 \pm 8,4$ anos de idade e duração conhecida de DM de $14,4 \pm 8,4$ anos. Destes, 67 pacientes (27,9%) apresentavam RD avançada. Os pacientes com RD avançada apresentaram maior duração conhecida de DM ($18,1 \pm 8,1$ vs. $12,9 \pm 8,2$ anos; $P < 0,001$), menor índice de massa corporal (IMC) ($27,5 \pm 4,2$ vs. $29,0 \pm 9,6$ kg/m²; $P = 0,019$), além de uso de insulina mais freqüente (70,8% vs 35,3%; $P < 0,001$) e presença

de nefropatia diabética (81,1% vs 34,8%; $P < 0,001$) quando comparados com os pacientes sem RD avançada. Na avaliação laboratorial os pacientes com RD avançada apresentaram valores mais elevados de creatinina sérica [1,4 (0,6 -13,6) vs 0,8 (0,5-17,9) mg/dl; $P < 0,001$] e de albuminúria [135,0 (3,6-1816,0) vs 11,3 (1,5-5105,0) $\mu\text{g}/\text{min}$; $P < 0,001$] quando comparados com pacientes sem RD avançada. A distribuição dos genótipos dos polimorfismos do ENNP1 e FABP2 não foi diferente entre os grupos. A análise de regressão logística múltipla demonstrou que a presença de nefropatia (OR=6,59; IC95%: 3,01-14,41; $P < 0,001$) e o uso de insulina (OR=3,47; IC95%: 1,60-7,50; $P = 0,002$) foram os fatores associados à RD avançada, ajustados para a duração de DM, presença de hipertensão arterial, glicohemoglobina e IMC. Quando na análise foram incluídos apenas pacientes normoalbuminúricos e microalbuminúricos, a microalbuminúria (OR=3,8; IC95%: 1,38-10,47; $P = 0,010$), o uso de insulina (OR=5,04; IC95%: 1,67-15,21; $P = 0,004$), a duração do DM (OR=1,06 IC95%: 1,00-1,13; $P = 0,048$) e a glicohemoglobina (OR=1,35; IC95%: 1,02-1,79; $P = 0,034$) foram os fatores associados à RD avançada, ajustados para a presença de hipertensão arterial e IMC.

Conclusão: Pacientes com DM tipo 2 portadores de formas avançadas de RD apresentam mais freqüentemente envolvimento renal pelo DM, incluindo o estágio de microalbuminúria. Uma avaliação renal com medida de albuminúria dever ser incorporada como avaliação de rotina nestes pacientes.

I - INTRODUÇÃO

1. Aspectos Gerais da Retinopatia Diabética

O diabetes melito (DM) é uma síndrome metabólica complexa onde ocorre uma deficiência relativa ou absoluta de insulina afetando o metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas. Cerca de 85 a 90% dos pacientes portadores de DM possuem o chamado DM tipo 2, previamente denominado DM não dependente de insulina (1). Estima-se que no Brasil 7,6% da população urbana entre 30 e 69 anos apresente DM, sendo que 46% dos casos não se sabem portadores de DM (2). O DM está associado a complicações crônicas cardiovasculares, microvasculares e do sistema nervoso periférico e autônomo. Uma das complicações microvasculares mais importantes do DM é a retinopatia diabética (RD), que é a principal causa de novos casos de cegueira entre norte-americanos em idade produtiva, causando 8000 novos casos de cegueira a cada ano (3). No Brasil, estima-se que a RD seja responsável por 7,5% das causas de incapacidade de adultos para o trabalho (4) e por 4,58% das deficiências visuais (5).

2. Patogênese

A causa da doença microvascular retiniana não está totalmente esclarecida. As alterações subclínicas precoces incluem aumento da permeabilidade vascular, aumento do fluxo sanguíneo, espessamento e alteração na membrana basal. Sabe-se que a hipóxia retiniana associada à hiperglicemia e às alterações da permeabilidade capilar são a base da RD.

A retina normal consiste de várias camadas celulares, se estendendo desde a membrana limitante interna (na junção com o vítreo) ao epitélio pigmentar da retina, que está em contato com a coróide. A microcirculação da retina consiste de artérias, veias e um extenso feixe capilar.

A RD parece ter seu início nos capilares retinianos, que formam a barreira hemato-retiniana interna. Os capilares retinianos normais são formados internamente por células endoteliais alongadas, envolvidas por membrana basal, e externamente por pericitos intramurais circulares ou ovóides. A proporção normal entre os dois tipos celulares é 1:1 [Figura 1 (6)]. As alterações vasculares iniciais começam com a perda seletiva de pericitos murais e espessamento da membrana basal, impedindo o adequado contato entre as células endoteliais e pericitos, afetando a barreira hemato-retiniana e levando a alterações da permeabilidade vascular, agravando progressivamente a condição hipóxica da retina (6,7).

A ausência de perfusão por oclusão capilar é um achado característico e aparece nos estágios precoces da RD. A oclusão capilar é provocada por coagulação intravascular e por aumento da adesividade plaquetária, leucocitária e eritrocitária, que precede a neovascularização (8). Os neovasos têm junções endoteliais fenestradas, com tendência a vazamento, e podem ser rompidos facilmente causando hemorragia vítrea. Se a neovascularização persiste, tecido fibroso se incorpora aos neovasos causando descolamento tracional de retina ou hemorragia vítrea crônica (6).

O fator mais importante na discussão da patogênese da RD, ou de qualquer complicação tardia do DM é a hiperglicemia crônica. O papel da glicose no desenvolvimento da RD é complexo. Durante episódios de hiperglicemia, ocorre um aumento da atividade na via dos polióis. O excesso de glicose é transformado em sorbitol, sob ação da aldose redutase. O sorbitol, que é formado intracelularmente, ocasionaria estresse hiperosmótico para as células, diminuição do mioinositol intracelular e redução da atividade da ATPase Na^+/K^+ dependente, levando ao dano celular com enfraquecimento da parede capilar. Nas paredes ocorre exsudação, causando edema retiniano, que leva à redução da disponibilidade de oxigênio para a retina (6). Entretanto, até o presente momento, o uso de drogas inibidoras da atividade da aldose redutase não foi capaz de modificar o desenvolvimento da RD (9).

Outro mecanismo patogênico também diretamente relacionado à hiperglicemia é o aumento da glicação da hemoglobina. Valores elevados de glicohemoglobina, como ocorre na presença de DM descompensado, são acompanhados de aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio com conseqüente hipóxia retiniana pela redução de oferta (10). A hiperglicemia também aumenta os radicais livres e desencadeia a glicação não enzimática de proteínas estruturais e funcionais, ambos processos causando dano endotelial (11).

Certos componentes da membrana basal normalmente inibem o crescimento e a proliferação endotelial. O desequilíbrio entre estes e os fatores angiogênicos provocam proliferação endotelial. A associação da RD a fatores angiogênicos não é recente. Desde 1948 surgiu a hipótese de que fatores solúveis liberados pela retina isquêmica induziriam crescimento vascular (12). O fator de crescimento endotelial vascular (FCEV; “vascular endothelial growth factor-VEGF”) pode ser o pivô na patogênese da RD. O FCEV é uma glicoproteína com potentes efeitos angiogênicos e sobre a permeabilidade vascular. Muitos tipos celulares intra-oculares produzem FCEV: pericitos, células do epitélio pigmentar da retina, e endoteliais. Nestas células, em especial nos pericitos, a expressão do FCEV aumenta até 30 vezes no estado de hipóxia (13, 14). Qualquer estado de hipóxia intra-ocular pode aumentar a concentração de FCEV intravítrea, como oclusão venosa, doença obstrutiva das carótidas, retinopatia da prematuridade, anemia falciforme, etc. Estudos clínicos demonstraram que a concentração intra-ocular de FCEV é proporcional à hipóxia ocular, sendo mais elevada em pacientes portadores de RD proliferativa ($3,6 \pm 6,3$ ng/mL) em comparação com pacientes com RD não proliferativa ($0,1 \pm 0,2$ ng/mL; $P=0,003$). Além disto, após a realização de panfotocoagulação a concentração de FCEV diminui em até 75% (15).

Assim como fatores locais, fatores circulantes podem influenciar o curso da RD. Entre eles, os hormônios PDGF (“platelet-derived growth factor”) e de crescimento, IGF-1 (“insulin-like

growth factor-1”). Alterações hemodinâmicas por aumento geral do fluxo sanguíneo podem também estar envolvidas na patogênese da RD (16).

3. Curso clínico e Classificação

As alterações fundoscópicas seguem um curso progressivo, sendo resultado da microangiopatia retiniana, caracterizada por oclusão vascular e, mais tarde, por proliferação fibrovascular e cicatrização. A oclusão do leito capilar está intimamente associada a alterações claramente demonstráveis na angiografia fluoresceínica (17).

A angiografia fluoresceínica proporcionou um maior entendimento das alterações microvasculares da RD. O aparecimento de microaneurismas e o aumento na permeabilidade capilar são as alterações mais precocemente detectáveis por meio da angiografia. Os microaneurismas, hiperfluorescentes, ocorrem predominantemente no lado venoso. Áreas focais de oclusão capilar podem aparecer no leito capilar afetado por marcada formação de microaneurismas. Oclusão capilar ocorre muito mais freqüentemente e em maior extensão na meia periferia. Podem estar relativamente inaparentes ao oftalmoscópio, e sua extensão na meia periferia está diretamente relacionada com o desenvolvimento de neovascularização (18).

A baixa acuidade visual na RD resulta de vários mecanismos: edema ou não perfusão macular, descolamento tracional de retina e hemorragia pré-retiniana ou vítrea provocada por sangramento dos neovasos (19).

O edema macular pode estar presente em qualquer estágio da RD, especialmente em pacientes com DM tipo 2. O edema macular altera a estrutura macular, afetando significativamente sua função por coleção de fluido intra-retiniano, não perfusão de capilares parafoveais, tração por tecido fibroso proliferativo que distorce ou desloca o tecido macular ou formação de buraco

macular. Clinicamente, edema macular é denominado como clinicamente significativo se houver um dos seguintes achados:

- espessamento de retina a menos de 500 μ do centro da mácula
- exsudatos (com espessamento de retina adjacente) a menos de 500 μ do centro da mácula
- zona de espessamento de retina de 1 disco de diâmetro ou maior, localizado a menos de 1 disco de diâmetro do centro da mácula (1 disco de diâmetro equivale a 1500 μ) (20).

A lesão mais precoce clinicamente visível no exame fundoscópico é o microaneurisma, uma alteração saculiforme nos capilares retinianos. Pode ocorrer em qualquer lugar da retina, desenvolvendo-se inicialmente como saculações afetando capilares paravenulares nos locais de perda de pericitos ou agrupados ao redor de zonas de oclusão capilar, representando uma resposta proliferativa celular à hipóxia. Podem aparecer em qualquer nível da rede capilar, seja superficial ou profunda, inclusive na coriocapilar. Suas paredes são espessadas por proliferação da membrana basal endotelial, sua luz pode estar obstruída com eritrócitos aglutinados ou trombos. Os microaneurismas podem medir de 12 a 100 μ de diâmetro, sendo visíveis oftalmoscopicamente a partir de 30 μ .

Os exsudatos duros são resultado de extravasamento de lipoproteínas séricas através de vasos anormalmente permeáveis, especialmente de microaneurismas. Estão normalmente localizados na camada plexiforme externa e aparecem facilmente à oftalmoscopia como pontos branco-amarelados de limites irregulares, mas bem delimitados. Podem ser vistos em qualquer lugar no pólo posterior, mas têm especial afinidade com a mácula, estando intimamente associados a espessamento da retina. Em certos casos, pode haver depósitos subretinianos, causando degeneração de fotorreceptores. Podem ser reabsorvidos espontaneamente ou após fotocoagulação a laser.

As hemorragias intra-retinianas, indicadores de rompimento de microaneurismas, capilares ou vênulas, assumem diferentes formatos de acordo com o local da arquitetura retiniana onde estão

localizadas: puntiformes se profundas (geralmente nas camadas plexiforme externa e nuclear interna) ou em chama de vela se mais superficiais (Figura 2). Elas geralmente se resolvem em 3 a 4 meses e podem estar espalhadas no pólo posterior ou somente na periferia. Com o agravamento da isquemia, surgem as manchas algodinosas, indicativas de zonas focais de relativa isquemia causada por oclusão capilar parcial ou total de arteríolas pré-capilares (microinfarto retiniano). Têm margens imprecisas e se localizam na camada de fibras nervosas da retina.

Quando fenômenos vasculares oclusivos causados pelo DM envolvem arteríolas, os achados fundoscópicos se agravam e incluem: dilatação capilar em segmentos irregulares, alterações microvasculares intra-retinianas (IRMAs), que são proliferações endoteliais formando comunicações entre áreas de não perfusão, veias em rosário, alças venosas e, finalmente, os neovasos, característicos da RD proliferativa.

Os neovasos se originam do leito venoso nas zonas de não perfusão, como finas alças ou redes de vasos em forma de roda de carroça na superfície da retina acompanhados de proliferação vítrea. Pacientes com neovascularização são assintomáticos até que a separação da hialóide posterior eleve os neovasos, causando sangramento vítreo. Pode haver avulsão dos vasos retinianos, conduzindo à hemorragia vítrea, proliferação fibrovascular, descolamento de retina tracional e/ou regmatogênico e glaucoma neovascular (7, 21).

A Associação Americana de Oftalmologia (22) de acordo com os achados clínicos na fundoscopia sob midríase preconiza a utilização das seguintes categorias: sem RD ou RD mínima, RD não proliferativa (leve, moderada, grave e muito grave) e RD proliferativa de baixo e de alto risco. No entanto, uma das classificações de RD mais utilizadas, especialmente por permitir estadiamento objetivo para estudos prospectivos, é a descrita originalmente pelo ETDRS (“Early Treatment Diabetic Retinopathy Study”) (23) com as seguintes categorias: RD ausente ou RD questionável (nenhum ou raros microaneurismas), RD não proliferativa leve ou moderada

(microaneurismas e hemorragias intra-retinianas difusamente, exsudatos duros, exsudatos algodonosos), moderadamente grave e grave (abundantes hemorragias intra-retinianas e/ou microaneurismas ou veias em rosário ou alterações microvasculares intra-retinianas) e RD proliferativa (neovasos no disco óptico ou na retina, hemorragia vítrea ou pré-retiniana acompanhada por neovascularização, tração retiniana com ou sem descolamento de retina).

Não existe cura para a RD, estando os esforços terapêuticos concentrados nos fatores de risco para o aparecimento e agravamento da doença retiniana e no tratamento cirúrgico das lesões com alto risco de evolução para perda visual. Os estudos multicêntricos que vêm sendo realizados nos últimos trinta anos [DRS- “Diabetes Retinopathy Study”; ETDRS; DRVS- “Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study” (20); WESRD- “Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy” (24); DCCT- “Diabetes Control and Complications Trial” (25); UKPDS-“United Kingdom Prospective Diabetic Study” (26)] permitiram o estabelecimento de recomendações quanto ao acompanhamento e manejo da RD (27)(Quadro 1), além de reforçar a importância dos fatores de risco associados.

4. Fatores de risco para retinopatia diabética

Os estudos sobre os possíveis fatores associados à RD avaliam prevalência e/ou incidência e/ou progressão de RD em geral, da RD proliferativa, da maculopatia e da redução ou perda visual.

Os fatores de risco podem ser classificados como genéticos e não genéticos. Entre os fatores não genéticos estão aqueles relacionados à presença do DM, como duração do DM, controle glicêmico e nefropatia diabética e fatores não relacionados diretamente ao DM, como a hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia, doença cardiovascular, obesidade, gestação, puberdade, fatores ambientais e fatores oculares.

Fatores de risco não genéticos

Fatores de risco relacionados diretamente ao DM

Tempo de DM

A duração do DM está fortemente associada com a frequência e gravidade da RD (24, 28-30). O risco de desenvolver RD aumenta no 5º ano de DM até um máximo no 10º ano de duração do DM e se mantém constante até o resto da vida do paciente (11). Após 20 anos de duração de DM quase todos os pacientes com DM tipo 1 e mais do que 60% dos pacientes com DM tipo 2 apresentam algum grau de RD, sendo 20% do tipo proliferativo (19, 31-37). Até 21% dos pacientes portadores de DM tipo 2 apresentam RD no momento do diagnóstico de DM, estimando-se que o aparecimento da RD pode preceder em 4 a 7 anos o diagnóstico clínico deste tipo de DM (38).

Na avaliação inicial do WESRD, um estudo prospectivo observacional de pacientes com DM tipos 1 e 2, a prevalência de RD proliferativa dos pacientes portadores de DM tipo 1 (n=996), foi de 2% nos pacientes com até 2 anos de duração do DM e de 97,5% nos pacientes com 15 anos ou mais de doença (34). No mesmo estudo, em pacientes portadores de DM tipo 2 não usuários de insulina (n=674), a prevalência de RD foi de 23% em pacientes com até 2 anos de DM e 57,3% em pacientes com 15 anos ou mais de DM. Nos pacientes usuários de insulina, considerados os mesmos tempos de duração de DM (n=696), a prevalência foi de 30 e 84,5%, respectivamente (39). A associação positiva entre duração de DM e desenvolvimento da RD foi confirmada também na avaliação prospectiva do WESRD em pacientes com DM tipo 1 (24).

Assim sendo, a duração do DM é um fator a ser levado em consideração em todos os pacientes, independente do controle glicêmico ou do grau de comprometimento oftalmológico.

Controle glicêmico

A relação entre hiperglicemia e RD tem sido debatida desde a invenção do oftalmoscópio e as primeiras descrições de RD em 1860. Com a introdução da medida da glicohemoglobina na década de 80, que passou a ser utilizada como uma avaliação acurada do controle glicêmico, foi demonstrado ser o controle da glicemia o fator de risco modificável independente mais importante para a RD (40).

No WESRD, onde uma coorte de 2366 pacientes com DM foi avaliada durante 10 anos, esta observação foi confirmada. A glicohemoglobina inicial foi o mais importante fator de risco para incidência e progressão da RD, mesmo depois de controlada a análise para idade, sexo e duração do DM (41). Em pacientes com DM tipo 1, o estudo também demonstrou que para cada 1% de incremento nos valores de HbA1c o risco de progressão da RD aumentou 1,21 vezes (24).

O UKPDS iniciou em 1977 com o objetivo de avaliar o papel do controle estrito da glicemia e da pressão arterial no desenvolvimento das complicações micro e macrovasculares do DM, acompanhando 4209 pacientes portadores de DM tipo 2 recém diagnosticados. Neste ensaio clínico randomizado, no segmento destinado a avaliar o controle glicêmico, os pacientes (n=3867) foram submetidos a tratamento intensivo do DM (sulfoniluréias ou insulina) ou convencional (dieta). Após 10 anos de acompanhamento, foi demonstrada uma redução de 25% no risco de doença microvascular no grupo de tratamento intensivo, incluindo hemorragia vítrea e necessidade de fotocoagulação retiniana. Concluiu-se que para cada ponto percentual de redução nos valores de glicohemoglobina (por exemplo, de 9 para 8%) houve 35% de redução no risco de complicações microvasculares (26). Avaliando-se o aparecimento e progressão da RD em 6 anos de acompanhamento nos pacientes do UKPDS, no grupo com controle intensivo, que tinha valores de glicohemoglobina de 6,2 a 7,4%, o risco relativo (RR) para aparecimento de RD foi de 1,4 e com valores mais elevados de glicohemoglobina (>7,5%) se observou um RR=2,5. O risco de progressão

da RD (nos pacientes que já apresentavam RD no começo do estudo), considerando-se os mesmos valores de glicohemoglobina, foi de 4,1 e 8,1 respectivamente (42).

Os resultados de um estudo prospectivo que avaliou o papel do controle glicêmico na prevenção das complicações crônicas relacionadas ao DM em pacientes com DM tipo 2 japoneses também confirmaram o efeito benéfico do controle glicêmico na prevenção da RD. Uma população de 110 pacientes, divididos em coorte de prevenção primária (sem RD, n=55) e prevenção secundária (presença de RD leve), randomizados em grupo de tratamento convencional (insulina de ação intermediária 1 a 2 vezes ao dia) e outro com controle intensivo (insulina regular a cada refeição e insulina intermediária ao deitar), foram acompanhados por 8 anos com oftalmoscopia indireta, retinografia e angiografia a cada 6 meses. No grupo de tratamento intensivo, tanto o aparecimento da RD quanto a progressão de RD foram reduzidos em cerca de 33% quando comparados com os pacientes sob tratamento convencional (43).

O DCCT foi um ensaio clínico randomizado onde foram avaliados 1441 pacientes portadores de DM tipo 1, sendo 726 sem RD (coorte de prevenção primária) e 715 com RD leve ou moderada (coorte de prevenção secundária) e randomizados em dois grupos: um com controle glicêmico estrito (infusão subcutânea contínua ou múltiplas doses de insulina ao dia) e outro com tratamento convencional (insulina subcutânea 1 a 2 doses ao dia). Os pacientes foram acompanhados por 4 a 9 anos e realizadas retinografias estereoscópicas a cada 6 meses. O DCCT mostrou que terapia intensiva com insulina reduziu o aparecimento de RD em 42% quando comparado com o grupo sob terapia convencional. Além disso, a terapia intensiva diminuiu a progressão de RD pré-existente em 32,1%. Esta melhora foi obtida com uma redução média de 10% nos valores de glicohemoglobina (de 8 para 7,2%) (25, 44). No prolongamento do estudo, o EDIC (“Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications”) observou-se que, mesmo com controle glicêmico menos rígido, a proporção da incidência de nefropatia diabética e RD, incluindo

necessidade de fotocoagulação, edema macular e RD proliferativa, continuou menor no grupo que havia sido submetido previamente ao controle intensivo quando comparado com o tratamento convencional (72 versus 87%) (45).

Todos estes estudos demonstram de forma contundente a importância do controle glicêmico como um fator de risco para RD. Deve ser reforçada ao paciente sua importância no sentido de prevenir a RD, especialmente no início do DM.

Nefropatia diabética

A nefropatia diabética apresenta em seu curso clínico três etapas evolutivas: a fase de nefropatia incipiente, a fase de nefropatia clínica e a fase de insuficiência renal terminal, sendo nesta última etapa necessário o tratamento de substituição renal (diálise ou transplante). A fase de nefropatia incipiente é caracterizada por aumento de excreção urinária de albumina (EUA = 20 - 200 $\mu\text{g}/\text{min}$), definido como microalbuminúria, e ocorre em 30 a 45% dos pacientes com DM tipo 1 e em 13 a 26% dos pacientes com DM tipo 2. Esta fase é potencialmente reversível através da adoção de medidas terapêuticas específicas. A fase seguinte, a nefropatia clínica, também denominada de fase de proteinúria ou de macroalbuminúria, é definida por uma EUA $\geq 200 \mu\text{g}/\text{min}$ ou proteinúria de 24 horas $\geq 500 \text{ mg}$. A partir desta etapa, que em geral ocorre após 10 anos de duração de DM, ocorre uma perda progressiva da função renal com presença de HAS na maioria dos pacientes e de outras complicações crônicas relacionadas ao DM, tanto micro- quanto macrovasculares (46, 47).

O controle rígido da glicemia reduz a incidência de nefropatia e RD, como demonstrado no DCCT (48) e no UKPDS (49), o que reforça a associação entre ambas complicações microvasculares. Vários estudos demonstram a associação de nefropatia diabética e RD. Em estudo de caso-controle em pacientes com DM tipo 1, observou-se que, embora um grande número de

pacientes com RD não apresentasse nefropatia (estimada pela microalbuminúria), todos os pacientes com insuficiência renal apresentavam RD proliferativa (28). Outros autores também demonstraram uma maior prevalência de proteinúria maciça em pacientes portadores de RD, principalmente naqueles com RD mais grave (50-52). Esta associação é também observada em pacientes com DM tipo 2 (34, 51, 52).

A associação de RD e nefropatia foi também demonstrada em relação à fase inicial da nefropatia em pacientes com DM tipo 1 (53-58). No WESDR (59) observou-se após 4 anos de acompanhamento de 1139 pacientes com DM, que a presença de microalbuminúria aumentou em 3 vezes o risco de aparecimento de RD proliferativa em pacientes com DM tipo 1 e não em pacientes com DM tipo 2. De fato, os dados sobre a associação da microalbuminúria com RD em pacientes com DM tipo 2 são conflitantes, com associações positivas (60, 61) e sem associação (62, 63).

Fatores de risco não diretamente relacionados ao DM

Hipertensão arterial sistêmica

A HAS é duas vezes mais freqüente na população com DM e parece desempenhar um papel importante na patogênese da RD (64). Em pacientes portadores de DM existe hiperperfusão do leito capilar em vários tecidos. O aumento da pressão arterial aumenta a pressão intraluminal piorando o extravasamento da rede vascular favorecendo a filtração de proteínas plasmáticas através do endotélio e sua deposição na membrana basal do capilar, contribuindo para o dano vascular e a isquemia retiniana aumentando o risco do aparecimento e progressão da RD (16).

Em estudo prospectivo de 8 anos em 392 pacientes com longa duração de DM, a hipertensão sistólica foi um fator de risco independente na incidência de RD tanto em pacientes com DM tipo 1

quanto tipo 2, sendo que os pacientes usuários de drogas anti-hipertensivas mostraram menor progressão (37).

Em pacientes com DM tipo 1, após 14 anos de acompanhamento no WESRD, estimou-se que a hipertensão sistólica e diastólica estavam relacionadas com a progressão e gravidade da RD e também com o desenvolvimento de RD proliferativa e edema macular (24). Em estudo prospectivo de 4 anos envolvendo 153 pacientes portadores de DM tipo 1, com cerca de 23 anos de duração do DM, foi estabelecido que valores de pressão diastólica ≥ 70 mmHg já representam risco para progressão da RD (65). A importância dos níveis de pressão arterial foi confirmada em outro estudo prospectivo em portadores de DM tipo 1 acompanhados por 4 anos, onde se observou que para cada 10mmHg de aumento na pressão diastólica, houve 24% de aumento no risco de progressão da RD. Neste estudo não foi observada relação com pressão arterial sistólica (66).

Já em pacientes com DM tipo 2, um estudo transversal demonstrou que valores de pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg estavam associados a maior prevalência e gravidade da RD, mesmo quando ajustados para duração do DM, controle metabólico e função renal (18). No UKPDS (67), após um seguimento de 9 anos de 1148 pacientes hipertensos com DM tipo 2, os pacientes com controle mais rígido da pressão arterial (média = 144/84mmHg) quando comparados com pacientes com controle não intensivo (média = 154/87mmHg) tiveram uma redução de 47% no risco de perda da acuidade visual. Além disso, o melhor controle pressórico pareceu também ter efeito protetor na ocorrência de edema macular. Estes resultados não foram relacionados ao tipo de tratamento anti-hipertensivo utilizado (captopril ou atenolol) (68). Na mesma população, avaliando-se isoladamente a RD, em 6 anos de acompanhamento, os níveis de pressão arterial sistólica estiveram significativamente associados ao desenvolvimento de RD. O RR foi de 1,5 para pressão arterial sistólica entre 125 e 139mmHg e de 2,8 para pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg (42).

A hipertensão sistólica parece ter um papel preponderante como fator de risco para RD sendo que esta associação foi também observada em outras populações. Em estudo transversal com 926 pacientes malaios, na Ásia, a hipertensão sistólica foi o mais importante fator associado à RD em pacientes com DM tipo 1 e tipo 2 diagnosticados antes dos 40 anos de idade (69).

Em estudo caso-controle em pacientes com DM tipo 2 e síndrome plurimetabólica, esta definida pela presença de pelo menos 2 das seguintes características - HAS, dislipidemia, obesidade e microalbuminúria (70), o fator de risco independente mais importante para presença de RD foi a HAS (71).

Pode-se concluir que o aumento dos níveis pressóricos é um fator de risco para RD tão importante quanto o controle glicêmico: em pacientes com DM tipo 2 para cada 10mmHg de redução nos valores de pressão sistólica ocorre uma redução de 13% nas complicações microvasculares (72, 73).

Dislipidemia

O papel da hipercolesterolemia na RD foi evidenciado em dois estudos longitudinais, o WESDR (74) e o ETDRS (75). No WESDR, se observou uma maior presença de exsudatos duros em pacientes com DM tipo 1 e tipo 2 usuários de insulina que tinham colesterol total elevado. Entretanto, a gravidade da RD não foi associada à dislipidemia. Já no ETDRS, um estudo multicêntrico pioneiro na avaliação da eficácia do tratamento precoce a LASER na RD, após acompanhamento de 7 anos de 2709 pacientes com DM tipo 1 e tipo 2, foi demonstrado que um valor de colesterol total > 240 mg/dL aumentou 2 vezes o risco de desenvolvimento de exsudatos duros e o risco de perda visual em 50% quando comparado com valores de colesterol total < 200 mg/dL. Resultado similar foi encontrado para LDL colesterol > 160 mg/dL quando comparado com LDL < 130 mg/dL (RR=1,97) (75).

A influência do colesterol elevado no desenvolvimento da RD foi confirmada em um estudo multinacional da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre doença vascular em diabetes. Em um período de acompanhamento de 8,4 anos, o colesterol sérico foi um fator de risco independente para a RD proliferativa e para perda visual grave (32, 33). No mesmo estudo, foram verificados valores mais elevados de triglicérides nos pacientes que desenvolveram RD. Entretanto, quando foi realizada análise multivariada esta observação não foi confirmada (32). De fato, não existe associação demonstrada entre hipertrigliceridemia e doença microvascular (76).

Doença cardiovascular

A doença cardiovascular (doença coronariana, cerebrovascular e vascular periférica) é a principal causa de mortalidade em pacientes com DM tipo 2. Estes pacientes têm de 2 a 4 vezes mais chances de ter eventos cardiovasculares do que pacientes não diabéticos da mesma faixa etária (77).

Muitos dos possíveis fatores de risco relacionados à RD são coincidentes com os fatores de risco para a doença macrovascular do DM, em especial para a cardiopatia isquêmica (77). São exemplos a HAS, o fumo e a dislipidemia. De fato, em estudos com longo tempo de acompanhamento, observa-se que a mortalidade por todas as causas é maior nos pacientes portadores de formas mais graves de RD (40, 78, 79).

A incidência de óbito por doença cardiovascular foi avaliada em uma coorte de 408 pacientes portadores de DM tipo 2 com cegueira legal por RD acompanhada por 4 anos. O óbito por doença cardiovascular foi 5,6 vezes maior nos pacientes portadores de RD incapacitante quando comparados com pacientes sem RD (RR=5,6) (80). Além disso, em estudo prospectivo de 7 anos com 1040 pacientes com DM tipo 2, foi demonstrado através de análise multivariada que o risco de

infarto ou morte cardíaca em pacientes com RD proliferativa foi 2 vezes maior do que em pacientes sem esta alteração (81).

A associação entre doença cardíaca aterosclerótica e RD deve ser sempre considerada e, independente da presença de sintomas compatíveis com cardiopatia isquêmica, os pacientes com RD, em especial em estágios avançados, devem ser submetidos a uma avaliação cardiológica.

Obesidade

A obesidade, um dos componentes da síndrome plurimetabólica (70), representa um estado de resistência insulínica. A possível associação entre resistência insulínica e RD é sugerida pela observação de um estudo retrospectivo envolvendo 534 pacientes com DM tipo 2, onde os pacientes portadores de qualquer estágio de RD apresentaram um maior índice de massa corporal total, bem como uso de doses maiores de insulina (52). Outros fatores determinantes poderiam estar relacionados a esta associação, já que muitos pacientes obesos parecem ter um maior período sem diagnóstico de DM tipo 2 com pior controle metabólico inicial, além de outros fatores, como dislipidemia e maior viscosidade sanguínea (18).

A importância da resistência insulínica é reforçada pela recente observação da associação entre os componentes da síndrome plurimetabólica e complicações microvasculares do DM. Pacientes com DM tipo 2 portadores de síndrome plurimetabólica apresentaram mais frequentemente RD grave (71). Também um estudo em pacientes japoneses com DM tipo 2 observou associação entre resistência insulínica e formas avançadas de RD (81) Entretanto, o papel da obesidade como fator de risco independente para a RD até o presente momento não está claramente estabelecido.

Gestação e puberdade

Em pacientes com DM tipo 1, a RD não costuma aparecer antes do início da puberdade, sugerindo sua relação com hormônios sexuais e crescimento (31). Em geral, sugere-se que o rastreamento da doença retiniana não é necessário antes dos 10 anos de idade. Entretanto, recentemente foi observado que a duração pré-puberal do DM parece ser importante como determinante no aparecimento de complicações microvasculares (57).

A piora das complicações microvasculares no DM durante a gestação, em especial a RD, provavelmente se deve a fatores como instituição de controle glicêmico rígido, presença de fatores de crescimento, HAS e estresse hemodinâmico (sobrecarga) da gestação e parto (82).

Nas pacientes com DM tipo 1 a progressão da RD durante a gestação é geralmente importante, principalmente se houverem alterações retinianas pré-existentes (82). Pacientes com DM tipo 1 gestantes têm risco de cerca de 2,3 vezes maior para progressão da RD, quando comparados a pacientes com DM tipo 1 não gestantes independente da glicohemoglobina, duração do DM, idade e pressão arterial (83).

O papel da gestação como um fator de risco independente para a progressão da RD foi recentemente confirmado. O DCCT (84) comparou a progressão de RD em 180 mulheres portadoras de DM tipo 1 que engravidaram com 500 mulheres do mesmo grupo que não engravidaram, em um período de acompanhamento de 6,5 anos. Foi demonstrado um maior risco de piora da RD, tanto nas pacientes que já estavam sob tratamento intensivo (RR=1,68) quanto nas pacientes que estavam sob tratamento convencional previamente à gestação, embora maior neste último grupo (RR=2,48). Quando o agravamento da RD foi ajustado para as alterações nos valores de glicohemoglobina, o risco de piora da RD durante a gestação persistiu, estendendo-se por até 1 ano após o parto (RR=2,87).

Em conclusão, a gestação representa um fator de risco bem definido para a RD e idealmente as pacientes que pretendem engravidar devem ter uma avaliação oftalmológica prévia à concepção e tratamento adequado da RD, se necessário (19). Da mesma forma, devem ser controlados outros fatores de risco bem estabelecidos, como os níveis glicêmicos e pressóricos. Uma vez iniciado o período gestacional a paciente deve permanecer sob acompanhamento do oftalmologista por até 1 ano após a concepção.

Fatores de risco ambientais

O hábito de fumar poderia ter efeito deletério sobre a retina com vascularização deficiente dos pacientes portadores de DM pelos seus efeitos isquêmicos: aumento do monóxido de carbono, aumento de agregação plaquetária e vasoconstrição. Entretanto, na maior parte dos estudos (65, 66; 85), incluindo um estudo prospectivo com mais de 10 anos de seguimento (86), o tabagismo não pareceu estar associado à RD. Em pacientes que participaram do UKPDS, comparando-se em 6 anos de acompanhamento, a incidência de RD em fumantes atuais e naqueles que nunca haviam fumado, foi encontrado um efeito protetor do tabagismo (RR=0,5). Os autores sugerem que esta proteção ocorra por possíveis efeitos farmacológicos da nicotina ou de outros componentes do tabaco (42). É possível que a falta de correlação deva-se ao aumento de mortalidade em fumantes, especialmente por doença cardiovascular, o que reduziria as chances destes pacientes desenvolverem RD (86, 87). Outro estudo sugeriu também um menor risco de aparecimento e progressão da RD em pacientes diabéticos fumantes. Entretanto, esta aparente vantagem desapareceu quando os valores de glicemia foram incluídos na análise (33). Portanto, o tabagismo não parece conferir risco ou proteção para o desenvolvimento de RD.

O consumo de álcool pode estar relacionado a mau controle glicêmico e a aumento dos níveis pressóricos, mas não parece ser um fator de risco para a RD (85, 88), seja para a forma

proliferativa ou para a progressão da RD. Os possíveis efeitos benéficos residiriam no incremento de HDL, redução de agregação plaquetária e dos níveis de fibrinogênio.

O WESRD avaliou a relação entre o risco de microangiopatia e atividade física. Foi estudada a história pregressa e atual da atividade física em pacientes com DM tipo 1. Em mulheres com história de atividade física atual ou na adolescência, a prevalência de RD proliferativa foi menor quando comparadas com mulheres sedentárias, o que não foi observado em homens (89).

Há um consenso de que atividade física pode ter efeito benéfico nas complicações do DM. Entretanto, pacientes com RD em estágios avançados devem evitar atividades extenuantes que envolvam manobra de Valsalva, golpes ou choques com a cabeça, pelo risco de hemorragia vítrea ou descolamento tracional de retina (90-92).

O uso de ácido acetilsalicílico nas doses de até 625 mg/dia ou de agentes trombolíticos não está associado a aumento de hemorragia vítrea ou influência no aparecimento ou progressão da RD (93, 94). Conclui-se que, respeitadas as contra-indicações usuais, pacientes diabéticos portadores de RD podem utilizar o ácido acetilsalicílico tanto na prevenção primária quanto secundária da doença cardiovascular sem risco adicional para a RD (93).

Fatores de risco oculares

Pacientes portadores de DM desenvolvem catarata mais precocemente do que pacientes não diabéticos (95). As complicações pós-operatórias da facectomia nestes pacientes são mais frequentes, provavelmente pela quebra da barreira hemato-aquosa no transoperatório, especialmente se houver RD pré-existente. Independente da técnica cirúrgica utilizada (facectomia extracapsular, facoemulsificação), a facectomia é um fator de risco para a progressão da RD. O risco de piora pode variar de 21% (96) a 25% (97). Este risco é maior nos pacientes com maior duração do DM, pior controle metabólico, em uso de insulina e com RD prévia mais grave (98).

Embora exista a observação de que a presença de glaucoma está associada a menor prevalência e severidade da RD (99), estes achados não foram comprovados e existem poucos estudos sobre o tema. Em estudo de coorte com 4 anos de acompanhamento, foi demonstrado que pacientes com DM tipo 1 com pressão de perfusão ocular elevada $\{2/3.[PD+(PS-PD)/3]-IOP\}$ – onde PD=pressão diastólica, PS=pressão sistólica, IOP=pressão intra-ocular – apresentaram risco de desenvolvimento de RD de 2,13 vezes para cada 10mmHg de elevação de perfusão ocular. Tal achado não foi observado em pacientes com DM tipo 2 (100).

A presença de miopia maior de -2 dioptrias parece ter efeito protetor para o aparecimento e progressão da RD (99). Tal efeito benéfico foi confirmado em uma coorte de 1210 pacientes com DM tipo 1 e 1780 pacientes com DM tipo 2, onde a presença de miopia foi um fator protetor para o desenvolvimento da RD (RR=0,4) (100).

Fatores de risco genéticos

O controle dos principais fatores de risco conhecidos para RD não é capaz de prevenir o aparecimento ou progressão da RD na totalidade dos casos, como já foi demonstrado em grandes ensaios clínicos multicêntricos tanto para pacientes com DM tipo 1 quanto para pacientes com DM tipo 2 (36, 48, 49). Esta observação sugere a existência de fatores genéticos relacionados à RD. No entanto não foram realizados, até o presente momento, estudos de agregação familiar de RD. Além disto, os estudos que avaliam a associação de RD com etnia (101) e com o sistema HLA (102, 103, 104), têm resultados conflitantes.

De uma maneira geral os genes candidatos a ser associados à RD estão relacionados aos fatores de risco ou a prováveis mecanismos patogênicos relacionados às complicações microvasculares do DM. A avaliação de polimorfismos de genes candidatos demonstrou uma associação positiva da RD com os seguintes genes: aldose redutase (105-109), FCEV (110),

glicoproteína de membrana plasmática $\alpha 2\beta 1$ integrina (receptor plaquetário para colágeno) (111) e gene do receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) (112). Já os polimorfismos dos genes da enzima óxido nítrico sintase endotelial (113), inibidor da ativação do plasminogênio 1 (PAI-1) (114, 115), apolipoproteína E (116), receptor $\beta 3$ -adrenérgico (117) e glicoproteína de membrana plaquetária $\alpha \text{IIb}\beta 3$ integrina (receptor plaquetário para fibrinogênio e fator de von Willebrand) não foram associados à RD (111). Em relação ao polimorfismo do gene da enzima conversora de angiotensina (ECA), a associação com a RD não está estabelecida de forma definitiva, havendo estudos sem associação demonstrada (118-123) e outros com associação positiva (124, 125).

A resistência insulínica é um elemento chave para o desenvolvimento do DM e das complicações cardiovasculares associadas (70). Evidências recentes sugerem também a associação de resistência insulínica e complicações microvasculares do DM, já descritos anteriormente nesta introdução (71, 81).

O polimorfismo (K121Q) do gene da proteína de membrana, ectonucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase 1 (ENNP1), previamente chamado PC-1 (126), parece estar relacionado à resistência insulínica (127) e às complicações microvasculares do DM, em especial à progressão da nefropatia diabética (128). Já em relação à RD, a maioria dos estudos em pacientes com DM tipo 1 não observou associação deste polimorfismo com RD (115, 128), embora um estudo prospectivo em pacientes com DM tipo 1 tenha sugerido a associação da presença do alelo Q ao aparecimento ou progressão da RD (129). Em pacientes com DM tipo 2 a provável relação da resistência insulínica com a RD é sugerida pela associação de RD e obesidade e uso de doses elevadas de insulina (52) e por um estudo transversal realizado em pacientes japoneses com DM tipo 2 (81). Outro polimorfismo genético que tem sido relacionado à resistência insulínica é o do

gene da proteína intestinal ligadora de ácidos graxos (FABP2), embora os resultados sejam ainda controversos (130-132). Não existem dados sobre a associação de RD e polimorfismo FABP2.

Vários genes, portanto, estão relacionados à RD e o estudo de novos genes candidatos em grupos populacionais diversos poderá permitir a avaliação da influência relativa de cada gene no desenvolvimento e/ou progressão da RD.

Conclusão

A RD é uma complicação crônica do DM que apresenta elevada prevalência e morbidade e cuja patogênese não está completamente esclarecida. Mau controle glicêmico e pressórico, junto com longo tempo de duração do DM, são os principais fatores de risco que devem ser levados em consideração na abordagem de qualquer paciente portador de DM. A avaliação genética relacionada à RD está ainda em fase inicial. O objetivo final da identificação e controle dos fatores de risco é prevenir o aparecimento e a progressão da RD.

Quadro 1: Acompanhamento de pacientes portadores de DM segundo classificação da RD (27).

Alteração retiniana observada	Seguimento mínimo
Sem RD, RDNP mínima	Anual
RDNP leve a moderada sem edema macular	Cada 6 – 12 meses
RDNP leve a moderada com edema macular não clinicamente significante	Cada 4 - 6 meses
RDNP leve a moderada com edema macular clinicamente significante	Cada 2 - 4 meses
RDNP grave ou muito grave sem edema macular	Cada 3-4 meses
RDNP grave ou muito grave com edema macular clinicamente significante	Cada 2 - 4 meses
RDP sem alto risco sem edema macular clinicamente significante	Cada 2 – 4 meses
RDP sem alto risco com edema macular clinicamente significante	Cada 2 – 4 meses
RDP de alto risco sem edema macular clinicamente significante	Cada 3 – 4 meses
RDP de alto risco com edema macular clinicamente significante	Cada 3 – 4 meses
RDP de alto risco sem possibilidade de fotocoagulação	Cada 1 – 6 meses
RDP muito severa	Cada 3 – 4 meses

RDNP = retinopatia diabética não proliferativa
RDP = retinopatia diabética proliferativa

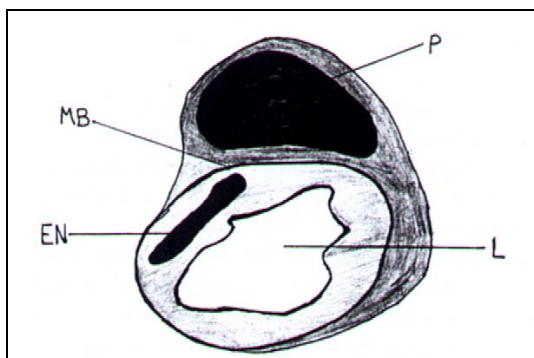


Figura 1: Esquema do capilar retiniano. A célula endotelial (EN) cerca a luz (L) do capilar e é coberta por uma membrana basal (MB). A membrana basal é envolvida pelo pericito (P).

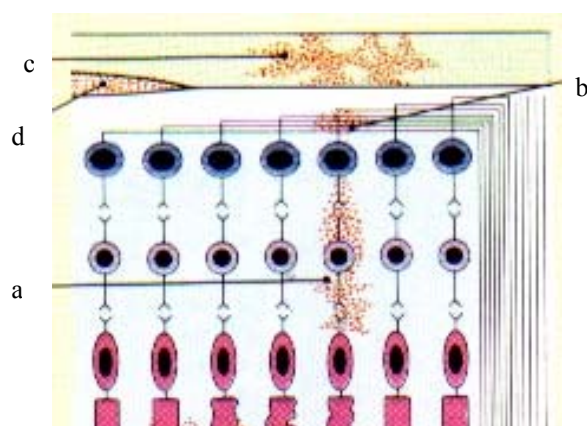


Figura 2: Hemorragias retinianas: puntiformes (a); em chama de vela (b); hemorragia vítrea (c); hemorragia sub-hialoidéia (d).

6. Referências Bibliográficas

1. American Diabetes Association. ADA. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2002, 25 (Supplement 1) S5-S20.
2. Malerbi DA, Franco LJ. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. *Diabetes Care* 1992, 15:1509-1516.
3. American Academy of Ophthalmology. AOO. In: Basic and Clinical Science Course section 12: Retina and Vitreous: 1999-2000. p. 70-86
4. Ministério da Saúde – estatísticas. Disponível em http://www.portalweb02.saude.gov.br/saude/aplicacoes/noticias/noticias_detalhe.cfm?co_seq.noticias=132, acessado em outubro de 2002.
5. Schellini SA, Moraes Silva MRB, Moraes Silva MA. Diabetes, retinopatia diabética e cegueira. *JBM* 1994, 67(2):171-173.
6. Bienkowski J. An overview of the progression of diabetic retinopathy with treatment recommendations. *Nurse Practitioner* 1994, 19(7):50-58.
7. Cogan DG, Toussant D, Kuwabara T. Retinal vascular patterns IV. Diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1961, 66:366-378.
8. Engerman RL. Pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes* 1989, 38:1203-1206.
9. Sorbinil Retinopathy Trial Research Group: A randomized trial of sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1990, 108:1234-1244.
10. Ditzel J, Stand E. The problem of tissue oxygenation in diabetes mellitus. *Acta Med Scan* 1975, Suppl. 578:49-58.
11. Frank R. On the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1990, 98:586-593.

12. Michaelson IC. The mode of development of retinal vessels. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1948, 68:137-8.
13. Duh E, Aiello, LP. Vascular endothelial growth factor and diabetes. The agonist versus antagonist paradox. *Diabetes* 1999, 48:1899-1906.
14. Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, Takagi H, Iwamoto MA. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol* 1995, 113:1538-44.
15. Aiello LP, Avery RL, Arrig PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994, 320:1480-1487.
16. Forrester JV, Knott RM. Pathogenesis of diabetic retinopathy and cataract. In: *Textbook of diabetes*. 2nd edition, Pickup JC, Williams G. Ed. Blackwell Science, 1997, p.45.12.
17. Olk RJ, Lee CM in: *Diabetic Retinopathy: Practical Management*. 1^a ed. Olk RJ, Lee CM, Ed. Lippincott Company, 1993, p.3-20.
18. Cignarelli M, Cicco ML, Damato A, et al. High systolic blood pressure increases prevalence and severity of retinopathy in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1992, 15(8):1002-1008.
19. American Diabetes Association. ADA. *Diabetic Retinopathy*. *Diabetes Care* 2002, 25(suppl1):s90-s93.
20. Aiello LP. in: *Principles and practice of ophthalmology*. 2^a ed. Albert DA, Jakobiec FA. Ed. Saunders Company, 1994, p. 747-760.
21. Jalkh A, Takahaski M, Topilow HM, Trempe CL, McMeel JW. Prognostic value of vitreous findings in diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1982, 100: 432-434.
22. American Academy of Ophthalmology. AAO. Information statement: Eye care for people with diabetes mellitus. Disponível em

http://www.medem.com/search/article_display.cfm?path=n:&mstr=/ZZZHN8AAHEC.html&so c=AAO&srch_typ=NAU_serch. Acessado em outubro de 2002.

23. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group – ETDRS. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991, 98: 823-833.
24. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Cruickhanks KJ. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *Ophthalmology* 1998, 105(10):1801-1815.
25. Diabetes Control and Complications Trial. DCCT. The effect of intensive diabetes treatment on the progression of diabetic retinopathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol* 1995, 113:36-51.
26. United Kingdom Prospective Diabetes Study. UKPDS. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 32) *Lancet* 1998, 352:837-853.
27. American Academy of Ophthalmology. AAO. Preferred Practice Patern. Committee Retina Panel, 1998. Disponível em: <http://www.eyenet.org/aaio/education/library/loader.cfm?url=/commonspot/security/getfile.cfm&PageID=6542>. Acessado em outubro de 2002.
28. Dyck PJ, Kratz KM, Litchy WJ, et al. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: The Rochester diabetic neuropathy study. *Neurology* 1993, 43:817-824.
29. Chen M, Kao C, Chang C, Wu T, Fu C, Chen C, Tai T. Prevalence and risk factors of diabetic retinopathy among non-insulin-dependent diabetic subjects. *Am J Ophthalmol* 1992, 114:723-730.

30. Sparrow JM, McLeod BK, Smith TDW, Birk MK, Rosenthal AR. The prevalence of diabetic retinopathy and maculopathy and their risk factors in the non-insulin-treated diabetic patients of an English town. *Eye* 1993, 7:158-163.
31. Goldstein DE, Blinder KJ, Ide CH, et al. Glycemic control and development of retinopathy in youth-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Ophthalmology* 1993, 100:1125-1132.
32. Kenn H, Lee ET, Russel D, et al. The appearance of retinopathy and progression to proliferative retinopathy: the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. *Diabetologia* 2001, 44(Suppl2):S22-S30.
33. Miki E, Lu M, Lee ET, et al. The incidence of visual impairment and its determinants in the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. *Diabetologia* 2001, 44(Suppl2):S30-S36.
34. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis ME, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II. Prevalence and risk factors of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophtalmol* 1984, 102:520-526.
35. Cunha-Vaz J. Lowering the risk of visual impairment and blindness. *Diabetic Medicine* 1998, 15(Suppl4):s47-s50.
36. Krolewski AS, Warram JH, Rand LI, Christlieb AR, Busick EJ, Kahn CR. Risk of proliferative diabetic retinopathy in juvenile-onset type I diabetes: A 40-yr follow-up study. *Diabetes Care* 1986, 9(5): 443-452.
37. Teuscher A, Schnell H, Wilson PWF. Incidence of diabetic retinopathy and relationship to baseline glucose and blood pressure. *Diabetes Care* 1998, 11(3):246-251.
38. Harris MI, Klein R, Welborn TA, Knuiaman MW. Onset of NIDDM occurs at least 4-7 years before clinical diagnosis. *Diabetes Care* 1992, 15(7):815-819.

39. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis ME, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. III. Prevalence and risk factors of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol* 1984, 102:527-532.
40. Klein R. Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Care* 1995, 18(2):258-268.
41. Klein R, Klein BRK, Moss SE, Cruikshanks KJ. Relationship of hyperglycemia to the long-term incidence and progression of diabetic retinopathy. *Arch Intern Med* 1994, 154:2169-2178.
42. Stratton IM, Kohner EM, Aldington, SJ, Turner RC, Holman RR, Manley SE, Matthews DR. UKPDS 50: Risk factors for incidence and progression of retinopathy in type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia* 2001, 44:156-163.
43. Shichiri M, Kishikawa H, Ohkybo Y, Wake N. Long-term results of the Kumamoto study on optimal diabetes control in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2000 23(s2):B21-B29.
44. Diabetes Control and Complications Trial. DCCT. The relationship of glycemic exposure (HbA_{1c}) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 1995, 44:969-983.
45. Lachin JM, Genuth S, Clearly P. Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. *N Engl J Med* 2000, 342:381-389.
46. Gross JL, Silveiro SP, Canani LH, Azevedo MJ. Nefropatia diabética. In: *Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos*. Riella MC. Editora Guanabara Koogan, 4^a. ed, Rio de Janeiro, cap 32, fevereiro 2003 (no prelo).
47. American Diabetes Association. ADA. Diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2002, 25(suppl1):s85-s89.
48. American Diabetes Association. ADA. Implications of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2002, 25(suppl1):s25-s27.

49. American Diabetes Association. ADA. Implications of the United Kingdom Prospective Diabetes Study. *Diabetes Care* 2002, 25(suppl1):s28-s32.
50. El-Asrar AM, Al-Rubeaan KA, Al-Amro SA, Moharram OA, Kangave D. Retinopathy as a predictor of other diabetic complications. *Int Ophthalmol* 2001, 24(1):1-11.
51. Olsen BS, Sjolie A, Hougaard P, et al. A 6-year nationwide cohort study of glycaemic control in young people with type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2000, 14(6):295-300.
52. Schemmel H, Heinrich U: Retinopathy and nephropathy in 772 insulin-treated diabetic patients in relation to the type of diabetes. *Diabete & Metabolisme* 1993, 19(1):138-142.
53. Gross JL, Stein ACR, Beck MO, et al. Risk factors for development of proteinuria by type II (non-insulin dependent) diabetic patients. *Braz J Med Biol Res* 1993, 26:1269-78.
54. Klein R, Moss SE, Klein BEK. Is gross proteinuria a risk factor for the incidence of proliferative diabetic retinopathy? *Ophthalmology* 1993, 100:1140-1146.
55. Gomes MB, Lucchetti MR, Gazzola H, et al. Microalbuminuria and associated clinical features among Brazilians with insulin dependent diabetes mellitus. *Diab Res Clin Pract* 1997, 35:143-147.
56. Parving H, Hommel E, Mathiesen E, et al. Prevalence of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and neuropathy in patients with insulin dependent diabetes. *BMJ* 1988, 296:156-160.
57. Porta M, Sjoelie AK, Chaturverdi N, Stevens L, Rottiers R, Veglio M, et al. Risk factors for progression to proliferative diabetic retinopathy in the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia* 2001, 44(12):2203-09.
58. Mogensen CE, Vigstrup J, Ehlers N. Microalbuminuria predicts proliferative diabetic retinopathy [letter]. *Lancet* 1985, 1:1512-13.

59. Cruickshanks KJ, Ritter LL, Klein R, Moss SE. The association of microalbuminuria with diabetic retinopathy. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology* 1993, 100:862-867.
60. Gall M-A, Hougaard P, Borch-Johnsen K, Parving H. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: prospective, observational study. *BMJ* 1997, 314:783-788.
61. Weijers RNM, Merode GG. Retinopathy and microalbuminuria in type 2 diabetes: determinants and time-dependency of the association. *EJIM* 2001, 12: 28-34.
62. Savage S, Estacio RO, Jeffeers B, Schrier RW. Urinary albumin excretion as a predictor of diabetic retinopathy, neuropathy, and cardiovascular disease in NIDDM. *Diabetes Care* 1996, 19(11):1243-1248.
63. Voutilainen-Kaunisto RM, Teräsvirta ME, Uusitupa MIJ, Niskanen LK. Occurrence and predictors of retinopathy and visual acuity in type 2 diabetic patients and control subjects 10-year follow-up from the diagnosis. *J Diab Compl* 2001, 15:24-32.
64. Laakso M. Benefits of strict glucose and blood pressure control in type 2 diabetes. *Circulation* 1999, 99:461-462.
65. Janka HU, Warram JH, Rand LI, Krolewski, AS. Risk factor for progression of background retinopathy in long-standing IDDM. *Diabetes* 1989, 39: 460-464.
66. Cohen RA, Hennekens CH, Christen WG, Krolewski A, Nathan DM, Peterson MJ, et al. Determinants of retinopathy progression in type 1 diabetes mellitus. *Am J Med* 1999, 107(1):45-51.
67. United Kingdom Prospective Diabetes Study. UKPDS. Tight blood pressure control and risk of macrovascular disease and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998, 317(12):703-713.

68. United Kingdom Prospective Diabetes Study. UKPDS. Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 39. *BMJ* 1998, 317(12):713-719.
69. Wan Nazaimoon WM, Letchuman R, Norani N, et al. Systolic hypertension and duration of diabetes mellitus are important determinants of retinopathy and microalbuminuria in young diabetics. *Diabetes Clin Pract* 1999 46(3):213-21.
70. World Health Organization. WHO. Definition and classification of diabetes mellitus and its complications. Geneva, World Health Organization, 1999
71. Isomaa B, Henricsson M, Almgren P, Tuomi T, Taskinen M-R, Groop L. The metabolic syndrome influences the risk of chronic complications in patients with type II diabetes. *Diabetologia* 2001, 44: 1148-1154.
72. Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000, 321:405-412.
73. Adler AI, Stratton IM, Neil HAW, et al. Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. *BMJ* 2000, 321:412-419.
74. Klein BEK, Moss SE, Klein R, Surawicz TS. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. XIII. Relationship of serum cholesterol to retinopathy and hard exudate. *Ophthalmology* 1991, 98(8):1261-68.
75. Chew EY, Klein ML, Ferris III FL, et al. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy. ETDRS report 22. *Arch Ophthalmol* 1996, 114:1079-1084.
76. Kreisberg RA. Diabetic dyslipidemia. *Am J Cardiology* 1998, 82(12):67-73.

77. American Diabetes Association. ADA. Consensus development conference on the diagnosis of coronary heart disease in people with diabetes. *Diabetes Care* 1998, 21(9): 1551-1559
78. Klein R, Moss SE, Klein BEK, DeMets DL. Relation of ocular and systemic factors to survival in diabetes. *Arch Intern Med* 1989, 149: 226-272.
79. Miettinen H, Haffner SM, Lehto S Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Retinopathy predicts coronary heart disease events in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1996, 19(12):1445-1448.
80. Rajala U, Panjunpää H, Koskela P, Keinänen-Kuikaanniemi S. High cardiovascular disease mortality in subjects with visual impairment caused by diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2000, 23(7):957-961.
81. Susuki M, Kanazawa A, Shiba M, Kijima H, Yuataka H. Insulin resistance in diabetic microangiopathies. *J Diabetes Complications* 2000, 14(1):40-45.
82. Barak R, Modounik M. Medical complications of DM in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 2000, 43(1):17-31.
83. Klein BEK, Moss SE, Klein R. Effect of pregnancy on progression of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1990, 13(1):34-40.
84. Diabetes Control and Complications Trial. DCCT. Effect of pregnancy on microvascular complications in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2000, 23:1084-1091.
85. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, et al. Factors associated with avoidance of severe complications after 25 yr of IDDM. *Diabetes Care* 1990, 13(7):741-47.
86. Moss SE, Klein R, Klein BE. Cigarette smoking and ten-year progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1996, 103:1438-1442.
87. Solberg Y, Rosner M, Belkin M. The association between cigarette smoking and ocular diseases. *Survey Ophthalmology* 1998, 42(6):535-47.

88. Moss SE, Klein R, Klein BE. The association of alcohol consumption with the incidence and progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1994, 101(12): 1962-68.
89. Cruickshanks KJ, Moss SE, Klein BE. Physical activity and proliferative retinopathy in people diagnosed with diabetes before age 30 yr. *Diabetes Care* 1992, 15(10): 1267-72.
90. Aiello LP, Gardner TW, King GL, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1998, 21(1):143-156.
91. Aiello LP, Cahll MT, Wong JS. Systemic considerations in the management of diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2001, 132:760-776.
92. American Diabetes Association. ADA. Diabetes mellittus and exercise. *Diabetes Care* 2002, 25(Suppl1):s64-s68.
93. American Diabetes Association. ADA. Aspirin therapy in diabetes. *Diabetes Care* 2002, 25(Suppl1):s78-s79.
94. Early treatment diabetic retinopathy study research group. ETDRS report number 8. Effects of aspirin treatment on diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1991, 98(5 suppl):757-68.
95. American Academy of Ophthalmology. AOO. In: Basic and Clinical Science Course section 11: Lens and Cataracts; 1999-2000. p. 55-56
96. Zaczek A, Olivestedt G, Zetterström C. Visual outcome after phacoemulsification and IOL implantation in diabetic patients. *BMJ* 1999, 83: 1036-1041.
97. Mitra RA, Borrillo JL, Dev S, Mieler WF, Koenig SB. Retinopathy progression and visual outcomes after phacoemulsification in patients with diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol* 2000, 118:912-917.
98. Henricsson M, Heijl A, Janzon L. Diabetic retinopathy before and after cataract surgery. *Br J Ophthalmol* 1996, 80: 789-793.

99. Frank, RN Etiologic mechanisms in diabetic retinopathy. In: Retina. Ryan S, Schachat AP, Murphy RB. 2nd ed, Mosby, 1994 p. 1247
100. Moss SE, Klein R, Klein BE. Ocular factors in the incidence and progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1994, 101(12): 77-83.
101. Kalter-Leibovici O, Van Dyk DJ, Leibovici L, et al. Risk factors for development of diabetic nephropathy and retinopathy in jewish IDDM patients. *Diabetes* 1991, 40:204-10.
102. Agardh A, Gaur LK, Landin-Oosson M, Agardh CD, Lernmark A. HLA-DQB1*0201/0302 is associated with severe retinopathy in patients with IDDM. *Diabetologia* 1996, 39:1313-1317.
103. Dornan TL, Ting A, McPherson CK, et al. Genetic susceptibility to the development of retinopathy in insulin-dependent diabetics. *Diabetes* 1984, 31:226-231.
104. Wong TY, Cruickshank KJ, Klein J, et al. HLA-DR3 and DR-4 and their relation to the incidence and progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 2002, 109:275-281.
105. Demaine A, Cross D, Millward A. Polymorphisms of the aldose reductase gene and susceptibility to retinopathy in type 1 diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000, 41(13):4064-68.
106. Kao YL, Chan DK, Knight J, Silink M. An aldose reductase intragenic polymorphism associated with diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 1999, 46(2):155-60.
107. Ko BC, Lam K, Wat N, Chung S. An (A-C)_n dinucleotide repeat polymorphic marker at the 5' end of the aldose reductase gene is associated with early-onset diabetic retinopathy in NIDDM patients. *Diabetes* 1995, 44:727-732.
108. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. Length rather than a specific allele of dinucleotide repeat in the 5' upstream region of the aldose reductase gene is associated with diabetic retinopathy. *Diabetic Medicine* 1999 16:1044-47.

109. Shimizu H, Ohtanik T, Suchiya T, et al. Aldose reductase mRNA expression is associated with rapid development of diabetic microangiopathy in Japanese type 2 diabetic (T2DM) patients. *Diabetes, Nutrition and Metabolism - Clinical and Experimental* 2000, 13(2):75-79.
110. Awata T, Inoue K, Kurihara S, et al. A common polymorphism in the 5'-intranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002, 51:1635-1639.
111. Matsubara Y, Murata M, Maruyama T, et al. Association between diabetic retinopathy and genetic variations in $\alpha 2\beta 1$ integrin, a platelet receptor for collagen. *Blood* 2000, 95(5):1560-64.
112. Hudson BI, Stickland MH, Futers S, Grant P. Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes* 2001, 50:1505-11.
113. Taverna MJ, Sola A, Guyot-Argenton C, et al. eNOS4 polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase predicts risk for severe diabetic retinopathy. *Diabetic Medicine* 2002, 19(3)240-5.
114. Liu ZH, Guan TJ, Chen ZH, Li LS. Glucose transporter (GLUT-1) allele (Xba-1) associated with nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1999, 55(5):1843-8.
115. Tarnow L, Grarup N, Hansen T, Parving H, Pedersen O. Diabetic microvascular complications in the GLUT-1 and PC-1 genes regulating glucose metabolism in Caucasian type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001, 16:1683-1686.
116. Tarnow L, Stehouwer CDA, Emeis JJ, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 and apolipoprotein E gene polymorphisms and diabetic angiopathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15:625-630.
117. Tarnow L, Urhammer SA, Mottalu B, Hansen B, Pedersen O, Parving H. The Trp64Arg amino acid polymorphism of the α_3 -adrenergic receptor gene does not contribute to the genetic

susceptibility of diabetic microvascular complications in caucasian type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999, 14:895-97.

118. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. *Diabetologia* 1998, 41:47-53.
119. Kennon, B Petrie, JR, Small M, Conell JMC. Angiotensin-converting enzyme gene and diabetes mellitus. *Diabet Med* 1999, 16:448-458.
120. Marre M, Bernadet P, Gallois Y, et al. Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* 1994, 43:384-388.
121. Grzeszczak W, Zychma MJ, Lacka B, Zukowska-Szczechowska E. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphisms: relationship to nephropathy in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 1998, 9(9):1664-69.
122. Araz M, Yilmaz N, Güngör K, Okan V, Kepekci Y, Aynacioglu AS. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and microvascular complications in Turkish type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2001, 54(2):95-104.
123. Fujisawa T, Ikegami H, Shen Q, et al. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism is associated with myocardial infarction, but not with retinopathy or nephropathy in NIDDM. *Diabetes Care* 1995, 18(7):983-985.
124. Rabsteiner D, Abrahamian H, Irsigler K, et al. ACE gene polymorphism and proliferative retinopathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999, 22(9):1530-35.
125. Matsumoto A, Iwashima Y, Abiko A, et al. Detection of the association between a deletion polymorphism in the gene encoding angiotensin I-converting enzyme and advanced diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2000, 50:105-202.

126. Bollen M, Gijsbers R, Ceulemans H, Stalmans W, Stefan C. Nucleotide pyrophosphatases/phosphodiesterases on the move. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2000, 35(6):393-431.
127. Pugh JA. The epidemiology of diabetic nephropathy. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1989, 5: 531-546.
128. De Cosmo S, Argiolas A, Miscio G, et al. A PC-1 amino acid variant (K121Q) is associated with faster progression of renal disease in patients with type 1 diabetes and albuminuria. *Diabetes* 2000, 49:521-24.
129. Azevedo MJ, Dalmáz CA, Caramori ML, et al. ACE and PC-1 gene polymorphisms in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: a 10-year prospective study. *J Diabetes Complications* 2002, 16:1-8.
130. Baier LJ, Sacchettini S, Knowler WC, et al. An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding, increased fat oxidation, and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995, 95:1281-1287.
131. Ito K, Nakatani K, Fujii M, et al. Codon 54 polymorphism of the fatty acid binding protein gene and insulin resistance in the Japanese population. *Diabetic Medicine* 1999, 16:119-124.
132. Lei HH, Coresh J, Shuldiner AR, Boerwinkle E, Brancaati FL. Variants of the insulin receptor substrate-1 and fatty acid binding protein 2 genes on the risk of type 2 diabetes, obesity, and hyperinsulinemia in African-americans. *Diabetes* 1999, 48:1868-1872.

II – JUSTIFICATIVA

Muitos possíveis fatores de risco para a RD ainda não têm seu papel esclarecido, em especial em pacientes com DM tipo 2 e em amostras populacionais com composição genética heterogênea, como é o caso da população brasileira. O estabelecimento e entendimento destes fatores poderão auxiliar na adoção de estratégias de prevenção e de intervenção sobre a RD, bem como sugerir possíveis mecanismos patogênicos envolvidos na RD.

III - OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar possíveis fatores genéticos e não genéticos associados à presença de retinopatia diabética grave em pacientes com DM tipo 2.

**IV - FATORES GENÉTICOS E NÃO GENÉTICOS EM FORMAS AVANÇADAS DE RETINOPATIA
DIABÉTICA EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2.**

**(GENETIC AND NON-GENETIC FACTORS IN ADVANCED FORMS OF DIABETIC RETINOPATHY
IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS.)**

SINOPSE

Introdução: A retinopatia diabética (RD) é a principal causa de novos casos de cegueira entre norte-americanos em idade produtiva. Existe uma associação entre RD e as outras complicações microvasculares do diabetes melito. A associação da RD com a fase inicial da nefropatia, a microalbuminúria, não está esclarecida em pacientes com diabetes melito (DM) tipo 2. Polimorfismos de genes (ENNP1; FABP2) relacionados à resistência insulínica, entre outros, poderiam estar associados à RD.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar fatores genéticos e não genéticos associados à RD avançada em pacientes com DM tipo 2.

Métodos: Neste estudo caso-controle foram incluídos pacientes DM tipo 2 submetidos à avaliação clínica, laboratorial e oftalmológica. Foi realizada oftalmoscopia binocular indireta sob midríase e obtidas retinografias coloridas em 7 campos padronizados. Foram classificados como casos os pacientes portadores de RD avançada (formas graves de RD não proliferativa e RD proliferativa) e como controles os pacientes sem RD avançada (fundoscopia normal, e outras formas de RD). Foram estudados os polimorfismos K121Q do gene ENNP1 e A54T do gene FABP2. Na análise estatística foram utilizados testes paramétricos e não paramétricos conforme indicado. Foi realizada análise de regressão logística múltipla para avaliar fatores associados à RD avançada. O nível de significância adotado foi de 0,05%.

Resultados: Foram avaliados 240 pacientes com DM tipo 2 com $60,6 \pm 8,4$ anos de idade e duração conhecida de DM de $14,4 \pm 8,4$ anos. Destes, 67 pacientes (27,9%) apresentavam RD avançada. Os pacientes com RD avançada apresentaram maior duração conhecida de DM ($18,1 \pm 8,1$ vs. $12,9 \pm 8,2$ anos; $P < 0,001$), menor índice de massa corporal (IMC) ($27,5 \pm 4,2$ vs. $29,0 \pm 9,6$ kg/m²; $P = 0,019$), além de uso de insulina mais freqüente (70,8% vs 35,3%; $P < 0,001$) e presença

de nefropatia diabética (81,1% vs 34,8%; $P < 0,001$) quando comparados com os pacientes sem RD avançada. Na avaliação laboratorial os pacientes com RD avançada apresentaram valores mais elevados de creatinina sérica [1,4 (0,6 -13,6) vs 0,8 (0,5-17,9) mg/dl; $P < 0,001$] e de albuminúria [135,0 (3,6-1816,0) vs 11,3 (1,5-5105,0) $\mu\text{g}/\text{min}$; $P < 0,001$] quando comparados com pacientes sem RD avançada. A distribuição dos genótipos dos polimorfismos do ENNP1 e FABP2 não foi diferente entre os grupos. A análise de regressão logística múltipla demonstrou que a presença de nefropatia (OR=6,59; IC95%: 3,01-14,41; $P < 0,001$) e o uso de insulina (OR=3,47; IC95%: 1,60-7,50; $P = 0,002$) foram os fatores associados à RD avançada, ajustados para a duração de DM, presença de hipertensão arterial, glicohemoglobina e IMC. Quando na análise foram incluídos apenas pacientes normoalbuminúricos e microalbuminúricos, a microalbuminúria (OR=3,8; IC95%: 1,38-10,47; $P = 0,010$), o uso de insulina (OR=5,04; IC95%: 1,67-15,21; $P = 0,004$), a duração do DM (OR=1,06 IC95%: 1,00-1,13; $P = 0,048$) e a glicohemoglobina (OR=1,35; IC95%: 1,02-1,79; $P = 0,034$) foram os fatores associados à RD avançada, ajustados para a presença de hipertensão arterial e IMC.

Conclusão: Pacientes com DM tipo 2 portadores de formas avançadas de RD apresentam mais freqüentemente envolvimento renal pelo DM, incluindo o estágio de microalbuminúria. Uma avaliação renal com medida de albuminúria dever ser incorporada como avaliação de rotina nestes pacientes.

ABSTRACT

Introduction: Diabetic retinopathy (DR) is the leading cause of new-onset legal blindness among working-age people in the United States. There is an association of diabetic chronic microvascular complications and DR. In patients with type 2 diabetes mellitus (DM) the association of early stages of diabetic nephropathy is still unclear. Polymorphisms of genes related to insulin resistance (ENNP1; FABP2), among others, could be associated to DR.

Objective: To assess genetic and non-genetic factors associated with advanced stages of DR in type 2 DM patients.

Methods: This is a case-control study including type 2 DM patients submitted to a clinic, laboratory and ophthalmologic evaluation. Fundus examination was performed using binocular indirect ophthalmoscopy under mydriasis. Seven stereoscopic fundus photographs of each eye were obtained. Patients with advanced DR (severe forms of nonproliferative and proliferative DR) were considered as cases, and patients without advanced DR constituted the control group (none DR or others forms of non-proliferative DR). Polymorphism K121Q of ENNP1 gene and A54T of FABP2 gene was studied. Parametric and non-parametric statistical analysis was performed as indicated. Multiple logistic regression analysis was performed to evaluate factors associated with advanced DR. The adopted level of significance was 0.05%.

Results: Two hundred-fourty type 2 DM patients aged 60.6 ± 8.4 years, with known diabetes duration of 14.4 ± 8.4 years were evaluated. Advanced DR was present in 67 patients (27.9%). Patients with advanced DR presented longer known diabetes duration (18.1 ± 8.1 vs. 12.9 ± 8.2 years; $P < 0.001$), lower body mass index (BMI) values (27.5 ± 4.2 vs. 29.0 ± 9.6 kg/m²; $P = 0.019$), and more frequent use of insulin (70.8% vs. 35.3%; $P < 0.001$) and presence of diabetic nephropathy (81.1% vs. 34.8%; $P < 0.001$) than patients without advanced DR. Patients with

advanced DR presented higher values of serum creatinine [1.4 (0.6-13.6) vs. 0.8 (0.5-17.9) mg/dl; $P<0.001$) and albuminuria [135.0 (3.6-1816.0) vs. 11.3 (1.5-5105.0) $\mu\text{g}/\text{min}$; $P<0.001$) when compared to patients without advanced DR. The genotype distribution of ENNP1 and FABP2 polymorphisms was not different between the groups. Multiple logistic regression revealed that presence of diabetic nephropathy (OR=6.59; CI95%: 3.01-14.41; $P<0.001$) and insulin use (OR=3.47; CI95%: 1.60-7.50; $P=0.002$) were associated factors with DR, in a model adjusted to hypertension, glycated hemoglobin, and BMI. When only patients with normoalbuminuria and microalbuminuria were analyzed, microalbuminuria (OR=3.8; CI95%: 1.38-10.47; $P=0.010$), insulin use (OR=5.04; CI95%: 1.67-15.21; $P=0.004$), diabetes duration (OR=1.06; CI95%: 1.00-1.13; $P=0.048$) and glycated hemoglobin (OR=1.35; CI95%: 1.02-1.79; $P=0.034$) were the factors associated with advanced DR, adjusted to the presence of hypertension and BMI.

Conclusion: In conclusion, type 2 DM patients with advanced forms of DR presented more often diabetic nephropathy, including microalbuminuria. A renal evaluation with measurement of albuminuria should be incorporated as part of the routine assessment of these patients.

Introdução:

A retinopatia diabética (RD) é a principal causa de novos casos de cegueira entre norte-americanos em idade produtiva (1). Quanto mais grave o estágio da RD, maior é o risco de perda visual (2). Além disto, os pacientes portadores de RD proliferativa têm maior risco de doença cardíaca, acidente vascular cerebral, nefropatia diabética, amputações e morte (3, 4).

Os principais fatores de risco para desenvolvimento ou progressão da RD são: duração conhecida de diabetes melito (DM) (5, 6), mau controle glicêmico (6-9), hipertensão arterial sistêmica (HAS) (5-7, 10-14) e gestação (15, 16). Outros fatores ainda não bem definidos, como a puberdade (17), a dislipidemia (18; 19) e o sedentarismo (20) podem também ter um efeito determinante sobre a RD.

Aparentemente há uma associação entre as complicações microvasculares do DM e a RD, especialmente os estágios mais avançados desta (21). Pacientes com proteinúria ou em diálise invariavelmente apresentam formas avançadas de RD (21-29). Já a associação com fases iniciais da nefropatia diabética apresenta resultados controversos. A microalbuminúria está associada a aumento do risco de RD proliferativa em pacientes com DM tipo 1 (6, 30, 31), porém em pacientes com DM tipo 2 os estudos mostram resultados conflitantes (11, 23, 25, 29, 32-36).

Existem algumas evidências que sugerem haver uma predisposição genética para a RD, embora pouco se saiba sobre os genes específicos envolvidos. Alguns polimorfismos foram associados à RD (37-41). Entre estes, o mais estudado foi o polimorfismo da aldose redutase (40, 41).

A resistência insulínica, característica da síndrome metabólica, é um elemento chave para o desenvolvimento do DM e das complicações macrovasculares associadas (42). Evidências recentes sugerem haver também uma associação da síndrome metabólica com o desenvolvimento de RD.

Pacientes com DM tipo 2 portadores de síndrome plurimetabólica apresentam mais freqüentemente RD grave quando comparados a pacientes diabéticos que não apresentam esta síndrome (43). Além disto, em um estudo com pacientes japoneses com DM tipo 2 foi observada associação entre formas avançadas de RD e resistência insulínica (44). Portanto, genes ligados à resistência insulínica poderiam estar envolvidos na patogênese da RD. A presença do alelo Q do polimorfismo K121Q do gene da proteína de membrana ectonucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase 1 (ENNP1), previamente chamado PC-1 (45), parece estar relacionado à resistência insulínica (46) e às complicações microvasculares do DM, em especial à progressão da nefropatia diabética (47). Já em relação à RD, a maioria dos estudos em pacientes com DM tipo 1 não observou associação deste polimorfismo com RD (47, 48), embora um estudo prospectivo com pacientes portadores de DM tipo 1 tenha sugerido a associação da presença do alelo Q com o aparecimento ou progressão da RD (49). A presença do alelo T no polimorfismo A54T do gene da proteína intestinal ligadora de ácidos graxos (FABP2) tem também sido relacionada à resistência insulínica (50), embora os estudos apresentem resultados conflitantes (51-53). Não existem dados sobre a associação de RD e polimorfismo A54T do gene FABP2.

O objetivo do presente estudo é avaliar fatores genéticos e não genéticos associados à RD avançada em pacientes com DM tipo 2.

Pacientes e Métodos:

Este estudo seguiu um delineamento do tipo caso-controle. Pacientes com DM tipo 2 definido de acordo com os critérios da OMS (42): diagnóstico de DM após 30 anos de idade, sem uso de insulina nos primeiros 5 anos de diagnóstico e ausência de episódios de cetoacidose. Pacientes portadores de DM tipo 2 e com formas avançadas de RD atendidos consecutivamente por um mesmo pesquisador no período de janeiro de 1999 a dezembro de 2001 foram considerados como casos. Pacientes sem RD ou com formas não avançadas de RD atendidos no mesmo período pelo mesmo investigador constituíram o grupo-controle. Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica, laboratorial e oftalmológica. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, tendo sido obtido consentimento informado de todos os pacientes.

Avaliação fundoscópica: Foi realizada oftalmoscopia binocular indireta sob midríase e obtidas retinografias coloridas em sete campos padronizados, de acordo com o padrão do “Diabetic Retinopathy Study” (54). Os exames foram avaliados e classificados por dois examinadores que não estavam a par do estado clínico dos pacientes. A RD foi classificada pelo pior olho segundo os critérios do ETDRS (“Early Treatment Diabetic Retinopathy Study”) (55), e classificadas como: RD ausente ou RD questionável (nenhum ou raros microaneurismas), RD não proliferativa leve ou moderada (microaneurismas e hemorragias intra-retinianas difusamente, exsudatos duros, exsudatos algodinosos), moderadamente grave e grave (abundantes hemorragias intra-retinianas e/ou microaneurismas ou veias em rosário ou alterações microvasculares intra-retinianas) e RD proliferativa (neovasos no disco óptico ou na retina, hemorragia vítrea ou pré-retiniana acompanhada por neovascularização, tração retiniana com ou sem descolamento de retina). Os olhos já fotocoagulados foram classificados como RD avançada e os de fundoscopia impossível por falta de transparência de meios foram avaliados e classificados pelo olho contra-lateral (um paciente

por catarata e outro por hemorragia vítrea). Nenhum paciente foi excluído por impossibilidade de exame fundoscópico.

Foram considerados como pacientes portadores de RD avançada aqueles com formas graves de RD ou com RD proliferativa (casos). Os pacientes com fundoscopia normal ou com outras formas de RD não proliferativa foram considerados controles.

Avaliação Clínico-laboratorial: Os pacientes responderam questionário incluindo informações quanto a sexo, idade, etnia (autoclassificação de brancos e não brancos), duração conhecida do DM, tipo do tratamento do diabete, HAS e história de tabagismo. Foi considerado tabagismo presente o hábito de fumar no momento da avaliação ou que fuma por 1 ano ou mais e não parou por até 6 meses antes da avaliação. Os pacientes foram pesados em roupas leves sem sapatos, e a altura foi registrada para cálculo de índice de massa corporal (IMC) = peso(kg)/altura(m)². A pressão arterial em repouso foi medida 2 vezes no braço direito após 10 minutos de repouso (fases I e V de Korotkoff). HAS foi definida com níveis pressóricos $\geq 140/90$ mmHg ou quando o paciente vinha em uso de medicação anti-hipertensiva (56). A cardiopatia isquêmica foi considerada como positiva na presença de sintomas compatíveis pelo questionário Rose da OMS (57) e/ou presença de alterações compatíveis com isquemia ou necrose no ECG de repouso e/ou na cintilografia miocárdica sob estresse farmacológico.

Glicemia de jejum foi medida pelo método glicose-peroxidase, glicohemoglobina por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC, Merck-Hitachi 9000: valores de referência: 3,1-4,3%), creatinina pelo método de Jaffé (58), colesterol total e triglicerídeos por método enzimático colorimétrico (59). O colesterol HDL foi medido por método homogêneo direto (DiaSys). O colesterol LDL foi estimado pela equação de Friedwald (60).

Albuminúria foi medida por imunoturbidimetria (61; Microalb – AMES; coeficiente de variação intra e interensaio: 4,5% e 11,0%, respectivamente) em amostra estéril casual e confirmada

em urina de 24 h com tempo marcado (excreção urinária de albumina – EUA 24h). Nefropatia diabética foi definida como presença de microalbuminúria, macroalbuminúria ou tratamento de substituição renal. No grupo em diálise, o diagnóstico de nefropatia diabética foi feito quando proteinúria, hipertensão e retinopatia estiveram presentes sem outra evidência de doença renal.

Microalbuminúria foi diagnosticada com albuminúria ≥ 17 mg/L na amostra casual e EUA 24h de 20 a 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ e macroalbuminúria com valores ≥ 176 mg/L e > 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ na amostra e na urina de 24 h respectivamente(62-64).

Avaliação genotípica: A análise genotípica do variante aminoácido (K121Q) do gene ENNP1 foi realizada através da ampliação do exon 4 através da reação de polimerase em cadeia (PCR) usando 100 ng de DNA genômico extraído de leucócitos periféricos e oligonucleotídeos inicializadores específicos (5'-CTG TGT TCA CTT TGG ACA TGT TG-3' e 5'-GAC GTT GGA AGA TAC CAG GTT TG-3') como descrito previamente (49). Resumidamente, 1 μM de cada oligonucleotídeo inicializador foi usado em uma solução contendo 20 mmol/L de MgCl_2 , 50 mmol/L de KCl, 20 mmol/L de Tris-HCl, pH 8,4, 0,2 mmol/L de dNTPs e 1 IU de Taq polimerase (GIBCO, BRL). As reações foram realizadas em um ciclador térmico (PTC-100, MJ Research, Watertown, MA, EUA) a 94°C (1 min), 64°C (1 min) e 72°C (1 min) por 35 ciclos, a extensão final por 5 min a 72°C. Os produtos finais foram digeridos usando enzima de restrição *AvaII* e analisados através de eletroforese por gel de agarose 3%. A presença do alelo K resultou em uma banda de 238 pb e do Q em bandas de 148 e 90 pb. De acordo com a presença de alelos K e Q os pacientes foram classificados em KK, KQ e QQ. A análise do polimorfismo FABP2 (A54T) foi determinada sob as mesmas condições descritas. Usando 5'- ACAGGTGTTAATATAGTGAAAAG-3 e 5'- TACCCTGAGTTCAGTTCCGTC-3' como oligonucleotídeos iniciadores, foram obtidas ampliações do exon 2. Os produtos do PCR foram digeridos usando a enzima de restrição *Hha I* e posteriormente analisados por eletroforese em gel de agarose a 3%. Os alelos T formam uma banda

de 180 pb e alelos A são clivados em 2 fragmentos de 99 e 81 pb. Os pacientes foram classificados nos grupos AA, AT ou TT de acordo com a presença dos alelos. Todas as reações de amplificação realizadas neste estudo foram feitas em duplicata. Os alelos Q e T dos polimorfismos dos genes ENNP1 e FABP2 respectivamente, foram considerados como possíveis alelos de risco para a presença de RD avançada .

Análise Estatística: O tamanho da amostra foi calculado para um alfa = 0,05, poder de 80% e prevalência de RD avançada de 20% (65), a partir dos dados de Savage et al (23), onde em pacientes com RD proliferativa a prevalência de micro- e macroalbuminúria foi de 66%, estimou-se uma amostra com 110 pacientes controles e 22 pacientes casos (EpiInfo2000).

Comparações entre os grupos foram realizadas através de teste t para amostras independentes, teste de Mann-Whitney ou qui-quadrado (χ^2) para variáveis paramétricas e não paramétricas. A razão de chance e tamanho de efeito padronizado [TEP (66)] foram calculados para as variáveis categóricas e contínuas, respectivamente. Análise de regressão logística múltipla foi usada para isolar os possíveis fatores de associação para RD avançada (variável dependente) para controlar o efeito de potenciais fatores de confusão. As variáveis independentes foram escolhidas de acordo com sua significância na análise univariada ou por sua importância biológica. Os resultados foram descritos como média e desvio padrão para as variáveis com distribuição normal, mediana (variação) para as variáveis com distribuição não normal, ou porcentagem de pacientes com a característica em estudo (número de pacientes com a característica/número de pacientes avaliados). O nível de significância adotado foi de 0,05, sendo utilizado o programa estatístico SPSS “Statistical Package for Social Sciences- Professional Statistics TM” 9.0.

Resultados:

Foram avaliados 240 pacientes com DM tipo 2 com idade de $60,6 \pm 8,4$ anos (36-86 anos), duração conhecida de DM de $14,4 \pm 8,4$ anos (1-51 anos), IMC de $28,6 \pm 4,9$ kg/m², 46,7% do sexo masculino e 85,4% definiram-se como brancos. Foram considerados fumantes 20,9% e hipertensos 70,8% dos pacientes, sendo os níveis pressóricos médios de $146 \pm 24 / 85 \pm 12$ mmHg. Em 56,1% (97/173) dos pacientes havia história de uso de medicações anti-hipertensivas e 34% (81/238) dos pacientes vinham em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA). Nefropatia diabética foi diagnosticada em 110 pacientes. Destes pacientes, 46 eram portadores de microalbuminúria, 36 de macroalbuminúria e 28 estavam em tratamento dialítico. A frequência do uso de insulina, associada ou não a agentes orais para tratamento do DM foi de 44,6%. Os valores de glicemia de jejum foram 172 ± 68 mg/dl, de glicohemoglobina $6,5 \pm 1,2$ %, de triglicerídeos 151 mg/dl (20-1022 mg/dl) e de colesterol total, HDL e LDL de 218 ± 48 , 44 ± 12 e 138 ± 39 mg/dl, respectivamente.

RD avançada esteve presente em 67 pacientes (27,9%): 13 tinham formas graves de RD e 54 tinham RD proliferativa. Cento e setenta e três pacientes não tinham RD avançada: 125 não apresentavam RD, 39 tinham RD duvidosa ou leve e 9 tinham RD não proliferativa moderada.

As características clínicas avaliadas nos dois grupos de pacientes estão expressas na Tabela 1. Os pacientes com RD avançada apresentaram maior duração conhecida de DM, menor IMC, além de uso de insulina e de nefropatia diabética mais freqüente quando comparados com os pacientes sem formas avançadas de RD. A proporção dos diferentes estágios da nefropatia diabética está apresentada na Figura 1. Ocorreu uma tendência positiva para as fases de maior comprometimento renal pelo DM nos pacientes com RD avançada (χ^2 P “for trend” P<0,001). Pacientes com RD avançada apresentaram uma maior proporção de síndrome metabólica. Não

houve diferença quanto à proporção de sexo, etnia, tabagismo, HAS, valores pressóricos, uso de inibidores da ECA e presença de cardiopatia isquêmica entre os 2 grupos.

Na avaliação laboratorial, os pacientes com RD avançada tiveram valores de creatinina sérica e de albuminúria mais elevados do que os pacientes sem RD avançada. O controle glicêmico e o perfil lipídico não foram diferentes entre os 2 grupos, como demonstrado na Tabela 2.

O cálculo do tamanho da associação entre a presença de RD avançada e creatinina sérica e presença de RD avançada e albuminúria demonstraram um tamanho de efeito padronizado moderado (TEP=0,9) para ambas as variáveis e pequeno em relação ao IMC (TEP=0,3). A razão de chance (OR) para presença de RD avançada associada a nefropatia diabética foi grande (OR=8,4; IC95%: 4,2-17,1; P<0,000) e para a associação com o uso de insulina, moderada (OR=4,5; IC95%: 2,4-8,3; P<0,000).

As avaliações dos genótipos do polimorfismo do ENNP1 foram realizadas em 204 pacientes, sendo observados os seguintes genótipos: KK, 116 pacientes (56,9%); KQ, 72 pacientes (35,3%) e QQ, 16 pacientes (7,8%). A frequência do alelo K foi 0,75 e do alelo Q 0,25. O polimorfismo FABP2 foi analisado em 209 pacientes e foram observados os seguintes genótipos: AA, 120 pacientes (57,4%); AT, 80 pacientes (38,3%) e TT, 9 pacientes (4,3%). A frequência do alelo A foi de 0,76 e do alelo T, 0,24. A distribuição dos genótipos esteve de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg (P>0,05) para ambos os polimorfismos avaliados.

Na Tabela 3 estão descritas as proporções dos genótipos dos polimorfismos do ENNP1 e FABP2 de acordo com a presença dos alelos Q e T, respectivamente. Não foi observada qualquer diferença nas proporções destes genótipos entre os pacientes com e sem RD avançada.

A análise de regressão logística múltipla demonstrou que a presença de nefropatia diabética e o uso de insulina foram os fatores significativamente e independentemente associados à RD avançada, ajustados para a duração conhecida de DM, presença de HAS, glicohemoglobina e IMC

(Tabela 4). A inclusão de sexo no modelo de regressão não modificou os resultados. Quando, na mesma análise, foram incluídos somente os pacientes com mais do que 10 anos de duração de DM (n=147), a presença de nefropatia diabética (OR=5,30; IC95%: 2,27-12,42; P=0,0001) e o uso de insulina (OR=4,70; IC95%: 1,95-11,37; P=0,0006) permaneceram significativos no modelo de regressão.

Com o objetivo de verificar a associação entre microalbuminúria e RD avançada foram excluídos da análise os pacientes macroalbuminúricos e em diálise (Tabela 5). Foram incluídos 46 pacientes microalbuminúricos [EUA=60,3(21,79-198,73) $\mu\text{g}/\text{min}$] e 117 normoalbuminúricos [EUA=5,97(1,46-19,74) $\mu\text{g}/\text{min}$]. A análise de regressão logística múltipla demonstrou que a microalbuminúria, assim como o uso de insulina, duração do DM e glicohemoglobina foram os fatores independentes significativamente associados à presença de RD avançada.

Discussão:

Neste estudo a presença de nefropatia diabética e uso de insulina foram os fatores associados à presença de formas avançadas de RD, ajustados para o tempo de duração de DM, controle glicêmico e HAS. Esta associação foi observada já na fase de microalbuminúria. Por outro lado, RD avançada não esteve associada à presença dos alelos Q e T dos polimorfismos ENNP1 e FABP2, respectivamente.

Embora a associação de formas graves de RD com macroalbuminúria (proteinúria) em pacientes portadores de DM tipo 2 esteja bem estabelecida (12, 21-29, 67), a relação em fases precoces de nefropatia diabética, ainda no estágio de microalbuminúria, ainda é controversa. Alguns autores reportam associação positiva (25, 29, 33, 34, 35), enquanto em outros isto não foi observado (11, 12, 23, 32, 36). Estes últimos estudos incluíram pacientes que não usavam drogas anti-hipertensivas, apenas não fumantes ou mais jovens (11), com menor duração de DM (23, 36) e com pior controle metabólico (23). Nestes aspectos aqueles pacientes diferiram dos do presente estudo, que provavelmente são mais representativos dos pacientes com DM tipo 2 com formas avançadas de RD. Além disso, em alguns destes estudos pacientes com qualquer grau de RD foram analisados conjuntamente (11, 36). A associação entre estágios avançados de RD e microalbuminúria observada no presente estudo pode representar um estado de disfunção microvascular generalizada (68), ou ainda que a microalbuminúria e a RD podem compartilhar determinantes em comum. Na verdade, duração do DM, controle metabólico e pressórico, são fatores de risco bem conhecidos tanto para RD como para nefropatia diabética (4, 9, 13, 28, 46, 69). No presente estudo foi observado que a duração do DM e a glicohemoglobina, além da microalbuminúria, foram também significativamente associadas com RD avançada.

Na população estudada o uso de insulina associado à RD avançada é um achado importante. O uso de insulina já foi descrito como fator de risco para RD (7, 12, 25, 28, 70-71). Além disso, em

pacientes com DM tipo 2 usuários de insulina, maiores doses de insulina estão associadas à RD (22). Pacientes portadores de DM tipo 2 usuários de insulina geralmente apresentam um declínio significativo da função das células beta, onde o controle glicêmico é mais difícil de ser obtido (72). Mau controle metabólico obtido por agentes orais é geralmente a principal razão para introduzir tratamento com insulina. Não parece provável que a insulina *per se* tenha efeito deletério sobre o desenvolvimento da RD, uma vez que os estudos Kumamoto (73) e UKPDS (74) demonstraram que o controle glicêmico intensivo obtido com insulina esteve associado a menor desenvolvimento de RD. Portanto, um mau controle metabólico anterior ao uso desta pode ser a principal causa da associação entre RD e uso de insulina nesta amostra de pacientes portadores de DM tipo 2.

De fato, o controle glicêmico avaliado pela glicohemoglobina constituiu neste estudo um fator independente associado às formas avançadas de RD, em especial nos pacientes microalbuminúricos. Já na análise realizada com a inclusão de pacientes macroalbuminúricos ou em diálise esta associação não foi demonstrada. Esta observação pode ser justificada pela possibilidade de que em pacientes nesta fase de comprometimento renal a influência do controle glicêmico sobre a RD seja menos importante. Em estudos onde o controle glicêmico foi um fator de risco para RD, a porcentagem de pacientes portadores de proteinúria ou de albuminúria elevada foi muito menor do que a dos pacientes do presente estudo (~ 7,8 a 14%) (13, 67).

A falta de associação com HAS no presente estudo entra em acordo com a observação do UKPDS (13), onde em pacientes que já apresentavam RD no início do estudo, a progressão da retinopatia não esteve relacionada com os valores pressóricos.

No tocante aos fatores genéticos, não foi observada associação dos polimorfismos K121Q do gene ENNP1 e A54T do gene FABP2 com a presença de formas avançadas de RD. Em pacientes portadores de DM tipo 1, outros estudos também não reportaram associação do polimorfismo do gene ENNP1 com RD (47, 48), e na literatura revisada, nenhum estudo prévio analisou a presença

deste polimorfismo em pacientes portadores de DM tipo 2 com RD. O polimorfismo A54T do gene FABP2 também não esteve associado à RD nesta amostra de pacientes portadores de DM tipo 2. Esta observação sugere que, embora resistência insulínica possa estar envolvida no desenvolvimento da RD, como sugerido no presente estudo, esta provavelmente não é mediada por estes genes.

No presente estudo, pacientes com formas graves de RD não proliferativa foram avaliadas junto com pacientes com RD proliferativa uma vez que ambos grupos de pacientes têm risco similar de perda visual e as recomendações de tratamento e seguimento nestes dois grupos são semelhantes (75).

Possíveis críticas a este estudo foram a inclusão de pacientes de um centro de referência terciário, favorecendo um vício de seleção com pacientes com formas mais graves de DM. Entretanto, provavelmente isto não aconteceu já que a proporção de pacientes com microalbuminúria no presente estudo, aproximadamente 20%, foi similar a estudos populacionais (76).

Conclusão:

Em conclusão, pacientes com DM tipo 2 e formas avançadas de RD apresentam mais freqüentemente envolvimento renal pelo DM, inclusive no estágio de microalbuminúria, além da associação com uso de insulina, tempo de diabetes melito e controle glicêmico. Os polimorfismos dos genes ENNP1 e FABP2 não foram associados a formas avançadas de RD.

Todos os pacientes com DM 2 e RD avançada devem ser submetidos a uma avaliação renal que inclua a medida da albuminúria. Uma vez diagnosticada a presença de micro- ou macroalbuminúria, o uso de inibidores da ECA ou de bloqueadores do receptor da angiotensina II deve ser introduzido para o tratamento da nefropatia (64), com o possível benefício de uma redução da progressão da RD como descrito para pacientes com DM tipo 1 (77). Também os pacientes microalbuminúricos, independente do grau de RD, deveriam ser submetidos à avaliação oftalmológica mais rigorosa, com o objetivo do diagnóstico e intervenção precoce de formas mais avançadas de RD.

Tabela 1: Características clínicas dos pacientes com DM tipo 2.

	Com RD avançada (n=67)	Sem RD avançada (n=173)	P
Sexo (masculino)	52,2% (37/67)	43,4% (75/173)	0,098
Etnia (brancos)	80,6% (50/62)	86,6% (148/171)	0,363
Duração de DM (anos)	18,1 ± 8,1	12,9 ± 8,2	< 0,001
Idade (anos)	60,0 ± 8,5	60,8 ± 9,6	0,546
IMC (kg/m ²)	27,5 ± 4,2	29,0 ± 5,1	0,019
Hipertensão (sim)	79,1% (53/ 67)	67,6% (117/173)	0,079
Cardiopatia isquêmica (sim)	57,9% (33/57)	54,2% (77/142)	0,638
Uso inibidores ECA (sim)	37,9% (25/66)	32,6% (56/172)	0,478
PAS (mmHg)	150 ± 22,7	144 ± 24,2	0,112
PAD (mmHg)	85 ± 10,4	85 ± 12,2	0,607
Uso insulina (sim)	70,8% (46/65)	35,3% (61/173)	< 0,001
Tabagismo (sim)	15,95% (10/63)	23,0% (35/152)	0,241
Nefropatia (sim)	81,8%(54/66)	34,8% (56/161)	< 0,001
Normo-/ Micro-/ Macro- / Diálise	12/ 15/ 19/ 20	105/ 31/ 17/ 8	< 0,001
Síndrome Metabólica (sim)	88,1% (59/67)	64,1% (109/170)	< 0,001

Os dados estão expressos como média ± DP ou como n^o de pacientes com a característica avaliada / n^o total de pacientes avaliados. IMC=índice de massa corporal; PAS=pressão arterial sistólica; PAD=pressão arterial diastólica.

Tabela 2: Características laboratoriais dos pacientes com DM tipo 2.

	Com RD avançada (n=67)	Sem RD avançada (n=173)	P
Glicose de jejum (mg/dL)	167 ± 72	175 ± 66	0,461
Glicohemoglobina (%)	6,8 ± 1,9	6,5 ± 1,8	0,282
Colesterol total (mg/dL)	224 ± 60	216 ± 42	0,289
Colesterol HDL (mg/dL)	43 ± 13	44 ± 11	0,358
Colesterol LDL (mg/dL)	140 ± 43	138 ± 38	0,713
Triglicerídeos (mg/dL)	159 (56-1022)	145 (20-797)	0,227
Creatinina (mg/dL)	1,4 (0,6-13,6)	0,8 (0,5-17,9)	< 0,001
Albuminúria (µg/min)	135,0 (3,6-1816,0)	11,3 (1,5-5105,0)	< 0,001

Os dados estão expressos como média ± DP ou como mediana (variação).

Tabela 3: Distribuição dos genótipos dos polimorfismos do ENNP1 e FABP2, em pacientes com DM tipo 2.

Genótipos	Com RD avançada	Sem RD avançada	P
ENNP1	(n=58)	(n=146)	
KK	32 (55,2%)	84 (57,5%)	0,759
KQ/QQ	26 (44,8%)	62 (42,5%)	
FABP2	(n=61)	(n=148)	
AA	39 (63,9%)	81 (54,7%)	0,281
AT/TT	22 (36,1%)	67 (45,3%)	

Tabela 4: Regressão logística múltipla. Variável dependente: presença de RD avançada (pacientes com DM tipo 2 normo-, micro- e macroalbuminúricos).

Variáveis independentes	OR	IC (95%)	P
Nefropatia (sim)	6,59	3,01 – 14,41	< 0,001
Uso de insulina (sim)	3,47	1,60 – 7,50	0,002
Duração de DM (anos)	1,04	1,00 – 1,09	0,055
Hipertensão Arterial (sim)	0,82	0,33 – 2,02	0,660
Glicohemoglobina (%)	1,08	0,89 – 1,31	0,409
Índice de massa corporal (kg/m ²)	0,94	0,87 – 1,02	0,119

Tabela 5: Regressão logística múltipla. Variável dependente: presença de RD avançada (pacientes com DM tipo 2 normo- e microalbuminúricos).

Variáveis independentes	OR	IC (95%)	P
Microalbuminúria (sim)	3,80	1,38 - 10,47	0,010
Uso insulina (sim)	5,04	1,67 - 15,21	0,004
Duração de DM (anos)	1,06	1,00 - 1,13	0,048
Hipertensão Arterial (sim)	0,73	0,24 - 2,28	0,590
Glicohemoglobina (%)	1,35	1,02 - 1,79	0,034
Índice de massa corporal (kg/m ²)	0,91	0,82 - 1,02	0,124

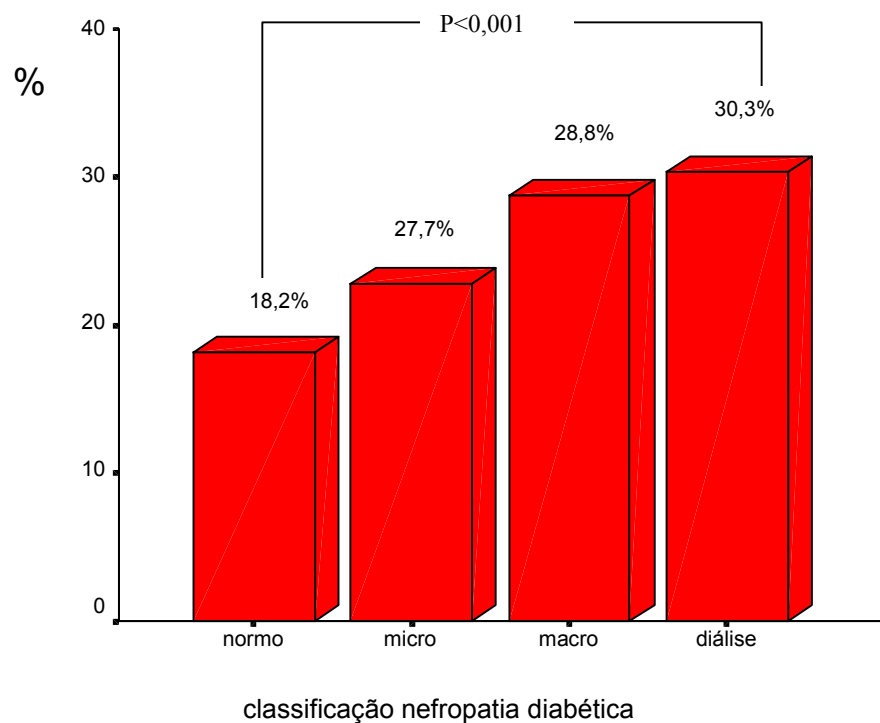


Figura 1: Frequência de normo-, micro-, macroalbuminúria e de diálise em pacientes com DM tipo 2 com retinopatia diabética avançada.

Referências Bibliográficas:

1. AAO. In: Basic and Clinical Science Course section 12: Retina and Vitreous, p. 70-86, 1999-2000
2. Miki E, Lu M, Lee ET, Keen H, Bennett PH, Russel D, and the WHO multinational study group: The incidence of visual impairment and its determinants in the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. *Diabetologia* 2001, 44(Suppl2):S31-S36.
3. Klein R, Moss SE, Klein BEK, DeMets DL: Relation of ocular and systemic factors to survival in diabetes. *Arch Intern Med* 1989, 149: 226-272.
4. Klein R: Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Care* 1995, 18(2):258-268.
5. Sparrow JM, McLeod BK, Smith TDW, Birch MK, Rosenthal AR: The prevalence of diabetic retinopathy and maculopathy and their risk factors in the non-insulin-treated diabetic patients of an English town. *Eye* 1993, 7:158-163.
6. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Cruickshanks KJ: The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *Ophthalmology* 1998, 105(10):1801-1815.
7. Klein R, Klein BRK, Moss SE, Cruickshanks KJ: Relationship of hyperglycemia to the long-term incidence and progression of diabetic retinopathy. *Arch Intern Med* 1994, 154:2169-2178.
8. Kullberg CE, Arnqvist HJ. Good blood glucose control characterizes patients without retinopathy after long diabetes duration. *Diabetic Medicine* 1994, 12:314-320.
9. Stratton IM, Adler AI, Neil AW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2001, 323:411-412.

10. Janka HU, Warram JH, Rand LI, Krolewski, AS: Risk factors for progression of background retinopathy in long-standing IDDM. *Diabetes* 1989, 39: 460-464.
11. Cignarelli M, Cicco ML, Damato A, Paternostro A, Pagliarini S, Santoro S, Cardia L, De Pergola G, Giorgino R: High systolic blood pressure increases prevalence and severity of retinopathy in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1992, 15(8):1002-1008.
12. Wan Nazaimon WM, Letchuman R, Norani N, Ropilah AR, Zainal M, Ismail IS, Wan Mohamad WB, Faridah I, Singaraveloo M, Sheriff IH, Khalid BAK: Systolic hypertension and duration of diabetes mellitus are important determinants of retinopathy and microalbuminuria in young diabetics. *Diabetes Clin Pract* 1999, 46(3):213-21.
13. Adler AI, Stratton IM, Neil HA, et al. Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. *Br Med J* 2000, 321:412-9.
14. Cohen RA, Hennekens CH, Christen WG, Krolewski A, Nathan DM, Peterson MJ, LaMotte F, Manson JE: Determinants of retinopathy progression in type 1 diabetes mellitus. *Am J Med* 1999, 107(1):45-51.
15. Klein BEK, Moss SE, Klein R: Effect of pregnancy on progression of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1990, 13(1):34-40.
16. DCCT: Effect of pregnancy on microvascular complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care* 2000, 23:1084-1091.
17. Goldstein DE, Blinder KJ, Ide CH, Wilson RJ, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Eddy M, Hewett JE, Anderson SK: Glycemic control and development of retinopathy in youth-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Ophthalmology* 1993, 100:1125-1132.

18. Klein BEK, Moss SE, Klein R, Surawicz TS: The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy XIII. Relationship of serum cholesterol to retinopathy and hard exudate. *Ophthalmology* 1991, 98(8):1261-1265.
19. Chew EY, Klein ML, Ferris III FL, Remaley MS, Murphy RP, Chantry K, Hoogwerf BJ, Miller D: Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy. ETDRS report 22. *Arch Ophthalmol* 1996, 114:1079-1084.
20. Cruickshanks KJ, Moss SE, Klein BE. Physical activity and proliferative retinopathy in people diagnosed with diabetes before age 30 yr. *Diabetes Care* 1992, 15(10): 1267-72.
21. Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, Wilson DM, O'Brien PC, Melton LJ. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: The Rochester diabetic neuropathy study. *Neurology* 1993, 43:817-824.
22. Schmechel H, Heinrich U: Retinopathy and nephropathy in 772 insulin-treated diabetic patients in relation to the type of diabetes. *Diabete & Metabolisme* 1993, 19(1):138-142.
23. Savage S, Estacio RO, Jeffeers B, Schrier RW: Urinary albumin excretion as a predictor of diabetic retinopathy, neuropathy, and cardiovascular disease in NIDDM. *Diabetes Care* 1996, 19(11):1243-1248.
24. Gross JL, Stein ACR, Beck MO, Fuchs SC, Silveiro SP, Azevedo MJ, Friedman R. Risk factors for development of proteinuria by type II (non-insulin dependent) diabetic patients. *Braz J Med Biol Res* 1993, 26:1269-78.
25. Wirta O, Pasternack A, Mustonen J, Laippala P, Lähde Y: Retinopathy is independently related to microalbuminuria in type 2 diabetes mellitus. *Clin Nephrol* 1999, 51(6):329-334.
26. El-Asrar AM, Al-Rubeaan KA, Al-Amro SA, Moharram OA, Kangave D: Retinopathy as a predictor of other diabetic complications. *Int Ophthalmol* 2001, 24(1):1-11.

27. Olivarius NF, Andreasen AH, Keiding N, Mogensen CE: Epidemiology of renal involvement in newly-diagnosed middle-aged and elderly diabetic patients. Cross-sectional data from the population-based study "Diabetic Care in General Practice", Denmark. *Diabetologia* 1993, 36:1007-1016.
28. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis ME, DeMets DL: The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. III. Prevalence and risk factors of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol* 1984, 102:527-532.
29. Gall M-A, Hougaard P, Borch-Johnsen K, Parving H-H: Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: prospective, observational study. *BMJ* 1997, 314:783-788.
30. Mogensen CE, Vigstrup J, Ehlers N: Microalbuminuria predicts proliferative diabetic retinopathy [letter]. *Lancet* 1983 1:1512-13.
31. Parving H, Hommel E, Mathiesen E, Skott P, Edsberg B, Bahnsen M, Lauritzen M, Hougaard P, Lauritzen E: Prevalence of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and neuropathy in patients with insulin dependent diabetes. *BMJ* 1988, 296:156-160.
32. Cruickshanks KJ, Ritter LL, Klein R, Moss SE: The association of microalbuminuria with diabetic retinopathy. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology* 1993, 100:862-867.
33. Lunetta M, Infantone L, Calogero AE, Infantone E: Increased urinary albumin excretion is a marker of risk for retinopathy and coronary heart disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1998, 40: 45-51.
34. Park JY, Kim HK, Chung YE, Kim SW, Hong SK, Lee KU: Incidence and determinants of microalbuminuria in Koreans with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1998, 21(4):530-534.

35. Weijers RNM, Merode GG: Retinopathy and microalbuminuria in type 2 diabetes: determinants and time-dependency of the association. *European J Int Medicine* 2001, 28-34.
36. Voutilainen-Kaunisto RM, Teräsvirta ME, Uusitupa MIJ, Niskanen LK: Occurrence and predictors of retinopathy and visual acuity in type 2 diabetic patients and control subjects 10-year follow-up from the diagnosis. *J Diab Compl* 2001, 15:24-33.
37. Awata T, Inoue K, Kurihara S, Ohkubo T, Watanabe M, Inukai K, Inoue I, Katayama S: A common polymorphism in the 5'-intranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 2001, 51:1635-1639.
38. Matsubara Y, Murata M, Maruyama T, Handa M, Yagamata N, Watanabe G, Saruta T, Ikeda Y: Association between diabetic retinopathy and genetic variations in $\alpha 2\beta 1$ integrin, a platelet receptor for collagen. *Blood* 2000, 95(5):1560-64.
39. Hudson BI, Stickland MH, Futers S, Grant PJ: Effects of novel Polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes* 2001, 50:1505-11.
40. Fujisawa T, Ikegami H, Kawagucchi Y, Yamato E, Nakagawa Y, Shen G, Fukuda M, Ogihara T: Length rather than a specific allele of dinucleotide repeat in the 5' upstream region of the aldose reductase gene is associated with diabetic retinopathy. *Diabetic Medicine* 1999, 16:1044-47.
41. Demaine A, Cross D, Millward A: Polymorphisms of the aldose reductase gene and susceptibility to retinopathy in type 1 diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000, 41(13):4064-68.
42. WHO. World Health Organization. Definition and classification of diabetes mellitus and its complications. Geneva, World Health Organization, 1999

43. Isomaa B, Henricsson M, Almgren P, Tuomi T, Taskinen M-R, Groop L: The metabolic syndrome influences the risk of chronic complications in patients with type II diabetes. *Diabetologia* 2001, 44: 1148-1154.
44. Susuki M, Kanazawa A, Shiba M, Kojima H, Harano Y: Insulin resistance in diabetic microangiopathies. *J Diabetes Complications* 2000, 14(1):40-45.
45. Bollen M, Gijssbers R, Ceulemans H, Stalmans W, Stefan C: Nucleotide pyrophosphatases/phosphodiesterases on the move. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2000, 35(6):393-431.
46. Pugh JA. The epidemiology of diabetic nephropathy. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1989, 5: 531-546.
47. De Cosmo S, Argiolas A, Miscio G, Thomas S, Piras GP, Trevisan R, Perin PC, Bacci S, Zucaro L, Margaglione M, Frittitta L, Pizzuti A, Tassi V, Viberti GC, Trischitta V: A PC-1 amino acid variant (K121Q) is associated with faster progression of renal disease in patients with type 1 diabetes and albuminuria. *Diabetes* 2000, 49:521-24.
48. Tarnow L, Grarup N, Hansen T, Parving H, Pedersen O: Diabetic microvascular complications in the GLUT-1 and PC-1 genes regulating glucose metabolism in caucasian type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001, 16:1653-1656.
49. Azevedo MJ, Dalmáz CA, Caramori ML, Pecis M, Esteves JF, Maia AL, Gross JL: ACE and PC-1 gene polymorphisms in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: a 10-year prospective study. *J Diabetes Complications* 2002, 16:1-8.
50. Chiu KC, Chuang LM, Yoon C. The A54T polymorphism at the intestinal fatty acid binding protein 2 is associated with insulin resistance in glucose tolerant caucasians. *BMC Genetics* 2001, 2:7.

51. Baier LJ, Sacchettini, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, Mochizuki H, Bennett PH, Bogardus C, Prochazka M: An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding, increased fat oxidation, and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995, 95:1281-1287.
52. Ito K, Nakatani K, Fujii M, Katsuki A, Tsuchihani K, Murata K, Goto H, Yano Y, Gabazza EC, Sumida Y, Adachi Y. Codon 54 polymorphism of the fatty acid binding protein gene and insulin resistance in the Japanese population. *Diabetic Medicine* 1999, 16:119-124.
53. Lei HH, Coresh J, Shuldiner AR, Boerwinkle E, Brancaati FL. Variants of the insulin receptor substrate-1 and fatty acid binding protein 2 genes on the risk of type 2 diabetes, obesity, and hiperinsulinemia in african-americans. *Diabetes* 1999, 48:1868-1872.
54. DRS. Report 7. A modification of the Airlie House classification of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981, 21(1): 210-226.
55. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group – ETDRS. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991, 98: 823-833.
56. The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med* 1997, 157: 2413-2446.
57. Rose G, Blackburn H, Gillum RF, Prineas RJ. In: *Cardiovascular Methods*. WHO Monograph Series 2nd ed. WHO, 1982: P123-129.
58. Fabiny DL, Ertingshausen, G: Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the Centrifichem. *Clin Chem* 1971, 17: 696-704.
59. Shaffer R et al: A multilaboratory-evaluated reference method for the determination of serum sodium: *Clin Chem* 1981, 27: 1824-28.

60. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972, 18: 499-502.
61. Paloheimo L, Pajari-Backas M, Pitkanen M, et al: Evaluation of an immunoturbidimetric microalbuminuria assay. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987, 25:889-92.
62. Zelmanovitz T, Gross JL, Oliveira JR, Paggi A, Tatsch M, Azevedo, MJ. The Receiver Operating Characteristics Curve in the Evaluation of a Random Urine Specimen as a Screening Test for Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care* 1997, 20(4): 516-519.
63. Gross JL, Zelmanovitz T, Oliveira J, Azevedo MJ. Screening for diabetic nephropathy: Is measurement of urinary albumin-to-creatinine ratio worthwhile? *Diabetes Care* 1999, 22(9):1599-1600.
64. ADA. Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care* 2002, 25 (Suppl1) s85-s89.
65. Cunha-Vaz J. Lowering the risk of visual impairment and blindness. *Diabetic Medicine* 1998, 15(Suppl4):s47-s50.
66. Hopkins WG: A new view of statistics. Disponível em: <http://www.sportsci.org/resource/stats/effectmag.htm>. Acessado em outubro de 2002.
67. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Cruickshanks K. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. XIV. Ten-year incidence and progression of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1994, 112:1217-28.
68. Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Boch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A: Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989, 32:219-226.
69. Stratton IM, Kohner EM, Aldington, SJ, Turner RC, Holman RR, Manley SE, et al. UKPDS 50: risk factors for incidence and progression of retinopathy in type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia* 2001, 44:156-163.

70. Keen H, Lee ET, Russel D, Miki E, Bennett PH, Lu M, and the WHO multinational study group: The appearance of retinopathy and progression to proliferative retinopathy: the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. *Diabetologia* 2001, 44(suppl2):S22-230.
71. Chen M, Kao C, Chang C, Wu T, Fu C, Chen C, Tai T: Prevalence and risk factors of diabetic retinopathy among noninsulin-dependent diabetic subjects. *Am J Ophthalmol* 1992, 114:723-730.
72. U.K. Prospective Diabetes Study Group (UKPDS). Prospective Diabetes Study 16. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: A Progressive Disease. *Diabetes* 1995, 44: 1249-1258.
73. Shichiri M, Kishikawa H, Ohkubo Y, Wake N: Long-term results of the Kumamoto study on optimal diabetes control in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2000, 23(suppl. 2):B21-B29.
74. UKPDS. 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, 352:837-853.
75. Aiello LP, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL, Klein R: Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1998, 21(1)143-156.
76. Harris MI: Racial and ethnic differences in health care access and health outcomes for adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001, 24: 454-459.
77. Chaturvedi N, Sjolie AK, Stephanson JM, et al. Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normotensive people with type 1 diabetes. *Lancet* 1998, 351:28-31.

ANEXO 1

AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA:

Data						
Acuidade visual corrigida	OD					
	OE					
Biomicroscopia segmento anterior ^a	OD					
	OE					
Equilíbrio muscular ^b						
Tonometria	OD					
	OE					
Biomicroscopia segmento posterior ^c	OD					
	OE					
Oftalmoscopia direta/indireta ^c	OD					
	OE					
Angiografia ^d	OD					
	OE					
Fotocoagulação a laser ^e	OD					
	OE					
Classificação RD ^f	OD					
	OE					
Examinador ^g						
Observações						

a 1 = normal
 2 = catarata nuclear
 3 = catarata SCP
 4 = catarata total
 5 = afacia
 6 = pseudofacia
 7 = rubeosis iridis

6= retinopatia diabética proliferativa (RDP)

b 1 = normal
 2= paralisia III nervo (D/E)
 3= paralisia IV nervo (D/E)
 4= paralisia VI nervo (D/E)

c/d 1 = normal
 2 = microaneurismas
 3 = exudatos duros
 4 = hemorragias intra-retinianas
 5 = micro-hemorragias
 6 = IRMAs
 7 = exudatos algodinosos
 8 = veias em rosário e/ou alças venosas
 9 = oclusão da veia central da retina
 10= oclusão de ramo venoso
 11= neovasos
 12= hemorragia intravítrea
 13= descolamento de retina tracional
 14= hemorragia pré-retiniana
 15= edema macular

e 1 = ausente
 2 = focal
 3 = panfotocoagulação incompleta
 4 = panfotocoagulação completa
 5 = grid

g 1= médico clínico
 2=oftalmologista

f 1= normal
 2= retinopatia não proliferativa (RDNP) leve
 3= RDNP moderada
 5= RDNP grave

