



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

ULUCANLAR GÖZ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

GÖZ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

Başhekim: Prof. Dr. Mustafa İlker TOKER

**DIYABETİK RETİNOPATİDE VİTREUSTA VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, STROMAL HÜCRE
KAYNAKLI FAKTÖR-1 α , ANJİYOPOİETİN BENZERİ
PROTEİN 2 SEVİYELERİ**

Dr. Ali KELEŞ

ANKARA - 2018



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ULUCANLAR GÖZ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
GÖZ HASTALIKLARI KLİNİĞİ
Başhekim: Prof. Dr. Mustafa İlker TOKER

**DİYABETİK RETİNOPATİDE VİTREUSTA VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, STROMAL HÜCRE
KAYNAKLI FAKTÖR-1 α , ANJİYOPOİETİN BENZERİ
PROTEİN 2 SEVİYELERİ**

Dr. Ali KELEŞ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Yasemin Özdamar EROL

ANKARA - 2018

TEŞEKKÜR

İhtisas eğitimim süresince klinik bilgi ve deneyimleri ile eğitimimde rehberlik eden hocalarım Prof. Dr. Mustafa İlker Toker ve Prof. Dr. Pelin Yılmazbaş'a, gerek teorik gerekse cerrahi alanda yetişmemde çok önemli katkıları bulunan eğitim sorumlumuz Prof. Dr. Ufuk Elgin'e, bilgi-birikim desteğini her an devam ettiren tez danışmanım Doç. Dr. Yasemin Özdamar Erol'a, eğitimim süresince iyi bir göz hekimi olarak yetişmem için gayret gösteren, her türlü imkanı sağlayan, bilgi ve tecrübelerini aktarmaktan kaçınmayan tüm eğitim görevlisi hocalarıma, değerli uzman hekimlerimize teşekkür ve saygılarımı sunarım. Klinik eğitimim boyunca birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarımdan her birine, kliniğimizde çalışan hemşirelere ve hastane personellerine, hayatımın her aşamasında maddi-manevi desteğini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

DR. ALİ KELEŞ

ANKARA-2018

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	3
İÇİNDEKİLER	4
KISALTMALAR	5
TABLO ve ŞEKİLLER LİSTESİ	6
ÖZET	7
ABSTRACT	8
1. GİRİŞ ve AMAÇ	9
2. GENEL BİLGİLER	11
2.1. Diabetes Mellitus ve Diyabetik Retinopati.....	11
2.1.1. Diyabetik Retinopati Patogenezi	12
2.1.1.a. Diyabetik Mikroanjiopatide Biyokimyasal Mekanizmalar	12
2.1.1.b. Diyabetik Mikroanjiyopatide Patofizyolojik Mekanizmalar	12
2.1.2. Diyabetik Retinopati İçin Risk Faktörleri	13
2.1.3. Diyabetik Retinopati Sınıflaması	14
2.2. Vitreus – Retina	15
2.2.1. Vitreus Anatomisi ve Fizyolojisi	15
2.2.2. Retina Anatomisi ve Fizyolojisi	16
2.3. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	17
2.4. Stromal Hücre Kaynaklı Faktör-1 α (SDF-1 α)	18
2.5. Anjiyopoietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2)	18
3. MATERYEL ve METOD	19
3.1. Demografik Yapı	19
3.2. Vitreus Örneği Alınma Yöntemi	20
3.3. Enzim-linked İmmunsorbent Assay (ELISA) Kitlerinin İnceleme Yöntemi	20
3.4. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇLAR.....	39
7. KAYNAKLAR.....	40

KISALTMALAR

1. **VEGF:** (Vascular endothelial growth factor) Vasküler endotelyal büyüme faktörü,
2. **SDF-1 α :** (Stromal cell-derived factor-1 α) Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α ,
3. **ANGPLT2:** (Angiopoietin-like protein 2) Anjiyopietin Benzeri Protein 2,
4. **DM:** Diyabetes mellitus,
5. **DR:** Diyabetik retinopati,
6. **PDR:** Proliferatif diyabetik retinopati,
7. **NPDR:** Non Proliferatif diyabetik retinopati,
8. **MD:** Makula deliği,
9. **VİH:** Vitreus içi hemoraji,
10. **TM:** Traksiyonel membran,
11. **HbA1c:** Glikolize hemoglobin,
12. **TGF:** (Transforming growth factor) Transforme edici büyüme faktörü,
13. **HGF:** (Hepatocyte growth factor) Hepatosit büyüme faktörü,
14. **CTGF:** (Connective tissue growth factor) Bağ dokusu büyüme faktörü,
15. **IL-8:** İnterlökin-8,
16. **PEDF:** (Pigment epithelium derived factor) Pigment epitel derive faktör,
17. **TURDEP-II:** Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II,
18. **İRMA:** İntraretinal mikrovasküler anomaliler,
19. **DMÖ:** Diyabetik maküla ödemi,
20. **NVD:** (Neovascularization of the disc) Optik diskte neovaskülarizasyon,
21. **NVE:** (Neovascularization elsewhere) Retinanın başka herhangi bir yerinde neovaskülarizasyon,
22. **KMÖ:** Kistoid maküla ödemi,
23. **RPE:** Retina pigment epiteli,
24. **ILM:** İnternal limitan membran,
25. **CXCR4:** Kemokin reseptör tip 4,
26. **ELISA:** (Enzim-linked Immunosorbent Assay) Enzim bağlantılı immünosorbent assay
27. **OD:** Optik Dansite,
28. **Egr-1:** (Early growth response-1) Erken büyüme yanıt -1,
29. **FGF:** (Fibroblast growth factor) Fibroblast büyüme faktörü,
30. **ROP:** Prematüre retinopatisi

TABLO ve ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablo 4.1. Katılımcıların demografik ve klinik özellikleri

Tablo 4.2. Katılımcıların proliferatif diyabetik retinopati ve maküler delik gruplarında olmasına göre demografik ve klinik özellikleri

Tablo 4.3. Katılımcıların proliferatif diyabetik retinopati alt gruplarında olmasına veya maküler delik grubunda olmasına göre demografik ve klinik özellikleri

Tablo 4.4. Katılımcıların proliferatif diyabetik retinopati alt gruplarında olmasına veya maküler delik grubunda olmasına göre p değeri karşılaştırılması

Tablo 4.5. Makula deliği olan 10 hastanın vitreusunda çalışılan mediyatörler arasındaki korelasyonlar

Tablo 4.6. Proliferatif diyabetik retinopatili 32 hastanın vitreusunda çalışılan mediatörler ile DM süresi, İnsülin kullanım süresi ve HbA1c değeri arasındaki korelasyonlar

Şekil 4.1. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastaların alt gruplarıyla kontrol grubu arasında Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) düzeylerinin dağılımı

Şekil 4.2. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastaların alt gruplarıyla kontrol grubu arasında Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) düzeylerinin dağılımı

Şekil 4.3. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastaların alt gruplarıyla arasında Anjiyopoietin benzeri protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin dağılımı

Şekil 4.4. Makula deliği tanılı hastalarda (10 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) düzeylerinin ilişkisi

Şekil 4.5. Makula deliği tanılı hastalarda (10 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Anjiyopoietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi

Şekil 4.6. Makula deliği tanılı hastalarda (10 hasta) Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) ile Anjiyopoietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi

Şekil 4.7. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastalarda (32 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) düzeylerinin ilişkisi

Şekil 4.8. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastalarda (32 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Anjiyopoietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi

Şekil 4.9. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastalarda (32 hasta) Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) ile Anjiyopoietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi

ÖZET

Amaç: Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α), Anjiyopietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) mediyatörlerinin diyabetik retinopati (DR) anjiyogenezine katkısını saptamak ve seviyelerinin şiddeti ile DR'ye ait farklı klinik prezantasyonlar arasındaki ilişkiyi belirlemek.

Gereç ve Yöntem: Vaka-kontrol çalışmamıza, proliferatif diyabetik retinopatili (PDR) 32 hastanın 32 gözü araştırma grubu ve Diabetes mellitusu (DM) olmayan idyopatik makula deliği (MD) bulunan 10 hastanın 10 gözü kontrol grubu olmak üzere toplam 42 göz dahil edildi. PDR'li hastaların gözleri vitreus içi hemoraji (VİH), traksiyonel membran(TM) ve hem VİH hem de TM bulunan gözler (VİH+TM) olmak üzere üç alt gruba ayrıldı. PDR'nin alt grupları ile kontrol grubunda vitrektomi sırasında alınan vitreus örneklerinin VEGF, SDF-1, ANGPLT2 seviyeleri analiz edilerek karşılaştırıldı. Ayrıca vitreusta çalışılan mediatörler ile DM süresi, insülin kullanım süresi ve HbA1c düzeyi karşılaştırıldı.

Bulgular: Vitreus örneklerindeki VEGF, SDF-1 α , ANGPLT2 seviyeleri kontrol grubuna kıyasla PDR'li gözlerde daha yüksekti (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.002$ ve $p < 0.001$). VEGF, SDF-1 α ve ANGPLT2 konsantrasyonları kontrol grubuna göre sırasıyla 17.59, 1.32 ve 3.67 kat yüksekti. Yine PDR alt gruplarının VEGF, SDF-1 α , ANGPLT2 konsantrasyonları kontrol grubundan yüksekti ($p < 0.05$). Ancak SDF-1 α parametresinde kontrol grubuyla VİH grubu arasında fark bulunamadı ($p > 0.05$). PDR alt grupları arasında VEGF, SDF-1 α ve ANGPLT2 seviyesinde anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$). Hem PDR hem de MD grubunda yapılan analizde, VEGF ve SDF-1 α ile VEGF ve ANGPLT2 arasında korelasyon saptanmazken ($p > 0.05$), SDF-1 α ve ANGPLT2 arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlemlendi ($p < 0.05$). PDR'li hastaların vitreusunda çalışılan mediatörler ile DM süresi, İnsülin kullanım süresi ve HbA1c değeri arasında ilişki saptanmadı ($p > 0.05$).

Sonuç: Başta VEGF olmak üzere yüksek SDF-1 α ve ANGPLT2 düzeyleri, DR'de PDR'ye neden olan anjiyogenez ile ilişkili olabilir. PDR tedavisinde VEGF'in yanı sıra SDF-1 α ve özellikle ANGPLT2 yeni terapötik hedefler arasında yer alabilir. PDR hastalarının klinik prezantasyonunun TM veya VİH yönüne olması VEGF, SDF-1 α ve ANGPLT2'nin intravitreal seviyelerinin şiddeti ile ilişkili olmayabilir.

Anahtar Sözcükler: Diyabetik retinopati, Vitreus, Vasküler endotelyal büyüme faktörü, Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α , Anjiyopietin Benzeri Protein 2

ABSTRACT

Objective: To determine the contribution of Vascular endothelial growth factor (VEGF), Stromal cell derived factor-1 α (SDF-1 α), Angiopoietin-like protein 2 (ANGPLT2) mediators to diabetic retinopathy (DR) angiogenesis and to assess the relationship between the severity of DR and different clinical presentation of DR.

Material and Methods: A total of 42 eyes that 32 patients, including 32 eyes with proliferative diabetic retinopathy (PDR) and 10 patients, including 10 eyes with idiopathic macular hole (MH) without diabetes mellitus (DM) were included in the case-control study. Patients' eyes with PDR were divided into three subgroups: intravitreal hemorrhage (IVH), tractional membrane (TM), both IVH and TM (IVH + TM). VEGF, SDF-1, and ANGPLT2 levels of vitreous specimens taken during vitrectomy were analyzed and compared in subgroups of PDR and control group. Furthermore, duration of DM, duration of insulin use and HbA1c level were compared with mediators studied in vitreous.

Results: VEGF, SDF-1 α , and ANGPLT2 levels in vitreous specimens were higher in eyes with PDR than in control group ($p < 0.001$, $p = 0.002$ and $p < 0.001$, respectively). The concentration of VEGF, SDF-1 α and ANGPLT2 were more than respectively 17.59, 1.32 and 3.67 times higher than in control. Also, the concentrations of VEGF, SDF-1 α and ANGPLT2 in PDR subgroups were higher than control group ($p < 0.05$). However, no difference was found between the control group and the IVH group in SDF-1 α parameter ($p > 0.05$). There was no significant difference in VEGF, SDF-1 α and ANGPLT2 levels among PDR subgroups ($p > 0.05$). In the analysis performed on both PDR and MD group, no significant correlation was found between VEGF and SDF-1 α with VEGF and ANGPLT2 ($p > 0.05$), whereas there was a significant positive correlation between SDF-1 α and ANGPLT2 ($p < 0.05$). There was no correlation between mediators studied in the vitreous of patients with PDR and duration of DM, duration of insulin use and HbA1c value ($p > 0.05$).

Conclusion: High levels of SDF-1 α and ANGPLT2, particularly VEGF may be associated to the angiogenesis in DR that leads to PDR. In PDR treatment, VEGF as well as SDF-1 α and especially ANGPLT2 may be among the new therapeutic targets. The clinical presentation of PDR patients with TM or IVH may not be related to the severity of intravitreal levels of VEGF, SDF-1 α , and ANGPLT2.

Key Words: Diabetic retinopathy, Vitreous, Vascular endothelial growth factor, Stromal cell derived factor-1 α , Angiopoietin-like protein 2

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabetik retinopati (DR), diabetes mellitusun (DM) potansiyel olarak körleştirici bir mikrovasküler komplikasyonudur. Sanayileşmiş ülkelerdeki çalışma çağındaki nüfusta görülen körlüğün başlıca nedeni DR'dir.¹

Diyabetik retinopatide mikrovasküler değişiklikler, perisit ölümü, bazal membran kalınlaşması, vasküler işlev bozukluğu ve geçirgenlik gibi vasküler hücre apoptozu şeklinde ortaya çıkar. Bu değişiklikler kılcal damar sızıntısı-maküla ödemi ve damar oklüzyonuna yol açarak diyabetik retinopatinin nonproliferatif evresini oluşturur. Proliferatif diyabetik retinopati (PDR) büyüme faktörlerinin özellikle de vasküler endotelial büyüme faktörünün (Vascular endothelial growth factor-VEGF) uyarılmasıyla, kapiller oklüzyona sekonder gelişir. Proliferatif retinopati, anormal yeni damarların retinadan vitreusun veya irisın arka yüzeyine kadar büyümesi olarak tanımlanır.² Görme kaybı nedenleri diyabetik makülopati ve vitreus kanaması, traksiyonel retina dekolmanı, neovasküler glokom gibi PDR komplikasyonlarıdır.³

Sürekli hiperglisemi, nonproliferatif diyabetik retinopati (NPDR)⁴ gelişiminin başlıca uyarıcı olmasına rağmen retinal iskemi, PDR için ön koşuldur ve retinal neovaskülarizasyonu destekleyen anjiyojenik faktörlerin yukarı regülasyonuna neden olur.⁵

Anjiyogenez, endotel hücre proliferasyonunu, göçünü ve olgunlaşmasını içeren fizyolojik bir süreçtir.⁶ Anjiyogenez, aynı zamanda diyabetik retinopati, yaşa bağlı maküla dejenerasyonu ve ROP da dahil olmak üzere birçok patolojik sürecin patogenezinde merkezi bir rol oynar. Anjiyogenezin çok basamaklı süreci, pozitif ve negatif regülatörler arasındaki dinamik denge ile sıkı şekilde kontrol edilir. Anjiyogenezin pozitif regülatörleri, VEGF-A, fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast growth factor-FGF), anjiyopoietinler, transforme edici büyüme faktörü alfa ve beta (Transforming growth factor alpha and beta-TGF- α , TGF- β), hepatosit büyüme faktörü (Hepatocyte growth factor-HGF), bağ dokusu büyüme faktörü (Connective tissue growth factor-CTGF) ve interlekin-8 (IL-8) iken endojen negatif düzenleyiciler olarak trombospondin, anjiyostatin ve endostatin ve pigment epitel derive faktör (Pigment epithelium derived factor-PEDF) gibi regülatörler sayılabilir. Neovaskülarizasyon oksijen ve besin maddeleri için yerel talepleri karşılamak için yeterli

olduğunda anjiyojenik faktörler azaltılır ve / veya yerel inhibitör konsantrasyonları artar.⁷

Vasküler endotelyal büyüme faktörü dışındaki anjiyojenik faktörleri tanımlamaya ve bu faktörlerin PDR gelişimine katkı derecesini tespit etmeye ve retinal neovaskülarizasyon tedavisinde alternatif terapötik yaklaşımların gelişmesine ihtiyaç bulunmaktadır. PDR'li hastalarda anjiyojenik fenotipe doğrudan katkıda bulunan mediyatörlerin belirlenmesi gerekmektedir. Bizim bu çalışmayı yapmamızın amacı; VEGF, SDF-1 α ve ANGPT2 mediyatörlerinin DR anjiyogenezine katkısını saptamak ve seviyelerinin şiddeti ile PDR'ye ait farklı klinik prezantasyonlar arasındaki ilişkiyi tespit etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus ve Diyabetik Retinopati

Diabetes mellitus; multifaktöryel bir etiopatogeneze sahip, endojen insülin hormonunun yokluğu, yetersizliği veya dokulardaki direnç nedeniyle etkisinin azalmasına bağlı olarak gelişen, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında hiperglisemi, dislipidemi, glikozüri gibi bozukluklarla karakterize kronik, multisistemik bir metabolizma hastalığıdır.⁸

Diabetes mellitus vakalarının %80-90'ı Tip 2 DM'den (insüline bağımlı olmayan DM), %10-20'si ise Tip 1 DM'den (insüline bağımlı DM) oluşur. 2010 yılında yapılan Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II (TURDEP-II Çalışması)'nın sonuçlarına göre ülkemizde 20 yaş üstü bireylerde DM prevalansı %13.7 olarak bulunmuştur.⁹ Dolayısıyla ülkemizde DM'in prevalansının artmasına paralel olarak bir halk sağlığı sorunu olarak DM'e bağlı komplikasyonların sıklığı da artmaktadır.

Diabetes mellitus kronik dönemde, progresif gelişen, vücutta birçok dokuyu etkileyen spesifik komplikasyonlara yol açar. Bunlar mikrovasküler komplikasyonlar (DR, diyabetik nefropati ve diyabetik nöropati) ve makrovasüler komplikasyonlar (miyokard infarktüsü, inme ve periferik arter hastalığı) olarak 2 grupta incelenebilir.¹⁰

Diyabetik retinopati; DM'nin mikrovasküler komplikasyonlarından biri olup, 20-65 yaş arasındaki Batı dünyasında körlüğün önde gelen nedenlerinden biridir.¹¹ Günümüzde DR, proliferatif olmayan diyabetik retinopati (NPDR) (hafif, orta ve ciddi) ve proliferatif diyabetik retinopati (PDR) olmak üzere sınıflandırılmaktadır.¹² DR, ilerleyici niteliktedir. Hiperglisemi, daha uzun süre diyabet süresi ve başlangıçta daha şiddetli DR, PDR gelişme riskini arttırmaktadır.¹³

2.1.1. Diyabetik Retinopati Patogenezi

Diyabetik retinopati, retinadaki prekapiller arteriyolları, kapillerleri ve venülleri etkileyen bir mikroanjiyopati tablosudur. Uzun süren hiperglisemik fazda ileri glikolizasyon ürünleri ve oksidatif stress sonucu oluşan serbest radikaller kapiller yatakta değişikliklere, hasara yol açar. Mikrovasküler damarlarda oklüzyona bağlı olarak retinada iskemi ve arteriovenöz şantlar (intraretinal mikrovasküler anomaliler-IRMA) oluşur. Retinadaki kapiller nonperfüzyona bağlı iskemik hipoksik dokudan salınan inflamatuvar mediatörlere özellikle de vasküler endotelial büyüme faktörüne (VEGF) bağlı retinada ve optik diskte neovaskülarizasyonlar görülebilir.¹⁴

Mikrovasküler damarlardaki sızıntıya bağlı olarak lokalize, diffüz retina ödemi görülebilir. DR sürecinin herhangi bir aşamasında diyabet hastalarında maküla bölgesindeki kalınlaşmayla karakterize diyabetik maküla ödemi (DMÖ) de gelişebilir. DR'li hastalarda görülen DMÖ görme kayıplarının %50'sinden sorumludur. DMÖ'nün görülme sıklığı hastalığın başlangıç zamanı ve süresi ile korelasyon göstermektedir. DR ilerledikçe, maküla ödemi insidansı da artar. Bir çalışmada, maküla ödemi insidansı hafif NPDR'de %3, orta-şiddetli NPDR'de %38 ve PDR'de %71 olarak bulunmuştur.¹⁵

2.1.1.a. Diyabetik Mikroanjiopatide Biyokimyasal Mekanizmalar

Diyabetik retinopatiye ait patolojik değişimlerin ortaya çıkmasında rol oynayan başlıca patolojik biyokimyasal mekanizmalar; non-enzimatik glikozilasyon, protein Kinaz C sistemi, oksidatif stres, Poli-ADP ribose polimeraz aktivasyonu olarak açıklanmaktadır.¹⁶

2.1.1.b. Diyabetik Mikroanjiyopatide Patofizyolojik Mekanizmalar

Mikroanjiopati gelişimindeki patofizyolojik mekanizma basamaları şöyle özetlenebilir:⁵

- 1) Hiperglisemi
- 2) Retinal kan akımı azalması
- 3) İnflamasyon
- 4) Lökostaz, kapiller okluzyon
- 5) Perisit kaybı
- 6) Endotel kaybı
- 7) Bazal membran kalınlaşması/modifikasyonu
- 8) Kapiller yatakta fokal kapanmalar
- 9) Hipoksi, retinal iskemi
- 10) Kompensatuar anjiyogenez

2.1.2. Diyabetik Retinopati İçin Risk Faktörleri

2.1.2.a. Yaş: Tip 1 diyabetin başladığı yaş, DR riskini etkiler.¹⁷

- 5-14 yaş arası diyabet başlangıcı olan hastalar en yüksek risk altındadır.
- 15 ila 40 yaş arasındaki diyabet başlangıcı olan hastalar en düşük risk altındadır.

Tip 2 diyabet başlangıcı (tanıda 45 yaşın altında genç) yaşı, retinopatide daha yüksek prevalans ve şiddet ile ilişkilendirilmektedir.¹⁸

2.1.2.b. Diyabetin süresi: DR gelişimini belirleyen önemli risk faktörlerinden biri diyabetin süresidir. 30 yaşından önce DM tanısı alan hastalarda 10 yıl içinde DR gelişme insidansı %50, 30 yıl içerisinde ise %90'dır.¹⁹

2.1.2.c. Glisemik Kontrol: DR gelişiminde önemli rol oynayan faktörlerden biri de kan glikoz seviyesidir. Hiperglisemi, DR insidansını ve progresyonunu artırır.²⁰ Tip 2 diyabette, HbA1c'nin %7.9'dan % 7'ye düşürülmesi, gerekli lazer tedavisi sıklığında düşüşe neden olmuştur.²¹ Tip 1 hastalarda, HbA1c değerlerinin % 9.1'den % 7.1'e düşürülmesi, 6.5 yıl içinde DR gelişme riskini % 76 azaltmıştır. Ayrıca DR progresyon riskini % 54, PDR gelişme riskini % 47 azaltmıştır.²² Dolayısıyla, bir oftalmologun gözüyle yaklaşık % 7'lik bir HbA1c seviyesi hedeflenmelidir.³

2.1.2.d. Hiperlipidemi: Gözlemsel çalışmalar, dislipideminin DR, özellikle de DMÖ riskini arttırdığını düşündürmektedir.²³

2.1.2.e. Hipertansiyon: Yüksek tansiyon ile retinopati varlığı arasında bir ilişki vardır. Bununla birlikte, kan basıncının DR gelişmesini nedensel olarak etkileyip etkilemediği net değildir. Kan basıncının DR'nin gelişimi veya progresyonu için nedensel bir ajan olup olmadığına bakılmaksızın, diyabetik hastalarda yüksek tansiyonun ölçülmesi ve tedavi edilmesi zorunludur, çünkü yüksek tansiyonun kalp krizi, inme ve diyabetik nefropatinin gelişimi riski ile ilişkisi bilinmektedir.¹²

2.1.2.f. Nefropati: Muhtemelen lipidler ve trombositler üzerinde istenmeyen etkilerden dolayı DR ile yakından ilişkilidir.¹²

2.1.2.g. Gebelik: Diyabetik hamilelerde özellikle hipertansiyon ve proteinüri varlığı diyabetik retinopati progresyonunu ve aynı zamanda maküler ödem görülme sıklığını ve şiddetini arttırmaktadır. Maküler ödem genellikle hamileliğin üçüncü trimesterinde gerilemesine rağmen bazı vakalarda uzun dönemli görme keskinliği azalmasına sebep olmaktadır.²³

2.1.2.h. Diğer Patolojiler: Anemi, sigara, katarakt cerrahisi ve obezitedir.¹⁹

2.1.3. Diyabetik Retinopati Sınıflaması

DR, NPDR ve PDR olmak üzere iki ana grup altında sınıflandırılır. DMÖ, NPDR ya da PDR ile beraber bulunabilir.

Nonproliferatif Diyabetik Retinopati²⁰

- ❖ **Hafif:** Birden fazla mikroanevrizmanın varlığı
- ❖ **Orta:** Birden fazla mikroanevrizma, hemoraji ve sert eksuda varlığı
- ❖ **Ciddi:** 4-2-1 kuralı. Aşağıdakilerden herhangi birinin varlığı:
 - 4 kadranda yaygın intraretinal hemoraji ve mikroanevrizma
 - 2 kadrandan fazla venöz boncuklanma
 - 1 kadrandan fazla intraretinal mikrovasküler anomali (IRMA)

Proliferatif Diyabetik Retinopati ²⁴

Disk, retina veya irisin neovaskülarizasyonu ile karakterizedir. Yeni damar oluşumları, genellikle retinal venlerden köken alırlar. Retinada optik diske 1 disk mesafesi boyunca olan damarlar neovasküler disk (NVD), daha uzak mesafedekiler ise neovasküler else (NVE) olarak adlandırılır. Normal retinal damarların aksine NVD ve NVE'ler floresein sızdırırlar.

Vitreus kanamalarıyla, gliosis, traksiyonel membran ve maküla ödemiyle ilişkilidir.

❖ *Erken proliferatif retinopati*

- Optik diskte, disk alanının üçte birinden azında neovaskülarizasyon
- Optik diskin preretinal ya da vitreus hemorajisi olmaksızın neovaskülarizasyonu
- Preretinal veya vitreus hemorajisi olmaksızın disk alanının yarısının azında başka yerlerde neovaskülarizasyon

❖ *Yüksek riskli proliferatif retinopati*

- Disk alanının üçte biri, bir çeyrek optik diskin neovaskülarizasyon veya
- Optik diskin preretinal ya da vitreus hemorajisi ile neovaskülarizasyonu veya
- Preretinal veya vitreus hemorajisi ile disk alanının en az yarısında başka yerlerde neovaskülarizasyon

❖ *Ciddi proliferatif retinopati*

- Arka fundus veya santral maküler dekolmanı gizleyen preretinal veya vitreus hemorajisi

.

2.2. Vitreus – Retina

2.2.1. Vitreus Anatomisi ve Fizyolojisi

Vitreus; %98'i su olmak üzere kollajen, glikozaminoglikanlar, hyalosit içermektedir. Göz küresini dolduran homojen jelatinöz bir maddedir. Vitreus hacmi yaklaşık 4.0 ml olup tüm glob hacminin %70-80'ini oluşturur. Emetropik bir yetişkinde, insan gözü vitreusunun aksiyel uzunluğu yaklaşık 16.5 mm'dir. Vitreus iki önemli fonksiyonu olan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Birincisi göz küresinin major hacmini sağlayan şeffaf ortam oluşturmak, ikincisi de göz küresine gelen kuvvetleri absorbe edip çevre göz dokularına yaymaktır. Vitreusun dış kısmı kortikal vitreus olarak adlandırılır ve yaklaşık 100 mikron kalınlığındadır. Kortikal

vitreus ve retinaya yakın olan kısımlarda kollajen fibril ve hyaluronik asit yoğunluğu çok daha fazladır ve bu bölüm daha sağlam ve yaşa bağlı değişikliklere daha dayanıklıdır. Vitreusun retinaya ve pars planaya en sıkı yapışıklık gösterdiği alan vitreus bazıdır. Diğer bir yapışıklık bölgesi sirküler yapıda olup optik sinir başı kenarındadır. Yaş ilerledikçe zayıflamasına rağmen arka vitre dekolmanı sırasında en son ayrılan kısımdır. Vitreus ayrıca major retinal damarlar boyunca ve prefoveolar alanda daha yoğun ve sıkı yapışıklık göstermektedir. 40 yaşından sonra vitreusun jel yapısı özellikle santralde olmak üzere likefiye olmaya başlar ve 80-90 yaşlarında vitreusun yarısından fazlası likefiye hale gelir.²⁵

2.2.2. Retina Anatomisi ve Fizyolojisi

Retina gözün en iç tabakasında yer alan fotoreseptör özelliği ile optik enerjiyi algılayan ve beyne optik sinir yoluyla ileten, optik sinir başından ora serrata'ya uzanan ağ tabakadır. İç tarafta vitreus korteksi ile dış tarafta da Bruch membranı aracılığıyla koryokapilleris tabakasıyla ve koroidle komşudur. Makülanın merkezine fovea adı verilir. Retinanın en yüksek görme keskinliğine sahip bölgesidir. Temporal arkatlar arası alan makuladır ve çapı yaklaşık 5,5 mm'dir. Histolojik özellikler olarak retina dıştan içe 10 katmandan oluşmuştur.²⁶

- 1) Retina Pigment Epiteli (Nöral retina ile koroid arasında uzanır)
- 2) Fotoreseptörler (Koni ve basilleri içerir)
- 3) Dış limitan membran (Fotoreseptörlerin zonula adherensler ve Müller hücrelerinin radyal çıkıntıları oluşturur)
- 4) Dış nükleer tabaka (Fotoreseptör çekirdeklerini içerir)
- 5) Dış pleksiform tabaka (Fotoreseptör ile bipolar ve horizontal hücrelerin sinaptik bağlantılarıdır)
- 6) İç nükleer tabaka (Bipolar, horizontal, amakrin ve Müller hücre çekirdeklerini içerir)
- 7) İç pleksiform tabaka (Bipolar ve amakrin ile ganglion hücreleri sinaptik bağlantıları mevcuttur)
- 8) Ganglion hücre tabakası (Ganglion hücre çekirdeklerinden oluşur)
- 9) Sinir lifi tabakası (Ganglion hücre aksonlarından oluşur)
- 10) İç limitan membran (ILM) (Müller hücreleri terminal uzantılarını ve bazal membranı içerir)

RPE tek katlı hekzagonal hücrelerden oluşur. Hücrelerin tepe kısımları hem zonula okludens hem de zonula adherenslerle birbirlerine sıkıca bağlıdır ve dış kan-retina bariyerinin oluşumuna katkıda bulunur. Ayrıca A vitamini metabolizmasında rol oynar, fotoreseptör dış segmentlerinin fagositozunu yapar. Elektriksel hemostaz ile ışık absorpsiyonunu ve subretinal alandaki sıvı ve besin kontrolünü sağlar. Retina adezyonunu sağlar.²⁷

Nörosensoryal retina, fotoreseptör hücreler ile bunların çeşitli bağlantılarını içerir. Koni ve basil olarak adlandırılan 2 tip fotoreseptör vardır. Bu hücreler retinanın ışığa duyarlı hücreleri olup sinir sisteminin diğer son organları gibi davranırlar. İç ve dış segmentleri vardır. Dış segmentler mukopolisakkarit matriks ile 7 sarılmıştır ve RPE ile temas halindedir. RPE ile fotoreseptör dış segmentleri arasında sıkı bağlantı veya diğer hücresel bağlantılar yoktur.²⁷ Horizontal hücreler, kon ve rodler arasında sinaptik iletişimi sağlar. Bipolar hücreler vertikal yerleşmiştir. Fotoreseptörler ile ganglion hücreleri arasında sinaps sağlarlar. Ganglion hücreleri, retinanın iç kısmında bulunurlar ve görme yolunun 2. nöronlarıdır. Ganglion hücrelerinin aksonları retina iç yüzeyine paralel hale gelerek sinir lifi tabakası haline gelirler ve sonradan optik siniri oluştururlar. Retinanın destek yapısını oluşturan Müller hücreleri dış limitan membrandan iç limitan membrana uzanırlar. Retinanın en iç yüzeyini oluşturan iç limitan membran, müller hücrelerinin uzantılarından oluşur.²⁸

2.3. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü, endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna sebep olur. Ayrıca, birçok antiapoptotik proteinin ekspresyonunu düzenler ve vasküler geçirgenliği artırır.²⁹

VEGF ailesinin her üyesi spesifik bir işleve sahip gibi görünmektedir. Altı üyesi vardır: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve Plasenta büyüme faktörü. VEGF-A Human-VEGF olarak da isimlendirilir. VEGF-A'nın geni kromozom 6p21.3'teki lokalizasyonda kodlanmıştır. VEGF-A, anjiyogenez indükler. Plasental büyüme faktörü hem anjiyogenez hem de arteryogeneze aracılık eder. VEGF-B, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1'e bağlanarak monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmasında rol alır. VEGF-C ve

VEGF-D esasen lenfanjiyogenik faktörler olarak etki etmektedir. VEGF-E, güçlü bir mitojen ve permeabilite artırıcı faktördür.³⁰

VEGF yapımı hipoksi tarafından tetiklenirken, CO tarafından da inhibe edilmektedir. Hipoksinin yanında pH ve sitokinlerin azalmasıyla de VEGF ekspresyonu artmaktadır.³⁰

2.4. Stromal Hücre Kaynaklı Faktör-1 α (SDF-1 α)

Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α , yedi-geçişli G-protein-çifti membran reseptörü olan kemokin reseptör tip 4'ü (CXCR4) bağlayan 89-amino asit içeren bir proteindir. Osteoblastlar, fibroblastlar ve endotel hücreleri de dahil olmak üzere birçok hücre tipi SDF-1'i eksprese eder. SDF-1 bağlanması, FAK, PI3K, MAPK / Erk kinaz (MEK) ve Jak / Tyk2 gibi adezyon ve göç ile ilgili çoklu sinyal yollarını aktive eder ve kök hücre göçü ile proliferasyonunda önemlidir.³¹

2.5. Anjiyopoietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2)

Anjiyopoietin Benzeri Protein 2; kalp, yağ dokusu, akciğer, böbrek ve iskelet kasında bol miktarda ekspresyona sahip dolaşımdaki bir glikoproteindir.³² Hipoksi, ekspresyonunu uyarır. Anjiyogeneze ve endotel hücresi migrasyonuna neden olur. ANGPLT2'nin fazla ekspresyonu keratinositlerde, yağ dokusunda ve endotel hücrelerinde proinflamatuvardır. Dolaşımdaki ANGPLT2 seviyeleri, iltihaplanma, adipozite ve insülin direnci ile korelasyon gösterir.³³

3. MATERİYEL ve METOD

3.1. Demografik Yapı

Randomize, vaka-kontrol tasarımıındaki çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden E-17-1405 sayı numarası ile etik kurulu onayı alındı. Ekim 2017 ile Mart 2018 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Ulucanlar Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne Retina Polikliniği'ne başvuran 18 erkek hastanın 18 gözü ve 24 kadın hastanın 24 gözü olmak üzere toplam 42 hastanın 42 gözü çalışmaya alınmıştır. Çalışmada araştırma grubu PDR'li 32 hastanın 32 gözünden, kontrol grubu DM'li olmayan maküler delik (MD) bulunan 10 hastanın 10 gözünden oluşturuldu. PDR'li hastalar 3 alt gruba ayrılmıştır. PDR'ye bağlı sadece vitreus içi hemoraji (VİH) bulunan 12 hasta, PDR'ye bağlı sadece traksiyonel membran (TM) bulunan 6 hasta ve PDR'ye bağlı hem VİH hem de TM bulunan 14 hasta araştırmaya dahil edilmiştir.

Preoperatif olarak tüm olguların yaşı, cinsiyeti, diyabetes mellitus varsa kaç yıldır mevcut olduğu ve oral antidiyabetik ilaç, insülin kullanıyorsa kaç yıldır kullandığı, DM varsa HbA1c değeri, sistemik otoimmün inflamatuvar hastalık öyküsü, rutin oftalmolojik muayene bulguları (görme keskinliği ölçümü, biyomikroskopik muayene, fundus muayenesi ve göz içi basıncı ölçümü) kaydedilmiştir.

Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri:

- 1- Polikliniğe teşhis ve tedavi amacı ile başvuran 18-80 yaş arası, PDR'li TM'nin eşlik etmediği VİH nedeniyle cerrahi endikasyon alan hastalar
- 2- Polikliniğe teşhis ve tedavi amacı ile başvuran 18-80 yaş arası, PDR'li fibrotik komponenti vasküler komponentinden ağırlıklı olan, eşlik eden VİH bulunmayan TM nedeniyle cerrahi endikasyon alan hastalar
- 3- Polikliniğe teşhis ve tedavi amacı ile başvuran 18-80 yaş arası, PDR'li vasküler komponenti fibrotik komponentinden ağırlıklı olan, VİH'e eşlik eden TM nedeniyle cerrahi endikasyon alan hastalar
- 4- Polikliniğe teşhis ve tedavi amacı ile başvuran 18-80 yaş arası, DM ve DR olmayan MD nedeniyle cerrahi endikasyon alan hastalar

Araştırmaya Dahil Olmama Kriterleri:

- 1- 18 yaşından küçük hastalar
- 2- Aktif göz içi enfeksiyon bulunması
- 3- Vitreoretinal cerrahi öyküsü olan hastalar
- 4- Sistemik otoimmün inflamatuvar hastalık öyküsünün olması
- 5- Son 1 ay içerisinde intravitreal enjeksiyon veya lazer fotokoagülasyon öyküsünün olması

3.2. Vitreus Örneği Alınma Yöntemi

Alt temporal, üst nazal ve üst temporal skleradan fakik gözlerde limbustan 3.5 mm, psödo fakik gözlerde ise 3 mm uzaklıktan trokarlarla girildi. Ardından alt temporaldeki trokardan infüzyon kanülü girildi. İnfüzyon kanülü kontrol edildikten sonra infüzyondan vitreusa gelen serum açılmadan ve gözde hipotoni oluşumuna izin verilmeden cutter probu ile kor vitreustan 0,3 cc vitreus sıvısı alındı. Daha sonra infüzyon kanülü açılarak pars plana vitrektomi işlemine devam edildi.

3.3. Enzim-linked İmmunsorbent Assay (ELISA) Kitlerinin İnceleme Yöntemi

Çalışma için alınan vitreus örnekleri buz üzerine yerleştirilerek Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'na nakledildi. Burada örnekler hücre içeriğini ayırmak için 10000 rpm'de 10 dakika santrifüje tabi tutulduktan sonra 3 adet steril ependorf tüpe ayrıldı ve analiz edilinceye kadar bekletilmeden -80 °C derecede saklandı.

Vitreus örneklerinde ANGPT2, SDF-1 α ve VEGF konsantrasyonları ELISA yöntemi ile analiz edildi. Bu değerlendirme hem araştırma grubunda hem de kontrol grubunda yapıldı.

.

Enzim-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Vitreus örnekleri çalışılacağı zaman çözülerek oda sıcaklığına getirildi ve vortekslendi. Vitreus örneklerinde ANGPT2, SDF-1 α ve VEGF düzeyleri ELISA yöntemi ile insan VEGF (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA . Lot No: P158449. 1 kutu 96 test), insan SDF-1 α (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, Lot No: P156394, 1 kutu 96 test) ve insan ANGPT2 (Elabscience Biotechnology, Wuhan, Hubei, China. Lot No: AK0018FEB09182, 1 kutu 96 test) kiti kullanılarak ölçüldü. Çalışmada Elx50 otomatik strip yıkayıcısı (BioTek Instruments, USA) kullanıldı ve ölçümler ELx808 Marka ELISA okuyucusu (BioTek Instruments, USA) ile yapıldı. Vitreus örneklerinin total protein konsantrasyonu turbidimetrik yöntem ile Cobas c 501 cihazında (Roche Diagnostics, USA) Roche-Cobas marka kitiyle 505 nm’de yapıldı ve sonuçlar mg/L olarak elde edildi. ANGPT2, SDF-1 α ve VEGF konsantrasyonları total protein konsantrasyonuna göre normalize edildi.

Human Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Bu kit insan serumunda, doku homojenatlarında ve diğer biyolojik sıvılarda VEGF’in in vitro kantitatif ölçümünde sandviç-enzim immunoassay (Sandwich-ELISA)’yı kullanır. Bu kitte bulunan mikrotelate VEGF’e spesifik antikorlarla kaplanmıştır. Çalışmada ön dilüsyon deneyleri ile kullanılacak dilüsyon oranı 1:2 olarak belirlendi. Testin başlangıcında mikrotelate kuyucuklarına önce analiz dilüenti 100 μ L eklendikten sonra, standart ve örnekler 100'er μ L mikrotelate kuyucuklarına eklendi ve 2 saat oda sıcaklığında beklendi. Yıkamadan sonra horseradish peroksidaz 200 μ L eklendi ve 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Yıkama işleminden sonra TMB substrat solüsyonu 200 μ L eklendi ve oda sıcaklığında 25 dakika inkübe edildi. Sülfürik asit solüsyonu 50 μ L eklenerek enzim-substrat reaksiyonu sonlandırıldı. Renk değişikliği 450 nm $\pm$ 10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Örneklerdeki VEGF konsantrasyonu örneklerin OD’si standart eğrisiyle kıyaslanarak tayin edildi.

Human CXCL-12/ Stromal Cell Derived Factor-1 α (SDF-1 α)

Bu kit insan serumunda, doku homojenatlarında ve diğer biyolojik sıvılarda SDF-1 α 'ın in vitro kantitatif ölçümünde sandviç-enzim immunoassay (Sandwich-ELISA)'yı kullanır. Bu kitte bulunan mikropate SDF-1 α 'ya spesifik antikorlarla kaplanmıştır. Çalışmada ön dilüsyon deneyleri ile kullanılacak dilüsyon oranı 1:5 olarak belirlendi. Testin başlangıcında mikropate kuyucuklarına önce analiz dilüenti 100 μ L eklendikten sonra, standart ve örnekler 100 μ L mikropate kuyucuklarına eklendi ve 2 saat oda sıcaklığında beklendi. Yıkamadan sonra avidin-horseradish peroksidaz 200 μ L eklendi ve 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Yıkama işleminden sonra TMB substrat solüsyonu 200 μ L eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Sülfürik asit solüsyonu 50 μ L eklenerek enzim-substrat reaksiyonu sonlandırılır. Maviden sarıya oluşan renk değişikliği 450 nm $\pm$ 10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Örneklerdeki SDF-1 α konsantrasyonu örneklerin OD'si standart eğrisiyle kıyaslanarak tayin edildi.

Human ANGPT2 (Angiopoietin Like Protein 2)

Bu ELISA kiti metod olarak Sandviç-ELISA'yı kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plate'i ANGPT2'ye spesifik antikorla kaplanmıştır. Çalışmada ön dilüsyon deneyleri ile kullanılacak dilüsyon oranı 1:50 olarak belirlendi. Standart ve örnekler 100 μ L mikroELISA plate kuyucuklarına eklendi ve 37 °C'de 90 dakika beklenerek spesifik antikorla bağlanır. Sonra biotinli antikor 100 μ L eklenerek 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Serbest komponentler yıkandı ve Avidin-Horseradish peroksidaz konjugatı 100 μ L eklenerek 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Yıkamadan sonra her kuyucuğa 90 μ L substrat solüsyonu katılır ve 37 °C'de 15 dakika inkübe edildikten sonra artık kuyucuklar mavi renkli görüldü. Sülfürik asit solüsyonu 50 μ L eklenerek enzim-substrat reaksiyonu sonlandırıldı ve renk sarıya döndü. OD spektrofotometrik olarak 450 nm $\pm$ 2 nm dalga boyunda ölçüldü. OD değeri ANGPT2 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart eğrisiyle örneklerin OD'si kıyaslanarak ANGPT2 konsantrasyonu hesaplandı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Araştırma verisi “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL)” aracılığıyla bilgisayar ortamına yüklendi ve değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma ve frekans dağılımı incelendi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov Testi) kullanılarak incelendi. Bu incelemeye bağlı olarak hipotezlerin test yöntemine karar verildi. Normal dağılıma uymadığı saptanan değişkenler için iki bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda Mann-Whitney U Testi. Normal dağılıma uyduğu saptanan değişken için ise iki bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda Student's T Testi istatistiksel yöntem olarak kullanıldı. Normal dağılıma uymadığı saptanan değişkenler için ikiden fazla bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda Kruskal Wallis Testi uygulandı. Normal dağılıma uyduğu saptanan değişken için ise ikiden fazla bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda One Way ANOVA Testi istatistiksel yöntem olarak kullanıldı, gruplar arasındaki farklılık için Bonferroni testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişki normal dağılıma uyuyorsa Pearson Korelasyon Analizi; normal dağılıma uymuyorsa Kendal-Tau Korelasyon Analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda PDR'ye bağlı VİH tanılı 12 hasta, PDR'ye bağlı TM tanılı 6 hasta ve PDR'ye bağlı VİH+TM tanılı 14 hasta olmak üzere PDR'ye bağlı toplam 32 hasta araştırma grubunu oluşturmaktaydı. Ayrıca araştırma kapsamında idyopatik MD'li 10 hasta kontrol grubunda yer almaktaydı. Toplam 42 birey incelendiği çalışmada preop tanılar ameliyatlar sırasında teyit edilmiştir (**Tablo 4.1**).

Tablo 4.1. Katılımcıların demografik ve klinik özellikleri

Sıra	Cin siye t	Yaş	DM Süresi (Yıl)	İnsülin Kullanı m Süresi (Yıl)	HbA 1c (%)	Klinik Bulgu	Vitreus VEGF Değeri (pg/ml)	Vitreus SDF-1α Değeri (pg/ml)	Vitreus ANGPLT2 Değeri (ng/ml)
1	E	63				MD	78.7	396.4	78.5
2	K	65				MD	236.0	320.1	131.6
3	K	65				MD	74.7	439.1	158.2
4	K	65				MD	74.5	375.1	190.3
5	E	66				MD	155.0	385.7	258.6
6	K	43				MD	158.9	364.5	75.9
7	E	62				MD	91.2	364.5	264.3
8	E	61				MD	78.0	534.9	436.9
9	E	68				MD	74.7	364.0	178.1
10	K	62				MD	78.8	331.0	190.5
11	K	51	21	5	14.2	VİH	3405.0	641.4	875.2
12	E	60	15	10	9.2	VİH	4790.0	556.2	654.7
13	K	64	18	6	9.1	VİH	2237.0	375.0	431.4
14	E	67	11	6	8.1	VİH	264.0	1044.0	842.7
15	K	63	20	10	9.3	VİH	1054.0	620.1	489.4
16	E	56	7	0	7.3	VİH	1171.0	428.4	685.3
17	E	68	18	4	8.3	VİH	1734.0	375.1	559.1
18	K	64	20	2	8.6	VİH	373.8	194.0	131.0
19	E	48	19	13	9.6	VİH	1715.0	396.0	786.3
20	E	59	14	1	11.4	VİH	168.0	353.8	265.8
21	E	56	17	1	7.9	VİH	121.0	513.6	982.4
22	K	65	20	7	8.2	VİH	2345.0	386.0	450.3
23	K	58	13	7	8.7	TM	572.5	620.1	1589.7
24	K	47	10	7	11.0	TM	967.5	536.0	1322.1
25	K	68	10	3	8.0	TM	91.2	385.8	19.0
26	K	58	20	11	10.1	TM	3610.0	598.8	1054.3
27	K	50	17	8	8.4	TM	1328.0	598.0	939.8
28	K	24	15	15	14.1	TM	6550.0	492.3	871.8
29	E	60	18	11	9.1	VİH+TM	2330.0	642.0	1580.8
30	E	45	14	5	11.7	VİH+TM	940.0	385.8	362.2
31	E	45	7	0	7.3	VİH+TM	4506.0	577.5	1203.4
32	K	66	28	20	8.7	VİH+TM	405.0	449.7	264.0
33	K	55	23	21	11.5	VİH+TM	3969.0	428.4	534.5
34	K	62	15	1	11.4	VİH+TM	3102.0	630.7	1035.5
35	K	53	16	0	5.8	VİH+TM	1200.0	397.0	432.2
36	K	46	10	10	11.7	VİH+TM	1077.0	396.4	330.0
37	K	68	10	1	8.3	VİH+TM	1662.0	417.7	650.1
38	E	49	9	0	8.9	VİH+TM	923.0	882.3	735.3
39	E	53	10	0	7.3	VİH+TM	1854.0	534.9	731.8
40	K	36	15	15	12.2	VİH+TM	1556.0	460.3	482.9
41	K	54	20	6	7.6	VİH+TM	2565.0	620.0	1191.0
42	E	66	25	11	8.2	VİH+TM	3375.0	492.3	574.2

E:Erkek, K:Kadın. DM: Diabetes mellitus, HbA1c: Glikolize hemoglobin. VİH: Vitreus içi hemoraji, TM: Traksiyonel membran, MD: Maküler delik. VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, SDF-1α: Stromal hücre kaynaklı faktör-1α, ANGPLT2: Anjiyopietin Benzeri Protein 2.

PDR olgularının ortalama yaşı 55.8 ± 10.1 idi, 13 erkek ve 19 kadın hastadan oluşmaktaydı. MD olgularının ortalama yaşı 62.0 ± 7.0 idi, 5 erkek ve 5 kadın hastadan oluşmaktaydı. PDR tanılı hastalarla kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (**Tablo 4.2**).

PDR tanısı alan 32 hastanın ortalama VEGF, SDF-1 α ve ANGPT2 değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.002$ ve $p<0.001$) (**Tablo 4.2**). PDR hastalarının kontrol grubuna göre ortalama VEGF değerinin oranı 17.59, ortalama SDF-1 α değerinin oranı 1.32 ve ortalama ANGPT2 değerinin oranı 3.67'dir. En yüksek oranın ortalama VEGF değerinde olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.2. Katılımcıların proliferatif diyabetik retinopati ve maküler delik gruplarında olmasına göre demografik ve klinik özellikleri

	PDR (n:32) (Ortalama $\pm$ SD)	MD (n:10) (Ortalama $\pm$ SD)	P değeri
Yaş	55.8 $\pm$ 10.1	62.0 $\pm$ 7.0	0.065 ^a
Cinsiyet (E/K)	13/19	5/5	0.601 ^b
VEGF	1936.3 $\pm$ 1554.6	110.0 $\pm$ 55.1	<0.001^a
SDF-1α	513.4 $\pm$ 161.3	387.5 $\pm$ 61.4	0.002^a
ANGPT2	720.6 $\pm$ 388.7	196.3 $\pm$ 105.8	<0.001^c

N: numara, SD: Standart deviasyon. Ölçümler ortalama $\pm$ SD'dır.

PDR: Proliferatif diyabetik retinopati, MD: Maküler delik. E:Erkek, K:Kadın.

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü, SDF-1 α : Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α , ANGPT2: Anjiyopietin Benzeri Protein 2.

^aMann-Whitney testi, ^bKi-kare testi, ^cStudent t-testi.

PDR tanısı alan hastaların alt grupları ve kontrol grubu arasında yapılan analizde yaş ve cinsiyet parametrelerinde farklılık izlenmedi ($p>0.05$) (**Tablo 4.3**). Yine PDR hastalarının alt grupları arasında DM süresi, insülin kullanma süresi ve HbA1c değeri açısından anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (**Tablo 4.3**). Ancak ortalama VEGF, SDF-1 α ve ANGPT2 değerlerinde gruplar arasında anlamlı farklılık mevcuttu (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.008$ ve $p<0.001$) (**Tablo 4.3**) (**Şekil 4.1**, **Şekil 4.2** ve **Şekil 4.3**).

Tablo 4.3. Katılımcıların proliferatif diyabetik retinopati alt gruplarında olmasına veya maküler delik grubunda olmasına göre demografik ve klinik özellikleri

	VİH (n:12) (Ortalama ± SD)	TM (n:6) (Ortalama ± SD)	VİH+TM (n:14) (Ortalama ± SD)	MD (n:10) (Ortalama ± SD)	P değeri
Yaş	60.1 ± 6.3	50.8 ± 15.1	54.1 ± 9.5	62.0 ± 7.0	0.082 ^a
Cinsiyet (E/K)	7/5	0/6	6/8	5/5	0.117 ^b
DM Süresi (Yıl)	16.7 ± 4.2	14.2 ± 4.0	15.7 ± 6.4		0.643 ^c
İnsülin Kullanım Süresi (Yıl)	5.4 ± 4.1	8.5 ± 4.1	7.2 ± 7.6		0.549 ^c
HbA1c (%)	9.3 ± 1.9	10.1 ± 2.3	9.3 ± 2.1		0.782 ^a
VEGF (pg/ml)	1614.8 ± 1428.0	2186.6 ± 2461.1	2104.6 ± 1246.2	110.1 ± 55.2	< 0.001^a
SDF-1α (pg/ml)	490.3 ± 214.8	538.5 ± 88.7	522.5 ± 138.2	387.5 ± 61.4	0.008^a
ANGPLT2 (ng/ml)	596.1 ± 256.2	966.1 ± 534.8	722.0 ± 390.7	196.3 ± 105.8	<0.001^c

N: numara, SD: Standart deviasyon. Ölçümler ortalama ± SD'dır.

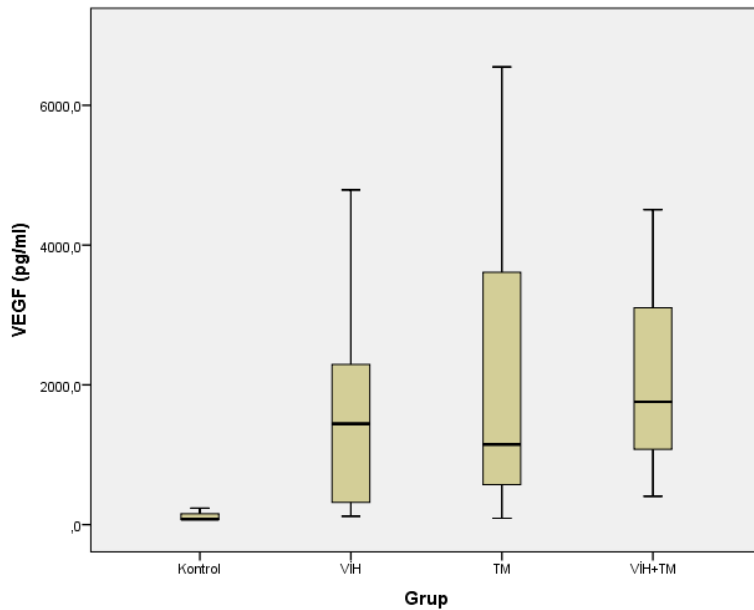
VİH: Vitreus içi hemoraji, TM: Traksiyonel membran, MD: Maküler delik.

E:Erkek, K:Kadın. DM: Diabetes mellitus, HbA1c: Glikolize hemoglobin.

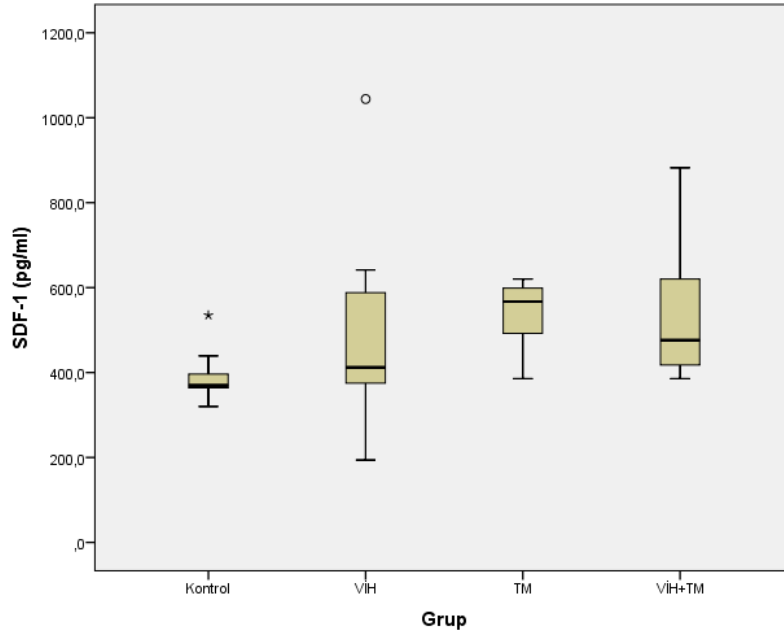
VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, SDF-1α: Stromal hücre kaynaklı faktör-1α ,
ANGPLT2: Anjiyopoietin Benzeri Protein 2.

^aKruskal Wallis testi, ^bKi-kare testi. ^cOne-way ANOVA testi, ^dStudent t-testi,

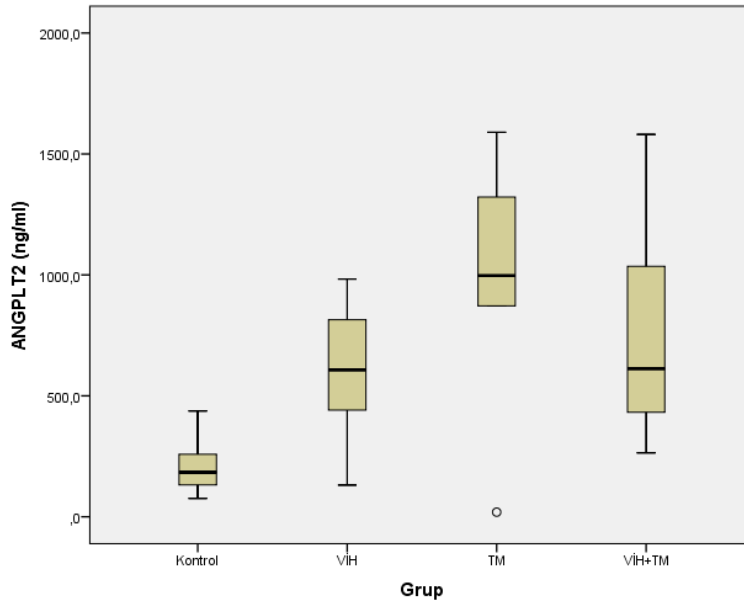
Şekil 4.1. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastaların alt gruplarıyla kontrol grubu arasında Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeylerinin dağılımı



Şekil 4.2. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastaların alt gruplarıyla kontrol grubu arasında Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) düzeylerinin dağılımı



Şekil 4.3. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastaların alt gruplarıyla arasında Anjiyopietin benzeri protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin dağılımı



VEGF ve SDF-1 α parametrelerinde gruplar arasındaki farklılığı verebilmek için gruplara ikişerli olarak Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Yapılan analize göre kontrol grubunun ortalamasıyla PDR hastalarının alt gruplarının ortalamaları farklı bulunmuştur ($p<0.05$)(**Tablo 4.4**). Ancak SDF-1 α parametresinde kontrol grubuyla VİH grubunun ortalaması arasında farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$)(**Tablo 4.4**). VEGF ve SDF-1 α parametreleri açısından PDR alt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. ($p>0.05$)(**Tablo 4.4**). ANGPT2 parametresinde gruplar arası farklılığı belirlemek için One-way ANOVA testine ait Bonferroni testi kullanılmıştır. Yapılan analize göre kontrol grubunun ortalamasıyla PDR hastalarının alt gruplarının ortalamaları farklı bulunmuştur ($p<0.05$)(**Tablo 4.4**). ANGPT2 değeri yönünden PDR alt gruplarının ortalamaları kendi aralarında farklılık göstermemiştir ($p<0.05$)(**Tablo 4.4**).

Tablo 4.4. Katılımcıların proliferatif diyabetik retinopati alt gruplarında olmasına veya maküler delik grubunda olmasına göre p değeri karşılaştırılması

Değişken 1	Değişken 2	VEGF P değeri	SDF-1 α P değeri	ANGPT2 P değeri
VİH Grubu	Kontrol Grubu	<0.001^a	0.121 ^a	0.048^b
TM Grubu	Kontrol Grubu	0.004^a	0.005^a	<0.001^b
VİH+TM Grubu	Kontrol Grubu	<0.001^a	0.001^a	0.003^b
VİH Grubu	TM Grubu	0.925 ^a	0.325 ^a	0.196 ^b
VİH Grubu	VİH+TM Grubu	0.304 ^a	0.227 ^a	1.000 ^b
TM Grubu	VİH+TM Grubu	0.564 ^a	0.620 ^a	0.854 ^b

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, SDF-1 α : Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α , ANGPT2: Anjiyopietin Benzeri Protein 2.

VİH: Vitreus içi hemoraji, TM: Traksiyonel membran, MD: Maküler delik.

^aMann-Whitney testi, ^bOne-way ANOVA testine ait Bonferroni testi.

Makula deliği olan hastaların vitreusunda çalışılan mediyatörler arasındaki korelasyonlar incelendiğinde VEGF ve SDF-1 α ile VEGF ve ANGPT2 arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmazken ($p>0.05$), ilginç olarak SDF-1 α ve ANGPT2 arasında istatistiksel olarak ilişki bulundu ($p<0.05$)(**Tablo 4.5**)(**Şekil 4.4**, **Şekil 4.5** ve **Şekil 4.6**).

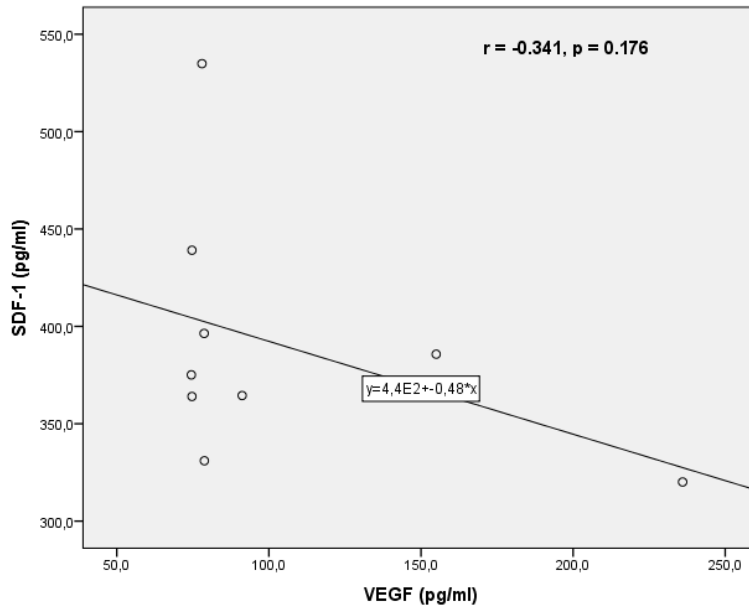
Tablo 4.5. Makula deliği olan 10 hastanın vitreusunda çalışılan mediyatörler arasındaki korelasyonlar

Mediyatör 1	Mediyatör 2	Korelasyon Katsayısı (r)	P değeri
VEGF	SDF-1	-0.341	0.176 ^a
VEGF	ANGPLT2	-0.135	0.590 ^a
SDF-1	ANGPLT2	0.662	0.037^b

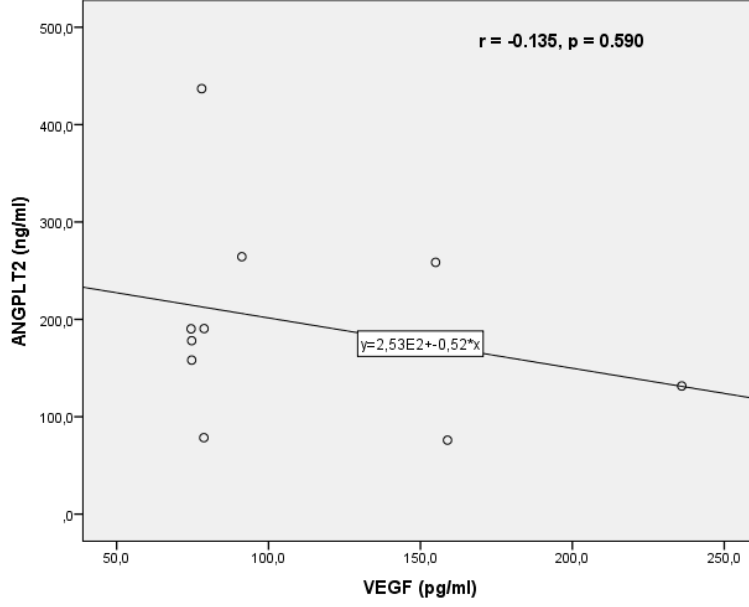
VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü. SDF-1: Stromal hücre kaynaklı faktör-1 . ANGPLT2: Anjiyopoietin Benzeri Protein 2.

^aKendall-Tau korelasyon katsayısı, ^bPearson korelasyon katsayısı.

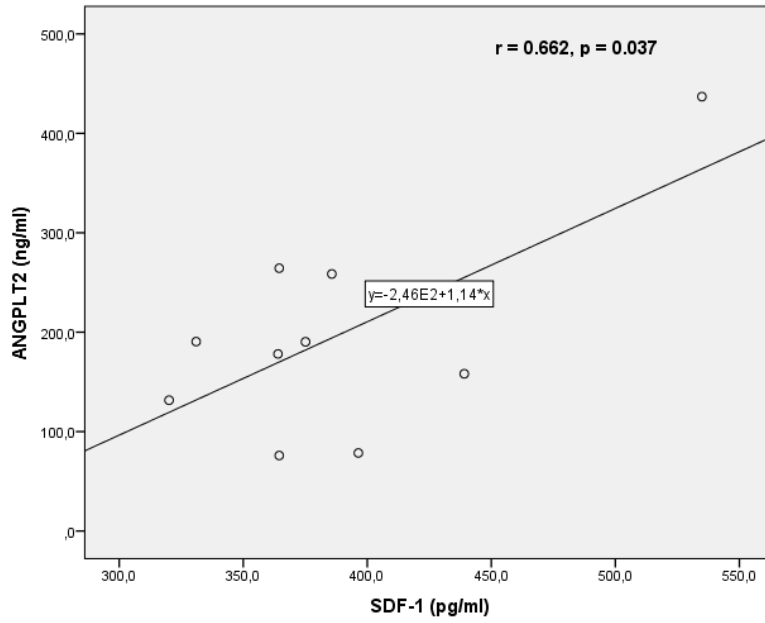
şekil 4.4. Makula deliği tanılı hastalarda (10 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Stromal hücre kaynaklı faktör-1 (SDF-1) düzeylerinin ilişkisi



Şekil 4.5. Makula deliği tanılı hastalarda (10 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Anjiyopietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi



Şekil 4.6. Makula deliği tanılı hastalarda (10 hasta) Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) ile Anjiyopietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi



Proliferatif diyabetik retinopatili hastaların vitreusunda çalışılan mediyatörler arasındaki korelasyonlar incelendiğinde yine VEGF ve SDF-1 α ile VEGF ve ANGPT2 arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmazken ($p>0.05$), SDF-1 α ve ANGPT2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$)(**Tablo 4.6**) (**Şekil 4.7**, **Şekil 4.8** ve **Şekil 4.9**). PDR'li hastaların DM süresi ve İnsülin kullanım süresi ile İnsülin kullanım süresi ve HbA1c değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlemlendi ($p<0.05$) ancak DM süresi ve HbA1c değeri arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmadı ($p>0.05$)(**Tablo 4.6**). PDR'li 32 hastanın vitreusunda çalışılan mediyatörler ile DM süresi, İnsülin kullanım süresi ve HbA1c değeri arasında ilişki saptanmadı ($p>0.05$)(**Tablo 4.6**).

Tablo 4.6. Proliferatif diyabetik retinopatili 32 hastanın vitreusunda çalışılan mediyatörler ile DM süresi, İnsülin kullanım süresi ve HbA1c değeri arasındaki korelasyonlar

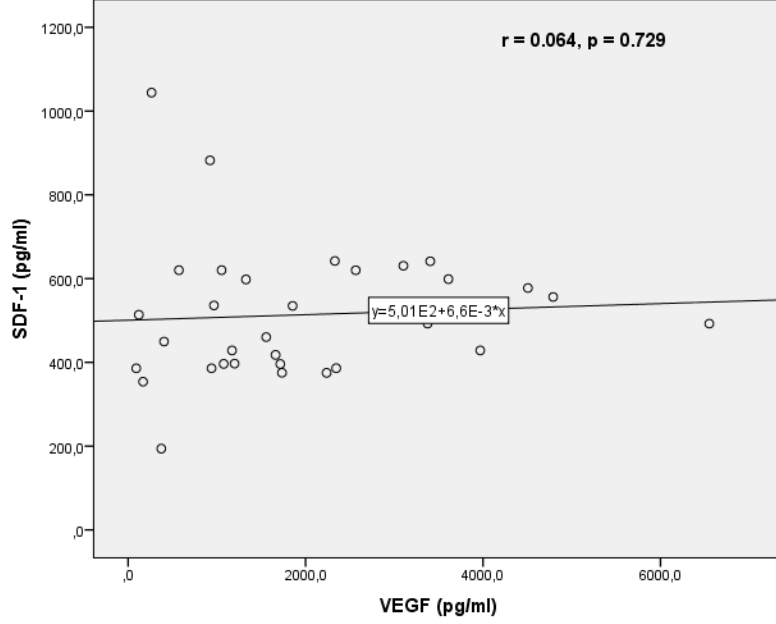
Değişken 1	Değişken 2	Korelasyon Katsayısı (r)	P değeri
VEGF	SDF-1 α	0.064	0.729 ^a
VEGF	ANGPT2	0.274	0.129 ^a
SDF-1 α	ANGPT2	0.554	0.001^a
DM süresi	İnsülin kullanım süresi	0.599	<0.001^a
DM süresi	HbA1c değeri	0.141	0.274 ^b
İnsülin kullanım süresi	HbA1c değeri	0.409	0.001^b
VEGF	DM süresi	0.159	0.384 ^a
VEGF	İnsülin kullanım süresi	0.320	0.075 ^a
VEGF	HbA1c değeri	0.140	0.263 ^b
SDF-1 α	DM süresi	-0.199	0.275 ^a
SDF-1 α	İnsülin kullanım süresi	-0.044	0.811 ^a
SDF-1 α	HbA1c değeri	0.014	0.909 ^b
ANGPT2	DM süresi	-0.153	0.404 ^a
ANGPT2	İnsülin kullanım süresi	-0.025	0.892 ^a
ANGPT2	HbA1c değeri	-0.031	0.808 ^b

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü. SDF-1 α : Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α . ANGPT2: Anjiyopietin Benzeri Protein 2.

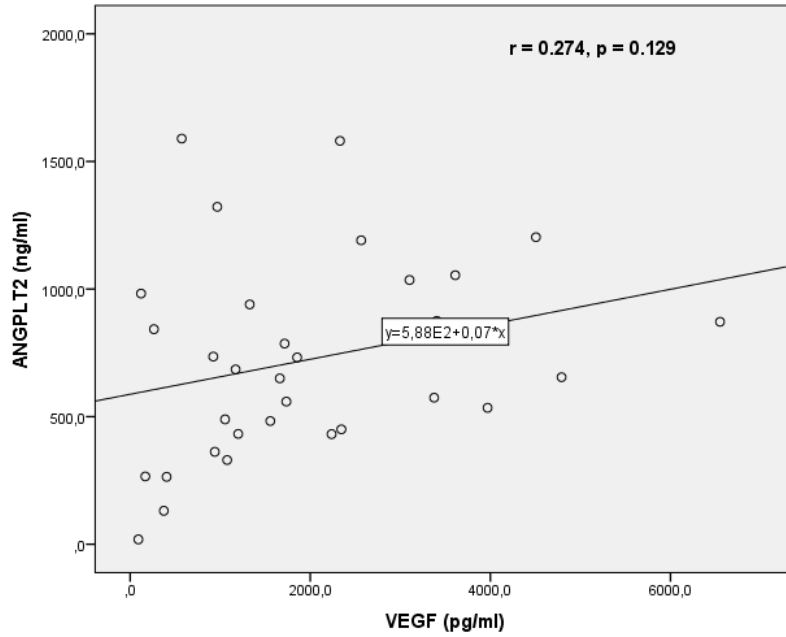
DM: Diabetes mellitus, HbA1c: Glikolize hemoglobin..

^aPearson korelasyon katsayısı, ^bKendall-Tau korelasyon katsayısı.

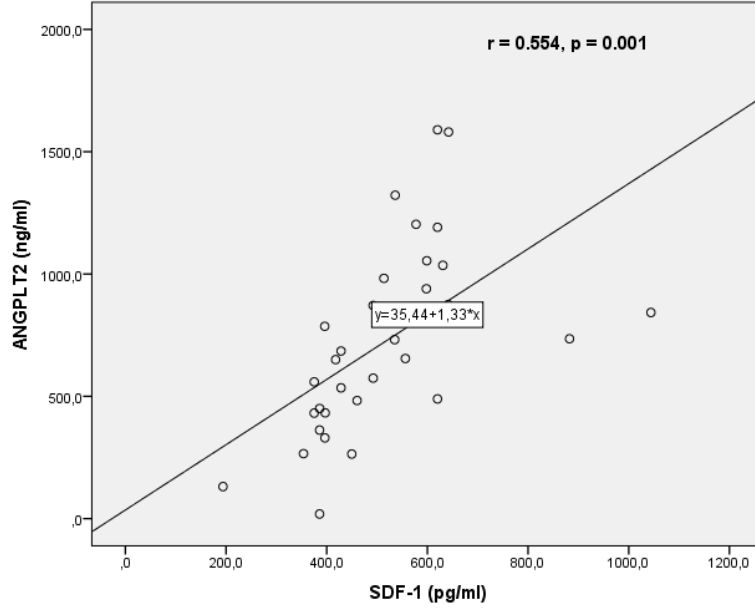
Şekil 4.7. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastalarda (32 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) düzeylerinin ilişkisi



Şekil 4.8. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastalarda (32 hasta) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile Anjiyopoietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi



Şekil 4.9. Proliferatif diyabetik retinopati tanılı hastalarda (32 hasta) Stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (SDF-1 α) ile Anjiyopietin Benzeri Protein 2 (ANGPLT2) düzeylerinin ilişkisi



5. TARTIŞMA

Vasküler endotelyal büyüme faktörünün retinadaki yeni damarlanmalara ve vasküler geçirgenlik artışına sebep olan en etkin mediyatör olduğu ve anjiogenezin asıl düzenleyicisi olduğu belirtilmektedir.³⁴

Ip ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, ağır NPDR hastalarının yaklaşık % 33'ü 2 yıl içinde PDR'ye ilerlemesine rağmen ayda bir anti-VEGF tedavisi gören hastalarda bu oran yaklaşık %11'dir.³⁵ Bununla birlikte anti-VEGF tedavisine yanıt veren birçok hasta için yanıt sadece geçici olabilir. PDR'ye ilerlemeye devam eden NPDR'li diyabetik hastaların sayısı zamanla artmaktadır.³⁶ Ve bu durum anti-VEGF tedavisi uygulanmasına rağmen devam edecek gibi görünmektedir.

Ayrıca kronik VEGF inhibisyonunun sonuçları ile ilgili endişeler bulunmaktadır. Çünkü retina pigment epiteli tarafından üretilen VEGF aktif retina fotoreseptörlerinin metabolik ihtiyaçlarını sağlayan koriokapillarisin sağlığını korumak için gereklidir.³⁷ VEGF'in ayrıca nörosensoryel retina için nörotrofik bir faktör olarak rol oynadığı düşünülmektedir.³⁸ VEGF'in kronik inhibisyonu gözdeki normal fizyolojik rollerini bozabilir.³⁹ Nitekim anti-VEGF tedavisinin makula dejenerasyonu olan bazı hastalarda retinal atrofi gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.⁴⁰

Aiello ve ark. aktif PDR'si ve yüksek konsantrasyonlarda VEGF bulunan vitreus örneklerinde anti-VEGF antikorların in vitro retinal endotel hücre proliferasyonunu % 65'ten fazla oranda azalttığını bulmuşlardır. Bu veriler iskemik retina hastalığında aktif intraoküler neovaskülarizasyona aracılık etmede VEGF'in önemli bir rol oynadığını göstermektedir.⁴¹ Yine önceki çalışmalarda VEGF düzeyinin kontrol grubuna göre PDR'de anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir.^{42,43,44,45} Ancak Aiello ve ark. çalışmasında olduğu gibi proliferatif aktivitenin eksik inhibisyonu VEGF'den başka diğer proliferatif faktörlerin aynı anda aktivitesini göstermektedir.⁴¹

Anti-VEGF tedavisine rağmen retina neovaskülarizasyonunun ısrarı temel biyolojik mekanizmaları anlama konusundaki büyük boşlukları göstermektedir. VEGF dışındaki anjiyojenik faktörleri tanımlamaya ve bu faktörlerin PDR gelişimine katkı derecesini tespit etmeye ihtiyaç bulunmaktadır. Günümüzde VEGF'den başka diğer proliferatif faktörlerin araştırıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin PDR'si olan hastalarda fibroblast büyüme faktörü,⁴⁶ plasental büyüme faktörü,⁴⁷ insülin benzeri büyüme faktörleri ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerin⁴⁸ vitreus konsantrasyonlarının arttığı ispatlanmıştır. PDR'li hastalarda hem VEGF hem de anjiyopoietin-benzeri 4 etkisi bloke edildiğinde retinal neovaskülarizasyonun belirgin ölçüde azaldığı gösterilmiştir.⁴⁹

Yakın zamanda tanımlanmış bir pro-enflamatuvar sitokin olan ANGPT2 çoğunlukla yağ dokusundan salgılanmaktadır ve kan damarları oluşumunda, insülin direncinde ve aterosklerozda önemli bir rol oynamaktadır. ANGPT2 makrofaj ve T lenfosit birikimini ve aktivasyonunu artırır.⁵⁰ ANGPT2; vasküler inflamasyon,⁵¹ ateroskleroz,⁵² obezite ile ilişkili sistemik insülin direnci,³³ romatoid artrit,⁵³ tümör anjiyogenezi- lenfanjenezisi⁵⁴ ve metastazi⁵⁵ gibi birçok inflamatuvar hastalıkta merkezi bir rol oynamaktadır. Yüksek ANGPT2 düzeylerinin Tip 2 diyabet gelişimi ile ilişkisinin olduğu gösterilmiştir.⁵⁶ Ayrıca Tip 2 diyabetli hastalarda, ANGPT2 düzeylerinin önemli kardiyovasküler olaylar ve ölüm riski artışıyla ilişkili olduğu bulunmuştur.⁵⁷

Hematopoietik progenitör hücreler için esasen kemotaktik faktör olarak bilinen stromal hücre kaynaklı faktör-1 α (Stromal cell-derived factor-1 α) (SDF-1 α) doku iskemisine yanıt olarak eksprese edilir⁵⁸ ve anjiyogenetik potens sağlar.⁵⁹ Mirshahi ve arkadaşları tarafından SDF-1 α 'nın, mikrovasküler endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonunu ve üretimini indüklediği tanımlanmıştır.⁶⁰ Neuhaus ve ark. ise SDF-1 α 'nın, ekzojen VEGF yokluğunda proliferasyon etkisi göstermediğini belirtmişlerdir. Ancak SDF-1 α 'nın, insan arteriyel endotel hücrelerinde erken büyüme yanıt -1 (Early growth response-1) (Egr-1) ve VEGF'nin gen ekspresyonunu indüklediğini ve VEGF ile indüklenen hücre proliferasyonunu arttırdığını göstermişlerdir.⁵⁹ Prematüre retinopatisi (ROP) ile yapılan bir çalışmada ROP'lu gözlerde VEGF ve SDF-1 α 'nın vitreus konsantrasyonlarının kontrol gözlerine göre yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca vasküler olarak aktif evre 4 ROP'lu gözlerde vitreus VEGF ve SDF-1 düzeylerinin, vasküler olarak inaktif evre 4 ROP'lu gözlerden de yüksek olduğu gösterilmiştir.⁶¹

Bizim çalışmamız da PDR patogenezinde VEGF dışında SDF-1 α ve ANGPT2 mediyatörlerinin rolünü bulmaya yöneliktir. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız, ANGPT2 mediyatörü açısından PDR'li vitreuslarda yapılmış ilk araştırmadır. Çalışmamızda PDR hastalarının kontrol grubuna göre ortalama VEGF değerinin oranı 17.59, ortalama SDF-1 α değerinin oranı 1.32 ve ortalama ANGPT2 değerinin oranı 3.67 olarak bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.002$ ve $p < 0.001$). En yüksek oranın ortalama VEGF değerinde olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar önceki çalışmalarda olduğu gibi PDR patogenezinde en çok VEGF'in katkısı olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca elde edilen sonuçlar, SDF-1 α ve ANGPT2'in de neovaskülarizasyonu ve vasküler geçirgenliği uyardığını düşündürmektedir.

Proliferatif diyabetik retinopati, retinal iskekiye bağlı neovaskülarizasyon ve izleyen vitreoretinal fibrozis ile karakterizedir.¹⁴ Burada yeni oluşan damarlarla retina üzerinde traksiyona neden olabilen fibrovasküler dokuyla retina dekolmanı ve körlüğe neden olan sürece ilerleyebilir. Bu süreç boyunca anjiyofibrotik geçiş olarak adlandırılan anjiyogenezden fibroze geçiş vardır.⁶² Vitreusun kontraksiyonu ile birlikte vasküler yumak vitreusa doğru çekilir ve sonuçta VİH oluşabilir. Arka vitreal yüzey; proliferasyon alanlarında retinal damarlara yapışık olarak kalır, yeni damarlar ve fibröz dokunun üzerinde gelişip büyüyebileceği bir iskelet görevi görür. Arka vitreus yüzeyinin ve fibrovasküler proliferasyonun kontraksiyonu traksiyonel retina dekolmanına sebep olabilir. Bu sürecin altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. TM grubunda VİH grubuna göre vasküler komponentin fibrotik komponentten ileri olması düşüncesiyle anjiyogenetik faktörler daha yüksek seviyede olabilir. Ancak çalışmamızda VİH, TM ve VİH+TM grupları arasında VEGF, SDF-1 α ve ANGPT2 seviyesinde anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$). Bu nedenle VİH veya TM kliniğinin oluşmasında VEGF, SDF-1 α ve ANGPT2'ye ait intravitreal seviyelerin doğrudan ilişkisi olmayabilir.

Chen ve arkadaşları, PDR'li gözlerde hem VEGF'in hem de SDF-1 α 'nın vitreus konsantrasyonunu idiyopatik MD'li gözlere göre daha yüksek bulmuştur. Ayrıca SDF-1 α 'nın VEGF ile anlamlı korelasyon gösterdiğini ifade etmiştir.⁶³ Arimura ve arkadaşları, opere olması planlanan PDR'li hastaların bir kısmına intravitreal bevacizumab (VEGF inhibitörü) enjeksiyonu, bir kısmına intravitreal triamsinolon enjeksiyonu yaparken bir kısmına (kontrol grubu) enjeksiyon yapmadılar. İntravitreal bevacizumab yapılan grupta kontrol grubuna göre hem VEGF'in hem de SDF-1 α 'nın düşük konsantrasyonda olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuç

intravitreal bevacizumabın sadece VEGF'i değil, aynı zamanda diğer intravitreal mediyatörleri etkileyebileceğini düşündürmüştür. Dolayısıyla PDR'li gözlerde intraoküler SDF-1'in VEGF tarafından yukarı regüle edilmesi ve bevacizumab tarafından VEGF'in bloke edilmesinin SDF-1α'nın aşağı regülasyonu ile sonuçlanması mümkündür.⁶⁴ Çalışmamızda hem PDR hem de MD grubunda yapılan analizde, VEGF ve SDF-1α ile VEGF ve ANGPT2 arasında korelasyon saptanmazken ($p>0.05$), SDF-1α ve ANGPT2 arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlemlendi ($p<0.05$). Dolayısıyla VEGF, doğrudan SDF-1α ve ANGPT2 ile etkileşimde olmayabilir. Ancak her üçünün de, PDR'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olması, ortak bir sebep ya da sebeplerden örneğin iskiemiye, inflamasyona sekonder salgılanması ile ilgili olabilir. SDF-1α ve ANGPT2 arasında korelasyon olması, SDF-1α ve ANGPT2'in ortak patogeneze sahip olmasıyla veya birinin diğerini regüle etmesi ile ilgili olabilir. Bu durumun ayrıca incelenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

Vitreus VEGF değerlerinin DR'nin şiddeti ve aktivitesi ile arttığı ve panretinal fotokoagülasyon ile azaldığı bildirilmiştir.⁴³ Hastaların panretial fotokoagülasyon geçmişi yönünden değerlendirmeyişimiz çalışmamızın kısıtlayıcı faktörlerindendir. Çalışmamızda PDR hastalarının vitreusunda VEGF, SDF-1α ve ANGPT2 düzeylerinde bireysel farklılıklar göze çarpmaktadır. PDR hastalarının bir kısmındaki özellikle düşük VEGF seviyelerinin bir sebebi daha iyi lazer fotokoagülasyon tedavisi almış olmaları olabilir. Ayrıca PDR patogenezindeki ileri diyabet süresi,¹⁹ hiperglisemi,²⁰ dislipidemi,²³ hipertansiyon,¹² diyabetik nefropati,¹² gebelik,²³ anemi,¹⁹ sigara,¹⁹ katarakt cerrahisi¹⁹ ve obezite¹⁹ gibi diğer risk faktörleri de etkili olabilir. Kant ve arkadaşları, PDR'li hastaların vitreusunda VEGF düzeyleri ile kan şekeri ve HbA1c düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulmuştur.⁶⁵ Ancak çalışmamızda PDR'li hastaların vitreusunda çalışılan mediatörler ile DM süresi, insülin kullanım süresi ve HbA1c değeri arasında ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

6. SONUÇLAR

- PDR alt gruplarının VEGF, SDF-1 α , ANGPT2 konsantrasyonları kontrol grubundan yüksekti. Sadece SDF-1 α parametresinde kontrol grubuyla VİH grubu arasında fark bulunamadı.
- PDR alt grupları arasında VEGF, SDF-1 α ve ANGPT2 seviyesinde anlamlı bir farklılık yoktu. PDR hastalarının klinik prezantasyonunun TM veya VİH yönüne olması VEGF, SDF-1 α ve ANGPT2'nin intravitreal seviyelerinin şiddeti ile ilişkili olmayabilir.
- Hem PDR hem de MD grubunda yapılan analizde, VEGF ve SDF-1 α ile VEGF ve ANGPT2 arasında korelasyon saptanmazken, SDF-1 α ve ANGPT2 arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlemlendi. Bu durum SDF-1 α ve ANGPT2'in ortak patogeneze sahip olmasıyla ilgili olabilir. Bu durumun ayrıca incelenmesi gerekmektedir.
- PDR'li hastaların vitreusunda çalışılan mediatörler ile DM süresi, İnsülin kullanım süresi ve HbA1c değeri arasında ilişki saptanmadı.
- PDR'li gözlerde kontrol grubuna göre VEGF konsantrasyonu 17.59 kat, SDF-1 α konsantrasyonu 1.32 kat ve ANGPT2 konsantrasyonu 3.67 kat yüksekti. Başta VEGF olmak üzere yüksek SDF-1 α ve ANGPT2 düzeyleri, DR'de PDR'ye neden olan anjiyogenez ile ilişkili olabilir. VEGF'in yanı sıra ANGPT2 ve SDF-1 α 'yı bloke eden spesifik antikorlar PDR'li gözlerde vasküler aktivitenin ortadan kaldırılması için yeni bir terapötik hedef olabilir. Bu çalışmanın hastalığın tedavisine katkısı olacağını umut ediyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Prokofyeva E, Zrenner E. Epidemiology of major eye diseases leading to blindness in Europe: A literature review. *Ophthalmic Res.* 2012;47(4):171-188.
2. Armulik A, Genové G, Betsholtz C. Pericytes: Developmental, Physiological, and Pathological Perspectives, Problems, and Promises. *Dev Cell.* 2011;21(2):193-215.
3. Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy -ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2015;6(3):489-499.
4. Stitt AW. AGEs and diabetic retinopathy. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(10):4867-4874.
5. Durham JT, Herman IM. Microvascular modifications in diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep.* 2011;11(4):253-264.
6. Pepper MS. Positive and negative regulation of angiogenesis: from cell biology to the clinic. *Vasc Med.* 1996;1:259-266.
7. Witmer A. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res.* 2003;22(1):1-29.
8. Groop LC, Wilden E, Ferrannini E. Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of Type 2 diabetes Mellitus: errors of metabolism and of methods. *Diabetologia.* 1993;36:1326-1331.
9. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(2):169-180.
10. King P, Peacock I, Donnelly R. The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. 1999:643-648.

11. Infeld DA, O'Shea JG. Diabetic retinopathy. *Postgr Med J*. 1998;74(869):129-133.
12. Aiello LP, Silva P, Cavallerano JD, Klein R. *Chapter 52 – Diabetic Eye Disease*. Seventh Ed. Elsevier; 2018.
13. Klein R, Klein BEK, Scot E. Moss. Epidemiology of Proliferative Diabetic Retinopathy. *Diabetes Care*. 1992;15(12):1875-1891.
14. Fong DS, Aiello LP, Ferris FL 3rd KR. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2004;27(10):2540-53.
15. Klein R, Klein BE, Moss SE CK. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. XV. The long-term incidence of macular edema. *Ophthalmology*. 1995;102(1):7-16.
16. Wan TT, Li XF, Sun YM, Li YB, Su Y. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic retinopathy. *Biomed Pharmacother*. 2015;74:145-147.
17. Hietala K, Forsblom C. Age at Onset and the Risk of Proliferative Retinopathy in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2010;33(6):1315-1319.
18. Wong J, Molyneaux L, Constantino M, Twigg SM YD. Timing Is Everything : Age of Onset Influences Long-Term Retinopathy Risk in Type 2 Diabetes , Inde ... *Diabetes Care*. 2008;31(10):1985-1990.
19. Kanski J. *Klinik Oftalmoloji. Retinal Vasküler Hastalık*. 7. Baskı. (YA.) (Çeviri: Akova, ed.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2013.
20. Crawford TN, Alfaro DV 3rd, Kerrison JB JE. Diabetic retinopathy and angiogenesis. *Curr Diabetes Rev*. 2009;5(1):8-13.

21. Prospective UK, Study D. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). 1998;352(Ukpds 33):837-853.
22. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329(14):977-986.
23. Mohamed Q, Gillies MC WT. Management of diabetic retinopathy: a systematic review. *JAMA*. 298(8):902-916.
24. Garg S, Davis RM. Diabetic Retinopathy Screening Update. *Clin Diabetes*. 2009;27(4):140-145.
25. Sebag J. Vitreous and Vitreoretinal Interface. In: *Ryan's Retina, Sixth Edition*. ; 2018:544-581.
26. İnan S. Retina Anatomisi. *Kocatepe Tıp Derg*. 2014;15(3):355-359.
27. Tripathi RC WM. The eye. In: Basic and clinical science course. In: *American Academy of Ophthalmology Section 2. San Francisco, CA: The Foundation of the American Academy of Ophthalmology*. ; 1999:47-92.
28. Snell RS LM. Clinical anatomy of the eye. In: *The Eye Ball. 2nd Edition. Malden, Mass : Blackwell Science Inc.* ; 1998:132-213.
29. Testa U, Pannitteri G, Condorelli GL. Vascular endothelial growth factors in cardiovascular medicine. *J Cardiovasc Med*. 2008;9(12):1190-1221.
30. Yazır Y , Gonca S, Filiz S DH. Endotel Hücreleri İçin Önemli Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (Vegf), Ailenin Üyeleri, Yapısı ve Sentezi. *C Ü Tıp Fakültesi Derg*. 2004;26(4):181-184.

31. Julia C. Chen ABC and CRJ. Cellular and Molecular Mechanotransduction in Bone. In: *Osteoporosis, Fourth Edition, Chapter 20.* ; 2013:453-475.
32. Morisada T, Kubota Y, Urano T, Suda T. Angiopoietins and Angiopoietin-Like Proteins in Angiogenesis. 2006:71-79.
33. Tabata M, Kadomatsu T, Fukuhara S, et al. Angiopoietin-like Protein 2 Promotes Chronic Adipose Tissue Inflammation and Obesity-Related Systemic Insulin Resistance. *Cell Metab.* 2009;10(3):178-188.
34. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell MolMed.* 2005;9(1582-1838 (Print)):777-794.
35. Ip MS, Domalpally A, Hopkins JJ, Wong P, Ehrlich JS. Long-term effects of ranibizumab on diabetic retinopathy severity and progression. *Arch Ophthalmol.* 2012;130(9):1145-1152.
36. Fong DS, Aiello L, Gardner TW, et al. Retinopathy in Diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27(Suppl 1):S84-7.
37. Saint-Geniez M, Kurihara T, Sekiyama E, Maldonado AE, D'Amore PA. An essential role for RPE-derived soluble VEGF in the maintenance of the choriocapillaris. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(44):18751-18756.
38. Zhang X, Bao S, Hambly BD, Gillies MC. Vascular endothelial growth factor-A: A multifunctional molecular player in diabetic retinopathy. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41(12):2368-2371.
39. Mcleod DS, Grebe R, Bhutto I, Merges C, Baba T, Luty GA. Relationship between RPE and choriocapillaris in age-related macular degeneration. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(10):4982-4991.

40. Grunwald JE, Daniel E, Huang J, et al. Risk of Geographic Atrophy in the Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatment Trials. *Ophthalmology*. 2014;121(1):150-161.
41. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, Pasquale LR, Thieme H, Iwamoto MA, Park JE et al. Vascular Endothelial Growth Factor In Ocular Fluid Of Patients With Diabetic Retinopathy And Other Retinal Disorders. *N Engl J Med*. 1994;331(22):1480-1487.
42. Huber M, Wachtlin J. Vitreous levels of proteins implicated in angiogenesis are modulated in patients with retinal or choroidal neovascularization. *Ophthalmologica*. 2012;228(3):188-193.
43. Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Matsumura M. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2002;134(3):348-353.
44. Matsunaga N, Chikaraishi Y, Izuta H, et al. Role of Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 in the Vitreous in Proliferative Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology*. 2008;115(11):1916-1922.
45. Trunov A, Varvarinsky E, Chernykh V, Smirnov E, Chernykh D. Proliferative and inflammatory factors in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Indian J Ophthalmol*. 2015;63(1):33.
46. Sivalingam A, Kenney J, Brown GC, Benson WE, Donoso L. Basic Fibroblast Growth Factor Levels in the Vitreous of Patients With Proliferative Diabetic Retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 1990;108:869-872.
47. Mitamura Y, Tashimo A, Nakamura Y, Tagawa H, Ohtsuka K, Mizue Y NJ. Vitreous levels of placenta growth factor and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2002;25(12):2352.

48. Meyer-Schwickerath R, Pfeiffer A, Blum WF, et al. Vitreous levels of the insulin-like growth factors I and II, and the insulin-like growth factor binding proteins 2 and 3, increase in neovascular eye disease. Studies in nondiabetic and diabetic subjects. *J Clin Invest.* 1993;92(6):2620-2625.
49. Babapoor-Farrokhran S, Jee K, Puchner B, et al. Angiopoietin-like 4 is a potent angiogenic factor and a novel therapeutic target for patients with proliferative diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci.* 2015;112(23):E3030-9.
50. Sasaki Y, Ohta M, Desai D, et al. Angiopoietin like protein 2 (ANGPTL2) promotes adipose tissue macrophage and T lymphocyte accumulation and leads to insulin resistance. *PLoS One.* 2015;10(7):e0131176.
51. Horio E, Kadomatsu T, Miyata K, et al. Role of endothelial cell-derived angptl2 in vascular inflammation leading to endothelial dysfunction and atherosclerosis progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(4):790-800.
52. Farhat N, Thorin-Trescases N, Mamarbachi M, et al. Angiopoietin-like 2 promotes atherogenesis in mice. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(3):1-13.
53. Okada T, Tsukano H, Endo M, et al. Synoviocyte-derived angiopoietin-like protein 2 contributes to Synovial chronic inflammation in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol.* 2010;176(5):2309-2319.
54. Aoi J, Endo M, Kadomatsu T, et al. Angiopoietin-like protein 2 is an important facilitator of inflammatory carcinogenesis and metastasis. *Cancer Res.* 2011;71(24):7502-7512.
55. Endo M, Nakano M, Kadomatsu T, et al. Tumor cell-derived angiopoietin-like protein ANGPTL2 is a critical driver of metastasis. *Cancer Res.* 2012;72(7):1784-1794.

56. Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, et al. Angiopoietin-like protein 2 and risk of type 2 diabetes in a general Japanese population: The Hisayama study. *Diabetes Care*. 2013;36(1):98-100.
57. Gellen B, Thorin-Trescases N, Sosner P, et al. ANGPTL2 is associated with an increased risk of cardiovascular events and death in diabetic patients. *Diabetologia*. 2016;59(11):2321-2330.
58. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med*. 2004;10(8):858-864.
59. Neuhaus T, Stier S, Totzke G, et al. Stromal cell-derived factor 1alpha (SDF-1alpha) induces gene-expression of early growth response-1 (Egr-1) and VEGF in human arterial endothelial cells and enhances VEGF induced cell proliferation. *Cell Prolif*. 2003;36(2):75-86.
60. Mirshahi F, Pourtau J, Li H, et al. SDF-1 activity on microvascular endothelial cells: Consequences on angiogenesis in in vitro and in vivo models. *Thromb Res*. 2000;99(6):587-594.
61. Sonmez K, Drenser KA, Capone A, Trese MT. Vitreous Levels of Stromal Cell-Derived Factor 1 and Vascular Endothelial Growth Factor in Patients with Retinopathy of Prematurity. *Ophthalmology*. 2008;115(6):1065-1071.
62. Van Geest RJ, Lesnik-Oberstein SY, Tan HS, et al. A shift in the balance of vascular endothelial growth factor and connective tissue growth factor by bevacizumab causes the angiofibrotic switch in proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(4):587-590.
63. Chen LY, Zhuo YH, Li YH, Huang XH, Zhang JL, Li SY, Wang XG LL. Expression of stromal cell-derived factor-1 in diabetic retinopathy. *Chin Med J (Engl)*. 2010;123(8):984-8.

64. Arimura N, Otsuka H, Yamakiri K, et al. Vitreous Mediators after Intravitreal Bevacizumab or Triamcinolone Acetonide in Eyes with Proliferative Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology*. 2009;116(5):921-926.
65. Kant S, Seth G AK. Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Ann Ophthalmol (Skokie)*. 2009;41(3-4):170-173.